

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE PHARMACIE

ANNEE 1992

THESE n° 311

COMPORTEMENT DES VIRUS EN GEOEPURATION



THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE
présentée et soutenue publiquement le 4 mai 1992

PAR

VERONIQUE GADEFAIT

née le 17 Juin 1967 à CHATEAUROUX (INDRE)

EXAMINATEURS DE LA THESE

Monsieur le Professeur HABRIOUX	PRESIDENT
Monsieur le Professeur NICOLAS	JUGE
Monsieur Z. ALAMY , chef de projet au BRGM	JUGE
Monsieur B. DE LA BURGADE , Pharmacien	JUGE

UNIVERSITE DE LIMOGES

FACULTE DE PHARMACIE

- DOYEN DE LA FACULTE : Monsieur le Professeur **RABY**
- ASSESSEURS : Monsieur le Professeur **GHESTEM** (1er Assesseur)
 Monsieur **DREYFUSS**, Maître de Conférences (2ème Assesseur)

PERSONNEL ENSEIGNANT

* PROFESSEUR DES UNIVERSITES

BENEYTOU Jean-Louis	Biochimie
BERNARD Michel	Physique-Biophysique
BOSGIRAUD Claudine	Microbiologie
BROSSARD Claude	Pharmacotechnie
BUXERAUD Jacques	Chimie Organique, Chimie Thérapeutique
CHULIA Albert	Pharmacognosie
CHULIA Dominique	Pharmacotechnie
DELAGE Christiane	Chimie Générale et Minérale
GALEN François Xavier	Physiologie
GHESTEM Axel	Botanique et Cryptogamie
GUICHARD Claude	Toxicologie
HABRIOUX Gérard	Biochimie
LEFORT DES YLOUSES Daniel	Pharmacie galénique
NICOLAS Jean Albert	Bactériologie et Virologie, Parasitologie
LOUDART Nicole	Pharmacodynamie
PENICAUT Bernard	Chimie Analytique et Bromatologie
RABY Claude	Pharmacie Chimique et Chimie Organique
TIXIER Marie	Biochimie

SECRETAIRE GENERAL DE LA FACULTE - CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS

POMMARET Maryse

REMERCIEMENTS

Je tiens à exprimer ma vive reconnaissance:

à M. le Professeur SCHWARTZBROD,

*Professeur des Universités de Microbiologie, Virologie, Immunologie à la Faculté de Pharmacie de Nancy,
qui m'a fait profiter de son expérience tout en guidant mon étude,*

à M. le Professeur HABRIOUX,

Professeur des Universités de Biochimie à la Faculté de Pharmacie de Limoges,

Président du jury

et à M. Z. ALAMY,

*Chef de projet au département Environnement et Risques du Bureau de Recherches Géologiques et
Minières d'Orléans (BRGM Centre)*

membre du jury,

pour leur précieux concours tout au long de ce travail bibliographique.

Je remercie

M. le Professeur NICOLAS,

*Professeur des Universités de Bactériologie, Virologie et Parasitologie à la Faculté de Pharmacie de
Limoges*

et M. B. DE LA BURGADE, Pharmacien à Limoges,

d'accepter de siéger dans le jury.

*Je remercie M. O. IUNG ainsi que le personnel du département Environnement et Risques du BRGM pour
leur accueil sympathique au sein du bureau.*

1 – LES VIRUS RENCONTRES DANS LE MILIEU HYDRIQUE

2 – SURVIE DES VIRUS ENTERIQUES DANS L'ENVIRONNEMENT
HYDRIQUE

3 – DEVENIR DES VIRUS ENTERIQUES DANS LES SOLS

4 – RISQUES DE CONTAMINATION DES NAPPES PAR LES VIRUS
ENTERIQUES

5 – CONCLUSION

SOMMAIRE

INTRODUCTION	13
1 - LES VIRUS RENCONTRÉS DANS LE MILIEU HYDRIQUE	15
1.1 - Nature des virus	15
1.2 - Structure	15
1.2.1 - Le génome viral	15
1.2.2 - La capside virale	18
1.2.3 - Les enveloppes virales	19
1.2.4 - Péplos et épidémiologie.....	19
1.2.5 - Structure des différents virus	19
1.3 - Constitution physico-chimique	23
1.3.1 - Dimension des virus	23
1.3.2 - Point isoélectrique	23
1.3.3 - Théorie de la double couche et autres forces électriques	25
1.3.4 - Hydrophobicité	25
1.4 - Techniques d'isolement et mise en évidence.....	27
1.4.1 - Echantillonnage	27
a) Eaux usées	27
b) Eaux de surface	28
1.4.2 - Méthodes de concentration des virus	28
a) Adsorption directe	28
b) Flocculation organique	29
c) Décontamination des échantillons	29
d) Détoxification des échantillons	29
1.4.3 - Révélation des virus	30
a) Isolement des virus sur cultures cellulaires	30
Culture cellulaire	30
Milieux de culture	30
Isolement sur cultures cellulaires	31
Isolement sur tapis cellulaire constitué	31
Isolement sur suspension cellulaire	32
b) Isolement des virus sur l'animal	32

Comportement des virus en géoépuration

1.4.4 - Identification des virus	32
a) Observation de l'effet cytopathique	32
b) Identification immunologique par neutralisation	32
c) Autres méthodes	34
1.4.5 - Quantification	34
1.4.6 - Isolement des virus dans les boues résiduaires et le sol	35
a) Les boues	35
b) Le sol	36
1.5 - Cycle de contamination du milieu hydrique	37
1.5.1 - Contamination des eaux usées	37
1.5.2 - Contamination des nappes souterraines	42
1.5.3 - Contamination virale des eaux de distribution	42
1.5.4 - Contamination virale des eaux de surface	43
2 - SURVIE DES VIRUS ENTÉRIQUES DANS L'ENVIRONNEMENT	
HYDRIQUE.....	45
2.1 - Facteurs physiques	45
2.1.1 - La température	45
2.1.2 - Les rayonnements ultra-violets	46
2.1.3 - L'humidité	46
a) Différents états de l'eau	46
b) Influence d'un taux d'humidité constant	48
c) Influence d'un taux d'humidité décroissant	50
d) Mécanismes possibles d'inactivation des virus	50
2.2 - Facteurs chimiques	51
2.2.1 - Le pH	52
2.2.2 - La présence d'ions	53
2.2.3 - La salinité	54
2.2.4 - Les détergents	55

Comportement des virus en géoépuration

2.2.5 - La désinfection	55
a) Le chlore	55
b) L'ozone	56
2.3 - Facteurs biologiques	56
2.3.1 - Activité antivirale des boues biologiques et des eaux	56
a) Mise en évidence des agents virucides	56
Effet de la température	57
Etude en milieux stériles ou non stériles	58
Etude dans les conditions aérobies ou anaérobies.....	59
b) Mécanismes d'action	59
2.3.2 - Rôle des bactéries et des fungi	60
2.4 - Influence des phénomènes d'adsorption sur des matières organiques ou des matières en suspension	61
2.4.1 - Traitement des eaux usées	61
2.4.2 - Effet de l'adsorption sur la survie des virus	64
2.4.3 - Compétition au niveau des sites d'adsorption	64
3 - DEVENIR DES VIRUS ENTÉRIQUES DANS LES SOLS	65
3.1 - Adsorption	65
3.1.1 - Nature des virus	65
3.1.2 - Nature du sol	68
a) Composition minérale	68
b) Composition organique.....	70
c) Autres facteurs	71
d) Capacité de sorption limitante	71
3.1.3 - pH	71
3.1.4 - Composition de l'eau	73
a) Nature de l'effluent	74
b) Présence d'ions	75
c) Les détergents.....	76
3.1.5 - Flux saturé et flux insaturé.....	77

Comportement des virus en géoépuration

3.1.6 - Vitesse d'infiltration de l'eau	78
3.1.7 - Niveau d'adsorption des virus dans le sol	81
3.2 - Elution et migration des virus dans le sol.....	83
3.2.1 - Facteurs favorisant l'éluion et la migration des virus	83
a) Nature et composition du sol	83
b) Le pH	83
c) Composition de l'eau	84
Effluent secondaire et eau du robinet	84
Eau distillée	84
Eau de pluie	84
Détergents	84
Elution des virus du sol en laboratoire	86
d) Autres facteurs	88
3.2.2 - Etendue de la migration des virus dans les sols	88
a) Migration verticale des virus	88
b) Migration horizontale des virus	88
4 - RISQUE DE CONTAMINATION DES NAPPES PAR LES VIRUS ENTÉRIQUES	91
4.1 - Géologie	91
4.2 - Nature et composition du sol	91
4.3 - Ensoleillement.....	92
4.4 - Température.....	92
4.5 - Pluviométrie.....	92
4.5.1 - Désorption	93
4.5.2 - Humidité	93
4.6 - Techniques d'irrigation	93
4.6.1 - Irrigation à faible dose ou irrigation proprement dite	94
4.6.2 - Irrigation à moyenne ou à forte dose ou "irrigation - percolation" ...	94
4.7 - Incidence de la contamination virale des eaux de distribution sur le développement de signes cliniques d'une maladie	94

Comportement des virus en géoépuration

5 - CONCLUSION	95
BIBLIOGRAPHIE	97
LISTE DES TABLEAUX.....	103
LISTE DES FIGURES	105
LISTE DES ANNEXES	106

INTRODUCTION

L'augmentation de la demande en eau potable et des rejets d'eaux usées suscite la mise en place d'un nombre toujours plus important de dispositifs de traitement des eaux usées.

Parmi toutes les méthodes utilisées, la géoépuration est un procédé d'épuration aérobie qui consiste à infiltrer des eaux usées à travers plusieurs mètres de sol rapporté ou de sol en place. Cette technique présente l'avantage d'alimenter directement les réserves d'eaux souterraines à partir d'eaux usées plus ou moins polluées.

Depuis quelques années, la nécessité de mieux apprécier les qualités sanitaires des eaux a conduit à s'intéresser à leur charge en virus puisque certains sont pathogènes pour l'homme.

Après une présentation des principaux virus rencontrés dans le milieu hydrique, nous nous intéresserons à leur devenir dans l'environnement hydrique et les sols.

La connaissance des facteurs environnementaux permettant leur survie est indispensable pour pouvoir évaluer le risque de contamination des nappes phréatiques par ces virus.

Comportement des virus en géoépuration

FAMILLE	GENRE	ESPÈCES et TYPES
Picornaviridés	Entérovirus	Poliovirus type 1, 2 et 3 Coxsackie virus A, types 1 à 22 et 24 Coxsackie virus B, types 1 à 6 Echovirus types 1 à 9, 11 à 27, 29 à 34 Entérovirus types 68 à 71 Virus de l'hépatite A = entérovirus 72
Réoviridés	Réovirus Rotavirus	Réovirus types 1 à 3 Rotavirus types 1 à 3
Coronaviridés	Coronavirus	Coronavirus humains
Caliciviridés	Calicivirus	Calicivirus humains
	Astrovirus	Astrovirus humains
Adénoviridés	Mastadénovirus	Adénovirus humains types 1 à 39
		Virus de Norwalk ¹
		Virus de l'hépatite E
		"Small Round Virus"

¹ : ce serait un calicivirus

(d'après BLOCK et SCHWARTZBROD, 1982 ; HURST, 1989 a).

Tableau 1-1 - Classification des virus rencontrés dans l'environnement hydrique.

1 - LES VIRUS RENCONTRÉS DANS LE MILIEU HYDRIQUE

Parmi les virus humains véhiculés par les milieux hydriques, beaucoup sont pathogènes pour l'homme.

Après avoir répertorié les principaux virus présents dans les eaux, nous verrons leur structure, leur constitution physico-chimique, quelques procédés couramment utilisés pour les isoler et les identifier, et enfin leur place dans le cycle de contamination de l'eau.

1.1 - NATURE DES VIRUS

Les virus rencontrés dans le milieu hydrique sont des virus animaux, des virus de bactéries (bactériophages) et des virus de plantes. Les virus les plus importants sont ceux susceptibles de contaminer l'homme. L'eau pourrait servir de véhicule et d'agent de transmission de bon nombre de virus d'excrétion fécale.

Les virus sont classés en familles, genres, espèces et types en fonction de leurs caractéristiques structurales et de leurs propriétés antigéniques (c'est-à-dire qu'ils entraînent la synthèse d'anticorps chez les organismes infectés).

Plus de 130 types différents de virus pathogènes humains sont excrétés dans les fèces humains (tabl. 1-1) et plusieurs types de virus sont présents dans les urines (HURST, 1989 a). Ces virus, qui se retrouvent dans le milieu extérieur, peuvent être à l'origine de maladies très diverses plus ou moins graves selon les virus et selon les individus infectés (tabl. 1-2).

1.2 - STRUCTURE

Les virus sont des agents infectieux dont la structure se résume à un génome entouré d'une coque protéique appelée capsid. Cet ensemble appelé nucléocapsid s'entoure, chez certains virus, d'une enveloppe (fig. 1) (d'après HURAUX *et al.*, 1985).

1.2.1 - LE GÉNOME VIRAL

Il est constitué d'un seul type d'acide nucléique, ADN ou ARN, qui peut être à simple brin ou à double brin, segmenté ou non, linéaire ou circulaire. Il représente le code génétique du virus et est le support de la multiplication du virus. Son poids

Comportement des virus en géoépuration

ENTÉROVIRUS		
	Poliovirus	Poliomyélite, infections inapparentes, méningites, paralysie, fièvre...
	Coxsackievirus A	Infections inapparentes, maladies respiratoires, Herpangines, méningites, fièvre...
	Coxsackievirus B	Atteintes cardiaques (myocardite, péricardite), fièvre...
	Echovirus	Méningites, maladies respiratoires, rash, diarrhées, fièvre...
	Autres entérovirus	Atteintes pulmonaires, oculaires, neurologiques
	Virus de l'hépatite A	Hépatite
RÉOVIRUS		Absence de manifestations cliniques importantes, présence dans les sécrétions respiratoires et les selles
ROTAVIRUS		Gastro-entérites infantiles sévères Gastro-entérites chez l'adulte
CORONAVIRUS		Infections respiratoires hautes, diarrhées
CALICIVIRUS		Gastro-entérites
ASTROVIRUS		Gastro-entérites
ADÉNOVIRUS		Infections inapparentes, gastro-entérites, atteintes respiratoires
PARVOVIRUS		Infections entériques
VIRUS DE NORWALK, "SMALL ROUND VIRUS"		Gastro-entérites
VIRUS DE L'HÉPATITE E		Hépatite

*Tableau 1-2 - Principales maladies causées par les virus existant dans l'environnement hydrique.
(d'après HURST, 1989 a ; HURAUD *et al.*, 1985)*

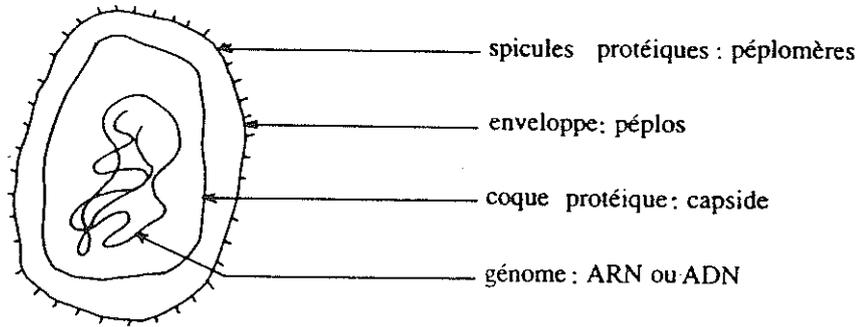
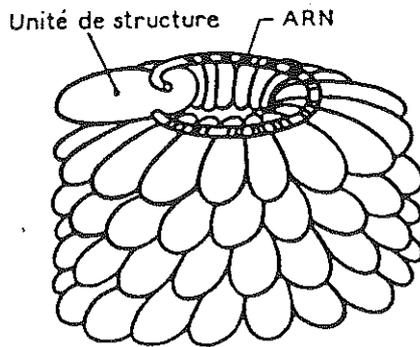


Fig. 1 - Représentation schématique d'un virus enveloppé.



Fig; 2 - Segment du virus de la mosaïque du tabac, exemple de capsid à symétrie hélicoïdale. Le génome viral est enroulé en spirale entre deux rangées d'unités de structure (HURAUD et al., 1985).

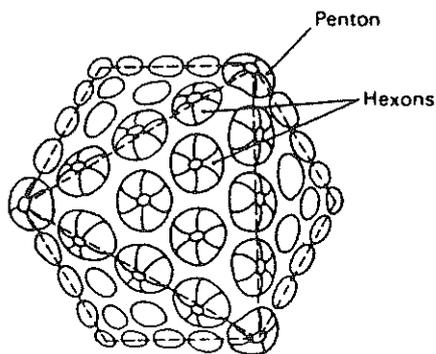


Fig. 3 - Capsid à symétrie icosaédrique (HURAUD et al., 1985).

moléculaire est très variable. L'information génétique est très faible : elle va de quelques gènes pour les virus les plus petits à une centaine pour les virus les plus gros. Il en résulte un parasitisme intracellulaire. Le virus ne possède pas ou peu d'équipement enzymatique et devra trouver dans la cellule parasitée les éléments indispensables à toute biosynthèse.

La pauvreté génétique des virus explique aussi la structure polymérisée des capsides virales : seule l'accumulation de nombreux exemplaires d'une même protéine ou de quelques protéines différentes permet de construire une capside avec une information génétique faible. Dans les cas les plus simples, les capsides virales sont constituées par la polymérisation autour du génome de quelques protéines, par exemple les protéines VP₁, VP₂, VP₃ et VP₄ pour les poliovirus.

1.2.2 - LA CAPSIDE VIRALE

C'est une structure protéique qui protège l'information génétique et facilite le transfert de cette information à la cellule. Elle permet la fixation et la pénétration du virus dans la cellule. Ces protéines sont antigéniques et déterminent donc la synthèse d'anticorps par les organismes infectés. Les réactions antigènes - anticorps ont permis de déterminer, pour un même virus, plusieurs sérotypes : par exemple, Poliovirus sérotype 1, Poliovirus sérotype 2...

Suivant les virus, les unités de structure s'organisent en une capside tubulaire à symétrie hélicoïdale ou en une capside icosaédrique à symétrie cubique (fig. 2 et 3).

L'icosaèdre est un polyèdre régulier constitué de 20 faces triangulaires, 12 sommets et 30 arêtes. Les unités de structure sont regroupées en oligomères appelés capsomères. La plupart des virus icosaédriques ont un capsomère à 5 unités de structure ou penton sur chacun des 12 sommets et des capsomères à 6 unités de structure ou hexons sur les faces et les arêtes (fig. 3).

Dans les capsides tubulaires à symétrie hélicoïdale, les unités de structure s'empilent en colimaçon, en maintenant l'acide nucléique enroulé entre 2 tours de spires (fig. 2).

Ces deux structures permettent de classer les virus. Ceux qui ne possèdent pas d'enveloppe sont appelés virus nus, par opposition aux virus dits enveloppés.

1.2.3 - LES ENVELOPPES VIRALES

Les enveloppes virales peuvent être de simples enveloppes membranaires appelées péplos ou des enveloppes plus complexes. Ce sont les éléments les plus externes de certains virus. Elles sont de nature lipoglycoprotéique. Elles présentent vers l'extérieur des spicules protéiques appelées péplomères, doués d'activités biologiques, enzymatiques...

1.2.4 - PÉPLOS ET ÉPIDÉMIOLOGIE

D'une manière générale, les virus à péplos se caractérisent par une grande fragilité. Le péplos, qui dérive de membranes cellulaires, peut se désagréger rapidement dans le milieu extérieur en raison de sa thermolabilité, et dans le tube digestif, sous l'action des enzymes digestives. Ces virus vont donc s'inactiver dans le milieu extérieur et dans les selles, d'où leur transmission limitée.

Par contre, les virus sans péplos sont beaucoup plus résistants. Ils sont présents dans les selles et dans l'environnement. Ces virus ne peuvent être qu'à symétrie cubique, alors que les virus enveloppés ont des capsides à symétrie cubique ou hélicoïdale.

Parmi les virus rencontrés dans le milieu hydrique, tous sont sans péplos sauf les coronavirus.

1.2.5 - STRUCTURE DES DIFFÉRENTS VIRUS (tabl. 1-3)

Les virus ayant une capsidie à symétrie cubique qui comporte 32 capsomères, formés à partir de 4 protéines structurales, sont les poliovirus (fig. 4) et le virus de l'hépatite A. Les trois types de poliovirus ne présentent pas de réactions croisées, mais il existe des variations antigéniques à l'intérieur d'un même type ; elles différencient les souches sauvages et les souches vaccinales.

Les adénovirus (fig. 5 et 6) ont aussi une capsidie icosaédrique, mais l'aspect du centre de la capsidie est plus dense, d'où le nom de cœur (core en anglais) ou nucléoïde, de cette partie. Parmi les 252 capsomères, ceux qui sont situés sur les sommets de l'icosaèdre sont prolongés par une fibre terminée par une sphère. Cette fibre permet la fixation du virus sur les globules rouges ou les cellules.

VIRUS	Acide nucléique	Capside	Symétrie	Péplos	Nombre de capsomères	Poids moléculaire de l'acide nucléique
PICORNAVIRUS	ARN monocaténaire	icosaédrique	cubique	absent	32	2,5 10 ⁶ daltons
ROTAVIRUS	ARN bicaténaire à 11 segments	icosaédrique double	cubique	absent	indéterminé	11 segments de 0,2 à 2,2 10 ⁶
RÉOVIRUS	ARN bicaténaire segmenté	icosaédrique double	cubique	absent	indéterminé	10 10 ⁶
CORONAVIRUS	ARN monocaténaire	tubulaire	hélicoïdale	présent		5,5 à 6,1 10 ⁶
CALICIVIRUS	ARN monocaténaire	icosaédrique	cubique	absent		
ASTROVIRUS	ARN monocaténaire	icosaédrique	cubique	absent		
ADÉNOVIRUS	ADN	icosaédrique	cubique	absent	252	20 à 30 10 ⁶
PARVOVIRUS	ADN	icosaédrique	cubique	absent		
VIRUS DE NORWALK *	ADN monocaténaire	icosaédrique	cubique	absent		
VIRUS Hépatique E		icosaédrique	cubique	absent		
"SMALL ROUND VIRUS"		icosaédrique	cubique	absent		

* : virus de Norwalk : serait un Calicivirus (d'après BLOCK et SCHWARTZBROD, 1982 ; HURST, 1989 a)

Tableau 1-3 - Structures des virus.

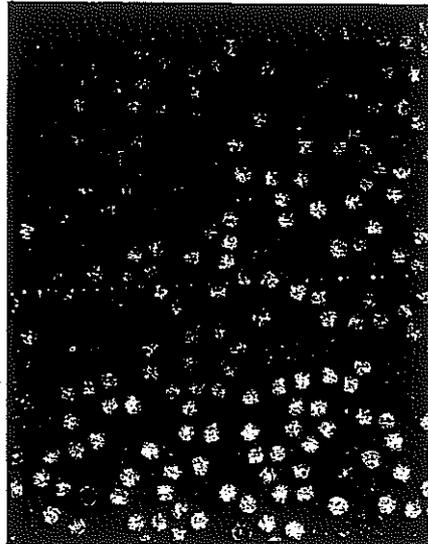


Fig. 4 - Poliovirus observés en microscopie électronique (x 160 000) (HURAUD et al., 1985).

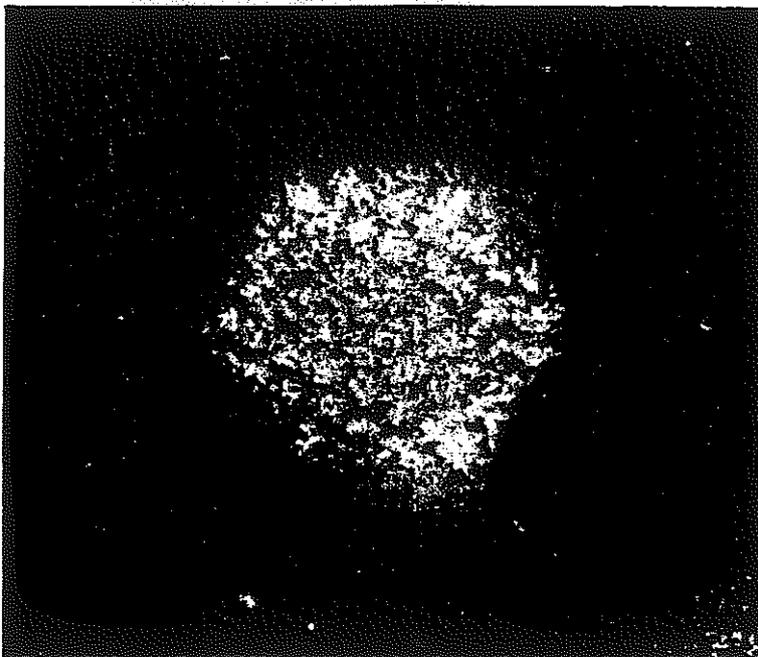


Fig. 5 - Photo en microscopie électronique d'un adénovirus (HURAUD et al., 1985).

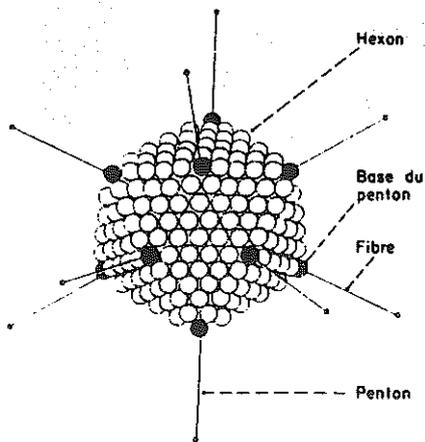


Fig. 6 - La capside est icosaédrique, constituée de 252 capsomères. Les capsomères situés à chacun des 12 sommets de l'icosaèdre constituent la base des pentons, ils sont prolongés par une fibre, elle-même terminée par une sphère (HURAUD et al., 1985).

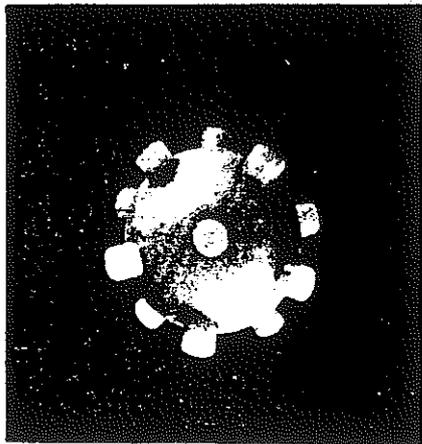
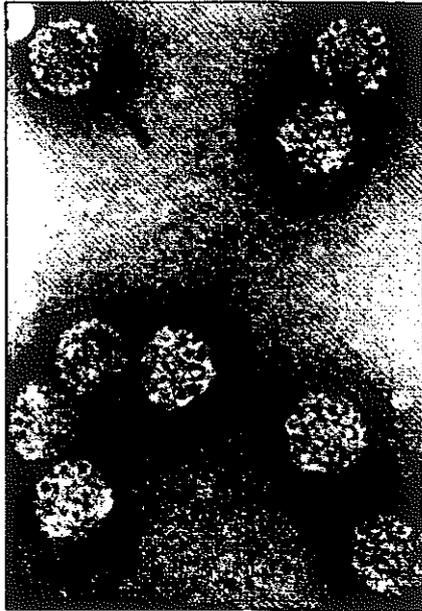


Fig. 7 a - Photo en microscopie électronique du core des réovirus.

Fig. 7 b - Représentation schématique du core des réovirus (HURAUD et al., 1985).

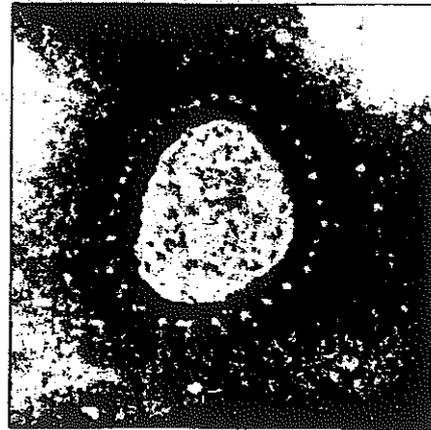


Fig. 8 - Photo d'un coronavirus (HURAUD et al., 1985).

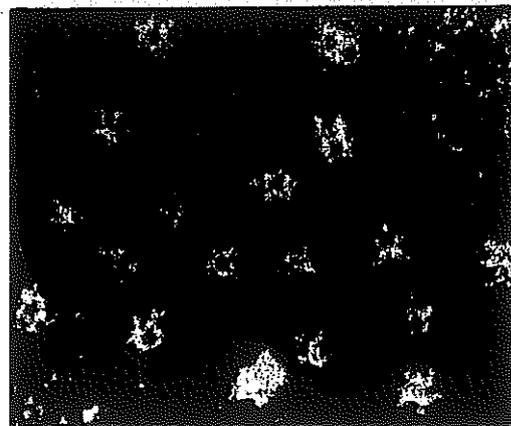


Fig. 9 - Photo en microscopie électronique de calicivirus (HURAUD et al., 1985).

Pour les réovirus (fig. 7), le génome est constitué de 10 segments d'ARN bicaténaire et la capsidie comprend deux structures superposées concentriques, l'une superficielle ou capsidie externe, et l'autre profonde ou capsidie interne ou core. Le disposition des capsomères est controversée. Les protéines de structure ont un rôle dans l'attachement des particules virales.

Les rotavirus ont aussi une capsidie icosaédrique double, mais elle ressemble à une roue, d'où leur nom. Leur génome contient 11 fragments d'ARN bicaténaire qui, sur une électrophorèse, forment 4 groupes.

A l'opposé, on trouve les coronavirus à symétrie hélicoïdale qui ont une enveloppe recouverte par des spicules à renflement terminal, leur donnant un aspect de couronne (fig. 8).

La structure des autres virus est moins bien connue, notamment pour l'agent de Norwalk. Les calicivirus ont un aspect en relief qui dessine l'étoile de David (fig. 9) et les astrovirus un contour en forme d'étoile à 5 ou 6 branches après coloration.

Tous ces virus, étant donné leur faible dimension, ne sont pas observables au microscope optique, mais au microscope électronique.

1.3 - CONSTITUTION PHYSICO-CHIMIQUE

Les virus sont des particules de très faible dimension. Leurs différences de constitution physico-chimique se traduisent par des charges variables à leur surface et une certaine hydrophobicité.

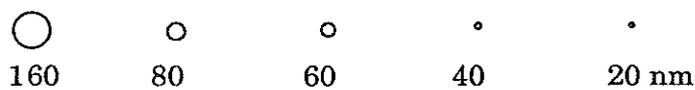
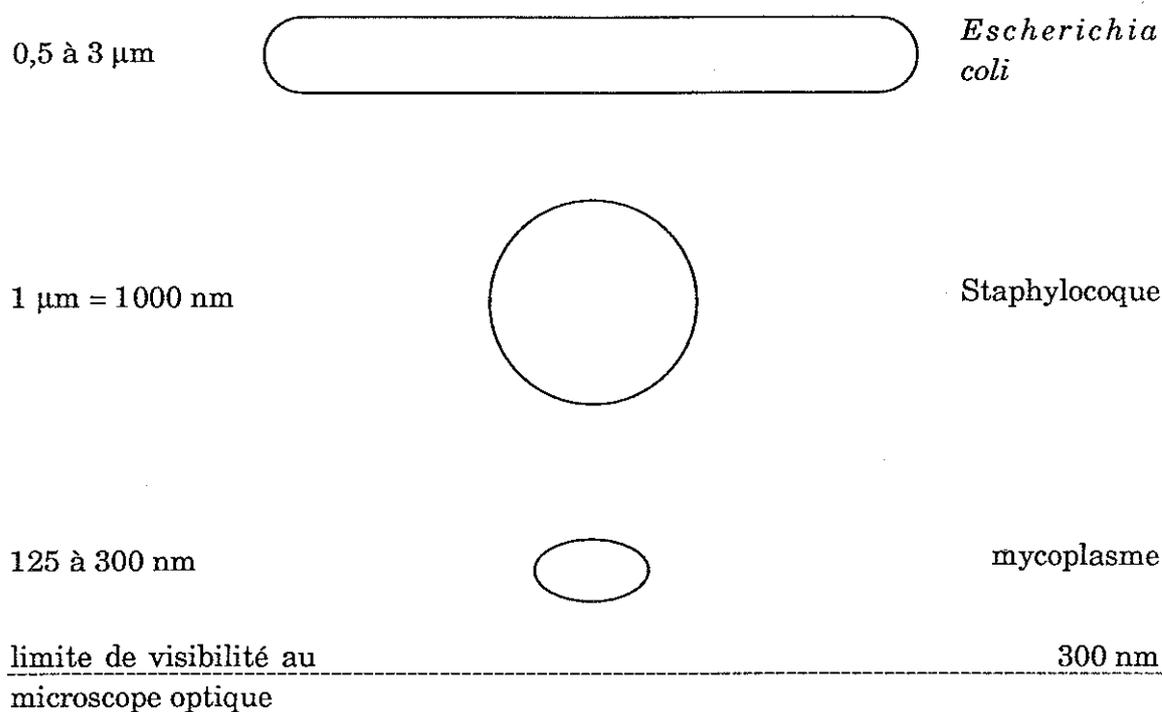
1.3.1 - DIMENSION DES VIRUS

La taille des virus est de l'ordre de quelques dizaines de nanomètres (10^{-9} m). A titre comparatif, *Escherichia coli* mesure de 0,5 à 3 μ (10^{-6} m) (fig. 10).

1.3.2 - POINT ISOÉLECTRIQUE

La plupart des virus ont une structure composée de polypeptides qui contiennent des acides aminés tels que l'acide glutamique, l'acide aspartique, l'histidine et la tyrosine. Ces acides aminés renferment des groupements faiblement acides ou basiques (groupements carboxyles amines).

Comportement des virus en géoépuration



Virus	diamètre du virion (nm)
Picornavirus	27
Rotavirus	66 à 75
Réovirus	60 à 80
Coronavirus	60 à 160
Calicivirus	30 à 40
Astrovirus	26 à 32
Adénovirus	70 à 90
Virus de Norwalk	26 à 32
Virus hépatique E	24 à 34
Parvovirus	20
"Small round viruses"	27

Fig. 10 - Taille de quelques bactéries et des virus (d'après BLOCK et SCHWARTZBROD, 1982 ; HURST, 1989 a).

Ainsi, la capside virale a une charge électrique. Chaque groupe ionisant dans le polypeptide a une constante de dissociation caractéristique. La charge nette du virus varie avec l'ionisation des groupements et donc avec le pH. Le pH pour lequel elle est nulle est le point isoélectrique. Les virus sont chargés positivement en-dessous et négativement au-dessus du point isoélectrique (tabl. 1-4) (GERBA, 1984).

1.3.3 - THÉORIE DE LA DOUBLE COUCHE ET AUTRES FORCES ÉLECTRIQUES

Les virus sont des particules de nature colloïdale, donc les propriétés relatives aux colloïdes leur sont applicables. Les virus sont sous forme dispersée dans le milieu, or les particules dispersées portent une charge électrique. Par contre, un système colloïdal dans son entier est électriquement neutre. Ce phénomène est expliqué par la théorie de la double couche. Comme les ions attirent les ions de charge opposée, il y aura formation de la couche de Stern pour permettre la neutralisation (fig. 11).

Dans le voisinage de cette couche, d'autres ions sont retenus et entraînent la formation d'une couche diffuse : la couche de Gouy. L'épaisseur de cette deuxième couche détermine la force et la distance nécessaire pour repousser les autres molécules de la solution.

Des forces attractives interviennent aussi : elles existent entre atomes et molécules. Ce sont des forces électriques entre des moments de dipôles instantanés à l'intérieur de différentes molécules.

L'interaction entre deux particules dans une dispersion résulte de l'équilibre entre les forces répulsives et attractives. Ainsi, un virus placé dans une solution aqueuse, développe une charge de surface. Une couche fixe de charge opposée se crée autour du virus, puis une couche diffuse se forme et s'étend dans la solution. Elle contient un nombre suffisant de charges pour maintenir le système électriquement neutre. L'épaisseur de cette couche peut varier dans certaines conditions et influencer sur l'adsorption des virus (fig. 11) (GERBA, 1984).

1.3.4 - HYDROPHOBICITÉ

La capside virale est constituée de protéines. Or, dans un milieu aqueux, ces protéines peuvent se plier, s'orienter afin de permettre à leurs parties hydrophiles de s'associer aux molécules d'eau environnantes. De même, les régions hydrophobes vont s'orienter et des interactions hydrophobes peuvent se créer entre les virus et d'autres particules (fig. 12). Il peut donc être intéressant de connaître les

Comportement des virus en géoépuration

Virus (souche)	pI	
Réovirus 3 (Dearing)	3,9	
Rhinovirus 2	6,4	
Polio 1 (Bruenders)	7,4	3,8
Polio 1 (Mahoney)	8,2	
Polio 1 (Chat)	7,5	4,5
Polio 1 (Brunhilde)	4,7	7,0
Polio 1 (LSc)	6,6	
Polio 2 (Sabin T2)	6,5	4,5
Echo 1 (V239)	5,3	
Echo 1 (V248)	5,0	
Echo 1 (V212)	6,4	
Echo 1 (R115)	6,2	
Echo 1 (4CH-1)	5,5	
Echo 1 (Farouk)	5,1	
Coxsackie A21	6,1	4,8
Parvovirus AA 4. x 14	2,6	
T2 bactériophage	4,2	
T4 bactériophage	4-5	
MS2 bactériophage	3,9	

pH	pH < pI	pH = pI	pH > pI
charge	+	0	-

Tableau 1-4 - Point isoélectrique des virus (pI) (GERBA, 1984).

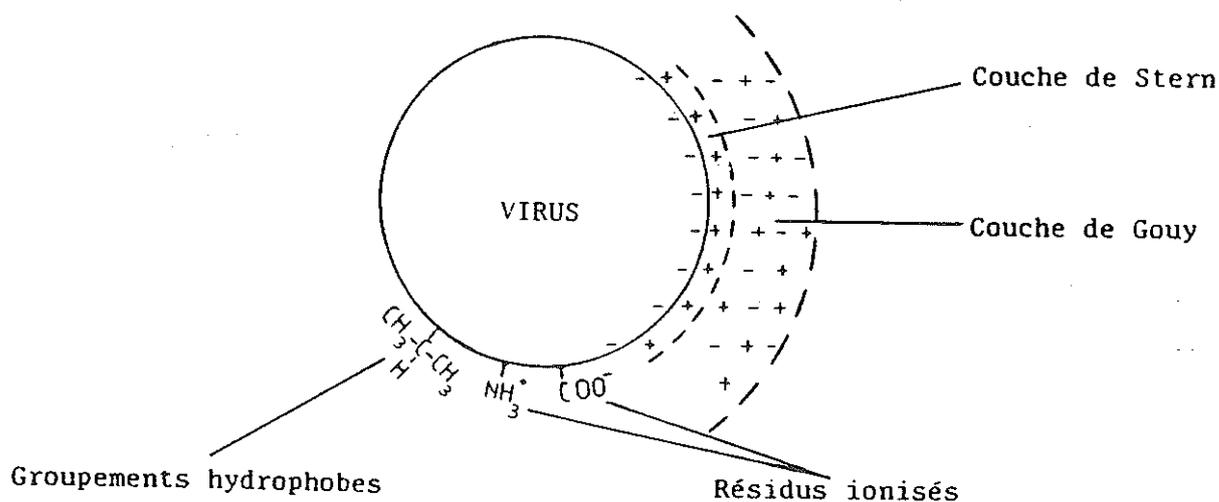


Fig. 11 - Représentation de la double couche existant autour d'un virus (d'après GERBA, 1984).

séquences d'acides aminés qui constituent la couche protéique (GERBA, 1984).

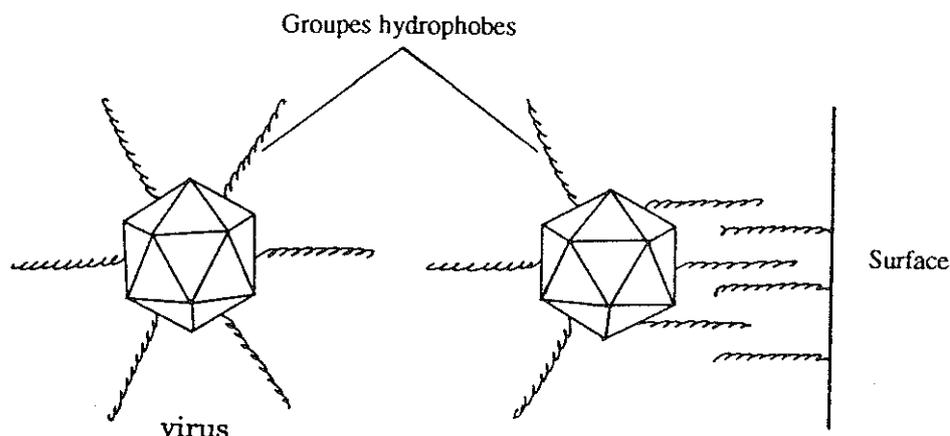


Fig. 12 - Interactions hydrophobes entre un virus et une surface.

1.4 - TECHNIQUES D'ISOLEMENT ET DE MISE EN ÉVIDENCE

La mise en évidence des virus présents dans l'environnement hydrique fait appel à une méthodologie précise composée de plusieurs étapes.

Nous verrons brièvement les modalités de prélèvement, les méthodes de concentration, les techniques permettant la révélation des virus dans les eaux, leur identification et leur quantification et ensuite quelques adaptations effectuées pour isoler les virus dans les boues résiduaires et dans les sols.

1.4.1 - ECHANTILLONNAGE

Le problème de l'échantillonnage (volume, horaire, lieu et fréquence) se pose pour chaque type d'eaux analysées : eaux usées, eaux de surface, eaux d'alimentation. Les prélèvements peuvent être effectués en continu par un système automatique ou extemporanément en des points isolés.

a) Eaux usées

Dans le cas des eaux usées brutes issues de communautés humaines nombreuses, c'est-à-dire à niveau de contamination élevé, des prélèvements de 30 à 40 ml d'eau peuvent être suffisants pour mettre en évidence des virus entériques.

Pour les eaux usées brutes issues de petites communautés où le niveau de contamination virale est plus faible, une méthode de concentration est nécessaire pour augmenter la fréquence d'isolement des virus. Un volume de 3 à 5 l semble suffisant. Une méthode de concentration est souhaitable pour les eaux usées épurées. L'analyse de 10 à 20 l suffit en général.

Au cours de la journée et des saisons, la quantité de virus présents dans l'effluent peut varier. Dans certaines stations, il semble que les prélèvements en continu entre 7 et 22 h soient plus représentatifs que les échantillons isolés (HASSEN *et al.*, 1984).

b) Eaux de surface

Le niveau de contamination des eaux de surface varie selon leur origine. L'analyse de grands volumes d'eau est nécessaire pour les eaux de rivières (50 l) et pour les eaux d'alimentation (de l'ordre du mètre cube) (HASSEN *et al.*, 1984).

L'utilisation de tels volumes nécessite donc une concentration ultérieure des prélèvements.

1.4.2 - MÉTHODES DE CONCENTRATION DES VIRUS

Nous ne verrons que deux méthodes utilisées pour leur rapidité et leur efficacité à concentrer des volumes importants d'eau : la méthode d'adsorption directe et la méthode de floculation organique.

a) Adsorption directe

La méthode d'adsorption directe implique l'utilisation de filtres ou de solides comme surface sur lesquelles les virus vont s'adsorber et être récupérés.

Parmi les différents adsorbants possibles, les plus utilisés sont les filtres en nitrate de cellulose, les filtres en microfibres de verre et la filtration sur poudre de verre.

Pour faciliter l'adsorption des virus sur le filtre, les échantillons sont acidifiés à l'aide d'acide chlorhydrique sous agitation constante et additionnés de chlorure de sodium ou de chlorure d'ammonium.

Après filtration de l'échantillon, une élution des virus est réalisée par passage d'une solution à 3% d'extrait de bœuf à pH 9,5. L'éluat obtenu est neutralisé à pH 7,2 par l'acide chlorhydrique (HCl) (voir annexe 1).

b) Flocculation organique

Cette méthode de concentration est généralement utilisée comme procédé de concentration secondaire des éluats obtenus par la méthode précédente.

Elle consiste à faire précipiter des protéines à pH acide. Au cours de la formation des flocons protéiques, les virus sont adsorbés et sont récupérés dans le précipité. Ce dernier est ensuite dissout dans une solution tampon de faible volume.

Les solutions protéiques utilisées sont des solutions d'extrait de bœuf ou de caséine (voir annexe 2).

c) Décontamination des échantillons

Les échantillons obtenus par les méthodes de concentration contiennent des quantités importantes de bactéries et de champignons microscopiques qu'il faut éliminer avant l'inoculation à des cultures cellulaires.

La décontamination est réalisée par addition d'un mélange d'antibiotiques (tabl. 1-5) et/ou par traitement par le chloroforme. Le chloroforme inactive tous les micro-organismes contenant des lipides (bactéries, levures).

Molécule active	Concentration
Benzylpénicillinate de sodium	100 000 U/ml
Néomycine	0,015 g/ml
Sulfate de streptomycine	0,1 g/ml
Amphotéricine B (fungizone)	5 µg/ml

Tabl. 1-5 - Composition d'une solution d'antibiotiques pour décontaminer les concentrats viraux (BLOCK et SCHWARTZBROD, 1982).

d) Détoxication des échantillons

Les échantillons sont ensuite détoxifiés par centrifugation modérée ou par extraction chloroformique pour éliminer les matières en suspension et diverses molécules qui ont pu être concentrées précédemment. Les métaux lourds, détergents, hydrocarbures... peuvent être toxiques pour les cultures cellulaires.

A partir des échantillons ainsi préparés, différentes méthodes vont être utilisées pour la recherche et la quantification des virus.

1.4.3 - RÉVÉLATION DES VIRUS

Parmi les nombreuses méthodes de révélation des virus, la plus courante pour les entérovirus est leur isolement sur cultures cellulaires.

D'autres techniques sont surtout utilisées pour rechercher les virus qui ne se cultivent pas sur les cellules classiques.

a) Isolement des virus sur cultures cellulaires

L'isolement des virus sur cultures cellulaires permet de mettre en évidence les virus les plus fréquemment recherchés : entérovirus, adénovirus et réovirus.

Culture cellulaire

Une culture cellulaire *in vitro* est un système dans lequel des cellules placées dans un environnement artificiel sont capables de se multiplier sans conserver l'organisation structurale de leur tissu d'origine (BLOCK et SCHWARTZBROD, 1982)

Milieus de culture

Les cellules ont besoin d'un milieu nutritif adéquat pour assurer leur survie ou leur croissance. L'élément de base est constitué par une solution saline tamponnée additionnée de glucose (milieu de base de EAGLE). Ce milieu crée des conditions compatibles avec la vie cellulaire (pH...). Il est supplémenté par des vitamines, des acides aminés, des facteurs de croissance... ou par du sérum animal, des indicateurs colorés, des antibiotiques.

Cellules

Trois catégories de systèmes cellulaires sont utilisées (tabl. 1-6).

La subculture consiste à dissocier le tapis cellulaire pour obtenir des cellules individualisées qui, sur un milieu de croissance, redonneront un tapis cellulaire par multiplication.

Différents types de cellules sont ainsi cultivés pour permettre l'isolement de certains virus (voir annexe 3).

Système cellulaire	Origine	Caractéristiques chromosomiques	Durée de vie
Cellules de primo-explantation	tissu animal origine directe	2 n chromosomes	durée de vie limitée
Lignées cellulaires établies	tissu tumoral ou normal origine indirecte	anomalies chromosomiques	cellules subcultivables indéfiniment
Cellules diploïdes	tissu embryonnaire	2n chromosomes (pour au moins 75% des cellules, absence d'anomalie chromo- somique)	durée de vie limitée subculture possible

Tabl. 1-6 - Différents systèmes cellulaires (d'après BLOCK et SCHWARTZBROD, 1982).

Isolement sur cultures cellulaires

Isolement sur tapis cellulaire constitué

Les cultures cellulaires représentent des méthodes simples d'isolement des virus. Selon les virus recherchés, certains systèmes cellulaires sont plus adaptés au développement des différents virus (voir annexe 4).

L'isolement sur tapis cellulaire se déroule en deux étapes :

- inoculation de l'échantillon et adsorption des virus sur les cellules ;
- inoculation en présence d'un milieu de survie liquide ou gélosé.

En milieu liquide, la multiplication virale se traduit par l'apparition d'un effet cytopathique et par la destruction progressive du tapis cellulaire.

Des molécules produisent le même phénomène, d'où la nécessité de confirmer l'origine virale de la cytotoxicité (BERTUCCI *et al.*, 1983 ; BLOCK et SCHWARTZBROD, 1982).

En milieu gélosé, la multiplication virale se traduit par l'apparition de plages de lyse cellulaire circulaires. Les virus qui se multiplient dans une cellule infectent et lysent les cellules qui l'entourent.

Isolement sur suspension cellulaire

Dans cette méthode très sensible, après inoculation des virus et incubation, les cellules du milieu de croissance liquide sont détruites par les virus. La couche de multiplication cellulaire est donc très altérée.

b) Isolement des virus sur l'animal

Ce procédé est surtout utilisé pour les virus qui ne peuvent pas être isolés sur cultures cellulaires classiques (virus coxsackie A et B). L'inoculation de ces virus à des souriceaux nouveaux-nés entraîne l'apparition de signes cliniques caractéristiques.

1.4.4 - IDENTIFICATION DES VIRUS

L'identification des virus peut être effectuée par l'observation de l'effet cytopathique ou par immunoneutralisation.

a) Observation de l'effet cytopathique

Sur les cultures cellulaires, l'effet cytopathique se manifeste plus ou moins tôt en fonction des virus recherchés et des cellules utilisées : 2 à 30 j (voir annexe 5).

De même, l'aspect des plages de lyse cellulaire varie en fonction des virus.

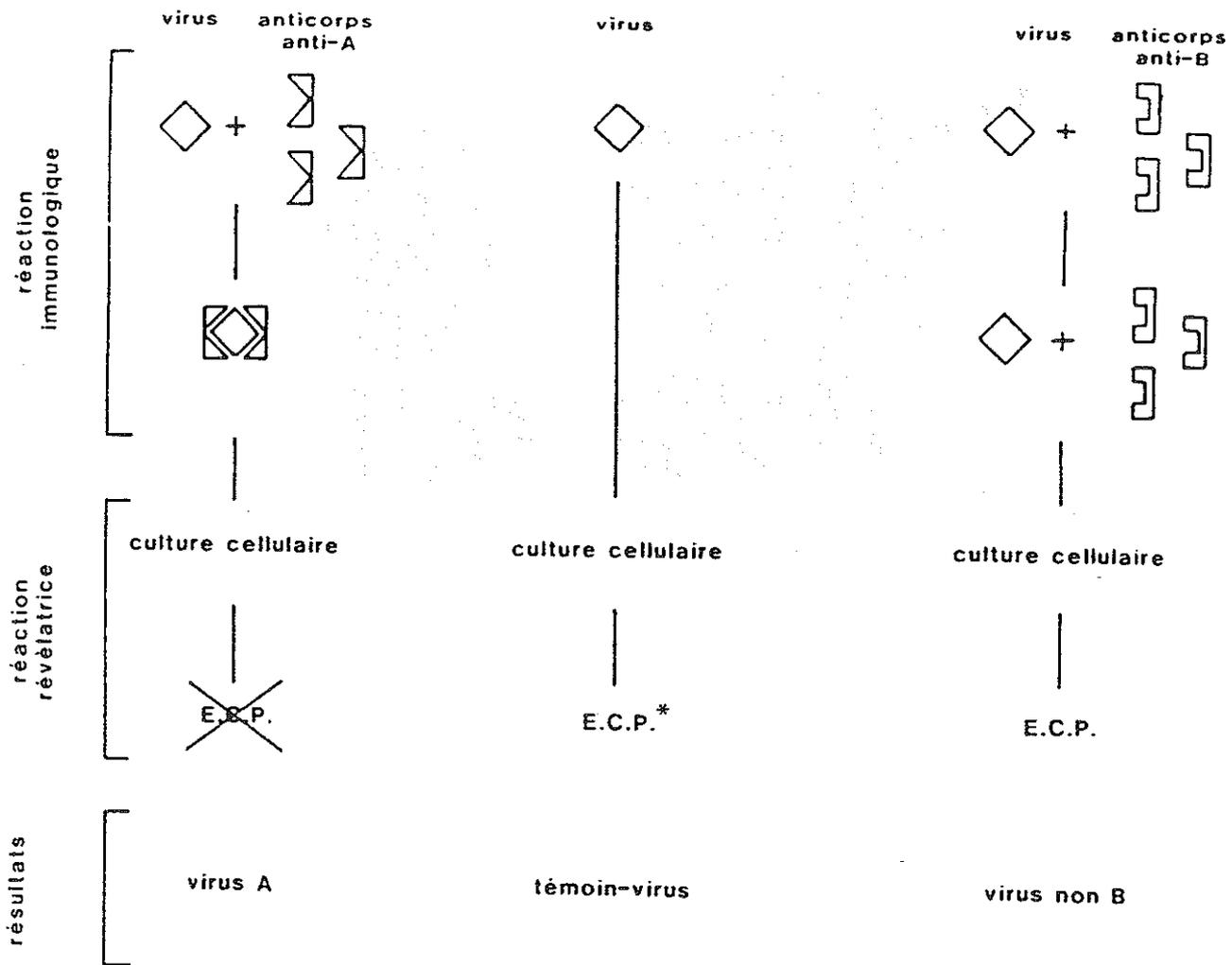
Les modifications morphologiques à l'intérieur des cellules infectées, observées après coloration, permettent l'orientation du diagnostic vers l'un des trois grands groupes suivants de virus entériques : entérovirus, adénovirus, réovirus.

b) Identification immunologique par neutralisation

Des tests immunologiques basés sur les réactions antigène - anticorps (Ag-Ac) permettent d'identifier les virus présents dans les échantillons.

Les antigènes présents à la surface des virus vont réagir avec les anticorps correspondants. Le complexe Ag-Ac ainsi formé neutralise le virus et l'empêche d'infecter les cellules, d'où l'absence d'effet cytopathique dans les cultures cellulaires.

Si un effet cytopathique se manifeste en présence d'anticorps, le virus existant ne correspond pas aux anticorps employés (fig. 13) (BLOCK et SCHWARTZBROD, 1982).



* ECP = effet cytopathique.

Fig. 13 - Principe d'une réaction de neutralisation.

Ces tests sont effectués sur des microplaques en présence de différents Ac, de suspensions de virus témoins, de cellules témoins et des virus à identifier, à des dilutions plus ou moins élevées (fig. 14).

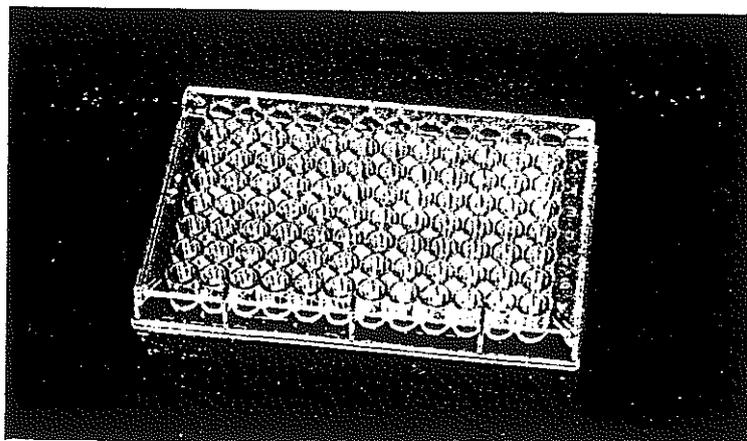


Fig. 14 - Microplaques.

c) Autres méthodes

D'autres techniques plus complexes permettent d'identifier les virus.

Par exemple, le virus de l'hépatite A, qui ne peut pas être isolé sur cultures cellulaires, peut être mis en évidence par une méthode de radio-immunologie de type sandwich. L'antigène est pris en sandwich entre deux anticorps, dont l'un est marqué à l'iode 125. La radioactivité mesurée est proportionnelle à la quantité d'Ag présents. La positivité du tests doit être confirmée (ALBERT *et al.*, 1990).

1.4.5 - QUANTIFICATION

La quantification des virus dans un prélèvement d'eau permet d'évaluer la contamination du milieu.

Elle se déroule en trois étapes :

- dilution de l'échantillon : elle diminue le nombre de virus et rend possible leur isolement ;
- inoculation à des systèmes sensibles (cultures cellulaires...) ;
- lecture et interprétation des résultats selon un mode de calcul mathématique et statistique.

Deux types de méthodes sont utilisés :

- les types énumératifs qui consistent à compter le nombre de lésions spécifiques provoquées par les virus ;

- les types quantiques ou de "tout ou rien" qui mesurent le rapport du nombre de réponses positives (présence de lésions spécifiques) au nombre total de réponses possibles (BLOCK et SCHWARTZBROD, 1982).

Expression des résultats

Le principe consiste à compter le nombre de plages de lyse cellulaire ou les flacons où le tapis cellulaire a été détruit par un virus ou par un agrégat de virus. Des calculs de probabilité permettent d'établir des fourchettes mesurant la densité virale. Les résultats, exprimés en "unité formant plage" (UFP) ou en "nombre le plus probable d'unités cytopathiques" (NPPUC), ne sont qu'une estimation de la quantité de virus présents dans l'échantillon (fig. 15).

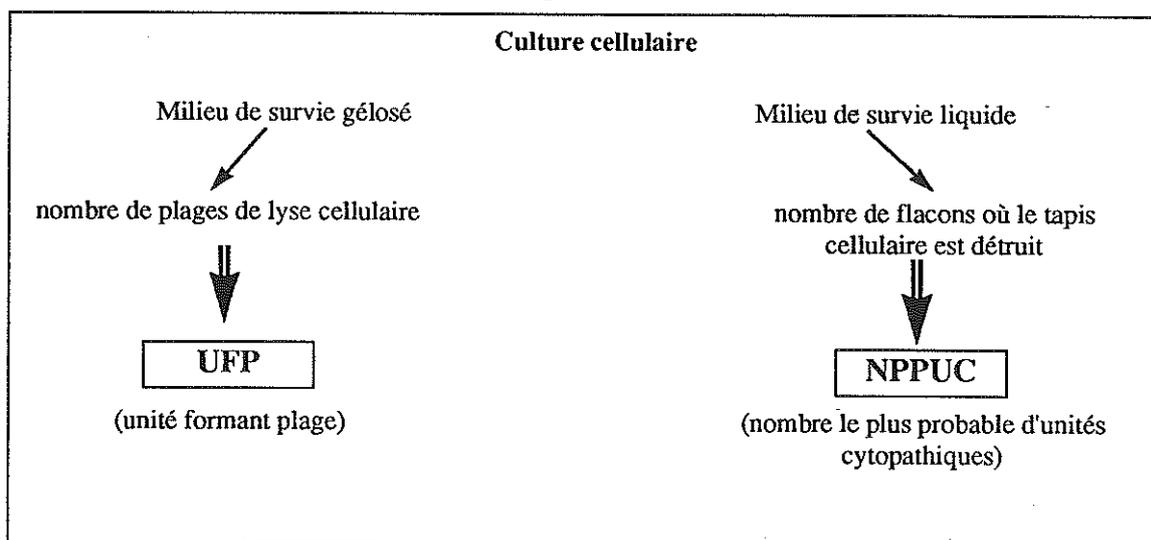


Fig. 15 - Deux possibilités de quantifier les virus.

1.4.6 - ISOLEMENT DES VIRUS DANS LES BOUES RÉSIDUAIRES ET LE SOL

a) Les boues

Le procédé de récupération des virus présents dans les boues d'eaux usées fait appel à une centrifugation de l'échantillon pour collecter les solides sur lesquels sont adsorbés les virus. Cette étape est suivie par l'éluion des virus par un tampon glycine pH 11,0 ou par de l'extrait de bœuf. D'autres éluants peuvent être utilisés, mais leur efficacité est variable (tabl. 1-7).

Après une autre centrifugation, le surnageant est concentré en milieu acide par filtration ou par floculation organique (HURST *et al.*, 1978 ; FARRAH *et al.*, 1981). Les liquides des boues peuvent être aussi concentrés par une technique utilisant la bentonite (TURK *et al.*, 1980).

Eluant	% de virus adsorbés élués
3% Extrait de bœuf, pH 9	75
0,5% Caséine isoélectrique, pH 9	58
3% Glycine, pH 9	21
3% Lysine, pH 9	20
3% Acide aspartique, pH 9	19
0,1% Dodecyl sulfate de sodium	10
0,1% Bromure de Cetyltriméthylammonium	5
0,1% Tween 80	8
Urée 2M-1% lysine, pH 9	36
Urée 4M-1% lysine, pH 9	70
Urée 6M-1% lysine, pH 9	22

Tabl. 1-7 - Elution des poliovirus adsorbés sur des floccs de boue (FARRAH *et al.*, 1981).

b) Le sol

Au cours des études sur colonne ou sur le terrain, les échantillons à analyser peuvent être des effluents ayant percolé dans le sol ou des portions du sol lui-même.

Dans le premier cas, l'analyse repose sur des procédés similaires à ceux présentés antérieurement.

Dans le second cas, il est nécessaire de désorber les virus des particules du sol à l'aide de solution d'extrait de bœuf ou de tampon glycine en milieu alcalin sous agitation. Après centrifugation de l'échantillon, le surnageant est concentré.

Il faut noter que les résultats d'analyses varient d'un laboratoire à un autre avec la même méthode utilisée sur le même sol (HURST *et al.*, 1991). Le manque de standardisation dans les colonnes expérimentales intervient aussi (BITTON *et al.*, 1979). Des pertes en virus peuvent se produire par adsorption des virus sur certains tubes de prélèvement en céramique (WANG *et al.*, 1980).

En général, le virus le plus souvent recherché est le virus de la poliomyélite, à cause de son système d'isolement sur culture cellulaire. Par contre, la détection des virus de l'hépatite A et E et des rotavirus est plus rarement effectuée. Elle demande la mise en œuvre de procédés beaucoup plus complexes (LARKIN, 1982).

La recherche des virus présents dans l'environnement hydrique et leur quantification permettent d'apprécier le degré de contamination des eaux.

1.5 - CYCLE DE CONTAMINATION DU MILIEU HYDRIQUE

Les eaux usées jouent un rôle primordial dans le cycle hydrique où interviennent les eaux superficielles, les eaux de ruissellement et les eaux souterraines. L'eau, en général, est un excellent moyen de dissémination des virus et l'eau de boisson peut contaminer l'homme quand il l'ingère (FOLIGUET, 1983). Il en est de même lors de l'adsorption accidentelle d'eau de surface au cours d'une baignade ou d'activités nautiques. Une contamination indirecte par la consommation de fruits et légumes ou de fruits de mer ayant été en contact avec des eaux usées traitées ou non est toujours possible (fig. 16, d'après BLOCK et SCHWARTZBROD, 1982, et fig. 17).

1.5.1 - CONTAMINATION VIRALE DES EAUX USÉES

La source de contamination des eaux usées a pour origine les matières fécales. Les virus rencontrés dans le milieu hydrique sont détectés dans les selles en quantités importantes (tabl. 1-8).

Références	Observations
HURST <i>et al.</i> , 1980 a	Plus de 100 types de virus sont excrétés dans les fèces.
BLOCK et SCHWARTZBROD, 1982	Le niveau moyen d'excrétion virale est de 300 particules virales par gramme de selles, soit environ 60 000 virus éliminés par-habitant et par jour
LARKIN, 1982	Un enfant, infecté par : - des rotavirus, produit 10^{11} particules virales /g de selle - des virus de l'hépatite, excrète plus de 10^5 virus/g de selle.

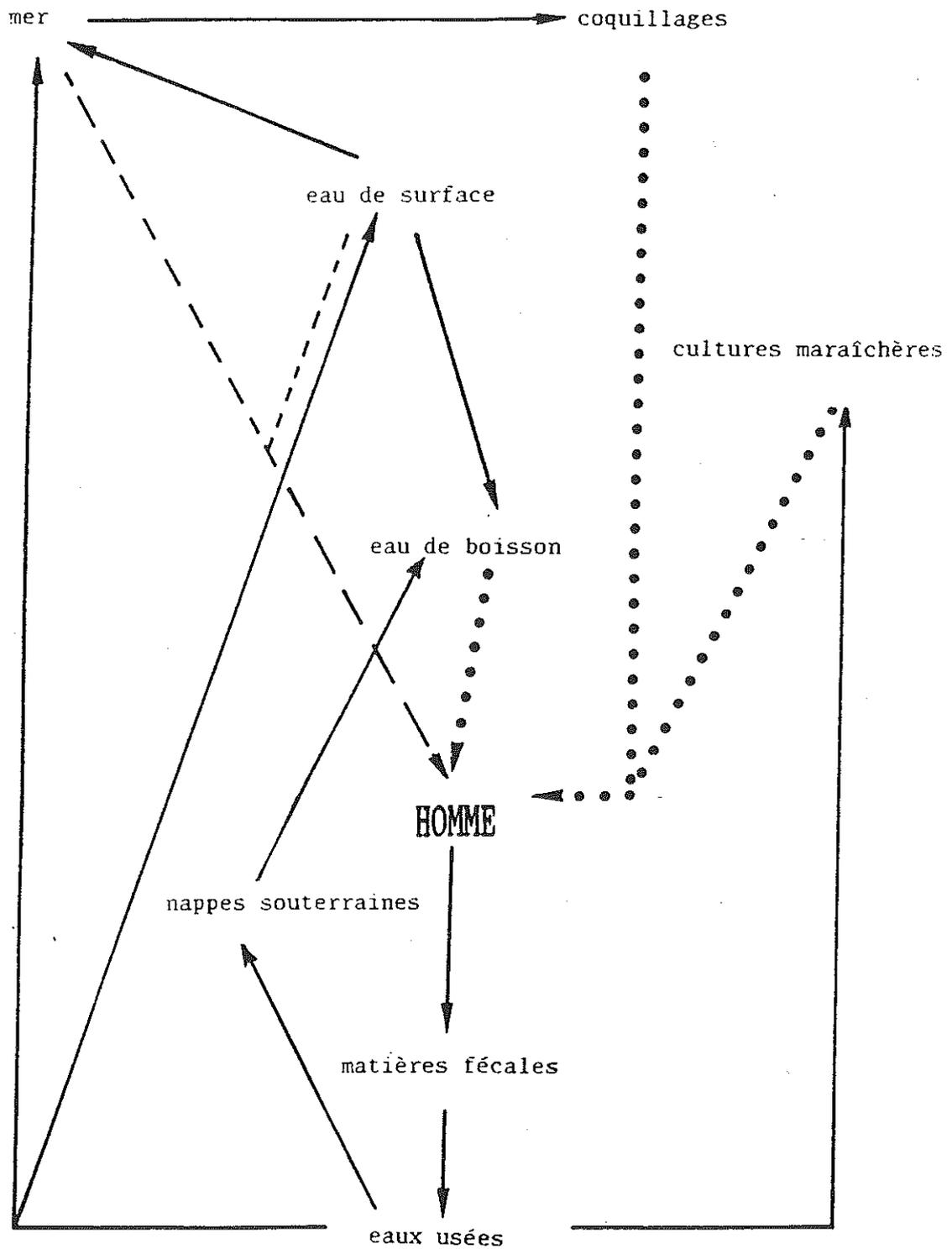
Tabl. 1-8 - Quantité de virus détectés dans les selles.

Un nombre variable de virus peut être détecté dans les eaux usées selon leur provenance (BLOCK et SCHWARTZBROD, 1982). Ces eaux usées brutes vont donc subir différents traitements (tabl. 1-9) entraînant une baisse plus ou moins importante des virus.

Les quantités de virus retrouvés dans les rivières ou les fleuves sont parfois encore importantes. Par contre, elles sont nettement plus faibles dans l'eau de mer, mais des particules virales ont été retrouvées jusqu'à 5 km au large du point de rejet des eaux usées (BLOCK et SCHWARTZBROD, 1982).

Ainsi, certaines épidémies ont pu avoir été induites par la consommation de fruits de mer ayant été contaminés par des eaux usées.

Comportement des virus en géopuration



- Contamination de l'environnement par l'homme
- - - - Contamination de l'homme au cours de ses activités
- Contamination de l'homme par l'alimentation

Fig. 16 - Voies de contamination virale de l'homme à partir des matières fécales et des eaux usées.

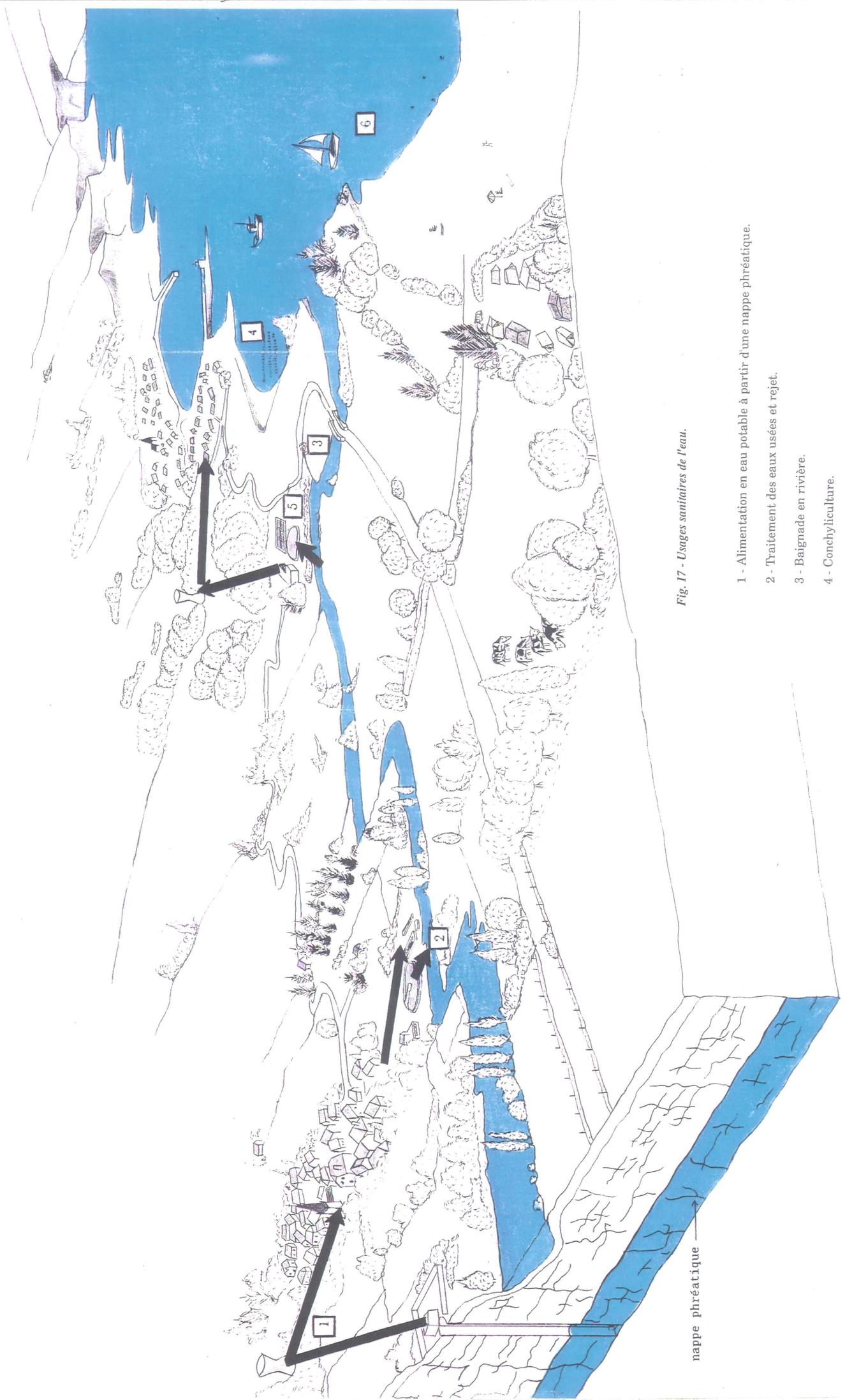


Fig. 17 - Usages sanitaires de l'eau.

- 1 - Alimentation en eau potable à partir d'une nappe phréatique.
- 2 - Traitement des eaux usées et rejet.
- 3 - Baignade en rivière.
- 4 - Conchyliculture.
- 5 - Alimentation en eau potable à partir d'eaux de surface.
- 6 - Baignade en mer.

nappe phréatique

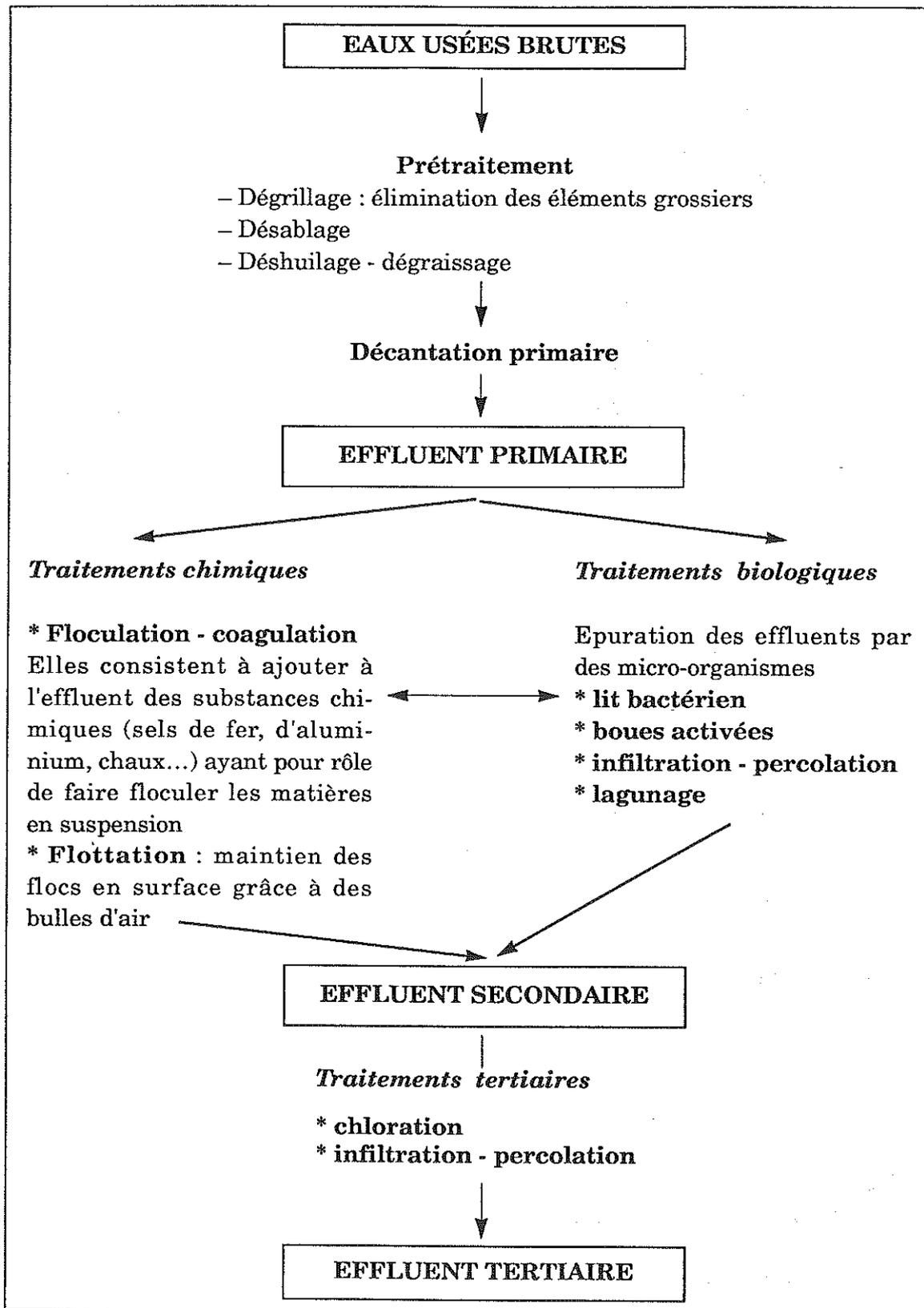


Tableau 1-9 - Traitement des eaux usées (d'après MEOT, 1990).

1.5.2 - CONTAMINATION DES NAPPES SOUTERRAINES

Une contamination des nappes phréatiques par les eaux usées est toujours possible. Elle a principalement pour origine l'infiltration à partir des fosses septiques, les fuites des canalisations d'égouts, les fissures au niveau des bassins (lagunage), les bassins de recharge de l'eau souterraine et l'épandage d'eaux usées, traitées ou non.

Par exemple, 24 h après irrigation avec un effluent ou avec des boues de stations d'épuration contenant 10^6 UFP/ml de poliovirus 1, on retrouve 10^4 à 10^5 UFP par gramme de sol (LARKIN, 1982). Or, des études récentes indiquent que les virus peuvent migrer sur de longues distances dans le sol et y survivre (SINGH *et al.*, 1986), d'où un risque de contamination des eaux souterraines, qui peuvent être par la suite utilisées comme eaux d'alimentation.

1.5.3 - CONTAMINATION VIRALE DES EAUX DE DISTRIBUTION

Les eaux de surface peuvent être utilisées comme eaux de boisson. Il est donc nécessaire, qu'après traitement, elles soient de grande qualité, mais la présence de virus est toujours possible. Ils semblent avoir été impliqués dans certaines épidémies (voir annexe 6).

La charge en virus est très importante dans l'effluent primaire, et seuls les virus adsorbés sur des particules assez lourdes sont entraînés et éliminés lors de la décantation. Les autres traitements effectués sont plus efficaces.

Les estimations actuelles de l'évolution théorique des virus fécaux au cours du cycle hydrique admettent une réduction de (FOLIGUET, 1983) :

- 90% au cours du traitement d'une station d'épuration ;
- 90 à 99% à la suite d'un séjour en eaux superficielles ;
- 99 à 99,9999% après traitement physico-chimique sans désinfection ;
- 99 à 99,9999% après désinfection.

Ainsi, même avec des traitements efficaces, le rejet de virus dans le milieu extérieur est toujours possible, et ce en grande quantité si l'on considère le volume total d'eau épurée rejetée chaque jour (annexe 7). Une installation industrielle d'eau potable traite plusieurs centaines de milliers de mètres cubes d'eau par jour. Comme quelques micro-organismes passent, il est tout à fait possible que quelques virus en fassent autant.

D'une façon générale, l'efficacité varie énormément selon la conception et le fonctionnement de l'usine de traitement, la qualité de l'eau brute à traiter, la température et d'autres facteurs (FOLIGUET, 1983).

1.5.4 - CONTAMINATION VIRALE DES EAUX DE SURFACE

Les conditions de survie dans le milieu extérieur sont plus ou moins favorables aux virus, d'où une diminution de leur concentration. L'effet de dilution explique les faibles taux de virus par litre. Ces taux varient avec la distance entre le point de prélèvement et le point de décharge des effluents (annexe 8).

Il a été estimé que si chaque individu d'une ville de 150 000 habitants consomme 2 l d'eau par jour distribuée à partir d'une usine de traitement qui débite 100 000 m³/j, soit une consommation globale de 300 000 l, le nombre de particules virales susceptibles d'entrer dans le réseau de distribution est de 10⁴ particules. En supposant que ces 10⁴ particules aient une répartition homogène, ce qui est peu probable, dans les 300 000 l ingérés, il y a 30 particules donc, au maximum, 30 personnes sur 150 000 risquent d'en absorber une. Et sur ces 30 personnes, de 1/10 à 1/1000 sont susceptibles de développer une maladie cliniquement décelable selon le virus en cause. C'est-à-dire qu'il y a de [30/150 000 x 1/10] à [30/150 000 x 1/1000], soit 1 chance sur 50 000 à 1 chance sur 5 millions de développer la maladie (FOLIGUET, 1983).

Comme il est impossible d'obtenir un taux nul de virus dans le milieu hydrique, il pourrait être intéressant de connaître la dose minimale infectante (DMI).

Au total, les effluents d'égouts qui sont traités au niveau des stations d'épuration contiennent des virus. Ces virus sont rejetés dans le milieu extérieur où ils contaminent les eaux de surface, les eaux souterraines et les eaux de boisson. Il sera donc intéressant d'envisager le devenir des virus dans le milieu hydrique et dans le sol.

2 - SURVIE DES VIRUS ENTÉRIQUES DANS L'ENVIRONNEMENT HYDRIQUE

La transmission de maladies virales par de l'eau contaminée dépend de la survie de l'agent de la maladie. Les virus présents dans le milieu hydrique pendant de longues périodes sont susceptibles d'infecter un organisme hôte. Il est donc important de connaître les facteurs environnementaux qui peuvent faciliter l'élimination des virus ou leur survie.

Nous verrons donc successivement les facteurs physiques, chimiques et biologiques qui interviennent.

2.1 - FACTEURS PHYSIQUES

2.1.1 - LA TEMPÉRATURE

La température de l'effluent est un facteur important pour la survie des virus. Différentes études ont montré que l'inactivation des virus à basse température (environ 4 °C) est beaucoup plus faible qu'à des températures plus élevées.

Des expériences ont été réalisées avec de l'eau de rivière pour évaluer les effets de la température sur les taux d'inactivation de 2 virus : Echovirus type 12 et Rotavirus souche SA 11 (WARD *et al.*, 1986). Les résultats obtenus indiquent que le taux d'inactivation de ces deux virus est corrélé à la température (fig. 18). Les virus survivent beaucoup plus longtemps à 4 °C.

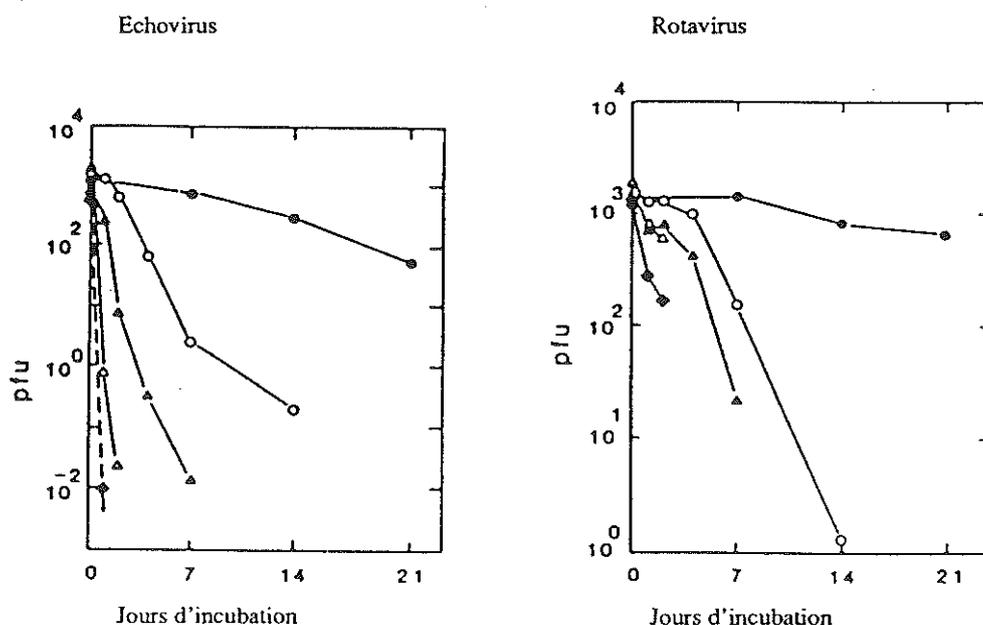


Fig. 18 - Effet de la température sur les taux d'inactivation de 2 virus dans de l'eau de rivière. Les températures d'incubation sont de 4 °C (°); 16 °C (O), 23 °C (▲), 29 °C (Δ) et 37 °C (◆) (WARD *et al.*, 1986).

Puisque les virus survivent plus longtemps à des basses températures qu'à des températures élevées (tabl. 2-1), il est important de savoir combien de temps ils survivent dans les boues.

Les boues contiennent un grand nombre de virus pathogènes qui seront lentement inactivés à 2° ou 4 °C (environ 180 j) (tabl. 2-1). Par contre, une digestion des boues à 30-35 °C ou à 50 °C est très efficace (HURST *et al.*, 1989 a).

La persistance des virus dans l'environnement est donc liée à la température qui agit en synergie avec d'autres paramètres tels que les rayonnements ultra-violetts et l'humidité.

2.1.2 - LES RAYONNEMENTS ULTRA-VIOLETS

Les rayonnements ultra-violetts ont une action virucide poussée s'ils sont appliqués sur une couche d'eau de faible épaisseur.

Lors d'un traitement avec des ultra-violetts, l'eau doit être claire, sans turbidité ni couleur, sans fer, sans colloïdes organiques ou micro-organismes planctoniques, pour ne pas gêner la pénétration du rayonnement par formation de dépôts sur les tubes. La qualité de l'eau doit être constante.

Les ultra-violetts détruisent les cellules vivantes ou les inactivent lorsqu'ils les atteignent. Ils ont une action limitée à la surface de l'eau (DEGREMONT, 1978).

2.1.3 - HUMIDITÉ

L'humidité est un facteur important pour la survie des virus dans le sol. L'évaporation pourrait augmenter leur inactivation dans les boues et les suspensions aqueuses (DUBOISE *et al.*, 1979). Nous verrons donc successivement les différents états de l'eau, l'incidence de taux d'humidité constants ou décroissants, et des mécanismes possibles d'inactivation selon l'humidité.

a) Différents états de l'eau

• **eau libre** = eau en excès. Elle n'est pas liée aux constituants du sol, elle s'évapore ou subit l'action de la gravité.

• **eau d'adsorption** = eau adhérente. Elle correspond au taux d'humidité d'un produit. Elle est en équilibre avec le milieu extérieur. Elle forme un film qui enveloppe les particules (épaisseur $\approx 15 \text{ \AA}$).

Comportement des virus en géoépuration

VIRUS	Environnement	Température °C	Baisse (↘) du nombre de virus ou survie	Références
Echo12 Rota SA 11 Polio	EAU de rivière	4 16 27	Inactivation lente ↘ de 99,9% en 14 jours ↘ de 90 à 99,9% en 2 jours ↘ de 98,4 à 99,97% en 4 jours	WARD <i>et al.</i> (1986)
Coxsackie B ₃ Echo 7 Polio 1	EAU douce	22 1 -20	↘ de 6,5 à 7 log ₁₀ en 8 semaines ↘ 4 à 5 log ₁₀ en 12 semaines ↘ 0,4 à 0,8 log ₁₀ en 12 semaines	HURST <i>et al.</i> (1989 b)
Enterovirus	BOUES biologiques	5	grande stabilité pendant 38 jours aucune ↘ du nombre de virus	BERG <i>et al.</i> (1988)
Coxsackie B ₃	BOUES digérées aérobiquement	hiver danois -12 à -14,8 (moyenne 1,7)	après 23 semaines, aucun virus n'est détecté	DAMGAARD-LARSEN <i>et al.</i> (1988)
Virus entériques indigènes	BOUES activées primaires	23 2 -70	26 j ↘ de 90% des virus en 180 j 163 j (étude effectuée sur 84 j puis estimation par des calculs)	HURST et GOYKE (1986 a)
Virus entériques indigènes	Eluats de BOUES	23 2 -70	27 j ↘ de 90% des virus en 190 j 370 j (étude sur 80 j)	HURST et GOYKE (1986 b)
	Digestion des BOUES	30-35 50	Inactivation de 50 à 99% par jour Inactivation de 99,9999% par jour	HURST (1989 a)
Polio	SOL sablonneux	4 20	↘ de 1 log en 84 jours ↘ de 5 log en 84 jours	DUBOISE <i>et al.</i> (1979)
Polio 1 Coxsackie B ₁	SOL sablonneux	4 37	persistance des virus pendant 180 jours au moins peu d'infectivité après 12 jours	YEAGER et O'BRIEN (1979)
Polio 1 (Lsc) Phage F ₂	SOL : sable saturé avec de l'eau distillée	20	après 63-90 j : aucun virus infectant - 0,21% des F ₂ sont infectants après 175 j.	DUBOISE <i>et al.</i> (1979)
Coxsackie B ₃ Echo 7, 9 Polio 1 (Lsc-2ab)	SOL : humidité modérée sol plus sec	3 à 10 18 à 23	survie jusqu'à 170 jours après 15-25 jours : aucun virus	DUBOISE <i>et al.</i> (1979)
Polio 1 (Lsc-2ab)	SOL : parcelles recevant des boues ou un effluent second ^{re}	hiver	boues : virus survivent 90 jours effluent second ^{re} : virus survivent 89 jours	DUBOISE <i>et al.</i> (1979)

Tableau 2-1 - Effet de la température sur la survie des virus.

- **eau capillaire.** C'est l'eau retenue par la force capillaire. Lorsque le diamètre des capillaires est faible ($0,1 \mu$), il se produit un phénomène d'hygroscopie : la force capillaire est supérieure à la tension de vapeur donc l'eau ne s'évapore pas.

- **eau de constitution.** Elle fait partie intégrante de la structure chimique du produit.

L'eau qui intervient pour la survie des virus est surtout sous forme libre ou adhérente, ce qui correspond au taux d'humidité.

b) Influence d'un taux d'humidité constant

Il a été observé que, lors de l'application de boues digérées aérobiquement et anaérobiquement, renfermant des poliovirus type 1 et des échovirus type 1, sur le sol, ces virus étaient détectés pendant plus de 35 jours au cours d'un été humide (température dans le sol : $23,5^\circ$ à 29°C).

Par contre, pendant un été sec, aucun virus n'est détecté après 8 jours (température : 18 à 27°C) (BITTON *et al.*, 1984). Le taux d'humidité relative est donc un facteur non négligeable dont l'effet a été mis en évidence par YEAGER et O'BRIEN (1979).

Cette étude a été réalisée à partir de prélèvements de sol qui ont ensuite été ensemencés avec des poliovirus marqués radioactivement et placés dans des dessiccateurs pour obtenir des taux d'humidité différents. Les virus ont alors été élués, l'éluat a été titré en virus (UFP) et la radioactivité a été mesurée.

La figure 19 montre que les poliovirus sont essentiellement inactivés au même taux lorsque l'humidité est de 18, de 2,9 ou de 4,7% dans les échantillons. Des taux d'humidité très bas (0,6 à 1,2%) sont nécessaires pour obtenir une élimination très rapide des virus. Etant donné l'écart entre les pourcentages utilisés dans ces expériences, il est nécessaire de préciser ce qui se passe avec d'autres taux d'humidité.

HURST *et al.* (1980 b) ont étudié les effets de l'humidité sur la survie des poliovirus dans le sol de Flushing Meadows. Les tracés de points correspondant à des valeurs moyennes pour 5, 10, 15, 25 et 40% d'humidité laissent apparaître les tendances suivantes (fig. 20) :

- la survie des virus diminue quand l'humidité augmente jusqu'au point de saturation du sol (ici à 15% d'humidité) ;
- la survie augmente à nouveau quand le taux d'humidité est supérieur à ce point de saturation ;
- rien n'est précisé lorsque le taux d'humidité est inférieur à 5%.

Comportement des virus en géoépuration

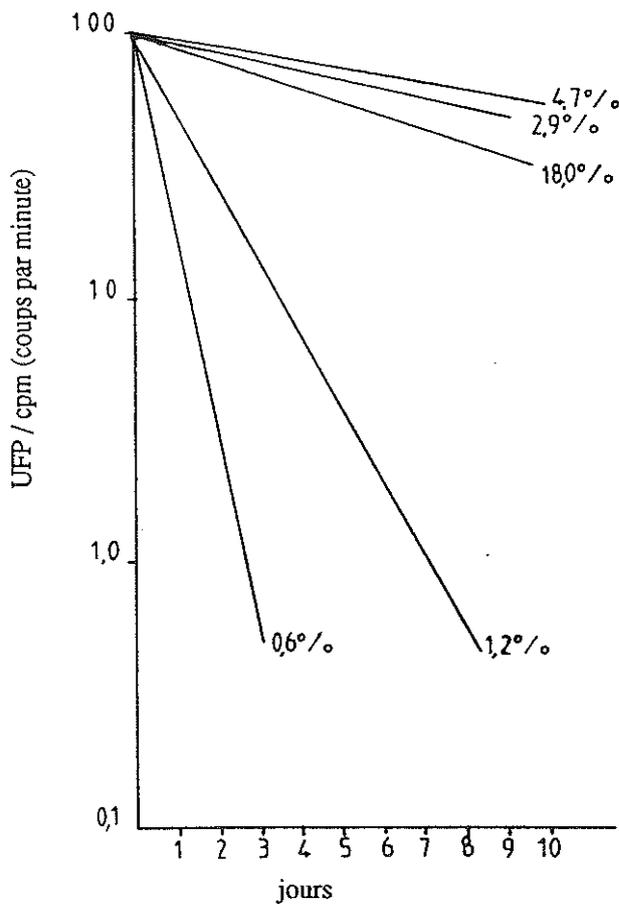


Fig. 19 - Inactivation des poliovirus type 1 à des niveaux d'humidité du sol variés.

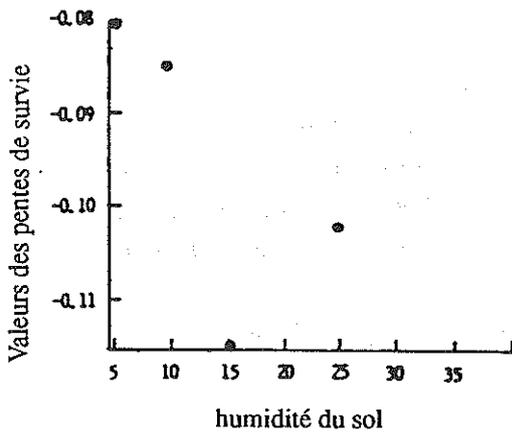


Fig. 20 - Report des valeurs des pentes de survie en fonction du taux d'humidité du sol.

Il semble que la survie soit à son point minimal près du point de saturation. Aucune corrélation linéaire n'existe entre les différentes valeurs obtenues.

La valeur du point de saturation varie entre 15 et 25% en général. Ainsi, DUBOISE *et al.* (1979) ont constaté une survie plus importante à un taux d'humidité de 15% qu'à 25% dans un sol à 20 °C (tabl. 2-2).

Comportement des virus en géoépuration

Jours	% de virus récupérés à différents taux d'humidité		
	25%	15%	Assèchement*
1	69	99	74 (13,1)
3	41	138	35 (10,9)
8	22	44	0,3 (6,2)
10	17	40	0,08 (5,5)
14	13	53	0,02 (4,6)
21	10	24	nd
28	5	12	0,003 (4,6)
42	2	9	nd
49	1	5	0,002 (0,6)
80	0,2	0,7	nd
100	0,07	0,4	nd
134	0,004	0,2	nd

* valeurs entre () : taux d'humidité (%) pendant l'assèchement à température ambiante
nd : virus non détectés

Tableau 2-2 - Effet de l'humidité du sol sur la survie des poliovirus à 20 °C (DUBOISE et al., 1979).

c) Influence d'un taux d'humidité décroissant

L'évaporation de l'eau du sol semble responsable de la baisse de l'infectivité. En effet, l'assèchement à 20 °C d'un sol sablonneux entraîne une diminution des virus de 99,9 % en 10 jours (tabl. 2-2). A titre comparatif, une température de 30 °C serait nécessaire pour obtenir une telle chute avec 15% d'humidité (DUBOISE et al., 1979).

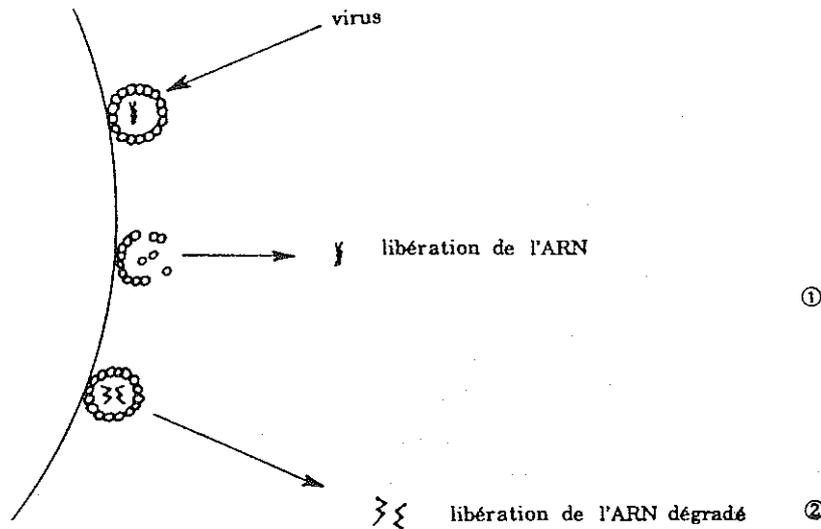
Une étude identique a été réalisée avec des échantillons de solensemencés par des poliovirus placés dans des tubes ouverts ou fermés qui sont asséchés à 4, 22 et 37 °C. Aucun virus infectant n'a été récupéré dans les échantillons ouverts après, respectivement, 30, 16 et 3 j d'assèchement. Par contre, les tubes où l'humidité est restée constante contiennent de fortes quantités de virus (YEAGER et O'BRIEN, 1979).

Ainsi, la température et l'assèchement agissent en synergie pour éliminer les virus.

L'utilisation de virus marqués radioactivement a permis de définir des mécanismes possibles d'inactivation.

d) Mécanismes d'inactivation des poliovirus

L'inactivation des poliovirus fixés sur des solides dans des sols humides ou asséchés s'effectue par des mécanismes différents (fig. 21).



- ① lors de l'assèchement d'un sol stérile, l'ARN viral est libéré des capsides. La capside reste apparemment fixée irrévérablement sur le sol.
- ② dans les sols humides, l'ARN viral est endommagé avant la dissociation de la capside.

Fig. 21 - Mécanismes d'inactivation des virus (GERBA, 1984).

Dans des conditions non stériles, l'ARN n'est dégradé par l'activité biologique que lorsqu'il est libéré de sa capside (GERBA, 1984).

La fixation irréversible des virus sur le sol est possible quand il est asséché (BITTON *et al.*, 1984).

Ces mécanismes pourraient être appliqués au comportement des virus dans les aérosols, mais tous les virus qui se trouvent dans un environnement hydrique ne se fixent pas sur des surfaces solides. D'autres facteurs, chimiques et biologiques, agissent sur la survie ou non des virus qui sont sous forme libre.

2.2 - FACTEURS CHIMIQUES

L'influence des facteurs chimiques, tels le pH, la présence d'ions, de détergents, la salinité, sur la survie des virus est directement liée à leur constitution physico-chimique.

2.2.1 - LE pH

A des valeurs de pH différentes, les interactions électrostatiques et hydrophobes varient et agissent sur le comportement des virus.

Si l'épaisseur de la couche diffuse des ions entourant le virus diminue, l'approche des surfaces sera plus facile et ainsi les forces attractives auront un effet. Les virus pourront s'associer à divers supports ou s'agglomérer.

De plus, selon le pH, la charge des virus varie. Tous les virus n'ont pas le même point isoélectrique ; donc, à un même pH, certains virus seront chargés positivement et d'autres négativement. Ainsi, les interactions électrostatiques vont être à l'origine de la formation d'agrégats (GERBA, 1984).

D'une manière générale, l'adsorption des virus a un effet protecteur donc augmentera leur survie. Ainsi, la survie de poliovirus 1, échovirus 7,9 et coxsackie virus B1 dans un sol sablonneux a été trouvée plus longue à pH moyennement alcalin (pH 7,5) (DUBOISE *et al.*, 1979).

Le pH non seulement agit sur les virus, mais aussi sur les composés qui peuvent se trouver dans l'eau : détergents, ammoniaque, agents flocculants. Ainsi, BERG *et al.* (1988) ont constaté qu'un pH compris entre 6 et 8 dans les boues d'une station d'épuration n'entraîne pas la destruction des entérovirus par les détergents et l'ammoniaque. L'ammoniaque NH_3 est un puissant agent virucide dans des conditions appropriées de pH, mais NH_4^+ ne semble pas entérovirucide. Bien que des quantités significatives de NH_3 et NH_4^+ arrivent dans la plupart des boues, il y a peu de NH_3 en dessous de pH 8.

De même, un détergent anionique, le dodécyl sulfate de sodium, détruit rapidement les poliovirus à pH inférieur à 6 et non à pH plus élevé. A pH entre 6 et 8, le détergent pourrait protéger les entérovirus contre l'inactivation par la chaleur.

L'un des moyens efficaces pour éliminer les virus des eaux usées est donc d'augmenter le pH. Ainsi, lors du traitement des eaux usées, l'étape de floculation en présence d'un excès de chaux permet non seulement d'accélérer la sédimentation des virus adsorbés sur les floes, mais aussi de les inactiver à ce pH élevé. La présence de certains ions peut favoriser la formation des floes et donc participer à l'élimination des virus.

2.2.2 - LA PRÉSENCE D'IONS

Les ions existants dans l'environnement hydrique agissent sur le comportement des virus et leur survie.

La survie des poliovirus dans du sable saturé avec de l'eau distillée augmente si elle contient du chlorure de calcium (CaCl_2 , 0,01 N) et du chlorure de magnésium (MgCl_2 , 0,001 N) (DUBOISE *et al.*, 1979). L'inactivation des entérovirus dépend des différents ions présents. Même quand les conditions environnementales sont très stables, la distribution des ions dans les solutions n'est pas uniforme, notamment pour les cations.

L'action des ions se situe surtout au niveau des interactions hydrophobes et électrostatiques.

Les agents qui peuvent rompre les interactions hydrophobes sont appelés chaotropiques. Ils bouleversent la "structure de l'eau" et donc rendent les solutions plus lipophiles. Les solutions contenant des ions chaotropiques solubilisent les protéines de membrane et les composés organiques tels que l'adénine. Ces ions sont relativement gros : trichloracétates, thiocyanates, et iodures (GERBA, 1984 ; SHIELDS et FARRAH, 1983).

Au contraire les ions qui favorisent les interactions hydrophobes en augmentant la "structure de l'eau" sont dits antichaotropiques. En augmentant l'ordre des molécules d'eau, la capacité de solutions à loger les groupements hydrophobes est réduite et les interactions hydrophobes entre les groupes apolaires sont accrues. Les ions antichaotropiques sont généralement petits : fluorures, citrates, nitrates, calcium, magnésium. Ils vont donc favoriser l'adsorption des virus (GERBA, 1984 ; SHIELDS et FARRAH, 1983).

Ces différents effets ont été mis en évidence grâce à des filtres membranaires chargés négativement. Les figures 22 et 23 illustrent les phénomènes qui se produisent.

La présence de cations divalents va donc agir sur l'adsorption des virus et, par ce biais, sur leur survie dans les effluents et dans le sol. Cette augmentation de l'adsorption des virus explique la corrélation positive qui existe entre la survie des virus et l'aluminium échangeable des sols (HURST *et al.*, 1980 b).

A l'opposé, les anions phosphates diminuent la survie des virus. Ils pourraient inhiber leur adsorption sur les précipités formés au cours de la floculation (*op. cit.*)

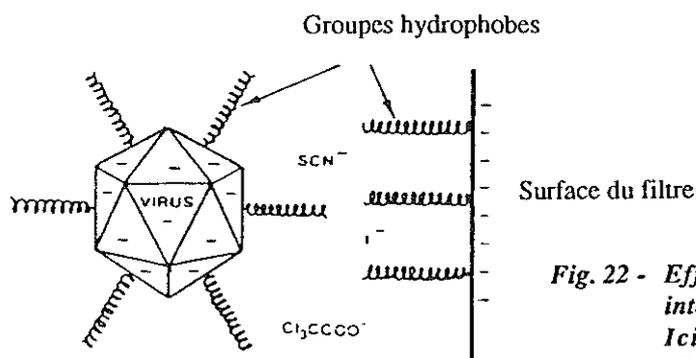


Fig. 22 - Effet des agents chaotropiques sur les interactions virus - filtre. Ici, c'est l'éluion qui est favorisée (GERBA, 1984).

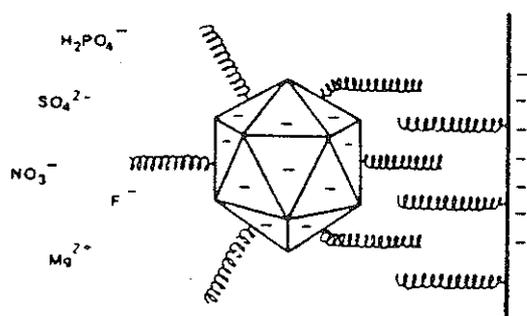


Fig. 23 - Effet des ions antichaotropiques sur les interactions virus - filtre. Les interactions hydrophobes sont favorisées et l'adsorption se produit (GERBA, 1984).

L'absence d'ions comme le calcium entraîne l'inactivation de certains virus dont le rotavirus SA 11. Cet ion est indispensable pour stabiliser sa capsid (WARD *et al.*, 1986).

Le chlorure de sodium, qui est un sel antichaotrope, influe aussi sur la constitution d'agrégats.

2.2.3 - LA SALINITÉ

SOBSEY *et al.* (1980) ont évalué l'effet du pH et de la salinité sur l'adsorption des virus sur des particules de sol en suspension dans des eaux usées. L'adsorption dépend du type de sol, mais pour les sols peu adsorbants, un pH faible et une teneur en chlorure de sodium (NaCl) élevée (3,5 g) l'augmentent. Cette adsorption est toutefois inférieure à celle obtenue avec le chlorure de magnésium (Mg Cl₂).

L'éluion des virus adsorbés dans le sol par un tampon NaCl 3,5% est inefficace. Il en est de même avec les poliovirus adsorbés sur les membranes filtrantes (SHIELDS et FARRAH, 1983).

La salinité de l'eau favorise donc l'adsorption des virus et ne nuit pas à leur existence dans les milieux marins.

Par contre, l'action combinée de la salinité et de détergents ne provoque pas l'adsorption attendue (voir § 3.2 Elution).

2.2.4 LES DÉTERGENTS

Les détergents sont des composés tensio-actifs synthétiques dont la présence dans les eaux est due aux effluents urbains et industriels. Ils modifient les tensions superficielles des surfaces (DEGREMONT, 1978).

En ce qui concerne les virus, ils diminuent leur adsorption et favorisent leur élution, donc leur existence sous forme libre dans certaines conditions (voir § 3.2 Elution).

Sous forme non adsorbée, les virus sont plus sensibles aux agents extérieurs et peut-être aux désinfectants.

2.2.5 - LA DÉSINFECTION

L'addition de désinfectants tels que le chlore ou l'ozone pendant le traitement des eaux usées présente une action virucide.

a) Le chlore

La qualité de désinfection du chlore dépend du pH de l'eau. Il est plus efficace sous forme d'acide hypochloreux (HClO) c'est-à-dire à un pH inférieur à 7,5.

L'acquisition par certaines souches de poliovirus type 1 d'une résistance au chlore a été signalée. Cette résistance existe aussi lors des essais de laboratoire (FOLIGUET, 1983).

Des analyses, effectuées au niveau d'une station de traitement des eaux par les boues activées et le chlore, révèlent la présence de virus dans l'effluent traité (tableau 2-3).

Origine de l'échantillon	Nb* d'échantillons testés	Volume de l'échantillon (l)	Nb et % d'échantillons positifs	Concentration en virus (UFP l ⁻¹)
Egout brut	11	1-6	11 (100%)	27-19 000
Effluent traité par les boues activées	17	2-16	13 (76%)	7-5222
Effluent chloré	53	5-20	31 (58%)	2-750

* Nb = nombre

Tableau 2-3 - Quantité de virus isolés dans la station d'épuration de Mililani (FUJIOKA et LOH, 1978).

Bien qu'un traitement par les boues activées et le chlore élimine 90% des virus des égouts bruts, l'effluent final contient encore une concentration significative de virus infectants. 23 des 26 poliovirus isolés étaient ceux de la souche vaccinale, mais les 3 autres étaient virulents (FUJIOKA et LOH, 1978)

Les réovirus sont les plus stables, car après chloration seulement 28% sont éliminés contre respectivement 93% et 85% pour les entérovirus et les adénovirus (Mc CONNEL *et al.*, 1984).

b) L'ozone

L'ozone a une action d'oxydation par addition d'un atome d'oxygène. Elle agit sur les protéines et les enzymes au niveau des doubles liaisons des molécules, ce qui lui permet d'être efficace contre les virus (DEGREMONT, 1978).

Parmi les facteurs physico-chimiques, les plus importants sont :

- le pH qui conditionne l'action des ions, des détergents et du chlore ;
- la température et l'humidité qui interviennent au cours des phénomènes d'assèchement.

Mais la part des facteurs biologiques n'est pas à négliger.

2.3 - FACTEURS BIOLOGIQUES

L'activité antivirale des eaux peut être reliée à la présence de facteurs biologiques tels que les bactéries ou les fungi.

La mise en évidence des agents concernés et la connaissance de leur mécanisme d'action sont nécessaires pour définir leur rôle.

2.3.1 - ACTIVITÉ ANTIVIRALE DES BOUES BIOLOGIQUES ET DES EAUX

a) Mise en évidence des agents virucides

Différentes études ont été effectuées pour évaluer l'effet des micro-organismes sur la survie des virus. Elles utilisaient soit des températures variables, soit des milieux stériles ou non, soit des milieux en anaérobiose ou en aérobiose.

Effet de la température

L'effet de la température à laquelle sont sensibles les micro-organismes et les produits microbiens a été étudié en eau douce et en présence d'échovirus 12.

Les prélèvements d'eau de rivière ont été incubés pendant une heure à 40 °C, 50 °C ou 60 °C avant d'êtreensemencés par les virus. Ils ont ensuite été placés à 23 °C. L'infectivité spécifique des échantillons a alors été mesurée (fig. 24).

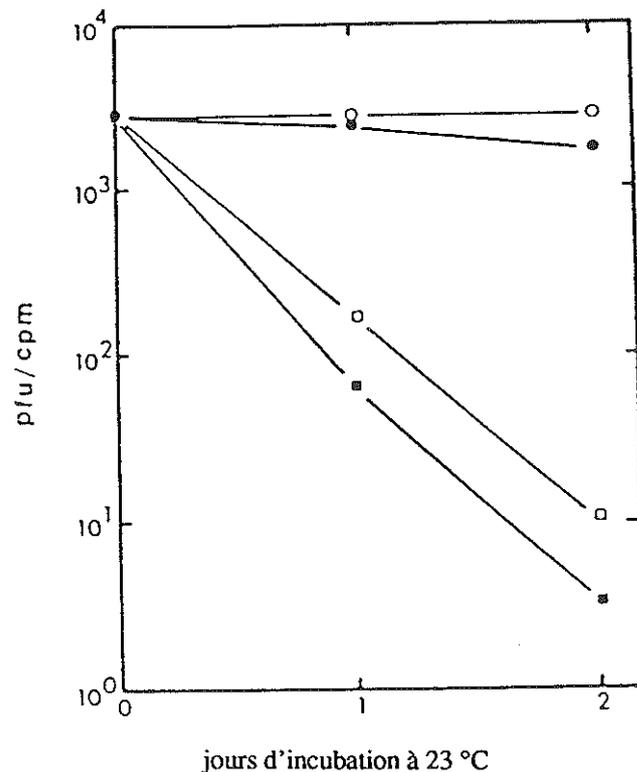


Fig. 24 - Effet du traitement par la chaleur sur l'activité virucide d'une eau douce. Les échantillons ont été précédemment chauffés à 40 °C (□), 50 °C (●), 60 °C (○) ou n'ont subi aucun traitement (■) (WARD *et al.*, 1986).

Le fait d'avoir chauffé une heure à 40 °C a entraîné une perte partielle de l'activité virucide. Par contre, à 50 ou 60 °C, l'activité virucide est quasi inexistante.

Ces résultats suggèrent que les micro-organismes pourraient causer la perte de l'infectivité des virus dans l'eau douce (WARD *et al.*, 1986).

D'autres expériences qui éliminent ou inactivent les micro-organismes vont confirmer cette hypothèse.

Etude en milieux stériles ou non stériles

L'eau douce stérile n'a aucune activité virucide. Elle peut acquérir cette propriété si des micro-organismes y sont ajoutés. Un mélange d'eau douce stérile, d'eau douce non traitée et d'échovirus type 12 a été incubée à 26 °C. Il se produit une importante croissance microbienne qui se traduit par une multiplication par 10⁴ des micro-organismes en 1 à 2 jours à 26 °C. L'activité virucide se manifeste surtout dans les deuxièmes 24 h de la croissance microbienne (WARD *et al.*, 1986) (dans le texte de WARD, il s'agit bien d'une activité virucide. Le mécanisme d'inactivation de l'échovirus 12 a été établi avec précision dans ces expériences -voir p. 59. Il ne se limite pas à un simple phénomène d'adsorption sur les bactéries puisque les protéines de la capsid du virus sont endommagées). Pour savoir si les bactéries virucides sont GRAM + ou GRAM -, des colonies de bactéries, isolées de l'eau douce, ont étéensemencées dans de l'eau douce autoclavée.

Isolat	GRAM	Survie des virus (%) Après 2 jours à 26 °C
1	+	86,0
2	-	0,2
3	-	7,4
4	+	2,0
5	+	0,2
6	-	0,03
7	-	0,7
8	-	0,03
9	+	0,05
10	-	0,3
11	-	3,8
12	-	0,2
13	-	0,1
14	-	0,07
15	+	0,08
16	+	0,06
17	-	8,7
18	-	0,2
19	+	24,0
20	-	0,1
21	-	0,2
22	+	102,0
23	-	56,0
24	-	0,02
25	+	0,03
26	-	37,0
27	-	0,2
Blanc (eau distillée stérile)		51,0

Tableau 2-4- Activité virucide des bactéries isolées de l'eau douce (WARD *et al.*, 1986).

Après 2 jours d'incubation à 26° C avec l'échovirus 12, la baisse de l'infectivité est supérieure à 90% pour 22 échantillons sur 27. Cette activité virucide se produit aussi bien avec les bactéries GRAM+ que GRAM - (tableau 2-4).

Des études similaires montrent que la survie des virus dans des suspensions de sol stériles est supérieure à celle dans les suspensions non stériles (tableau 2-5).

Virus	temps nécessaire pour éliminer 99% des virus	
	non stérile	stérile
Poliovirus	9 à 80 j	18 à 167 j
Réovirus	9 à 110 j	8 à 257 j

Tableau 2-5 - Inactivation des virus en milieux stériles ou non stériles (SOBSEY et al., 1980).

Ainsi, les micro-organismes interviennent sur la survie des virus dans le sol.

Pour préciser la nature des bactéries qui affectent la survie des virus, une étude a été réalisée dans des conditions aérobies ou anaérobies.

Etude dans des conditions aérobies ou anaérobies

De cette étude, il ressort qu'à une température de 23 °C, la survie des poliovirus 1 et des échovirus 1 dans le sol de Flushing Meadows est similaire dans le cas de conditions :

- anaérobies non stériles ;
- anaérobies stériles ;
- aérobies stériles.

Par contre, la survie est inférieure dans les échantillons placés en aérobie non stérile. Il en résulte que c'est la présence de micro-organismes aérobiques qui intervient. Cet effet n'est pas discernable à une température de 1 °C, ce qui est probablement dû à la croissance plus basse à cette température (HURST et al., 1980 b).

b) Mécanisme d'action

Les bactéries qui ont une action virucide dégradent les virus en s'attaquant directement à leur structure.

L'échovirus 12, qui appartient aux picornaviridés, est composé d'une molécule d'ARN encapsulée dans une capsidie contenant 60 molécules de chacune des protéines désignées de VP₁ à VP₄.

La perte de l'infectivité est causée par un dommage à au moins un des composants du virus. L'identification du composant et le type de dommage pourraient aider à définir la nature de l'agent virucide.

Comportement des virus en géoépuration

L'incubation à 26 °C de virus marqués dans de l'eau douce permet une diminution de l'infectivité supérieure à 99% après 32 h. Les protéines du virus sont examinées par électrophorèse sur gel de polyacrylamide à différentes périodes de l'incubation à 26 °C (voir annexe 9). Cinq protéines sont présentes dans les particules d'échovirus purifiées : de VP₀ à VP₄. VP₀ est le précurseur de VP₂ et VP₄. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 2-6 suivant.

Temps d'incubation	Baisse de l'infectivité	Observations	
		qualitatives	quantitatives
8 h	61%	aucun changement	↘ de VP ₄
16 h	80%	présence d'une bande entre VP ₁ et VP ₂	VP ₁ : beaucoup sont clivées VP ₄ : la plupart sont clivées
24 h	97%	VP ₂ et VP ₃ intacts	VP ₁ presque totalement clivée
32 h			presque aucune protéine n'est intacte

Tableau 2-6 - Baisse de l'infectivité des virus en fonction du temps d'incubation. Effet sur les protéines virales (d'après WARD *et al.*, 1986).

Après le clivage des protéines VP₄ et VP₁, l'ARN est libéré du virus et est exposé aux enzymes, notamment à l'ARNase qui peut le cliver (WARD *et al.*, 1986).

Il en est de même pour les poliovirus 1 : les protéines VP₁ et VP₂ sont un peu dégradées pour permettre la sortie de l'ARN qui est alors inactivé (DUBOISE *et al.*, 1979).

2.3.2 - RÔLE DES BACTÉRIES ET DES FUNGI

Les bactéries ont un rôle épurateur au niveau des eaux. Leur utilisation au cours du traitement biologique des eaux usées sous forme de lit bactérien (= film bactérien fixé sur un support de cailloux) ou de boues activées permet l'oxydation des matières organiques, de polluants... et aussi l'élimination de virus.

L'action combinée de ces bactéries et de celles vivant dans le sol contribue à augmenter l'inactivation des virus. Mais l'altération des protéines de la capsid n'implique pas forcément la dénaturation de l'ARN viral, qui, intact, peut s'adsorber sur certains composants du sol (bentonite, montmorillonite...) (DUBOISE *et al.*, 1979).

Par contre, le taux d'inactivation des virus lors du procédé de compostage des boues n'a pas encore été déterminé. Ce traitement se traduit par la présence de champignons dont l'*Aspergillus fumigatus* et d'autres fungi tels que les actinomycètes thermophiles qui pourraient entraver la survie des virus (HURST, 1989 a).

Les facteurs biologiques ont donc une action délétère sur la survie des virus dans les eaux, les boues et par conséquent dans le sol. Mais certains virus peuvent leur échapper, car la composition chimique du milieu a pu entraîner leur adsorption sur les matières organiques ou les matières en suspension.

2.4 - INFLUENCE DES PHÉNOMÈNES D'ADSORPTION SUR DES MATIÈRES ORGANIQUES OU DES MATIÈRES EN SUSPENSION

Les virus, tout au long de leur trajet dans l'environnement hydrique, peuvent rester sous forme dite libre ou s'adsorber sur les particules de matières organiques ou non, présentes dans ce milieu.

Ces propriétés ont été utilisées lors du traitement des eaux usées pour éliminer les virus des effluents, mais cette adsorption n'est pas synonyme d'élimination définitive des virus. De plus, il existe une compétition entre les virus et les matières organiques pour l'adsorption.

2.4.1 - TRAITEMENT DES EAUX USÉES

Les virus sont des particules de petite taille qui restent en suspension dans l'effluent. Une des possibilités de les éliminer est de favoriser leur adsorption sur les matières en suspension qui peuvent sédimenter. Ainsi, l'élimination des matières solides contribue à diminuer le niveau de virus présents dans les effluents.

La sédimentation mécanique primaire des égouts bruts n'entraîne pas une baisse importante des virus dans l'effluent : 75% des échantillons d'effluents contiennent des rotavirus humains et 87% des entérovirus après la sédimentation des égouts bruts de Barcelone (BOSCH *et al.*, 1986).

Des traitements physico-chimiques permettent d'accélérer la précipitation des particules en augmentant leur volume et en déstabilisant les suspensions par formation de floes. Ainsi, l'addition de coagulants entraîne la formation de précipités d'hydroxydes de cations métalliques sur lesquels les virus s'adsorbent :

Comportement des virus en géoépuration

- la coagulation par le sulfate d'aluminium élimine 85 à 95% des poliovirus 1 et de 95 à 99,9% des virus coxsackie A₂ (HURST, 1989 a) ;
- la précipitation des phosphates des eaux usées en présence de chaux entraîne une baisse de 70 à 99,86% des poliovirus ensemencés, et en présence d'ions calcium (Ca⁺⁺) et magnésium (Mg⁺⁺) elle va jusqu'à 98% (HURST, 1989 a).

Après coagulation par la chaux, 50% des échantillons contiennent des rotavirus et 29% des entérovirus (BOSCH *et al.*, 1986).

Une étude menée sur des boues chimiques montre que l'addition de coagulants tels que la chaux, l'alun, le chlorure ferrique est à l'origine d'une baisse importante des virus, notamment avec la chaux, car le pH est très alcalin (supérieur à 11). Dans tous les cas, le pourcentage de virus adsorbés sur les solides est supérieur à 97% (tableau 2-7) (PANCORBO *et al.*, 1988).

L'association du chlorure ferrique ou de l'alun avec la chaux a une action synergique pour éliminer les virus (tableau 2-8) (*op. cit.*).

L'adsorption des virus sur les floccs dans les boues activées varie avec les types de virus et les souches (tableau 2-9) (HURST, 1989 a).

Boues chimiques	Virus dans les eaux d'égout		Virus dans le surnageant 10 ⁶ UFP	Virus dans les boues chimiques	
	avant addition de coagulant 10 ⁶ UFP	après addition de coagulant 10 ⁶ UFP		10 ⁶ UFP	% de virus adsorbés
Alun					
1	53	nd	9,4	12	97
2	45	45	1,6	43	> 99
3	39	nd	0,47	11	> 99
Chlorure ferrique					
1	43	7,7	0,40	4,7	99
2	45	7,3	0,93	4,4	97
3	39	9,8	0,93	5,2	99
Chaux					
1	58	nd	0,10	0,075	100
2	45	0	0	0	0

nd = non donné (PANCORBO *et al.*, 1988)

Tableau 2-7 - Association du poliovirus 1 avec les boues chimiques.

Comportement des virus en géoépuration

Type de boue chimique	Chaux ajoutée (mg/l)	pH	Virus dans les boues avant chaulage 10 ⁶ UFP	Virus dans les boues, 30 mn après traitement par la chaux	
				10 ⁶ UFP	% de virus adsorbés
Alun	1390	11,3	11	0	0
Chlorure ferrique	625	11,1	5,2	0,0062	100

Tableau 2-8 - Inactivation de poliovirus dans les boues chimiques en présence de chaux (PANCORBO et al., 1988).

Type de virus	souche	% d'adsorption des virus
Coxsackie B ₁	60	98,7
Coxsackie B ₃	Nancy	99,8
Coxsackie B ₄	V216	77,6
	V240	89,1
Echo 1	Farouk	66,7
	V212	91,8
	V239	94,8
	V248	76,9
	V249	64,6
Echo 7	Wallace	99,1
	71	90,0
Echo 12		98,1
Echo 17	63	97,8
Echo 29	JV-10	99,5
Poliovirus 1	LSc-2ab	98,2
	S9	95,9

Tableau 2-9 - Adsorption de différents virus sur les floccs des boues activées (HURST, 1989 a).

Les procédés de traitement des eaux usées peuvent donc réduire considérablement les virus dans les effluents produits mais ceux-ci restent adsorbés dans les boues où ils peuvent survivre.

2.4.2 - EFFET DE L'ADSORPTION SUR LA SURVIE DES VIRUS

L'association des virus à des matières particulières inclut une protection contre les enzymes protéolytiques et les substances qui inactivent les virus. Elle peut augmenter la stabilité de la capsid.

Les virus, ainsi associés aux solides présents dans les eaux usées brutes, seront moins sensibles à l'inactivation que ceux qui sont libres. Le degré de protection des virus contre la désinfection fourni par l'adsorption est difficile à déterminer. L'effet protecteur serait dû à l'inclusion des virus à l'intérieur de particules ou à leur aggrégation. Ceci dépend du type de virus et de la nature des particules (GERBA, 1984).

Lors de la percolation d'un effluent à travers du sable, l'adsorption directe intervient, mais le sable est capable de piéger les petits floccs en suspension sur lesquels sont adsorbés les virus. Les floccs ainsi piégés pourraient fournir de nouveaux sites d'adsorption pour les virus qui sont contenus dans l'effluent appliqué (HURST, 1989 a).

Les virus, ainsi adsorbés, peuvent survivre pendant de longues périodes en fonction de l'environnement (température...). D'autres substances peuvent être adsorbées au même titre que les virus. Il y a donc un phénomène de compétition au niveau des sites d'adsorption.

2.4.3 - COMPÉTITION AU NIVEAU DES SITES D'ADSORPTION

Les matières organiques dissoutes ont tendance à entrer en compétition avec les sites d'adsorption des virus. Ces matières organiques, dans les eaux usées, sont très variées : acides humiques, acides fulviques, protéines, polypeptides, acides aminés. Les substances humiques, tout comme les virus, sont généralement chargées négativement aux pH des eaux naturelles (GERBA, 1984).

Les matières organiques peuvent donc gêner l'adsorption des virus, mais aussi provoquer leur désorption.

Dans l'environnement hydrique, les virus se présentent sous forme libre ou d'agrégats qui peuvent s'adsorber sur des substrats particuliers colloïdaux organiques ou inorganiques variés (amas de bactéries, sable, argiles, vases, débris végétaux, algues, protozoaires...) constituant des complexes hydriques très polymorphes. Ces agrégats peuvent se maintenir ou se dissocier au gré des variations du milieu ; les cations Al^{+++} et Ca^{++} , les pH acides favoriseraient leur formation et la résistance des virus (FOLIGUET, 1983). L'adsorption des virus augmente leur survie dans les eaux, mais que deviennent-ils au cours de l'infiltration - percolation des eaux usées dans le sol?

3 - DEVENIR DES VIRUS ENTÉRIQUES DANS LES SOLS

Les germes pathogènes, notamment les virus entériques humains ne sont pas totalement éliminés ou inactivés par les méthodes de traitement des eaux usées.

L'application d'eaux usées sur la terre peut donc être une menace pour la contamination des eaux souterraines par migration des virus à travers le sol. La principale source d'élimination des virus au cours de la percolation des eaux est l'adsorption, mais elle n'est pas irréversible. L'éluition des virus et leur migration plus profondément sont par conséquent toujours possibles.

3.1 - ADSORPTION

La migration des virus dans le sol est en grande partie liée à leur adsorption sur les particules solides. Cette adsorption est contrôlée par un nombre important de variables incluant la nature des virus, la nature du sol, le pH, la composition de l'eau, la vitesse d'infiltration...

A partir d'études effectuées sur le terrain ou en laboratoire, nous verrons donc le rôle de ces différents paramètres sur l'adsorption.

3.1.1 - NATURE DES VIRUS

Les capacités d'adsorption des virus dépendent des types de virus utilisés. Ces variations sont attribuées à leur point isoélectrique (voir tableau 1-4) et à leur structure protéique (HURST, 1989 a).

Nous avons vu précédemment que les protéines peuvent s'orienter dans un milieu aqueux et des interactions hydrophobes vont se créer entre les virus et les molécules possédant des groupements hydrophobes.

L'étude des capacités d'adsorption de différents virus a permis de les classer en trois catégories (tableau 3-1).

Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3
Coxsackie B ₄ (V ₂₁₀)	Polio (Lsc)	* F ₂
Coxsackie B ₄ (V ₂₄₀)		
Echo 1 (Farouk)	Echo 7 (Wallace)	
Echo 1 (V ₂₁₂)	Coxsackie B ₃ (Nancy)	
Echo 1 (V ₃₉)		
Echo 1 (V ₂₄₈)	* T ₄	
* ΦX-174	* T ₂	
*MS-2		

* : bactériophage

Tableau 3-1 - Classification des virus selon leur capacités d'adsorption (GERBA, 1984).

Groupe 1 : les facteurs les plus importants qui affectent leur adsorption sont le pH, les matières organiques et le contenu en fer échangeable.

Groupe 2 : ces virus sont beaucoup moins sensibles au type de sol.

Groupe 3 : le bactériophage F₂ est très peu adsorbé par tous les sols étudiés.

Tous les virus du groupe 1 ont un point isoélectrique inférieur à celui des virus du groupe 2 (sauf pour le phage T₂).

L'adsorption des virus sur les particules du sol varie non seulement avec le type de virus mais aussi avec la souche. Le comportement des souches de laboratoire n'est pas toujours identique à celui des souches sauvages (JANSON *et al.*, 1989).

Des études comparatives de l'adsorption d'entérovirus sur le même sol indiquent que le pourcentage d'adsorption peut être supérieur à 99% pour la plupart des virus mais est très faible pour d'autres (tableaux 3-2 et 3-3).

Comportement des virus en géoépuration

Type de virus	% d'adsorption	Virus	%	Type de virus	Souche	% d'adsorption
Echovirus		Poliovirus				
1 (Farouk)	55,0	1 (L-Sc)	99,9	Polio 2	R 109	99,8
2 (Cornelius)	99,4	2 (P-712)	98,0		R 111	99,5
3 (Morrisey)	98,8	3 (Leon)	99,6		R 113	98,0
4 (Pesascek)	96,0				9CH-1	99,6
5 (Noyce)	99,8	Coxsackie		Polio 3	R 201	99,9
6 (D'Amori)	99,99	B ₁ (Conn. -S1)	99,99		R 202	99,9
7 (Wallace)	99,9	B ₂ (Ohio-1)	99,2		R 203	99,9
8 (Bryson)	96,0	B ₃ (Nancy)	96,0		R 204	99,9
11 (Gregory)	99,9	B ₄ (JVB)	99,99	Echo 1	4CH-1	96,6
12 (Travis)	78,0	B ₅ (Faulkner)	99,9		R 115	99,7
13 (Del Carmen)	91,0	B ₆ (Schmitt)	98,0		V212	46,0
22 (Harris)	99,99	Rotavirus Sa-11	51,6		V239	0
24 (DeCamp)	94,0				V248	30,0
25 (JV-4)	95,0				V249	35,0
26 (Coronel)	99,99			Coxsackie B4	V216	30,0
27 (Bacon)	99,99				V240	0
29 (JV-10)	14,0					
31 (Caldwell)	91,0					

Tableau 3-2 - Adsorption de différents types d'entérovirus et rotavirus (GOYAL et al., 1979).

Tableau 3-3 - Adsorption de différentes souches d'entérovirus (GOYAL et al., 1979).

Les différences d'adsorption pour un même type de virus résulteraient des variations de la configuration des protéines de la capsidie et par conséquent de la charge nette du virus. Cette charge influence le degré d'interaction entre le virus et les particules du sol (GOYAL et GERBA, 1979).

L'idéal serait de trouver un test simple permettant de prédire l'adsorption des virus dans les sols.

Des essais ont été réalisés dans ce but avec des colorants et des protéines :

- colorants :

- alcalin : bleu de méthylène : charge nette positive donc adsorbé par les sites négatifs du sol,
- acide : amarante : charge nette négative donc adsorbé par les sites positifs du sol, or peu de sols ont un pH acide ;

- protéines :

- ferritine (point isoélectrique : 4,5),
- myoglobine (point isoélectrique : 7,3),
- cytochrome C (point isoélectrique : 9,3).

Ces protéines ont des points isoélectriques semblables à ceux des virus entériques.

Sur les 20 sols étudiés, aucun n'adsorbe l'amarante. Des calculs statistiques indiquent une similarité entre l'adsorption de certains virus avec la ferritine et le cytochrome C. L'adsorption de la ferritine semble corrélée avec le groupe 1 (points isoélectriques de 4 à 6), tandis que le cytochrome C correspond au groupe 2 (points isoélectriques supérieurs à 7).

Un système de deux protéines pourrait donc servir d'indicateur de l'adsorption des virus (SING *et al.*, 1986).

Cette étude avait été effectuée sur 20 sols, car l'adsorption varie au niveau de chaque sol en fonction de leur composition.

3.1.2 - NATURE DU SOL

Les virus peuvent s'adsorber sur le sable, les argiles, les cellules bactériennes, les vases, les sédiments, les colloïdes en suspension constituant les sols. Mais les sols sont des milieux très hétérogènes et l'adsorption des virus est due à l'action combinée de différents facteurs. Les sols traditionnellement utilisés dans les colonnes sont généralement caractérisés par leur composition minérale, leur contenu en matières organiques, leurs capacités d'échange des cations, leur pH et leur densité.

a) Composition minérale

La composition minérale du sol est le plus souvent rapportée à son contenu en sable, silt et argiles exprimé en pourcentages.

KOYA *et al.* (1977) ont étudié les capacités de trois sols, représentatifs de l'Inde, à adsorber les virus. Les caractéristiques de ces sols sont données par le tableau 3-4.

Sol	Pourcentage			pH	Constituants
	Sable	silt	argile		
Sol Black Cotton	25,0	46,8	28,2	7,8	montmorillonite, quartz
Silt Kanpur	14,8	75,2	10,0	8,2	kaolinite, illite, quartz
Sol latéritique de Fe et Al	38,8	28,7	32,5	7,0	kaolinite, quartz, oxydes
sable > 0,05 mm ; silt 0,05 - 0,002 mm ; argile < 0,002 mm					

Tableau 3-4 - Caractéristiques des sols.

Ces trois sols naturels sont efficaces pour retenir les virus des eaux qui percolent sur les colonnes. Le sol latéritique est le plus adsorbant, suivi par le sol de silt de Kanpur et le sol de Black Cotton.

Le contenu élevé en argile du sol latéritique est à l'origine de sa haute capacité d'adsorption.

Comportement des virus en géoépuration

D'une manière générale, les sols qui ont une texture fine, donc une teneur en argile élevée, retiennent mieux les virus que les sols sablonneux (BITTON *et al.*, 1979). Ainsi, un sable propre et sec est peu adsorbant, mais s'il contient des argiles, ses capacités d'adsorption augmentent (VAUGHN *et al.*, 1981).

Dans cet exemple, le sol de silt de Kanpur, qui a un contenu en argile plus bas que le sol de Black Cotton, est plus adsorbant.

La connaissance du type d'argile permet d'expliquer cette différence. Le sol le moins adsorbant est constitué de montmorillonite, les deux autres sols contiennent de la kaolinite et de l'illite pour l'un d'eux. La kaolinite et l'illite semblent donc plus efficaces que la montmorillonite pour adsorber les virus.

Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par SOBSEY *et al.* (1980) sur différents sols (tableau 3-5).

Sol	Pourcentage d'adsorption des :		(à différents pH)
	Poliovirus	Réovirus	
Bentonite	70 à 91	> 99	
Kaolinite	> 98	≥ 92	
Sol de Fripp (98% de sable)	< 1 à 31	< 1 à 74	
3 sols (> 30% d'argile)	> 99	> 99	

Tableau 3-5 - Adsorption des virus dans différents sols (SOBSEY *et al.*, 1980).

L'adsorption des virus sur les argiles peut s'expliquer par la présence de charges sur les virus et sur les surfaces. Comme pour les virus, le point isoélectrique des différents solides correspond au pH pour lequel ils ont un potentiel électrique net nul (voir annexe 10). En dessous du point isoélectrique, le solide est chargé positivement et négativement au-dessus (GERBA, 1984).

Les argiles et les autres solides naturels du sol peuvent avoir des distributions de charge très hétérogènes à leur surface. Les virus qui ont des points isoélectriques différents s'adsorbent donc dans des régions différentes dans la même argile. Par exemple, les réovirus s'adsorbent sur les sites chargés négativement des argiles et les bactériophages T₁ et T₇ préfèrent les sites positifs.

Dans beaucoup de cas, les matériaux génèrent des forces attractives élevées (forces de Van der Waals). Ces interactions ont pu être quantifiées et un classement selon les capacités d'adsorption a été établi pour les solides :

Capacités d'adsorption (ordre décroissant) :

- Métaux
- Sulfures
- Oxydes des métaux de transition
- SiO₂
- Matières organiques

Ces interactions seraient plus importantes que celles engendrées par la double couche aux forces ioniques de la plupart des eaux naturelles (GERBA, 1984).

Les oxydes des métaux de transition ont une forte affinité pour les virus. Le sol latéritique, qui est le plus adsorbant, contient des oxydes de fer.

Les oxydes de cuivre CuO et de manganèse MnO₂ entraînent l'inactivation de virus adsorbés. Après élution des virus, l'acide nucléique peut être libéré de la capsid virale et il est dégradé tout comme les protéines. C'est le cas pour les poliovirus adsorbés sur de l'oxyde de cuivre CuO ou de l'aluminium métal (fig. 25). Le virus peut aussi rester intact après élution, mais a été inactivé (fig. 25).

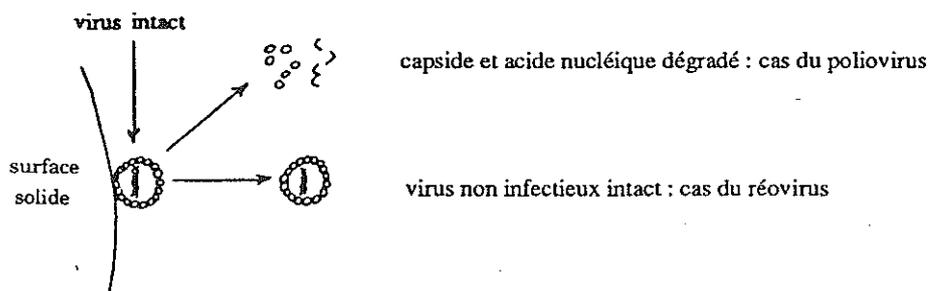


Fig. 25 - Inactivation de certains virus adsorbés sur des oxydes de métaux (GERBA, 1984).

Bien que dans ces deux exemples, l'adsorption des virus entraîne leur inactivation dans le sol, dans la majeure partie des cas, l'adsorption augmente la survie des virus dans l'environnement naturel en les protégeant.

La composition minérale apparaît donc comme un facteur important influençant l'adsorption des virus.

b) Composition organique

La composition du sol en matières organiques est très variable et intervient dans les phénomènes d'adsorption.

Les substances organiques sont de faibles adsorbants, mais une baisse du pH ou l'addition de cations divalents augmentent leur capacité de rétention des virus (BURGE et ENKIRI, 1978).

Ce sont surtout les substances humiques qui interfèrent avec l'adsorption des virus. Il y a donc une compétition entre les deux, ce qui peut conduire à l'éluion des virus (voir § 3.2 - Elution)

c) Autres facteurs

Les autres facteurs qui influencent l'adsorption des virus sont le pH (voir § 3.1.3), la capacité d'échange des cations (CEC), l'aire de la surface spécifique (SSA en m^2/g).

Dans certaines études, une augmentation de l'adsorption des virus en parallèle avec une élévation de deux derniers paramètres a été constatée (BURGE et ENKIRI, 1978). Par contre, les résultats obtenus par les calculs des coefficients de corrélation ne sont pas toujours significatifs. GOYAL *et al.* (1979) ont étudié l'effet sur l'adsorption du phosphore total, du phosphore résino-extractible, du fer total et échangeable, de l'aluminium total et échangeable, du magnésium total et échangeable, du calcium total et échangeable et de la conductivité. Seul l'aluminium échangeable présente une corrélation positive avec le taux d'adsorption

d) Capacité de sorption limitante

Devant les très grandes variations de composition des sols, les capacités d'adsorption limitantes des sols ont été évaluées. Elles reflètent le nombre de sites d'adsorption disponibles.

Ainsi, à pH 7, $5,88 \cdot 10^7$, $7,14 \cdot 10^7$, $8 \cdot 10^8$ et $2,2 \cdot 10^6$ virus (UFP) peuvent être adsorbés respectivement par gramme de sol de Black Cotton, sol de silt de Kanpur, sol latéritique et sable, (KOYA *et al.*, 1977 ; GERBA et BITTON, 1984). Ce maximum est atteint au bout de 80 à 100 mn de contact entre l'effluent et 2 g de sol.

3.1.3 - pH

Plusieurs études ont été menées pour essayer de déterminer le rôle du pH sur l'adsorption.

KOYA *et al.* (1977) ont mesuré le pourcentage de bactériophage MS2 adsorbé sur des colonnes de sol à différents pH (fig. 26).

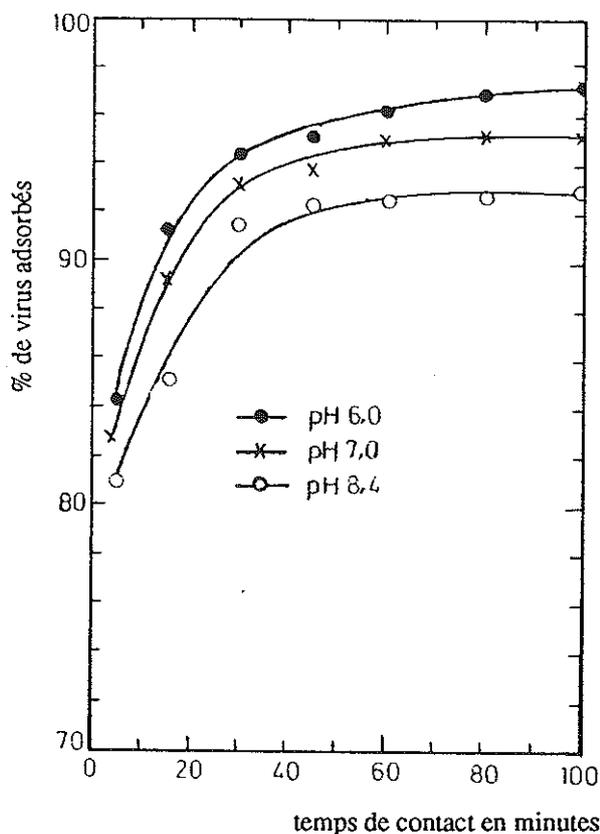


Fig. 26 - Rôle du pH sur l'adsorption

Il ressort de ces courbes que l'adsorption est plus importante à pH 6 qu'à pH 8.

Les capacités de 8 différents sols à retenir les virus ont été évaluées avec une gamme de pH de l'effluent plus large (SOBSEY *et al.*, 1980). Les poliovirus 1 et les réovirus 3 sont adsorbés plus efficacement à pH 3,5 (tableau 3-6).

GOYAL et GERBA (1979) ont montré que les sols ayant un pH inférieur à 5 sont de bons adsorbants. Il existe une corrélation négative entre le pH du sol et l'adsorption des virus Echo 1, V212, V243, V216 et du bactériophage Φ X 174. Pour d'autre virus, la corrélation est moins significative. Le pH apparaît comme le plus important des paramètres testés (BURGE et ENKIRI, 1978 ; DUBOISE *et al.*, 1979 ; GOYAL et GERBA, 1979).

Comportement des virus en géoépuration

Virus	pH	% de virus adsorbés sur les sols								
		Contrôle	Lakeland	Fripp	Ponzer	Bentonite	Kaolinite	Cecil	Davidson	Norfolk
Poliovirus	7,5	10	59	8	nt	91	98	>99	>99	>99
	6,5	6	76	<1	38	70	99	>99	>99	>99
	5,5	7	90	9	34	75	99	>99	>99	>99
	4,5	16	97	31	19	91	>99	>99	>99	>99
	3,5	47	nt	nt	97	nt	nt	nt	nt	nt
Réovirus	7,5	22	4	20	nt	99	92	>99	>99	>99
	6,5	7	54	<1	55	>99	nt	>99	>99	>99
	5,5	9	85	51	92	>99	nt	>99	>99	>99
	4,5	58	99	74	93	>99	>99	>99	>99	>99
	3,5	99	nt	nt	98	nt	nt	nt	nt	nt

nt : non testé
contrôle : effluent seul

Tableau 3-6 - Effet du pH sur l'adsorption des virus dans le sol.

Nous avons vu précédemment que la plupart des virus se comportent comme des protéines et que leur charge nette dépend du pH du milieu. Lorsque le pH augmente, il y a une élévation de l'ionisation des groupements carboxyles et une baisse de l'ionisation des groupements amines. Par conséquent, la charge nette du virus est négative à un pH supérieur au point isoélectrique.

La majorité des composants du sol sont chargés négativement à pH supérieur à 7 et avec un milieu alcalin, l'adsorption est minimale. A l'opposé, toute augmentation de l'acidité favorise l'adsorption. La relation entre le pH et le taux d'adsorption des virus n'est pas toujours aussi nette car beaucoup d'autres facteurs interviennent. De plus, la mesure du pH du sol ne reflète pas nécessairement le pH à la surface des particules du sol (GERBA et BITTON, 1984).

En résumé, un pH élevé favorise l'existence des virus sous forme libre, et un pH acide leur adsorption dans le sol (DUBOISE *et al.*, 1979). Le pH de l'effluent pourra donc indirectement agir sur la migration des virus tout comme la composition de l'effluent.

3.1.4 - COMPOSITION DE L'EAU

L'eau qui percole dans le sol est plus ou moins chargée en matières organiques selon l'effluent, en ions et en détergents, d'où l'importance de préciser le rôle de chacun de ces paramètres.

a) Nature de l'effluent

L'adsorption des virus dans le sol peut être gênée par la teneur en matières organiques de l'effluent. Il y a une compétition entre ces substances et les virus au niveau des sites d'adsorption (BITTON *et al.*, 1976).

Ainsi, l'adsorption des bactériophages T2 et poliovirus 1 dans des colonnes renfermant 3 horizons différents de sol sableux est supérieure en présence d'eau du robinet (tableau 3-7).

Virus	Pourcentage de virus adsorbés	
	Effluent secondaire	eau du robinet
Poliovirus	66,6	99,7
Bactériophage	43,3	98,4

Tableau 3-7 - Adsorption de virus en suspension dans un effluent secondaire ou dans l'eau du robinet (BITTON *et al.*, 1976).

Contrairement à ce que l'on pourrait supposer, l'adsorption des virus sur un sable argileux (argile 3%, silt 8%, sable 89%) est similaire dans des effluents primaires et secondaires (fig. 27).

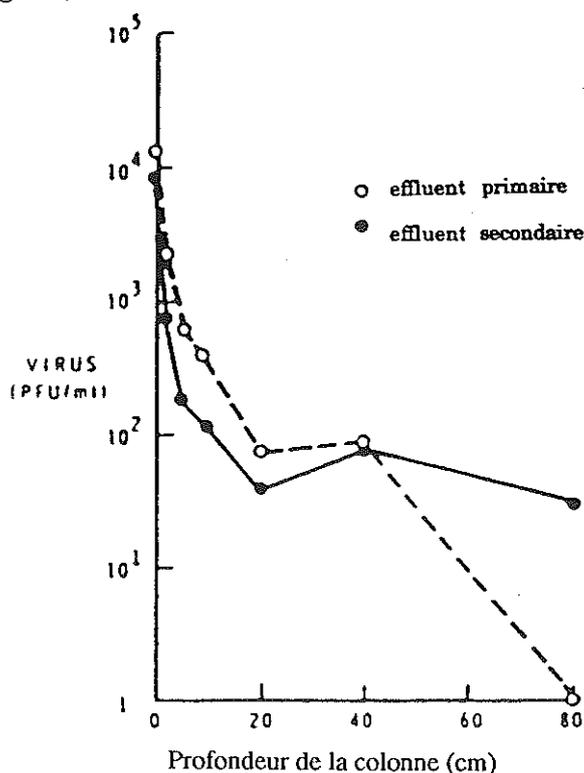


Fig. 27 - Concentrations en virus à différentes profondeurs dans une colonne de sol inondée avec des effluents primaires et secondaires (valeurs moyennes obtenues sur 9 jours d'inondation) (GERBA et LANCE, 1978).

La concentration en sels dans ces effluents d'égout est suffisante pour surmonter les interférences avec les matières organiques et explique donc ces résultats (GERBA et BITTON, 1984).

La capacité d'adsorption du sol augmente avec la profondeur. Le nombre et les caractéristiques des sites d'adsorption peuvent être modifiés en surface par l'application prolongée de grandes quantités d'eaux usées. Ce phénomène est beaucoup plus marqué avec les eaux usées non traitées (voir annexe 11) (SCHAUB *et al.*, 1980).

Des essais ont aussi été effectués avec de l'eau distillée mais ils mettent plutôt en évidence le rôle joué par les ions.

b) Présence d'ions

L'effet de la composition ionique de l'eau sur l'adsorption a été déterminé dans plusieurs expériences.

Des virus ont été mis en suspension dans de l'eau désionisée, des effluents d'égout traités et des solutions contenant du chlorure de calcium (CaCl_2). Cette suspension a été mélangée avec 2 g de sol. D'après les résultats obtenus, la présence de chlorure de calcium augmente l'adsorption des virus. Toutefois, une concentration de chlorure de calcium 0,01 M est nécessaire pour que cet effet soit notable (tableau 3-8).

Virus	% d'adsorption des virus avec:			
	eau désionisée	effluent traité	CaCl_2 0,001 M	CaCl_2 0,01 M
Polio 1 (Lsc)	99,9	99,3	96	99,0
Echo 1	55	0	4	82
Echo 7	99,9	94	96	97
Echo 12	78	84	14	99,0
Echo 29	14	12	23	99,2
Coxsackie B ₃	99,4	93	72	99,0
Echo 1 (V212)	46	0	0	78
Echo 1 (V239)	0	14	7	80
Echo 1 (V248)	30	12	7	75
Echo 1 (V249)	35	6	34	70
Coxsackie B ₄ (V240)	0	17	0	80
Coxsackie B ₄ (V216)	30	27	15	85

Tableau 3-8 - Effet du milieu de suspension sur l'adsorption des virus dans le sol de Flushing Meadows (GOYAL et GERBA, 1979).

L'addition de chlorure de magnésium ($MgCl_2$) dans des eaux usées brutes augmente aussi considérablement l'adsorption (tableau 3-9).

MgCl ₂ ajouté (M)	pH	% des virus adsorbés			
		Poliovirus		Réovirus	
		Contrôle	Fripp	Contrôle	Fripp
0,01	7,5	47	98	11	17
	4,5	62	99	94	>99
0,001	7,5	47	96	12	18
	4,5	42	96	92	98
Sans	7,5	24	33	23	25
	4,5	32	54	43	56

Tableau 3-9 - Effet du $MgCl_2$ sur l'adsorption des virus dans le sable de Fripp (SOBSEY *et al.*, 1980).

Les cations ont un rôle important dans les interactions virus - surface (KOYA *et al.*, 1977 ; SCHEUERMAN *et al.*, 1979 ; DIZER *et al.*, 1984).

Comme la plupart des virus sont chargés négativement aux pH du sol, les cations magnésium (Mg^{++}) et calcium (Ca^{++}) favorisent l'adsorption et conduisent à la formation de ponts virus - cations - sol (KOYA *et al.*, 1977).

Ils agissent en facilitant les interactions hydrophobes. Ils diminuent aussi l'épaisseur de la double couche car moins de volume est exigé pour neutraliser les charges de surface. L'approche des deux surfaces est donc plus facile et les forces attractives sont renforcées (GERBA, 1984).

Des études effectuées sur des filtres microporeux chargés négativement ou dans des sols indiquent que les sels divalents et trivalents sont plus efficaces que les sels monovalents (chlorure de sodium) pour provoquer l'adsorption des virus (SOBSEY *et al.*, 1980).

c) Les détergents

Les détergents se trouvent en grande quantité dans les boues résiduelles. Ils protègent les poliovirus contre l'inactivation par la chaleur mais inactivent les réovirus.

DIZER *et al.* (1984) ont étudié l'action de plusieurs surfactants sur l'adsorption des virus. En présence de détergents, l'adsorption est diminuée et la migration des virus augmente.

Les conditions de distribution des eaux usées sur le sol peuvent aussi influencer sur le taux d'adsorption des virus.

3.1.5 - FLUX SATURÉ ET FLUX INSATURÉ

L'application d'eaux usées sur la terre peut être effectuée dans des conditions de flux saturé (c'est-à-dire sur des sols inondés en permanence par des eaux usées) ou dans des conditions de flux insaturé (sans inondation).

Un effluent d'égout contenant des poliovirus est appliqué à différentes vitesses d'infiltration sur une colonne de 250 cm de long remplie d'argile sableuse. Les échantillons sont prélevés à plusieurs profondeurs.

Les valeurs figurant dans la figure 28 sont les moyennes de plusieurs expériences réalisées avec des taux d'infiltration différents.

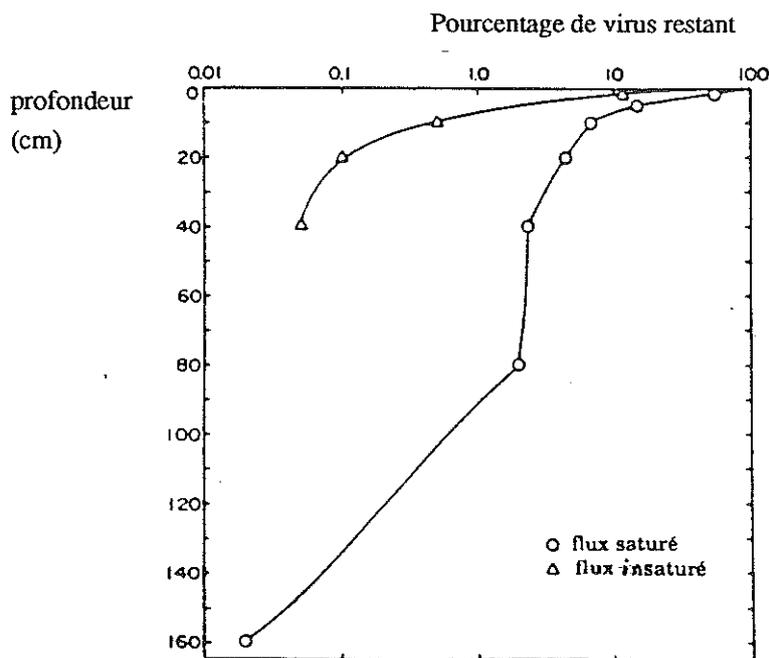


Fig. 28 - Adsorption des virus dans la colonne de sol avec des flux saturés ou non.

Avec le flux insaturé, il n'y a pas de virus détectés en dessous de 40 cm ; par contre, avec le flux saturé, les virus pénètrent jusqu'à 160 cm (LANCE et GERBA, 1984).

L'adsorption des virus avec le flux insaturé est plus importante qu'avec le flux saturé. Le degré de saturation des pores à l'intérieur de la matrice du sol est un paramètre non négligeable.

Quand le flux est saturé, l'eau remplit tous les pores. Par contre, quand le flux est insaturé, l'eau s'écoule à travers les petits pores où elle est retenue sous forme d'un mince film autour des particules du sol. Les virus se trouvent alors plus près des constituants du sol et s'adsorbent plus facilement (GERBA et BITTON, 1984).

Dans cette étude, la vitesse d'infiltration n'affecte pas nettement l'adsorption des virus ; pourtant, elle peut être amenée à modifier cette adsorption dans certains cas.

3.1.6 - VITESSE D'INFILTRATION DE L'EAU

Le rôle précis de la vitesse d'infiltration de l'effluent sur l'adsorption a été mis en évidence par des expériences de laboratoire et sur le terrain.

Un effluent ensemencé par des poliovirus 1 et des échovirus a percolé sur des colonnes de 100 cm de long remplies par 4 sols différents. L'application de l'effluent a lieu pendant 3 à 4 jours à taux constant.

L'efficacité de l'élimination des virus varie avec le type de sol. Des calculs montrent que ce taux d'élimination est corrélé négativement avec la vitesse d'infiltration des eaux usées (tableau 3-10).

Type de sol	type de virus	flux (cm/j)	taux d'élimination (log ₁₀ /cm)*
Flushing Meadows (sable)	Echo 1 (V239)	76	-0,027
Flushing Meadows (sable)	Echo 1 (V239)	88	-0,026
Pomello (sable)	Echo 1 (V239)	118	-0,022
Pomello (sable)	Echo 1 (V239)	222	-0,019
Rubicon (sable)	Echo 1 (V239)	282	-0,007
Anthony (terreau sableux)	Polio 1	33	-0,040
Flushing Meadows (sable)	Polio 1 (V239)	75	-0,027
Flushing Meadows (sable)	Polio 1 (V239)	153	-0,020
Pomello (sable)	Polio 1	194	-0,019
Pomello (sable)	Polio 1	204	-0,016
Rubicon (sable)	Polio 1	314	-0,009
Rubicon (sable)	Polio 1	1352	-0,007

* dans une colonne de 87 cm de long.

Tableau 3-10 - Taux d'élimination des virus dans les colonnes de sol (WANG et al., 1981).

Le taux d'élimination des virus dans les effluents après percolation est en rapport direct avec leur adsorption dans les colonnes. Ainsi, lorsque la vitesse d'infiltration augmente entre 33 et 314 cm/j, l'adsorption des virus diminue (fig. 29). Par contre, un taux de 1352 cm/j influe peu par rapport à un taux de 314 cm par jour.

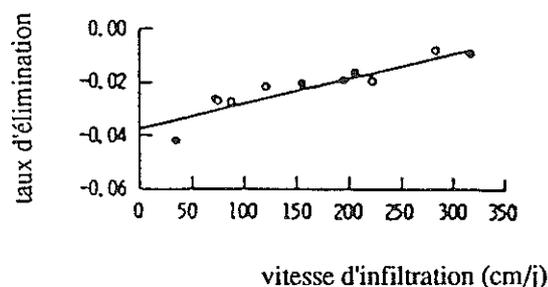


Fig. 29 - Relation entre la vitesse d'infiltration et le taux d'élimination (WANG *et al.*, 1981).

L'influence du taux d'infiltration sur l'élimination des poliovirus a été évaluée dans un bassin de recharge d'un aquifère à Medford.

Le bassin d'infiltration est composé de gros sable et de gravier. L'addition de solides en suspension a permis de diminuer la vitesse d'infiltration. Des systèmes de prélèvements placés à 0,75 m, 2,25 m, 5,34 m et à 7,62 m déterminent un partage du sol en 4 niveaux.

Les résultats obtenus (tableau 3-11) montrent une adsorption beaucoup plus importante avec une vitesse de 0,5 cm/h. Un nombre réduit de virus est détecté dans l'aquifère situé à 7,62 m en dessous du bassin, avec un taux de 75 à 100 cm/h. Ce nombre faible est vraisemblablement le résultat de la dilution des virus après leur arrivée dans la nappe.

Le poliovirus utilisé dans cette expérience est généralement très bien adsorbé par les sols. On peut donc supposer que les virus qui sont normalement peu adsorbés peuvent se déplacer très profondément dans le sol et à des concentrations élevées lorsque la vitesse d'infiltration est rapide (WANG *et al.*, 1981).

Comportement des virus en géoépuration

Haut taux d'infiltration 75 à 100 cm/h	Bas taux d'infiltration 6 cm/h	très bas taux d'infiltration 1 cm/h	0,5 cm/h
<ul style="list-style-type: none"> - Rétention des V faible - Fortes concentrations des V détectés à tous les niveaux - Quelques V dans l'aquifère (phénomène de dilution possible) 	<ul style="list-style-type: none"> - Rétention importante surtout dans le 1er niveau - 4 à 10 h après l'ensemencement du bassin, la concentration récupérée à 0,75 cm est maximale - Pour le 3ème niveau, le maximum est atteint au bout de 24 h - ppV traversent 	<ul style="list-style-type: none"> - Baisse constante des V avec le temps - Aucun V détecté dans le niveau 1 avant 24-48 h - Quelques V pourraient traverser mais en 143 h 	<ul style="list-style-type: none"> - Chute des V détectés à tous les niveaux - Adsorption : a lieu surtout dans le 1er niveau

Le V (virus) utilisé est le poliovirus Lsc-2ab ; il est généralement très bien adsorbé par les sols.
L'aquifère est situé à 7,62 m de profondeur
(d'après WANG *et al.*, 1981).

Tableau 3-II - Observations obtenues avec différents taux d'infiltration.

Type de sol	L'adsorption dans les sols sablonneux est inférieure à celle dans les sols finement texturés Les oxydes de fer augmentent l'adsorption Les sols fumés sont peu adsorbants.
pH	L'adsorption augmente quand le pH baisse.
Cations	L'adsorption augmente en présence de cations.
Matières organiques	Elle sont en compétition avec les virus au niveau des sites d'adsorption. Cet effet n'est pas significatif avec les effluents d'eaux usées. Les acides humiques et fulviques diminuent l'adsorption des virus.
Types de virus	L'adsorption varie avec le type et la souche de virus.
Vitesse d'infiltration	Un taux de flux élevé diminue l'adsorption.
Flux saturé ou non	L'adsorption est plus grande quand le flux est insaturé.

*Tableau 3-12 - Tableau récapitulatif des facteurs influençant l'adsorption (d'après BITTON *et al.*, 1979 ; GERBA *et BITTON*, 1984).*

Comportement des virus en géopuration

Finalement, selon les conditions environnementales, les modalités d'application des eaux usées et les caractéristiques de l'effluent, l'action des facteurs favorisant l'adsorption (tableau 3-12) sera plus ou moins importante.

Pour pouvoir envisager la migration des virus, suite à une éventuelle élution, il est nécessaire de connaître où se situe leur niveau de rétention dans le sol.

3.1.7 - NIVEAU D'ADSORPTION DES VIRUS DANS LE SOL

Les résultats de toutes les études effectuées sur colonnes ou sur le terrain convergent pour affirmer que l'élimination des virus des effluents d'eaux usées se produit dans les premiers centimètres du sol (tableaux 3-13 et 3-14).

Virus	Caractéristiques de l'effluent ou du sol	Profondeur (cm)	Adsorption Elimination (‰)	Références
Polio 1	Effluents primaire, second ^{re} argile sableuse colonne de 240 cm	5 40	avec l'effluent primaire : ‰ de 1 log ₁₀ avec l'effluent secondaire ‰ de 2 log ₁₀	GERBA <i>et al.</i> , 1978
Polio 1 Echo 1	argile sableuse (Anthony) Sable (Rubicon) Sable (Pomello) Sable (Flushing Meadows) Colonne de 100 cm, effluent secondaire	7 87 67 47 0 à 17	‰ de 2 log ₁₀ ‰ ≤ à 1 log ₁₀ ‰ de 98% ‰ de 98% élimination la plus importante	WANG <i>et al.</i> , 1981
Polio 1 Lsc	Argile sableuse	2	‰ 63 à 90%	LANCE et GERBA, 1977
Réovirus	Sable - eau de rivière ensemencée	0-47 107	Adsorption massive Quelques virus présents	Mc CONNELL <i>et al.</i> , 1984
Entériques Rotavirus SA 11	Sable d'un aquifère de RFA	0-8	Présence de nombreux virus	DIZER <i>et al.</i> , 1984
Polio 1 Lsc	Effluent secondaire, sable calcaire	5	Rétention importante	LANCE <i>et al.</i> , 1976

Tableau 3-13 - Adsorption et élimination des virus sur des colonnes.

Comportement des virus en géoépuration

Viru	Caractéristiques de l'effluent ou du sol	Profondeur (cm)	Adsorption Elimination (→)	Références
Polio I Lsc	Cœur de sol	5 10 25	77% des virus adsorbés 11% en plus ≈ 96% de virus adsorbés	LANDRY <i>et al.</i> , 1980
Polio 1	Bassin d'infiltration rapide - Effluents primaires et secondaires	2,5 2,5 - 10 10-25	Rétention des virus très importante → 83% en 2 jours → rapide des virus Présence de quelques virus	HURST <i>et al.</i> , 1980 a
		1ers cm	majorité des virus retenus	BERRON, 1984

Tableau 3-14 - Adsorption et élimination des virus - Etudes sur le terrain.

Plusieurs hypothèses ont été formulées pour expliquer ce phénomène d'adsorption des virus à la surface du sol.

Il est possible que les activités microbiennes et les altérations caractéristiques de la surface du sol résultant d'une infiltration prolongée créent des conditions meilleures pour l'adsorption des virus (LANDRY *et al.*, 1980).

Les variations de charge à l'intérieur des populations de virus sont responsables de leurs mouvements. Les particules qui ont une forte charge électrostatique seraient adsorbées en surface tandis que les autres virus caractérisés par une charge réduite migreraient à des profondeurs plus importantes. Ils survivraient plus longtemps que ceux adsorbés à la surface du sol (LANDRY *et al.*, 1980).

En réalité, l'adsorption n'est que la résultante de l'action de différents paramètres dont la diversité ne permet pas de prévoir avec certitude la quantité de virus associés aux particules. De plus, cette rétention des virus diffère en fonction des types de sol et de virus. Ainsi, les sols sablo-argileux sont considérés comme très efficaces pour éliminer les virus : pourtant, des sols qui ont été classés dans cette catégorie n'adsorbent pas les virus (BURGE et ENKIRI, 1978). Il en est de même pour les sols fumés. Le phénomène d'adsorption des virus n'est pas irréversible et n'implique pas forcément la perte du pouvoir infectant. Ainsi, leur élution et leur migration plus profondément dans le sol sont toujours possibles.

3.2 - ELUTION ET MIGRATION DES VIRUS DANS LES SOLS

L'éluion des virus adsorbés et leur migration peuvent être à l'origine de contaminations de nappes souterraines. Dans le but de mieux comprendre les mouvements des virus dans les sols, des études ont été réalisées pour déterminer les facteurs favorisant l'éluion, la migration des virus et l'étendue de leur progression.

3.2.1 - FACTEURS FAVORISANT L'ÉLUTION ET LA MIGRATION DES VIRUS

a) Nature et composition du sol

Les sols qui sont peu adsorbants vont favoriser la migration des virus ; c'est le cas des sols secs sableux (VAUGHN *et al.*, 1981) et des sols fumés. La composition organique du sol intervient surtout dans les phénomènes d'adsorption - éluion.

BURGE et ENKIRI (1978) ont étudié les capacités de cinq sols à adsorber les virus. L'un d'entre eux, à cause de son contenu élevé en matières organiques, n'adsorbe pas les virus. Dans ce sol, les matières organiques pourraient inhiber l'adsorption en bloquant ou en gênant l'approche des sites d'adsorption.

Pour les quatre autres sols, il existe une corrélation positive entre le contenu en carbone organique et l'adsorption. Ceci est en conflit avec d'autres auteurs, qui pensent que l'adsorption augmente quand le carbone organique baisse. Ces différences pourraient être expliquées par les diverses tailles des virus (BURGE et ENKIRI, 1978).

Les substances humiques pourraient aussi "complexer" les groupements à la surface des virus et, ainsi, les empêcher de réagir à la surface du sol. La fraction humique qui a un poids moléculaire inférieur à 50 000 serait en cause (SCHEUERMAN *et al.*, 1979). Ces substances entrent probablement en compétition avec les virus pour les sites d'adsorption du sol (HURST, 1989 a) ; ainsi, la migration des virus est plus importante.

b) Le pH

Un pH élevé favorise l'existence des virus sous forme libre et donc permet leur migration (DUBOISE *et al.*, 1979). Il peut rompre les interactions virus-solide (SHIELDS et FARRAH, 1983).

Cette propriété a été mise en pratique pour éluer les virus des prélèvements de sol lors de leur dénombrement. Comme il existe des sols qui sont de bons adsorbants à

tous les pH, l'élué des virus fera intervenir d'autres facteurs dont la composition de l'eau.

c) Composition de l'eau

Les virus adsorbés sur les solides peuvent être élués lors d'une baisse de la force ionique du milieu (TURK *et al.*, 1980 ; BITTON *et al.*, 1979). Plusieurs solutions ont donc été testées pour évaluer leur capacité à désorber les virus : effluents d'eaux usées, eau du robinet, eau distillée et eau de pluie, présence de détergents, solutions protéiques.

Effluent secondaire et eau du robinet (tableau 3-15)

L'effluent secondaire entraîne une désorption plus importante que l'eau du robinet. Elle serait due à la présence de matières organiques dans l'effluent qui interfèrent avec les interactions virus - sol (BITTON *et al.*, 1976).

Eau distillée (tableau 3-15)

L'eau distillée a été utilisée pour évaluer l'influence des pluies sur la désorption des virus (BITTON *et al.*, 1979). Elle entraîne une augmentation importante des mouvements dans le sol.

Eau de pluie (tableau 3-15)

L'eau de pluie est un paramètre important influençant la redistribution des virus adsorbés dans la matrice du sol.

Elle a une force ionique beaucoup plus faible que les effluents d'égout. Elle diminue l'adsorption et favorise la désorption (GERBA et BITTON, 1984).

L'application d'eau de pluie sur des colonnes entraîne des mouvements localisés des virus. Il semble que les virus adsorbés loin de la surface des colonnes soient plus facilement mobilisés que ceux adsorbés en surface. L'adsorption, à la surface du sol, des ions des fluides percolant, jusqu'à ce que le point de saturation soit atteint, pourrait expliquer ce phénomène (LANDRY *et al.*, 1980). En général, les virus mobilisés sont réadsorbés plus loin.

Détergents

Les détergents se trouvent en grande quantité dans les eaux usées. Leur action sur l'adsorption des virus dans le sable d'un aquifère d'Allemagne (ex-RFA) a été étudiée par DIZER *et al.*, (1984).

Comportement des virus en géoépuration

VIRUS	Sol	Eluant	Observations	Références
Bactériophage T ₂	Sol sableux ensemencé avec une suspension virale de petit volume	Effluent secondaire Eau du robinet	Après passage de 1,5 l d'effluent secondaire, 6,5 à 7,5% des phages T ₂ sont élués Désorption effluent 2 ^{re} > désorption eau	BITTON <i>et al.</i> (1976)
Polio 1 Lsc	Sable calcaire ensemencé	Inondation avec de l'eau distillée	Désorption des virus, augmentation de leur mouvement, puis réadsorption	LANCE et GERBA (1976)
Polio 1	Argile sableuse	Eau distillée	Désorption similaire sur les sols recevant des effluents 1 ^{res} ou 2 ^{res}	GERBA et LANCE (1978)
Polio 1 Lsc	Sol de Long Island	Pluie	Migration limitée	LANDRY <i>et al.</i> (1980)
Polio 1 Lsc Réovirus 3	Sols peu adsorbants Sols très adsorbants	Pluie	Les sols très adsorbants ne libèrent pas leurs virus. Pour les autres, l'éluion est plus importante	SOBSEY <i>et al.</i> (1980)
Virus entériques	Parcelle de sol Sol sableux	Pluie	Sans pluie : pénétration des virus à 1,52 m (5 pieds) Pluies abondantes : virus détectés dans des puits de 3,05 m et 6,10 m	DUBOISE <i>et al.</i> (1979)

Tableau 3-15 - Elution des virus et composition de l'eau.

Les concentrations en détergents sont similaires à celles trouvées dans un effluent secondaire de Berlin.

Quand les poliovirus et le sable sont incubés en présence de surfactants, l'adsorption est diminuée (fig. 30).

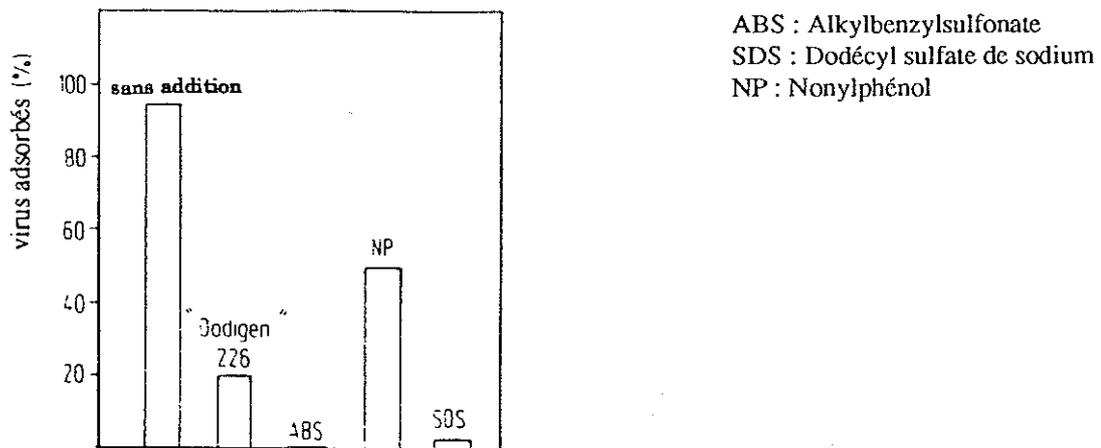


Fig. 30 - Pourcentage de virus adsorbés par le sable en présence de surfactants (100 mg par litre).

Tous ces détergents empêchent l'adsorption mais ce sont l'alkyl-benzylsulfonate et le dodécyl sulfate de sodium qui agissent le plus. Ils vont donc permettre une migration plus profonde des poliovirus dans le sol.

Dans certains cas, ils peuvent favoriser l'éluion en empêchant la formation d'agrégats ou en entraînant la rupture des liaisons virus - solide.

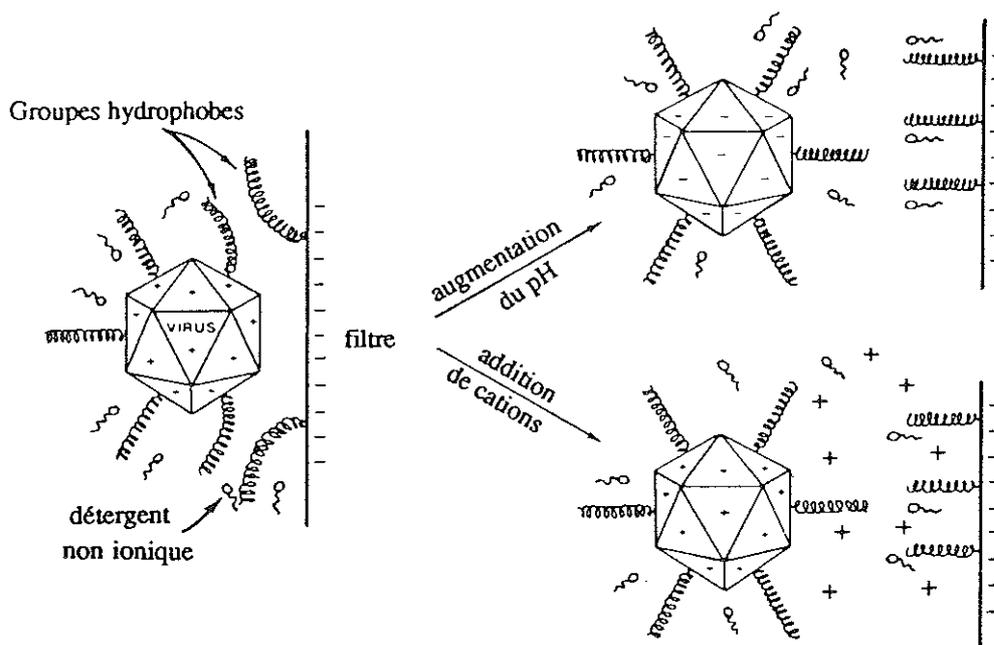
SHIELDS et FARRAH (1983) ont montré que des solutions contenant des détergents ou celles contenant des sels à pH 4 ne sont pas capables d'éluier des poliovirus adsorbés sur des filtres membranaires. Par contre, les solutions contenant à la fois un sel tel que le chlorure de magnésium ($MgCl_2$) ou le chlorure de sodium ($NaCl$) et un détergent entraînent l'éluion. Il en est de même lorsque le pH est augmenté (fig. 31).

Au niveau du sol, on peut supposer que les détergents agissent par des procédés similaires pour diminuer l'adsorption.

Eluion des virus du sol en laboratoire

Les virus adsorbés dans les sols sont élués avec un faible volume d'éluant, généralement de nature protéique ou un tampon glycine fortement alcalin.

Parmi les principaux éluants utilisés, on trouve le bouillon tryptose phosphate, la glycine - EDTA (acide éthylène diamine tétracétique), l'extrait de bœuf, la caséine (GERBA et BITTON, 1984).



A gauche, le virus est adsorbé sur le filtre à pH 4, en présence d'un détergent non ionique (Tween 80). Les liaisons hydrophobes sont rompues, mais les interactions électrostatiques subsistent. A droite, leur rupture par augmentation du pH ou par addition de cations provoque l'élué des virus.

Fig. 31 - Effets des agents antichaotropiques, des cations et du pH sur les interactions entre les virus et la surface du filtre (GERBA, 1984).

Les techniques d'élué nécessitent d'avoir recours à des systèmes d'agitation pour être efficaces : sonication, agitateurs magnétiques.

L'élué a lieu en milieu alcalin mais il est nécessaire de travailler dans la zone de pH optimal (tableau 3-16).

Eluant (glycine 0,05 M)	% de virus élués
pH 10,0	56
pH 10,5	63
pH 11,0	84
pH 11,5	16

Tableau 3-16 - Eluion de poliovirus type 1 adsorbés sur des floes de boues activées (HURST et al., 1978).

Dans ce cas, l'élué est maximale à pH 11,0.

d) Autres facteurs

Les conditions d'application des eaux usées agissent aussi sur la migration des virus. Une vitesse d'infiltration rapide et des conditions de flux saturé favorisent les mouvements des virus.

Au total, l'ensemble de ces paramètres contribue à la migration des virus dans le sol à des profondeurs variables.

3.2.2 - ETENDUE DE LA MIGRATION DES VIRUS DANS LES SOLS

Le sol peut être traversé de deux façons par les eaux chargées en micro-organismes : dans le sens vertical et dans le sens sub-horizontale.

a) Migration verticale des virus

La majorité des virus sont arrêtés dans les premiers centimètres du sol, mais quelques uns peuvent dépasser plusieurs mètres (tableau 3-17).

Il apparaît des différentes études qui ont été menées que les virus peuvent migrer verticalement sur des profondeurs considérables de sol. Ainsi, les virus sont capables de traverser les bassins peu profonds.

b) Migration horizontale des virus

Un entraînement horizontal des virus dans le sol est toujours possible et peut se produire sur des distances appréciables (plusieurs dizaines de mètres) (tableau 3-18).

Selon la pente du terrain, cette migration sera accentuée ou quasi inexistante.

Au total, les virus qui, dans le sol, peuvent être adsorbés peuvent aussi être élués et vont migrer plus profondément dans le sol, d'où le risque de contamination des nappes souterraines.

VIRUS	Sol	Effluent	Observations	Références
Réovirus	Colonne de sable ≈ 1,2 m Sable calibré ou non âgé ou propre	Eau de rivière (taux d'infiltration faible)	Abattement de la teneur en virus de 4 log Aucun virus détecté en bas de la colonne Réovirus présent à 107 cm ; distribution des virus sur toute la profondeur du lit Maturité du filtre : aucun effet	Mc CONNELL <i>et al.</i> (1981)
Polio Lsc	Argile sableuse Colonne de 250 cm	Effluent secondaire	- à 160 cm : 3 échantillons de 1 ml positifs sur 43 - à 250 cm : 4 échantillons de 100 ml positifs sur 43. Abattement : 4 à 5 log.	LANCE et GERBA (1977)
Echo Coxsackie Adénovirus	Sable (haut contenu en silice et bas pH)	Effluent primaire + effluent secondaire	Pénètrent les 3 m de sol - Echo isolé d'un prélèvement à 9 m	JANSON <i>et al.</i> (1989)
Polio 3	Lit d'infiltration Sable + gravier ≈ 61 m		Aucun virus dans les échantillons concentrés	DUBOISE <i>et al.</i> (1979)
Entérovirus	Sable + graviers	Effluent secondaire	Puits à 5,5 m : virus détectés Puits à 9 m : 3 échantillons positifs Puits à 25,6 m : aucun virus détecté	VAUGHN <i>et al.</i> (1978)
Entérovirus	sol sableux aquifère peu profond	Eaux usées après passage dans une fosse septique	Virus détectés à 18 m de profondeur	VAUGHN <i>et al.</i> (1978)

Tableau 3-17 - Migration verticale des virus dans le sol.

VIRUS	Sol	Effluent	Observations	Références
Entérovirus	Sol sablonneux aquifère peu profond	Système d'évacuation des eaux usées	<ul style="list-style-type: none"> • Puits de 1,82 m : concentration en virus dans les puits varie avec la distance qui les sépare du point de sortie des égouts : 0,002 à 10,8 UFP/l • Puits à 30,4 m du point de sortie : virus dans un puits • Puits à 67,05 m du point de sortie : virus dans un puits • Puits de 1,82 m : aucun virus dans un puits, mais pente défavorable 	VAUGHN <i>et al.</i> (1983)
Entérovirus	Bassin de recharge en pente	Effluent secondaire	<ul style="list-style-type: none"> • Puits de 5,5 m de profondeur situé à 45,7 m en bas de la pente du bassin de recharge : virus isolés 	VAUGHN <i>et al.</i> (1978)
Entérovirus et phage F ₂	Site d'infiltration rapide	Effluent secondaire	Virus isolés à 183 m du site d'infiltration	GERBA <i>et al.</i> (1978)

Tableau 3-18 - Migration horizontale des virus dans le sol.

4 - RISQUE DE CONTAMINATION DES NAPPES PAR LES VIRUS

La contamination microbienne des systèmes d'eaux souterraines représente une source majeure pour la survenue de maladies suite à l'ingestion de ces eaux. Dans la plupart des cas, la contamination des nappes peu profondes est le résultat direct de l'application d'eaux usées à la surface ou près de la surface du sol. Cette pollution éventuelle des nappes constitue donc une étape importante du cycle de contamination de l'eau.

Dans ce paragraphe, nous envisagerons le cas de la réutilisation des eaux usées en agriculture, qui représentent un système d'infiltration - percolation à grande échelle.

L'utilisation agricole des eaux résiduaires est très ancienne ; elle remonterait à l'Antiquité. A l'heure actuelle, sa place dans le monde est très variable (voir annexe 12) et est souvent limitée aux climats arides ou semi-arides. En France, ce procédé occupe une place très réduite (RODIER et BRISSAUD, 1989).

Le risque de contamination des nappes lors de la réutilisation des eaux usées en agriculture provient en réalité de trois facteurs qui sont dépendants les uns des autres : la survie, l'adsorption et la migration des virus. Le rôle joué par chacun d'eux varie en fonction des conditions environnementales incluant la géologie, la nature du sol, l'ensoleillement, la température et la pluviométrie.

4.1 - GÉOLOGIE

La présence de grandes quantités de virus dans les eaux souterraines peut être due à une perméabilité très importante du sol, mais surtout à la présence de fissures ou de fractures qui facilitent la progression des virus (GERBA et BITTON, 1984). Ce sont les aquifères les moins profonds qui sont le plus propices à la contamination.

En milieu karstique, le substratum est très fissuré. Les rejets de station d'épuration peuvent ainsi rejoindre directement les nappes souterraines et les contaminer de façon significative (RODIER et BRISSAUD, 1989).

4.2 - NATURE ET COMPOSITION DU SOL

La survie des virus est corrélée avec l'étendue de leur adsorption dans les sols. Le pH, le niveau de saturation du sol, la présence de cations, le contenu en argile, la teneur en oxydes de fer (magnétite) sont autant de paramètres qui influencent la

stabilisation des virus dans les sols. Donc ces virus qui sont adsorbés sont moins facilement inactivés, mais migrent moins profondément.

A l'opposé, les sols qui adsorbent peu les virus (sols fumés) favorisent leur migration, et sous forme libre les virus sont plus facilement dégradés.

Les sols qui limitent les risques de contamination des nappes sont ceux dont les capacités d'adsorption sont importantes (sols argilo-sableux dont le contenu en matières organiques n'est pas trop élevé). Ce sont généralement des sols à texture fine (BITTON *et al.*, 1979).

4.3 - ENSOLEILLEMENT

Les virus sont inactivés par la lumière solaire mais seulement à la surface des sols. Son rôle est donc mineur, en comparaison avec les autres facteurs environnementaux (GERBA et BITTON, 1984).

4.4 - TEMPÉRATURE

La température du sol est l'un des facteurs les plus importants affectant l'inactivation des virus.

En effet, à des températures de 3 à 10 °C, les virus survivent plus facilement qu'à 18-23 °C (GERBA et BITTON, 1984). Les virus peuvent survivre dans les sols irrigués par des effluents pendant 11 jours pendant l'été et 96 jours pendant l'hiver (HURST *et al.*, 1980 a). Mais les périodes d'irrigation qui varient avec les cultures choisies se situent plutôt d'avril - mai à octobre. En hiver, où les besoins en eau deviennent nuls, et en période de préparation culturale, d'ensemencement ou de récolte, les eaux d'égouts sont dirigées vers les peupleraies et les prairies (RODIER et BRISSAUD, 1989) ou sont stockées. Le risque de contamination des eaux souterraines apparaît surtout quand les virus sont désorbés par les pluies (DAMGAARD-LARSEN *et al.*, 1977).

4.5 - PLUVIOMÉTRIE

L'incidence de la pluviométrie sur la survie des virus se situe à deux niveaux : la désorption des virus et le taux d'humidité du sol.

4.5.1 - DÉSORPTION

L'eau de pluie a une force ionique plus faible que les effluents d'égout et peut favoriser la désorption des virus et donc leur migration (ELLIOTT et ELLIS, 1977). Ceci permet d'expliquer pourquoi les taux de contamination des eaux de puits sont plus élevés en période de fortes pluies (GERBA et BITTON, 1984).

Des virus ont été détectés, après de fortes pluies, dans des puits de 3,05 m et 6,10 m situés dans un sol sableux arrosé avec des effluents secondaires. Le rapport sol sur eau serait très important dans le maintien de l'adsorption des virus sur les particules du sol (ELLIOTT et ELLIS, 1977).

Les virus adsorbés peuvent donc être élués près de la surface du sol par les pluies abondantes et migrent plus profondément.

Pour prévenir ou limiter la désorption, des périodes d'assèchement des sols ont été instaurées ; elles se traduisent par une baisse du taux d'humidité.

4.5.2 - HUMIDITÉ

Des petites variations de texture des sols peuvent entraîner des changements importants dans leur capacité à retenir l'eau (GERBA et BITTON, 1984). Elles vont donc plus ou moins favoriser la survie des virus.

Un déclin plus rapide des virus est observé au cours des saisons sèches et non des saisons humides (BITTON *et al.*, 1984). Ainsi, au cours des périodes d'assèchement d'un bassin d'infiltration, l'abattement des virus est de 0,11 à 0,52 log par jour contre 0,04 à 0,15 log par jour en période d'inondation (HURST *et al.*, 1980 a). Cette inactivation des virus est liée à la baisse d'humidité du sol. Elle permet d'éviter l'apparition de teneurs en virus trop élevées dans le sol. Il en est de même lors de l'assèchement des boues d'eaux usées sur les terrains (HURST *et al.*, 1978). Le risque de contamination des nappes souterraines est ainsi diminué.

4.6 - TECHNIQUES D'IRRIGATION

Selon les techniques d'irrigation utilisées, le risque de contamination des nappes varie.

4.6.1 - IRRIGATION À FAIBLE DOSE OU IRRIGATION PROPREMENT DITE

Dans ce cas, la quantité d'eau apportée compense uniquement les besoins de la plante. Elle correspond à l'évapotranspiration. De plus, les rejets dans les eaux de surface ou les infiltrations dans les nappes souterraines sont évités. Il y a donc garantie de la protection du milieu naturel (RODIER et BRISSAUD, 1989).

4.6.2 - IRRIGATION À MOYENNE OU À FORTE DOSE OU "IRRIGATION - PERCOLATION"

Dans ce cas, une partie de l'eau apportée est utilisée par la plante et l'effluent en excès traverse le sol tout en y étant épuré. Il peut soit atteindre la nappe et concourir à sa recharge, soit être drainé et réutilisé ou rejeté dans les eaux de surface.

Le système d'irrigation par les eaux d'égout de la ville de Paris est basé sur ce dernier principe (voir annexe 13) (RODIER et BRISSAUD, 1989).

En France, les effluents épandus sont parfois des effluents bruts, donc l'épaisseur et la qualité du massif filtrant doivent être assez importantes.

Les analyses effectuées concernant les germes pathogènes présents dans les nappes se limitent le plus souvent aux bactéries. Aucune valeur de l'abattement des virus n'a pu être trouvée.

La contamination de l'eau des nappes est toujours possible et est susceptible d'infecter l'homme.

4.7 - INCIDENCE DE LA CONTAMINATION VIRALE DES EAUX DE DISTRIBUTION SUR LE DÉVELOPPEMENT DE SIGNES CLINIQUES D'UNE MALADIE

Les virus sont des micro-organismes à faible dose infectante, immédiatement infectieux, donc propices à une contamination interhumaine directe. Donc, lorsque l'on isole un virus à partir de l'effluent domestique d'une communauté, on peut être sûr que tous les membres de cette communauté ont déjà été en contact avec lui.

Pour les viroses, le risque réel est celui de l'utilisation par un groupe humain d'effluents provenant d'une autre communauté apportant des souches pathogènes auxquelles les utilisateurs ne sont pas exposés dans leur communauté d'origine (PROST et BOUTIN, 1989).

L'absorption quotidienne de quelques virus stimulerait les mécanismes immunitaires et donc maintiendrait un niveau de protection élevé contre les maladies (LARKIN, 1982).

5 - CONCLUSION

Jusqu'à présent, aucune technique d'épuration des eaux usées n'a permis d'obtenir une élimination totale des virus.

La géoépuration semble être une méthode efficace, mais les conditions environnementales influent beaucoup sur les performances de ce procédé.

Face à la pollution croissante des eaux, il serait aussi intéressant de pouvoir évaluer la part réelle des viroses liées à l'eau et la dose minimale infectante (DMI), mais cette approche est très délicate (enquête épidémiologique, extrapolation de l'expérimentation animale).

De plus, trouver des méthodes rapides et fiables s'avère indispensable pour la surveillance de la qualité virologique des eaux notamment pour certains virus pathogènes (hépatite A) qui sont difficiles à isoler.

Au total, pour limiter les risques de contamination de l'homme, il convient de bien choisir les points d'eau destinés à l'alimentation, d'éviter une charge importante en virus dans les eaux rejetées, en essayant, dans la mesure du possible, d'optimiser le traitement des eaux usées.



BIBLIOGRAPHIE

- ALBERT M., BIZIA GOS E., CRANCE J.M., DELOINCE R., SCHWARTZBROD L. (1990) - Détection des virus entériques cultivables *in vitro* et de l'antigène du virus de l'hépatite A dans les boues primaires de station d'épuration.. J. Fr. Hydrol., 2, 275-283.
- BERG G., SULLIVAN G., VENOSA A.D. (1988) - Low temperature stability of viruses in sludges. Appl. Environ. Microbiol., 54, 839-841.
- BERRON Ph. (1984) - Valorisation agricole des boues de stations d'épuration. Aspects microbiologiques. T.S.M. Eau, 11, 549-556.
- BERTUCCI J.S., ABID S.H., LUE HING C., CLARK C.S., FENTERS J.D., FANNIN K.F. (1983) - Confirmed virus versus unconfirmed plaques in sewage. J. Env. Eng., 109, 351-369.
- BITTON G., MASTERSON N., GIFFORD G.E. (1976) - Effect of a secondary treated effluent on the movement of viruses through a cypress dome soil. J. Environ. Qual., 5, 370-375.
- BITTON G., DAVIDSON J.M., FARRAH S.R. (1979) - On the value of soil columns for assessing the transport pattern of viruses through soils: a critical outlook. Water, Air, Soil Pollut., 12, 449-457.
- BITTON G., PANCORBO O.C., FARRAH S.R. (1984) - Virus transport and survival after land application of sewage sludge. App. Environ. Microbiol., 47, 905-909.
- BLOCK J.C. et SCHWARZBROD L. (1982) - Analyse virologique des eaux. Techniques de mise en évidence des virus humains. Technique et documentation, Lavoisier, 170 p.
- BOSCH A., LUCENA F., JOFRE J. (1986) - Fate of human enteric viruses (rotavirus and enterovirus) in sewage after primary sedimentation. Water Sci. Tech., 18, 47-52.
- BURGE W.D. et ENKIRI N.K. (1978) - Virus adsorption by five soils. J. Envir. Qual., 7, 73-76.
- COLLIN J.F. (1981) - Qualité bactériologique de l'eau d'adduction publique et troubles de santé. Approche épidémiologique en Meurthe-et-Moselle. Thèse de 3ème cycle. Univ. Nancy I.
- DAMGAARD-LARSEN S., JENSEN K.O., LUND E., NISSEN B. (1977) - Survival and movement of enterovirus in connection with land disposal of sludges. Water Res., 11, 503-508.

- DEGREMONT (1978) - Mémento technique de l'eau. 8e édition. Edition technique et documentation. 1200 p.
- DIZER H., NASSER A., LOPEZ J.M. (1984) - Penetration of different human pathogenic viruses into sand columns percolated with distilled water, groundwater or wastewater. *Appl. Environ. Microbiol.*, 47, 409-415.
- DUBOISE S.M., MOORE B.E., SORBER C.A., SAGIK B.P. (1979) - Viruses in soil systems. *Crit. Rev. Microbiol.*, 7, 245-285.
- ELLIOTT L.F., ELLIS J.R. (1977) - Bacterial and viral pathogens associated with land application of organic wastes. *J. Environ. Qual.*, 6, 245-251.
- FARRAH S.R., SCHEUERMAN P.R., BITTON G. (1981) - Urea lysine method for recovery of enteroviruses from sludge. *Appl. Environ. Microbiol.*, 41, 455-458.
- FOLIGUET J.M. (1983) - Virus et eaux. Evolution des idées. Questions en suspens. *T.S.M. Eau*, 12, 3-9.
- FUJIOKA R.S., LOH Ph. C. (1978) - Recycling of water for irrigation: persistence of enterovirus in sewage effluent and natural waters receiving the effluent. *Water, Air, Soil Pollut.*, 9, 213-226.
- GERBA C.P., LANCE J.C. (1978) - Poliovirus removal from primary and secondary sewage effluent by soil filtration. *Appl. Environ. Microbiol.*, 36, 247-251.
- GERBA C. (1984) - Applied and theoretical aspects of virus adsorption to surfaces. *Adv. Appl. Microbiol.*, 30, 133-168.
- GERBA C.P., BITTON G. (1984) - Microbial pollutants: their survival and transport pattern to groundwater. *In* G. BITTON et C.P. GERBA (eds.), "Groundwater pollution microbiology", J. Wiley & Sons, New-York, 65-88.
- GOYAL S.M., GERBA C. (1979) - Comparative adsorption of human enteroviruses, simian rotavirus and selected bacteriophages to soils. *Appl. Environ. Microbiol.*, 38, 241-247.
- HASSEN A., HARTEMANN P., JORET J.C., AGBALIKA F., FOLIGUET J.M. (1984) - La recherche des entérovirus dans les eaux. Des méthodes utilisables pour l'étude des différents types d'eau et le suivi de l'efficacité des filières. *T.S.M. Eau*, 11, 557-562.
- HURAUX J.M., NICOLAS J.C., AGUT H. (1985) - Virologie. Editions Flammarion, 381 p.

- HURST C.J., FARRAH S.R., GERBA C.P., MELNICK J.L. (1978) - Development of quantitative methods for the detection of enteroviruses in sewage sludges during activation and following land disposal. *Appl. Environ. Microbiol.*, 36, 81-89.
- HURST C.J., GERBA C.P., LANCE J.C., RICE R.C. (1980 a) - Survival of enteroviruses in rapid infiltration basins during the land application of wastewater. *Appl. Environ. Microbiol.*, 40, 192-200.
- HURST C.J., GERBA C.P., CECH I. (1980 b) - Effects of environmental variables and soil characteristics on virus survival in soil. *Appl. Environ. Microbiol.*, 40, 1067-1079.
- HURST C.J., GOYKE T. (1986 a) - Survival of indigenous enteric viruses during storage of waste water sludge samples. *Can. J. Microbiol.*, 32, 645-648.
- HURST C.J., GOYKE T. (1986 b) - Stability of viruses in wastewater sludge eluates. *Can. J. Microbiol.*, 32, 649-653.
- HURST C.J. (1989 a) - Fate of viruses during wastewater sludge treatment processes. *Crit. Rev. Environ. Control*, 18, 317-343.
- HURST C.J., BENTON W.H., Mc CLELLAN K.A. (1989 b) - Thermal and water source effects on the stability of enteroviruses in surface freshwaters. *Can. J. Microbiol.*, 35, 474-480.
- HURST C.J., SCHAUB S.A., SOBSEY M.D. *et al.* (1991) - Multilaboratory evaluation of methods for detecting enteric viruses in soils. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 395-401.
- JANSONS J., EDMONDS L.W., SPEIGHT B., BUCENS M.R. (1989) - Movement of viruses after artificial recharge. *Water Res.*, 23, 293-299.
- KOYA K.V.A., CHAUDHURI M. (1977) - Virus retention by soil. *Prog. Wat. Tech.*, 9, 43-52.
- LANCE J.C., GERBA C.P., MELNICK J.L. (1976) - Virus movement in soil columns flooded with Secondary Sewage Effluent. *Appl. Environ. Microbiol.*, 32, 520-526.
- LANCE J.C., GERBA C. (1977) - Nitrogen, phosphate and virus removal from sewage water during land filtration. *Prog. Wat. tech.*, 9, 157-166.
- LANCE J.C., GERBA C. (1984) - Virus movement in soil during saturated and unsaturated flow. *Appl. Environ. Microbiol.*, 47, 335-337.
- LANDRY E.F., VAUGHN J.M., PENELLO W.F. (1980) - Poliovirus retention in 75 cm soil cores after sewage and rainwater application. *Appl. Environ. Microbiol.*, 40, 1032-1038.

- LARKIN E.(1982) - Viruses in wastewater sludges and in effluents used for irrigation. *Environ. Int.*, 7, 29-33.
- Mc CONNELL L.K., SIMS R.C., BARNETT B.B. (1984) - Reovirus removal and inactivation by slow-rate sand filtration. *Appl. Environ. Microbiol.*, 48, 818-825.
- MEOT B. (1990) - Traitement de finition des eaux usées urbaines. Rapport de stage deuxième année Génie biologique. BRGM.
- PANCORBO O.C., BITTON G., FARRAH S.R., GIFFORD G.E., OVERMAN A.R. (1988) - Poliovirus retention in soil columns after application of chemical and polyelectrolyte conditioned dewatered sludges. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54, 118-123.
- PEPIN (1989) - Projet d'utilisation des eaux épurées de l'agglomération clermontoise pour l'irrigation de la zone est de Clermont-Ferrand. Service de documentation de l'Agence de Bassin Loire-Bretagne, Orléans-la-Source, 21 p.
- PÖYRY T., STENVIK M., HOVI T. (1988) - Viruses in sewage waters during and after a polyomyelitis outbreak and subsequent nationwide oral poliovirus vaccination campaign in Finland. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54, 371-374.
- PROST A., BOUTIN (1989) - Le risque infectieux lors de l'utilisation d'eaux usées en agriculture. *T.S.M. Eau*, 84, 25-33.
- RODIER C., BRISSAUD F. (1989) - Réutilisation des eaux usées par l'irrigation. Méthodologie - réalisation en France. Rapport pour la Sous-Direction de la Prévention Générale et de l'Environnement du Ministère de la Solidarité, de la Santé et de la Protection Sociale. Laboratoire d'Hydrologie Mathématique. Univ. Sci. et Techniques du Languedoc, Montpellier.
- SCHAUB S.A., KENYON K.F., BLEDSOE B., THOMAS R.E. (1980) - Evaluation of the overland runoff of land wastewater treatment for virus removal. *Appl. Environ. Microbiol.*, 39, 127-134.
- SCHEUERMAN P.R., BITTON G., OVERMAN A.R., ASCE M., GIFFORD G.E. (1979) - Transport of viruses through organic soils and sediments. *J. Environ. Eng. Div.*, 105, 629-640.
- SHIELDS P.A., FARRAH S.R. (1983) - Influence of salts on electrostatic interactions between poliovirus and membrane filters. *Appl. Environ. Microbiol.*, 45, 526-531.

- SINGH S.N., BASSOUS M., GERBA C.P., KELLEY L.M. (1986) - Use of dyes and proteins as indicators of virus adsorption to soils. *Water Res.*, 20, 267-272.
- SOBSEY M.D., DEAN C.H., KNUCKLES M.E., WAGNER R.A. (1980) - Interactions and survival of enteric viruses in soil materials. *Appl. Environ. Microbiol.*, 40, 92-101.
- TURK C.A., MOORE B.E., SAGIK B.P., SORBER C.A. (1980) - Recovery of indigenous viruses from wastewater sludges, using a bentonite concentration procedure. *Appl. Environ. Microbiol.*, 40, 423-425.
- VAUGHN J.M., LANDRY E.F., BARANOSKY L.J., BECKWITH C.A., DAHL M.C., DELIHAS N.C. (1978) - Survey of human virus occurrence in wastewater-recharged groundwater on Long Island. *Appl. Environ. Microbiol.*, 36, 47-51.
- VAUGHN J.M., LANDRY E.F., BECKWITH C.A., THOMAS M.Z. (1981) - Virus removal during groundwater recharge: effects of infiltration rate on adsorption of poliovirus to soil. *Appl. Environ. Microbiol.*, 41, 139-147.
- VAUGHN J.M., LANDRY E.F., THOMAS M.Z. (1983) - Entrainment of viruses from septic tank leach fields through a shallow, sandy soil aquifer. *Appl. Environ. Microbiol.*, 45, 1474-1480.
- WANG D.S., LANCE J.C., GERBA C. (1980) - Evaluation of various soil water samplers for virological sampling. *Appl. Environ. Microbiol.*, 39, 662-664.
- WANG D.S., GERBA C.P., LANCE J.C. (1981) - Effect of soil permeability on virus removal through soil columns. *Appl. Environ. Microbiol.*, 42, 83-88.
- WARD R.L., KNOWLTON D.R., WINSTON P.E. (1986) - Mechanism of inactivation of enteric viruses in fresh water. *Appl. Environ. Microbiol.*, 52, 450-459.
- YEAGER J.G., O'BRIEN R.T. (1979) - Enterovirus inactivation in soil. *Appl. Environ. Microbiol.*, 38, 694-701.

Comportement des virus en géopuration

LISTE DES TABLEAUX

- Tableau 1-1 - Classification des virus rencontrés dans l'environnement hydrique.
- Tableau 1-2 - Principales maladies causées par les virus existant dans l'environnement hydrique.
- Tableau 1-3 - Structures des virus.
- Tableau 1-4 - Point isoélectrique des virus (pI).
- Tableau 1-5 - Composition d'une solution d'antibiotiques pour décontaminer les concentrats viraux.
- Tableau 1-6 - Différents systèmes cellulaires.
- Tableau 1-7 - Elution des poliovirus adsorbés sur des floccs dans les boues.
- Tableau 1-8 - Quantité de virus détectés dans les selles.
- Tableau 1-9 - Traitement des eaux usées.
- Tableau 2-1 - Effet de la température sur la survie des virus.
- Tableau 2-2 - Effet de l'humidité du sol sur la survie des poliovirus types 1 à 20 °C.
- Tableau 2-3 - Quantité de virus isolés dans la station d'épuration de Mililani.
- Tableau 2-4 - Activité virucide des bactéries isolées de l'eau douce.
- Tableau 2-5 - Inactivation des virus en milieux stériles ou non stériles.
- Tableau 2-6 - Baisse de l'infectivité des virus en fonction du temps d'incubation.
Effet sur les protéines virales.
- Tableau 2-7 - Association du poliovirus 1 avec les boues chimiques.
- Tableau 2-8 - Inactivation de poliovirus 1 dans les boues chimiques en présence de chaux.
- Tableau 2-9 - Adsorption de différents virus sur les floccs des boues activées.

Comportement des virus en géopuration

- Tableau 3-1 - Classification des virus selon leurs capacités d'adsorption.
- Tableau 3-2 - Adsorption de différents types d'entérovirus et rotavirus.
- Tableau 3-3 - Adsorption de différentes souches d'entérovirus.
- Tableau 3-4 - Caractéristiques des sols.
- Tableau 3-5 - Adsorption des virus dans différents sols.
- Tableau 3-6 - Effet du pH sur l'adsorption des virus dans le sol.
- Tableau 3-7 - Adsorption de virus en suspension dans un effluent secondaire ou dans l'eau du robinet.
- Tableau 3-8 - Effet du milieu de suspension sur l'adsorption des virus dans le sol de Flushing Meadows.
- Tableau 3-9 - Effet du $Mg Cl_2$ sur l'adsorption des virus dans le sable de Fripp.
- Tableau 3-10 - Taux d'élimination des virus dans les colonnes de sol.
- Tableau 3-11 - Observations obtenues avec différents taux d'infiltration.
- Tableau 3-12 - Tableau récapitulatif des facteurs influençant l'adsorption.
- Tableau 3-13 - Adsorption et élimination des virus sur des colonnes.
- Tableau 3-14 - Adsorption et élimination des virus. Etudes sur le terrain.
- Tableau 3-15 - Elution des virus et composition de l'eau.
- Tableau 3-16 - Elution de poliovirus type 1 adsorbés sur des floes de boues activées.
- Tableau 3-17 - Migration verticale des virus dans le sol.
- Tableau 3-18 - Migration horizontale des virus dans le sol.

LISTE DES FIGURES

- Fig. 1 - Représentation schématique d'un virus.
- Fig. 2 - Segment du virus de la mosaïque du tabac, exemple de capsidite à symétrie hélicoïdale.
- Fig. 3 - Capsidite à symétrie icosaédrique.
- Fig. 4 - Poliovirus observés en microscopie électronique.
- Fig. 5 - Photo en microscopie électronique d'un adénovirus.
- Fig. 6 - Capsidite icosaédrique d'un adénovirus.
- Fig. 7 - a : Photo en microscopie électronique du core des réovirus.
b : Représentation schématique du core des réovirus.
- Fig. 8 - Photo d'un coronavirus.
- Fig. 9 - Photo en microscopie électronique de calicivirus.
- Fig. 10 - Taille de quelques bactéries et virus.
- Fig. 11 - Représentation de la double couche existant autour d'un virus.
- Fig. 12 - Interactions hydrophobes entre un virus et une surface.
- Fig. 13 - Principe d'une réaction de neutralisation.
- Fig. 14 - Microplaques.
- Fig. 15 - Les deux possibilités de quantifier les virus.
- Fig. 16 - Voies de contamination virale de l'homme à partir des matières fécales et des eaux usées.
- Fig. 17 - Usages sanitaires de l'eau.
- Fig. 18 - Effet de la température sur les taux d'inactivation de deux virus dans de l'eau de rivière.

Comportement des virus en géoépuration

- Fig. 19 - Inactivation des poliovirus type 1 à des niveaux d'humidité du sol variés.
- Fig. 20 - Tracé des pentes de survie en fonction du taux d'humidité du sol.
- Fig. 21 - Mécanismes d'inactivation des virus.
- Fig. 22 - Effet des agents chaotropiques sur les interactions virus - filtre.
- Fig. 23 - Effet des agents antichaotropiques sur les interactions virus - filtre.
- Fig. 24 - Effet du traitement par la chaleur sur l'activité virucide d'une eau douce.
- Fig. 25 - Inactivation de certains virus adsorbés sur des oxydes de métaux.
- Fig. 26 - Rôle du pH sur l'adsorption.
- Fig. 27 - Concentrations en virus à différentes profondeurs dans une colonne de sol inondée avec des effluents primaires et secondaires.
- Fig. 28 - Adsorption des virus dans une colonne de sol avec des flux saturés ou non.
- Fig. 29 - Relation entre la vitesse d'infiltration et le taux d'élimination.
- Fig. 30 - Pourcentage de virus adsorbés par le sable en présence de surfactants.
- Fig. 31 - Effets des agents antichaotropiques, des cations et du pH sur les interactions entre les virus et la surface du filtre.

LISTE DES ANNEXES

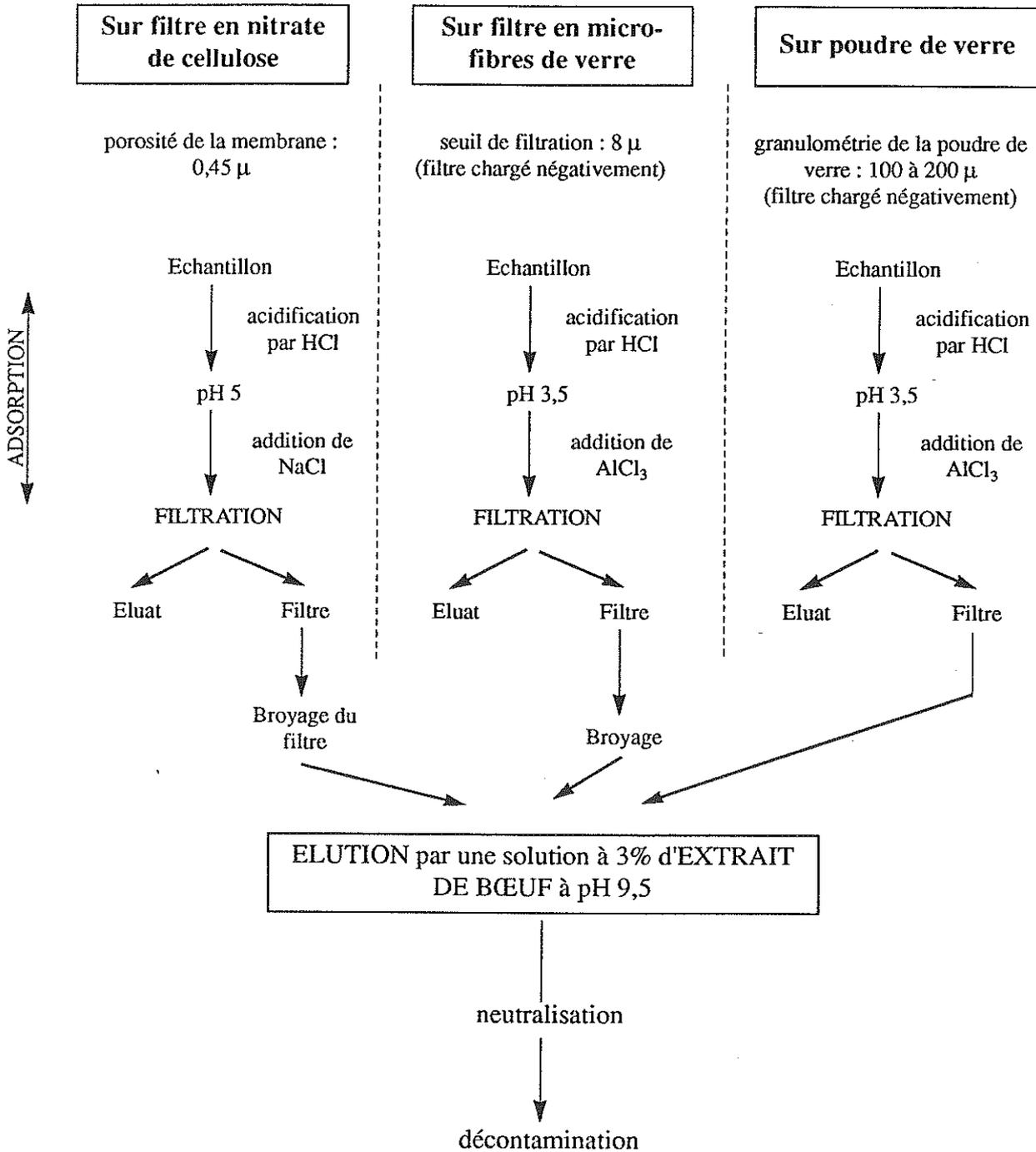
- Annexe 1 - Méthodes de concentration. Adsorption - élution.
- Annexe 2 - Flocculation organique.
- Annexe 3 - Différents types de cultures cellulaires.
- Annexe 4 - Sensibilité de différents systèmes cellulaires pour l'isolement des virus.
- Annexe 5 - Délai d'apparition de l'effet cytopathique.

Comportement des virus en géoépuration

- Annexe 6 - Contamination des eaux de distribution. Approche épidémiologique.
- Annexe 7 - Concentration virale des eaux usées brutes et des effluents rejetés dans le milieu extérieur.
- Annexe 8 - Contamination des eaux de surface recevant des effluents d'égout.
- Annexe 9 - Electrophorèse des protéines de l'échovirus 12 au cours d'une incubation à 26 °C.
- Annexe 10 - Points isoélectriques de quelques constituants du sol.
- Annexe 11 - Adsorption des virus après application prolongée d'effluent.
- Annexe 12 - Exemples de pays utilisant les eaux usées en agriculture.
- Annexe 13 - Schéma de principe des champs d'épandage.

Comportement des virus en géopuration

ANNEXE 1 MÉTHODES DE CONCENTRATION ADSORPTION - ELUTION

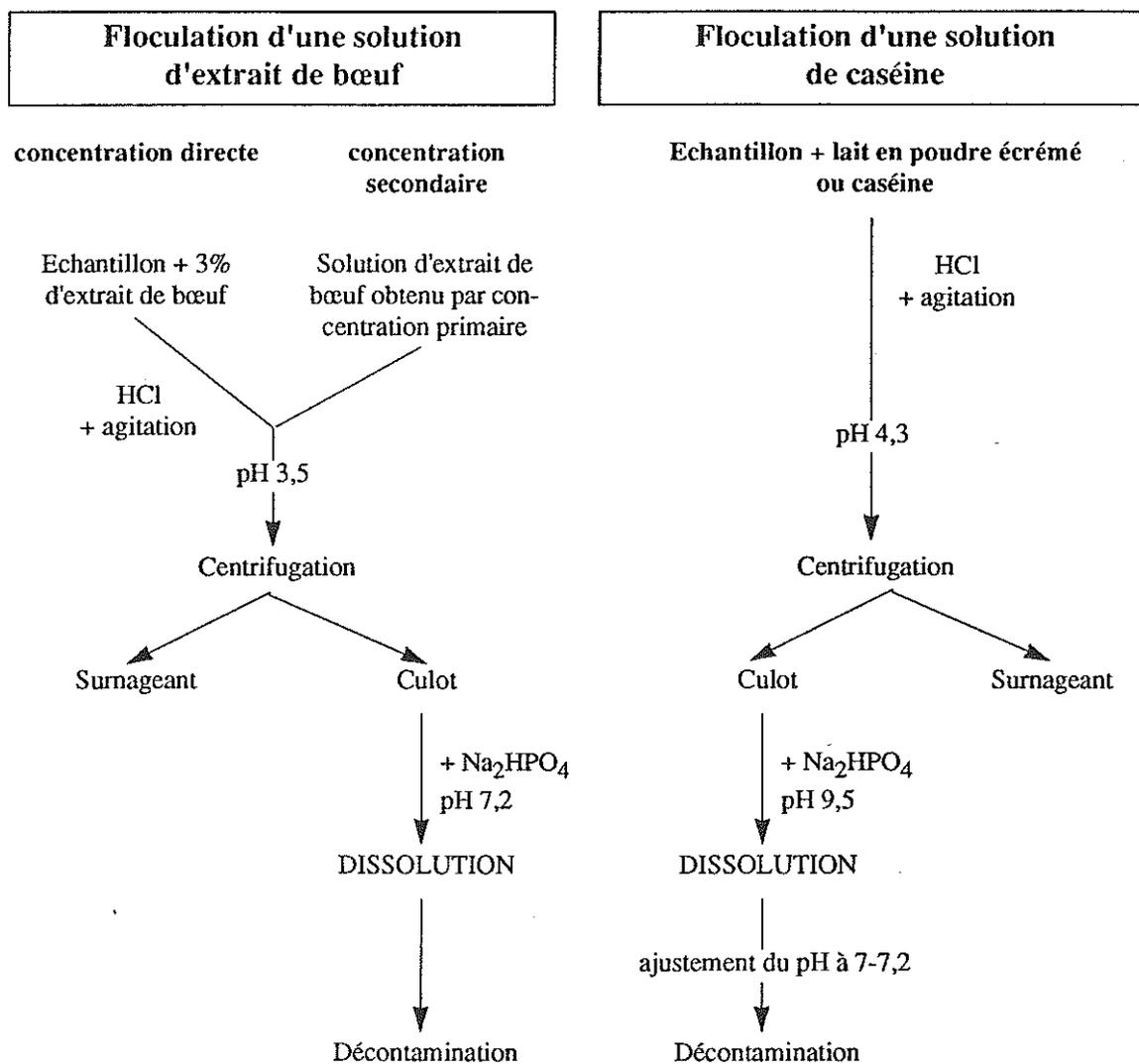


Méthode relativement efficace (60% de récupération)

Rendement moyen de récupération :
– faible avec les eaux usées,
– proche de 60-70% pour les eaux d'alimentation.

(d'après BLOCK et SCHWARTZBROD, 1982).

ANNEXE 2 FLOCCULATION ORGANIQUE



Rendement : 70%.

Volume de l'échantillon limité à 1 l.

(d'après BLOCK et SCHWARTZBROD, 1982)

ANNEXE 3

DIFFÉRENTS TYPES DE CULTURES CELLULAIRES

Cellules de primo-explantation :

Organe animal : rein de singe
 rein de porc
 rein de lapin
 thyroïde

Lignées cellulaires établies :

lignées d'origine humaine :

cellules KB (origine : carcinome de la bouche)
cellules Hela (origine : cancer du col de l'utérus)
cellules Hep 2 (origine : carcinome du larynx)
cellules RD (origine : rhabdomyosarcome)

lignées d'origine simienne :

cellule Vero, BGM, BSC (origine : rein de *Cercopithecus aethiops*)

Cellules diploïdes :

cellules dérivant d'embryons humains :

WI 38 (origine : poumon de fœtus femelle de 16 semaines)
MRC 5 (origine : poumon de fœtus mâle de 14 semaines).

(d'après BLOCK et SCHWARTZBROD, 1982)

ANNEXE 4
SENSIBILITÉ DE DIFFÉRENTS SYSTÈMES CELLULAIRES
POUR L'ISOLEMENT DES VIRUS

CELLULES	VIRUS	POLIOMYELITIQUES	COXSACKIE A	COXSACKIE B	E.C.H.O.	REOVIRUS	ADENOVIRUS
Primo Explication	Rein de singe (primaire)	+	- *	+	+	+	-
	Véro	+	- *	+	+	+	++
Lignées établies	BCM	+	- *	+	+	+	++
	HeLa	+	- *	++	++	+	+
	KB	+	- *	++	++	+	+
	Hep 2	+	- *	+	++	+	+
	RD	+	+	-	+	+	++
	MRC ₅	+	+	-	+	++	+

* A l'exception de certaines souches.

(d'après BLOCK et SCHWARTZBROD, 1982)

ANNEXE 5
DÉLAI D'APPARITION DE L'EFFET CYTOPATHIQUE

Milieu liquide :

Virus de la poliomyélite	24-48 h	}	dégénérescence cellulaire
Virus ECHO			partielle
Virus Coxsackie	48-72 h		destruction totale des cellules
Réovirus	6-7 j		16 à 30 j*
Adénovirus	5-6 j		10 à 30 j*

Milieu gélosé :

Virus de la poliomyélite	2-3 j au plus
Virus ECHO	4-12 j
Virus Coxsackie	plus de 3 j

* HASSEN *et al.*, 1984

BLOCK *et* SCHWARTZBROD, 1982

ANNEXE 6

CONTAMINATION DES EAUX DE DISTRIBUTION APPROCHE ÉPIDÉMIOLOGIQUE

A Delhi, en Inde, en 1955-56, 29 000 cas d'hépatite ont été déclarés suite à la contamination de l'eau de rivière désinfectée par des méthodes traditionnelles (DUBOISE *et al.*, 1979). Le virus en cause serait un virus de l'hépatite E (HURST, 1989 a).

Aux USA, 45 000 cas cliniques d'hépatite non B sont rapportés chaque année (DUBOISE *et al.*, 1979).

Une étude statistique portant sur 538 personnes montre que 44% de la population de Corpus Christi aux USA a des anticorps anti HAV (virus de l'hépatite A). Le facteur le plus significatif est la classe socio-économique (DUBOISE *et al.*, 1979).

En effet, les individus des classes moyennes et basses sont plus disposés dans leur enfance à acquérir les anticorps contre le virus de l'hépatite A par rapport aux personnes des classes plus élevées. Il semble que la contamination au niveau des systèmes publics ait surtout lieu dans le réseau de distribution. Par contre, pour les systèmes privés, l'utilisation d'eau souterraine contaminée est le plus souvent en cause (DUBOISE *et al.*, 1979).

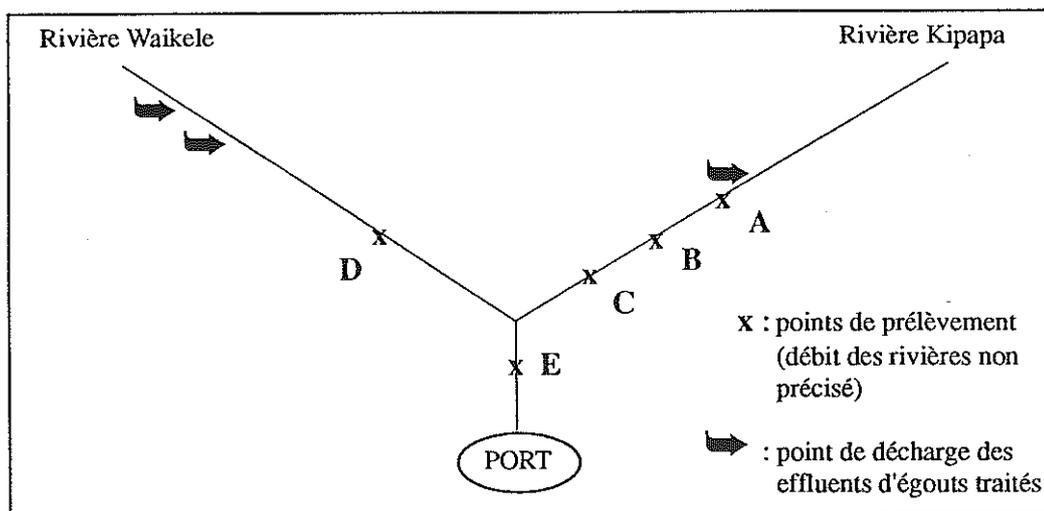
En Finlande en 1984, une épidémie de poliomyélite paralytique a eu lieu suite à la présence de poliovirus dans les eaux de boisson. Aucun cas de cette maladie n'avait été déclaré depuis 20 ans. Bien que seulement dix individus aient développé les signes cliniques, plus de 100 000 personnes ont excrété la souche de poliovirus 3 en cause (PÖYRY *et al.*, 1988).

En France, une enquête épidémiologique effectuée en Meurthe-et-Moselle a montré qu'il y avait une relation entre la pollution de l'eau de distribution et la survenue de gastro-entérites d'origine virale dans la population (COLLIN, 1981).

ANNEXE 7
CONCENTRATION VIRALE DES EAUX USÉES BRUTES ET DES
EFFLUENTS REJETÉS DANS LE MILIEU EXTÉRIEUR

Références	Quantité de virus par litre d'eaux usées brutes	Quantité de virus rejetés dans le milieu extérieur
ELLIOTT <i>et al.</i> , 1977	11 000 virus/l	- 5,5 . 10 ² /l dans l'effluent secondaire - 5,5 . 10 ⁻¹ après désinfection
LARKIN, 1982	5 à 210 000 entérovirus/l En moyenne aux USA : 2000 à 7000/l Autres virus : 4000 à 14 000/l en moyenne	- 1200 à 42 000/l dans l'effluent
FUJIOKA et LOH, 1978	27 à 19 000 UFP/l	- 7 à 5222 dans l'effluent traité par boues activées - 2 à 750 dans l'effluent chloré
FUJIOKA et LOH, 1978	5,6 à 2,24 10 ⁸ /l	- 20 à 16 000/l d'effluent chloré
BERTUCCI, 1983	250 - 2738 6000 - 1 060 000 109 - 427	- 5 à 59 dans l'effluent traité - 3000 - 940 000 - 2-36
FUJIOKA et LOH, 1978	6 - 268 UFP/l	- 25-34 UFP/l

ANNEXE 8 CONTAMINATION DES EAUX DE SURFACE RECEVANT DES EFFLUENTS D'ÉGOUT

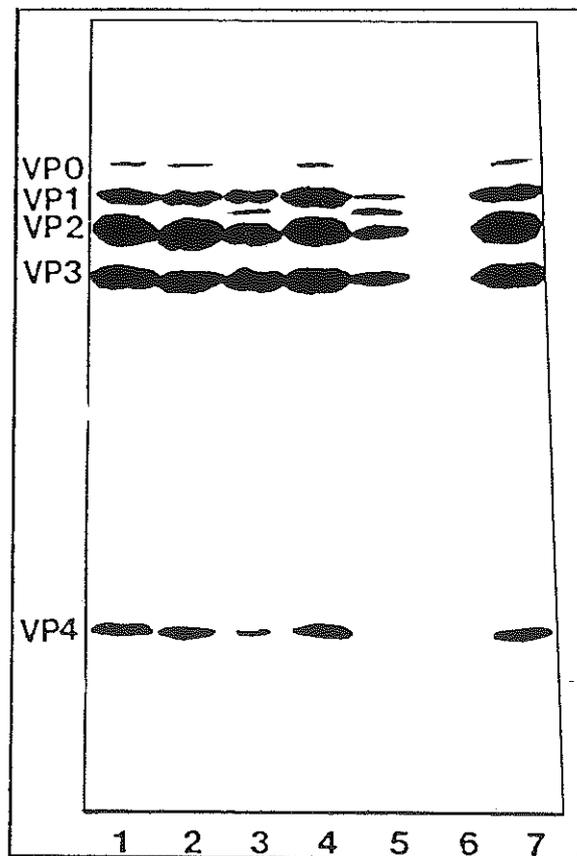


*Sites de prélèvements des virus sur l'île d'Oahu
(d'après FUJIOKA et LOH, 1977).*

Sites de prélèvement	Volume de prélèvement (l)	<u>Echantillons positifs</u> <u>Echantillons testés</u>
A : décharge de l'effluent dans la rivière	16	1/3
B : 1,6 km du point de décharge	16 et 4	2/3
C : 2,4 km du point de décharge	4	1/3
D : 1,5 et 3 km des points de décharge	8	1/1
E : 5,6 et 8 km des points de décharge	20 40	2/3

Isolement des virus dans les eaux naturelles recevant les effluents d'égout.

ANNEXE 9
ELECTROPHORÈSE DES PROTÉINES DE L'ÉCHOVIRUS-12
AU COURS D'UNE INCUBATION À 26 °C



Les échovirus 12 sont incubés dans de l'eau douce non traitée pendant :

- 0 h —> tracé 1
- 8 h —> tracé 2
- 16 h —> tracé 3
- 24 h —> tracé 5
- 32 h —> tracé 6

Echovirus témoins non incubés : tracés 4 et 7.

(WARD *et al.*, 1986)

ANNEXE 10
POINTS ISOÉLECTRIQUES DE QUELQUES CONSTITUANTS
DU SOL

Solide	Point isoélectrique
Quartz α -SiO ₂	2-3,5
Corundum α - Al ₂ O ₃	5-9,2
Albite Na Al Si ₃ O ₈	2,0
Hématite α - Fe ₂ O ₃	4,2-9,3
Pyrolusite α - MnO ₂	7,3
Birnessite S - MnO ₂	1,5
Tenorite CuO	9,5
Kaolinite Al (Si ₄ O ₁₀) (OH) ₈	< 2 - 4,6
Montmorillonite	≤ 2,5
Allophane	6,5

Lorsque l'on considère seulement le point isoélectrique, les solides qui ont un point isoélectrique élevé sont de meilleurs adsorbants des virus que ceux qui ont un point isoélectrique faible. En effet, les constituants ayant un point isoélectrique élevé ont une forte probabilité d'avoir une charge nette positive aux pH des eaux naturelles et du sol.

Si les virus ont une charge négative, dans ces conditions, les forces engendrées sont attractives et entraînent l'adsorption. Ainsi, l'Al₂O₃ peut être considéré comme un meilleur adsorbant que le quartz (GERBA, 1984).

ANNEXE 11 ADSORPTION DES VIRUS APRÈS APPLICATION PROLONGÉE D'EFFLUENTS

Des échantillons de sols, provenant de parcelles de terrain sur lesquelles des eaux usées auraient été pulvérisées, ont été prélevés.

Leur capacité à adsorber les poliovirus 1 et le phage F₂ a été testée en laboratoire. La suspension virale a été effectuée avec un effluent secondaire.

Les résultats obtenus révèlent que l'adsorption des poliovirus augmente avec la profondeur du sol. Cette élévation est plus faible avec les sols ayant reçu des eaux usées brutes ou des effluents primaires.

Profondeur du sol des parcelles inondées par		% de virus adsorbés sur le sol	
		Poliovirus 1	Coliphage F ₂
Surface	Effluent secondaire	99,65	0
	Effluent primaire	70,70	25,90
	Effluent brut	82,20	0
2 cm	Effluent secondaire	99,76	0
	Effluent primaire	9,08	11,90
	Effluent brut	97,40	0
8 cm	Effluent secondaire	99,98	4,80
	Effluent primaire	99,08	0
	Effluent brut	97,40	23,40

(d'après SCHAUB *et al.*, 1980).

ANNEXE 12

EXEMPLES DE PAYS UTILISANT LES EAUX USEES EN AGRICULTURE

1 . USA

On dénombre actuellement environ 3400 plans d'utilisation des eaux usées (pour des activités industrielles, agricoles ou à des fins récréatives).

2 . ISRAEL

Environ 10 000 hectares sont irrigués régulièrement avec des eaux usées, pour la production de coton (87%), citrons (7%), céréales (3%) et arbres fruitiers (1,8%); pour la culture de légumes consommés crus une autorisation spéciale du Ministère de la Santé est nécessaire.

L'aspersion est la technique la plus utilisée.

3 . INDE

50 à 55% des eaux usées sont réutilisées pour des pratiques agricoles

4 . R.F.A.

Seulement 3% des eaux usées servent à l'irrigation. Mais, en 1977, MULLER souligne qu'une grande partie des eaux usées non utilisées sont rejetées dans des rivières, qui servent elles-mêmes à l'irrigation de cultures.

Afin de protéger la santé publique, la RFA a mis en place une réglementation stricte qui impose pour l'irrigation un traitement biologique des eaux usées, et exige de surcroît la chloration pour le cas particulier de l'aspersion. De plus, l'irrigation des champs de céréales doit être suspendue 14 jours avant les moissons; celle des cultures maraichères n'est pas autorisée.

5 . AMERIQUE LATINE (MEXIQUE)

Pratiquée dans quelques cas pour l'irrigation des pâturages, ou des cultures de céréales, l'utilisation des eaux usées n'est pas autorisée pour la production de légumes.

6 . AFRIQUE DU SUD

En 1977, 32% des effluents d'eaux usées étaient réutilisées, dont 16% pour l'irrigation de cultures céréales, de parcs et de terrains de sport.

7 . PAYS DU POURTOUR MEDITERRANEEN

Dans cette partie du monde, l'utilisation des eaux usées connaît un développement de plus en plus important et a fait l'objet d'un rapport à l'O.M.S. ("Inter-country Seminar on Wastewater Reuse" - Bahrain - 1984)

Au Koweït, des contrôles sanitaires très stricts sont appliqués aux travailleurs agricoles. De plus, toute habitation doit être située à une distance minimale de 2-3 km des zones de culture.

8 . JAPON

La réutilisation des eaux usées au Japon est réalisée essentiellement dans le domaine industriel.

(PEPIN, 1989)

ANNEXE 13

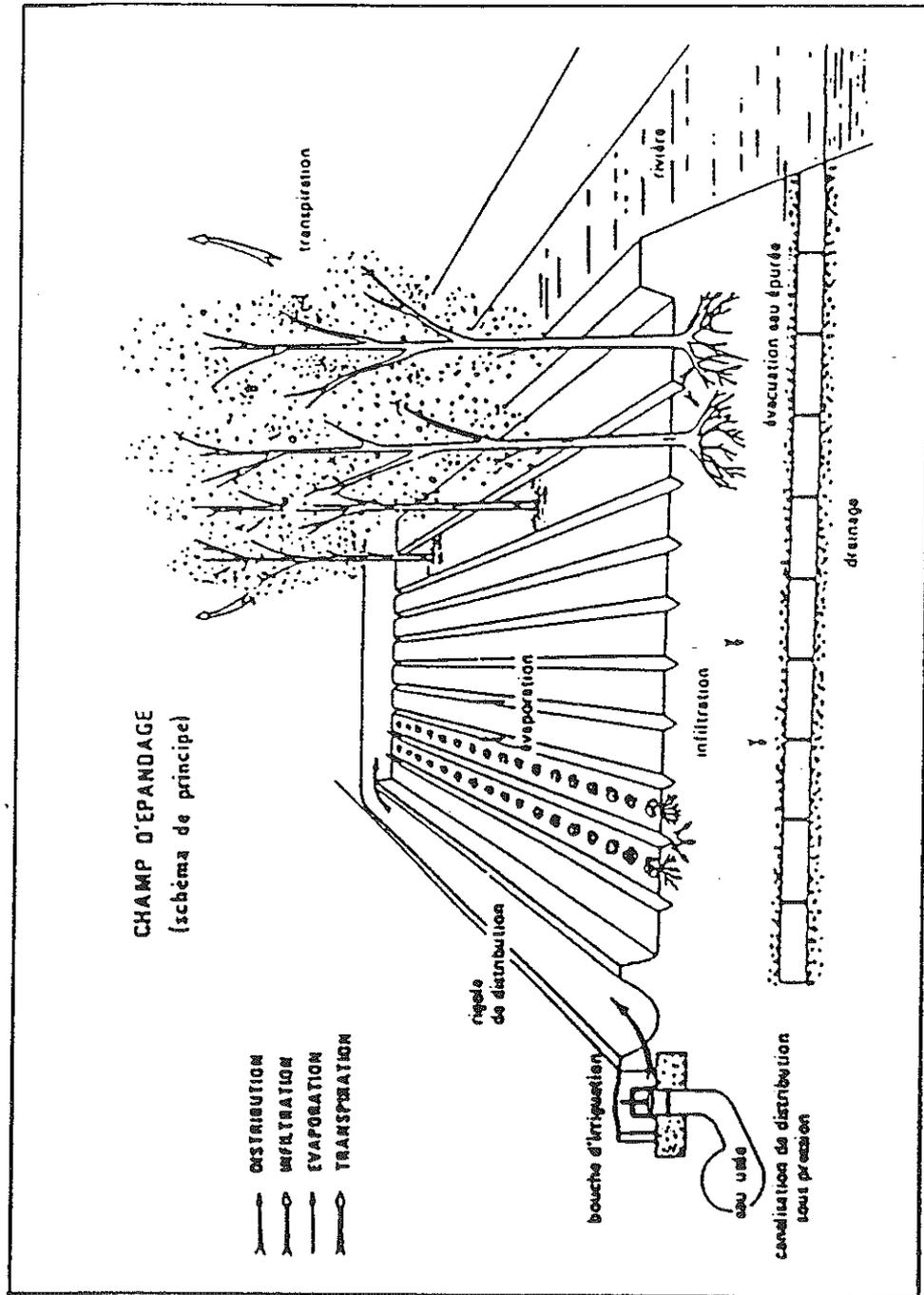


Schéma de principe des champs d'épandage

(RODIER et BRISSAUD, 1989)

RÉSUMÉ

Face à la pollution virale des eaux usées, on peut s'interroger sur le devenir des virus dans l'environnement hydrique et lors du traitement des eaux usées par infiltration - percolation à travers le sol, à savoir la géoépuration.

Les virus présents dans les eaux usées sont soit sous forme libre, soit adsorbés sur des particules solides.

Dans la plupart des sols, au cours de l'infiltration - percolation, les virus sont retenus dans les premiers centimètres par ce phénomène. Mais leur adsorption est réversible et n'implique par forcément la perte de leur pouvoir infectant. Ainsi, l'éluion des virus peut entraîner leur migration plus profondément dans le sol d'où le risque de contamination des nappes souterraines.

MOTS CLES :

- virus
- géoépuration
- eaux usées
- sols