

République de Côte d'Ivoire

Union Discipline Travail



Université

NANGUI ABROGOUA

UFR-SGE

Sciences et Gestion de l'Environnement

ANNEE : 2012-2013

N° du candidat : 02-03-022202

Nom : MOMOU

Prénoms : Kouassi Julien

Laboratoire des Sciences de l'Environnement
UFR SGE-UNA

JURY :

Présidente :

Madame DOGBO DENEZON Odette
Université Nangui Abrogoua, Abidjan

Co-directeurs :

Madame : DOSSO BRETIN Mireille
Université Félix Houphouet-Boigny, Abidjan-Cocody

Monsieur : TRAORÉ Karim Sory
Université Nangui Abrogoua, Abidjan

Rapporteurs :

Monsieur : DJÈ Koffi Marcellin
Université Nangui Abrogoua, Abidjan

Madame : KOUASSI -M'BENGUE Alphonsine
Université Félix Houphouet-Boigny, Abidjan-Cocody

Examineur :

Madame : KOUSSEMON Marina Epse CAMARA Université
Nangui Abrogoua, Abidjan

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

N° de série : 179

THÈSE UNIQUE PRESENTÉE

Pour l'obtention du titre de :
Docteur de l'Université NANGUI ABROGOUA
en Sciences et Gestion de l'Environnement

OPTION : *Chimie, Santé et Environnement*

THEME

**POLLUTION LAGUNAIRE,
PERSISTANCE ET DÉTECTION
D'ENTEROVIRUS DANS LES
EAUX USÉES À ABIDJAN (COTE
D'IVOIRE)**

Soutenu publiquement le 30 janvier 2014

République de Côte d'Ivoire

Union Discipline Travail



Université

NANGUI ABROGOUA

UFR-SGE

Sciences et Gestion de l'Environnement

ANNEE : 2012-2013

N° du candidat : 02-03-022202

Nom : MOMOU

Prénoms : Kouassi Julien

Laboratoire des Sciences de l'Environnement
UFR SGE-UNA

JURY :

Présidente :

Prof. DOGBO DENEZON Odette
Professeur Titulaire de Physiologie et de Physiopathologie
végétal

Co-directeurs :

Prof. DOSSO BRETIN Mireille
Professeur Titulaire de Microbiologie

Prof. TRAORE Karim Sory
Maitre de Conférences de Chimie Organique

Rapporteurs :

Prof. DJÈ Koffi Marcellin
Professeur Titulaire de Biochimie

Prof. KOUASSI -M'BENGUE Alphonsine
Maitre de Conférences Agrégé de Bactériologie-Virologie

Examineur :

Prof. KOUSSEMON Marina Epse CAMARA
Maitre de Conférences de Microbiologie

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

N° de série : 179

THÈSE UNIQUE PRESENTÉE

Pour l'obtention du titre de :

*Docteur de l'Université NANGUI ABROGOUA
en Sciences et Gestion de l'Environnement*

OPTION : *Chimie, Santé et Environnement*

THEME

**POLLUTION LAGUNAIRE,
PERSISTANCE ET DÉTECTION
D'ENTEROVIRUS DANS LES
EAUX USÉES À ABIDJAN (COTE
D'IVOIRE)**

Soutenue publiquement le 30 janvier 2014

TABLE DES MATIÈRES

Remerciements	i
Sigles et Abréviations	iv
Résumé.....	v
Liste des figures	vi
Liste des tableaux	ix
INTRODUCTION GENERALE	1

PREMIÈRE PARTIE: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. GENERALITES SUR LES EAUX USÉES.....	5
1.1. Introduction	5
1.2. Réservoir à polluant	5
1.3. Microorganismes dans l'environnement-interventions dans les processus biogéochimiques ..	6
1.4. Processus cycliques des éléments nutritifs : cycle du soufre et de l'azote dans l'environnement	6
1.5. Paramètres de pollutions organiques	8
1.5.1. Matières en suspensions (MES).....	8
1.5.2. Substances nutritives : potassium, phosphates, nitrates etc	8
1.6. Quelques paramètres d'analyses de la pollution des eaux.....	8
1.7. Conclusion	8
2. VIRUS ENTERIQUES ET EAUX USEES	10
2.1. Introduction.....	10
2.2. Exposition	10
2.3. Epidémies	10
2.4. Architecture et caractéristique physicochimique des virus dans les eaux	10

2.5. Cycle et niveau de contamination virale de l'environnement.....	11
2.6. Comportement des virus dans les eaux usées	13
2.7. Facteurs influençant la survie du virus	14
2.7.1. Température	14
2.7.2. pH	14
2.7.3. Rôle antagoniste des microbes.....	14
2.7.4. Dégradation enzymatique et les autres effets chimiques	15
2.7.5. Adsorption et ces influences sur la persistance et la survie du virus.....	15
2.7.6. Contenu en matière organique	15
2.7.7. Substances chimiques antivirales	15
2.8. Conclusion	15
3. GENRE <i>ENTEROVIRUS</i>	16
3.1. Introduction	16
3.2. Historique	16
3.3. Etude virologique.....	17
3.3.1. Taxonomie et classification.....	17
3.3.2. Structure et caractère antigénique	18
3.3.2.1. Génome ou ARN génomique.....	18
3.3.2.2. Organisation génomique et protéique des <i>Enterovirus</i>	19
3.3.3. Architecture du virion.....	20
3.3.4. Propriétés physicochimiques	20
3.3.5. Multiplication.....	21
3.3.6. Attachement	21
3.3.7. Pénétration et décapsidation	21
3.3.8. Réplication et traduction.....	21
3.3.9. Morphogenèse et libération des virions.....	23
3.3.10. Effet Cytopatogènes des <i>Enterovirus</i>	23
3.3.11. Epidémiologie.....	24
3.3.12. Physiopathologie	24
3.3.13. Manifestations cliniques	25

3.4. Conclusion	26
-----------------------	----

DEUXIÈME PARTIE : MATERIEL ET METHODES

1. Matériel	28
1.1. Cadre de l'étude	28
1.2. Sites d'échantillonnages	29
1.3. Prélèvements environnementaux	31
1.4. Matériel pour analyses physicochimiques	31
1.5. Matériel pour analyses virologiques	31
1.5.1. Matériel pour culture cellulaire.....	31
1.5.2. Matériel pour concentration des virus par méthode de séparation en 2 phases	31
1.5.3. Souches de références	31
1.5.4. Matériel pour typage et titrage.....	32
1.5.5. Matériel pour ELISA	32
1.5.6. Matériel pour PCR	32
1.6. Données pluviométriques	32
2. Méthodes.....	36
2.1. Échantillonnage et transport des échantillons.....	36
2.2. Caractérisation physicochimique des eaux usées brutes et lagunaires	37
2.2.1. Mesures in situ du pH, de la Température, de la conductivité et de la salinité	37
2.2.2. Détermination de la Demande Chimique en Oxygène (DCO).....	37
2.2.3. Mesure de la DBO ₅ (Demande Biochimique en Oxygène à J5).....	37
2.2.4. Dosage des Orthophosphates	38
2.2.5. Dosage du phosphore Total.....	38
2.2.6. Dosage de l'Azote Total Kjeldahl (NTK)	38
2.2.7. Dosage de l'Azote ammoniacal ou ammonium	38
2.2.8. Dosage des nitrates.....	38
2.2.9. Détermination des Matières En Suspension (MES).....	38

2.2.10. Détermination des Sulfates	38
2.3. Analyses virologiques	38
2.3.1. Concentration des virus des eaux usées.....	40
2.3.2. Méthode d'isolement virale sur lignées cellulaires.....	40
2.3.3. Concentration virale estimée des <i>Enterovirus</i>	40
2.3.4. Méthode d'isolement virale sur lignées cellulaires.....	40
2.3.5. Méthodes moléculaires d'identification	40
2.4. Méthodes d'analyses statistiques des résultats	41

TROISIÈME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSIONS

1. Caractéristiques physicochimiques des eaux usées brutes et lagunaires	46
1.1. Température, pH et conductivité.....	46
1.1.1. Température	46
1.1.2. pH	46
1.1.3. Conductivité.....	46
2. Description de la variation de la teneur en matières organiques oxydables et particulaires dans les eaux usées brutes et lagunaires	47
2.1. Biodégradabilité.....	47
2.2. DCO, DBO ₅ , NTK et du Pt.....	47
2.3. Pluviométrie et variation de la DCO, de la DBO ₅ , du NTK et du Pt	48
2.4. MES	50
3. Comportement des éléments nutritifs	51
3.1. Composés azotés.....	52
3.2. Evolution du nitrate et de la concentration en ammonium en milieu lagunaire	53
3.3. Variation de la salinité en fonction de la concentration en ammonium en milieu lagunaire	53
3.4. Composés phosphorés.....	54
3.5. Charge organique et variation de la teneur en sulfate.....	55
4. Conclusion	57

1. Influence des facteurs environnementaux sur les <i>Enterovirus</i>	59
1.1. Variations spatiales des virus détectés et de leur concentration dans les eaux usées	59
1.1.1. Positivité et site d'échantillonnage	59
1.1.2. Concentration virale estimée.....	60
2. Influence in situ de quelques facteurs environnementaux abiotiques sur la distribution et la persistance des <i>Enterovirus</i>	60
2.1. Pluviométrie.....	60
2.2. Température et pH	62
2.3. Salinité.....	63
2.4. Conductivité	64
3. Influence de la charge organique par rapport à la distribution et persistance des <i>Enterovirus</i>	64
3.1. Variation de la teneur en sulfate en fonction de la concentration virale estimée dans les eaux lagunaires	66
3.2. Influence des MES sur la distribution et la persistance des <i>Enterovirus</i>	66
4. Conclusion	67
3. Isolement et identification des <i>Enterovirus</i> des eaux usées brutes et lagunaires.....	69
3.1. Isolement viral	69
3.2. Appréciation de la sensibilité des lignées cellulaires L20B, RD, Hep2C, BGM utilisées pour l'isolement viral des échantillons environnementaux	70
3.3. Diversité des <i>Enterovirus</i> dans les eaux usées brutes et lagunaires.....	70
3.3.1. Typage antigénique <i>Poliovirus</i> et ENPV	71
3.3.2. Différentiation intratypique (DIT) par RT-PCR et ELISA Polio	71
3.3.3. ELISA Polio.....	71
4. Conclusion	73

CONCLUSION GENERALE, PERSPECTIVES ET RECOMMANDATIONS	74-77
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	80-103

ANNEXES

Article en annexe 1

Article en annexe 2

Article en annexe 3

Article en annexe 4

Annexe 5: Normes AFNOR, Système OXYTOP, HACH METHOD 8051-US EPA, ELISA

Annexe 6: Matériel pour analyses virologiques

Annexe 7: Données pluviométriques

Annexe 8 : Données relatifs à la population de Yopougon

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Cycle du soufre dans l'environnement par Castel et al ., (1996).....	7
Figure 2 : Cycle de l'azote dans l'environnement par Castel et al ., (1996).....	7
Figure 3 : Cycle de contamination virale d'après Loisy 2004.....	12
Figure 4: Pénétration survie et migration des virus vers les eaux souterraines sous influence des facteurs environnementaux d'après Melnick et Gerba 1980.....	12
Figure 5 : Sort des poliovirus dans le système côtier d'après Mellick et Gerba 1980.....	13
Figure 6 : Entérovirus (poliovirus)-famille picornaviridae par Mammette 2002.....	19
Figure 7: Organisation génétique du génome du poliovirus de type 1 (PV-1/Mahoney) appartenant a la superfamille des immunoglobulines.....	20
Figure 8. Structure de 3 récepteurs des entérovirus appartenant à la superfamille des immunoglobulines.....	22
Figure 9. Cycle de réplication du poliovirus dans la cellule humaine.....	23
Figure 10 : Résultat de l'infection des cellules BGM d'après EPA 2001	24
Figure 11: Epidémiologie des <i>Entérovirus</i> par Melnick (1996).....	24
Figure 12: Physiopathologie de l'infection par les <i>Entérovirus</i> d'après Crainic et al.(1995)	25
Figure 13: Poliomyélite : cellules nerveuses affectés Melnick (1996).....	27
Figure 14: Répartition des sites d'échantillonnages le long d'un canal d'écoulement d'eaux usées débouchant sur une lagune tropicale.....	29
Figure 15 : Site d'échantillonnage A1.....	32
Figure 16 : Site d'échantillonnage A2.....	33
Figure 17 : Site d'échantillonnage B.....	33
Figure 18 : Site d'échantillonnage C.....	33

Figure 19 : Site d'échantillonnage D.....	33
Figure 20 : Site d'échantillonnage F.....	34
Figure 21 : Sites d'échantillonnage lagunaire G.....	34
Figure 22 : Sites d'échantillonnage lagunaire H près d'Azito au Quai.....	34
Figure 23: Schéma de la décantation de l'échantillon traité au PEG6000/Dextran T40.....	39
Figure 24: Dilution de la suspension virale pour titrage selon OMS (2004)..	41
Figure 25: Dilution de la suspension virale pour typage selon OMS (2004)..	42
Figure 26: Plaque de microtitration pour typage et contre titrage des isolats selon OMS (2004).....	43
Figure 27: Plaque pour test ELISA de différentiation intratypique des isolats de Poliovirus selon OMS (2004).....	44
Figure 28 : Schéma simplifié de l'isolement des Poliovirus et ENP sur lignée Cellulaire.....	45
Figure 29: Variation des ratios DCO/DBO₅ par site de prélèvement.....	47
Figure 30 : Variation dans le sens amont aval de la DCO et de la DBO₅ en absence de précipitations et en période de fortes pluviométries.....	49
Figure 31: Effets de la pluviométrie sur l'augmentation des MES en absence de précipitations et en présence de fortes pluviométries en milieu lagunaire.....	51
Figure 32: Variation dans le sens amont aval de la NTK et Nitrate en absence de précipitations et en période de fortes pluviométries	52
Figure 33 : Evolution du nitrate et de la concentration en ammonium aux sites lagunaires G et H.....	53
Figure 34 : Courbes d'évolution de la salinité en fonction de la concentration en ammonium aux sites lagunaires G et H.....	54
Figure 35 : Variation dans le sens amont aval du Phosphore Total et de l'Orthophosphate en absence de précipitations et en présence de fortes pluviométries	55

Figure 36 : Variation de la teneur en sulfate en fonction du niveau de la charge polluante aux sites lagunaires G et H.....	57
Figure 37 : Evolution de la concentration virale estimée des entérovirus dans le sens amont aval en fonction de la pluviométrie lors des deux premières séries de prélèvements.....	61
Figure 38 : Variation des échantillons positifs en fonction des précipitations aux jours des prélèvements dans les sites considérés	62
Figure 39 : Variation de la concentration virale moyenne estimée en fonction de la DBO₅ moyenne pour les 3 séries de prélèvements	65
Figure 40: Variation de la concentration virale estimée et de la DBO₅ en fonction des sites de prélèvements	65
Figure 41: Variation de la concentration virale estimée et de la teneur en sulfate aux sites de collecte G et H à la 3^{ème} série de prélèvements.....	66
Figure 42: Variation de la concentration virale en fonction des MES et de la pluviométrie et lors des 3 séries de prélèvements.....	67
Figure 43 : Produit PCR en gel d'agarose à 1% contenant du bromure d'éthidium à 0,5 µg /ml.....	70
Figure 44 : Typage des ENPV par séroneutralisation sur microplaque de culture cellulaire avec le Kit RIVM.....	71
Figure 45 : Différenciation intratypique des poliovirus (DIT)	71- 72

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Classification actuelle des Picornaviridae d'après Racaniello (2007).....	18
Tableau 2: Différentes infections due au coxsachievirus et à l'échovirus.....	26
Tableau 3 : Localisation géographique des sites d'échantillonnages.....	30
Tableau 4 : récapitulatif des échantillons prélevés lors des campagnes de mesures et d'échantillonnages.....	36
Tableau 5: Pool d'antisérum préparé a partir d'immun sérum selon OMS (2004).....	42
Tableau 6: Interprétation des tests d'identifications du poliovirus selon OMS (2004).....	43
Tableau 7: Pool d'antisérum dirigé contre les Echovirus et les coxsachjevirus selon OMS (2004).....	44
Tableau 8 : Valeurs moyennes des paramètres physicochimiques des eaux usées brutes et lagunaires par site de collecte.....	46
Tableau 9 : Valeurs moyennes de la DCO, de la DBO₅, du NTK et du Pt des eaux usées brutes et lagunaires par site de collecte.....	48
Tableau 10 : Effets de la pluviométrie sur les valeurs de la charge polluante en milieu lagunaire.....	49
Tableau 11 : Effets de la pluviométrie sur l'augmentation des MES en milieu lagunaire.....	50
Tableau 12: Matrice de corrélation (Bravais Pearson) entre les différents paramètres physicochimiques des eaux lagunaires prélevés.....	51
Tableau 13 : Effet de la pluviométrie sur l'augmentation du NTK en milieu lagunaire.....	52
Tableau 14 : Valeurs moyennes de la DCO, de la DBO₅ et du sulfate des eaux usées brutes et lagunaires par site de collecte.....	56

Tableau 15 : Répartition des échantillons positifs en culture et RT-PCR sur le nombre total d'échantillon par sites d'échantillonnage.....	59
Tableau 16: Concentration virale moyenne estimée par site de collecte.....	60
Tableau 17 : Variation des échantillons positifs en fonction des paramètres environnementaux : les sites de prélèvements des variables maximales et minimales ont été pris en compte.....	63
Tableau 18 : Variation des échantillons positifs en fonction de la salinité : les sites de prélèvements des variables maximales et minimales ont été pris en compte.....	64
Tableau 19 : Répartition des échantillons positifs en fonction de la lignée cellulaire.....	69
Tableau 20: Valeurs DO tests Elisa Polio.....	72

ABREVIATIONS

A : adénine

T : thymine

C : cytosine

G: guanine

U: uracile

I: Inosine

ADN: Acide desoxyribonucleique

ADP : Adénosine diphosphate

AMP: Adénosine monophosphate

AMVRT: Avian Myeloblastosis Virus Reverse Transcriptase

ARN: Acide ribonucléique

ARNv: Acide ribonucléique viral

ARNc : Acide ribonucléique viral complémentaire

ATP: Adénosine-5'-triphosphate

BGM: Buffalo Green Monkey

CDC: Center for Disease Control and Prevention

CEE : Communauté Economique Européen

CHU : Centre hospitalier universitaire

CNS : Comité normes et standards

CNUED : Conférence des nations unies sur l'environnement et le développement

COT : Carbone organique total

CP : pool coxsachievirus

Da : dalton

dATP : 2'-deoxyadénosine triphosphate

dCTP : désoxycytidine triphosphate

dGTP: désoxyguanosine triphosphate

dTTP: deoxythymidine triphosphate

DBO₅ : Demande biochimique en oxygène à J5

DCO : Demande chimique en oxygène

DO : Densité optique

DTO : Demande total en oxygène

ECP : Effet cytopathogène

EDTA: Acide diaminotétracarboxylique

ELISA : Enzyme linked immunosorbant assay

ENPV : Entérovirus non polio

EV: Entérovirus

HEP2C : Cellule humaine dérivé de carcinome épithélioma (cincinetti)

HEPES: Acide N-2-hydroxyéthylpipérazine-N'-2-éthanesulfonique

Hepta N: Hepta-N-acetylchitoheptaose

HEV: Human enterovirus

IJC: International joint commission

Ig: immunoglobulines

IPV: Inactivated polio vaccine (Salk)

kDa: kilodalton

L20B: Mousse cell line expressing the gene for the human cellular receptor for poliovirus

MEM: Minimal essential medium

MES: Matières en suspensions

MEST: Matières en suspension totale

NSL: Non Sabin Like

pb : paire de bases

Pi : Phosphate inorganique

PPi : Pyrophosphate inorganique

PP: pool poliovirus

PNUE: Programme des nations unis pour l'environnement

RT : reverse transcription

µS : micro Siemens

SDS: Dodécyl sulfate de sodium

SL : Sabin Like

Taq : *Thermus aquaticus*

T.V : témoin virus

Tris : N-tris (hydroxyméthyl) aminométhane

Ufp : Unité formant plaque

UTR: Untranslated Region

UV: ultra violet

VP : viral protéine

RÉSUMÉ

Justification

Les travaux de cette thèse s'inscrivent dans la problématique de la contamination virologique des eaux usées et des milieux aquatiques récepteurs. Les entérovirus, en tant que polluants biologiques majeurs, occupent une place importante en santé publique. Leur détection dans les eaux usées constitue un outil efficace pour suivre la circulation interhumaine des virus responsables de paralysies flasques aiguës et pour évaluer le risque d'infection auquel sont exposées les populations.

Objectif

L'objectif principal de cette thèse est de contribuer à la connaissance de la diversité des entérovirus isolés des eaux usées à Abidjan et d'étudier leur persistance sous l'influence des facteurs environnementaux.

Matériel et méthodes

Les échantillons d'eaux usées ont été collectés à neuf sites de prélèvement le long d'un canal collecteur débouchant sur la lagune Ébrié, dans la commune de Yopougon à Abidjan. Les analyses physicochimiques ont été réalisées selon les normes AFNOR, le système OxiTop et la méthode HACH 8051 validée par l'US EPA. La concentration et l'identification des entérovirus ont suivi les protocoles recommandés par l'OMS dans les *Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation* et le *Polio laboratory manual*.

Résultats

La caractérisation physicochimique a permis d'évaluer l'effet des variations hydroclimatiques sur la teneur en matières organiques oxydables et particulaires, ainsi que sur le comportement des éléments nutritifs dans les eaux lagunaires réceptrices.

La prévalence des entérovirus (EV) dans les eaux usées brutes et lagunaires était de 51,47 % (35/68), dont 48,52 % (33/68) d'entérovirus non polio (ENPV). Le typage des souches a révélé 8 % de coxsackievirus B, 15 % d'échovirus (E7 et E30), 77 % d'ENPV non typables par méthode conventionnelle et 5,71 % de poliovirus de type 2 vaccinal (Sabin-like). La concentration virale moyenne estimée dans les eaux usées brutes atteignait $4,28 \times 10^5$ ufp/L. Les entérovirus infectieux ont été détectés en milieu lagunaire pour des températures comprises entre 26 °C et 30 °C.

Conclusion

Ces travaux peuvent servir de modèle à une étude plus large sur la surveillance environnementale des entérovirus (poliovirus et ENPV) en Côte d'Ivoire. Ils apportent des éléments utiles pour la mise en place de méthodes d'élimination adaptées de ces pathogènes et contribuent à la lutte contre les maladies hydriques liées au péril fécal.

Mots clés : Eaux usées, Physicochimie, Facteurs environnementaux abiotique, charge organique, Pollution, Lagune Ebrié, entérovirus, Poliovirus, Entérovirus non polio, Coxsackievirus, échovirus, Persistance, Détection, Yopougon, Abidjan, Côte d'Ivoire.

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Introduction générale

Les eaux usées urbaines constituent une source majeure de polluants et de contaminants microbiologiques, posant des risques sanitaires importants pour les populations. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) soulignait, au début des années 2000, que la pollution des eaux et les maladies à transmission hydrique étaient responsables de millions de décès et d'infections chaque année dans le monde, particulièrement dans les pays en développement. La contamination des eaux de surface par des agents pathogènes, notamment d'origine fécale, reste un problème majeur de santé publique, favorisant la transmission de maladies telles que la dysenterie, la fièvre typhoïde et le choléra, dont les épidémies ont marqué l'histoire et continuent d'affecter fortement les régions tropicales urbanisées.

La lagune Ébrié, principal système lagunaire de Côte d'Ivoire, reçoit depuis plusieurs décennies les rejets d'eaux usées domestiques et industrielles de la ville d'Abidjan sans traitement adéquat. Les premières évaluations de sa pollution fécale remontent aux travaux de Pagès (1975) et Pagès & Citeau (1978). Parmi les différentes formes de pollution affectant ce milieu, la contamination microbienne figure parmi les plus préoccupantes en raison des risques épidémiques qu'elle engendre. La validité des normes sanitaires OMS/PNUE dans les contextes tropicaux reste discutée, rendant particulièrement instructive la recherche des pathogènes impliqués dans les endémies locales. Des données épidémiologiques ont notamment mis en évidence une recrudescence de la fièvre typhoïde chez les enfants en début de saison des pluies et une prédominance des salmonelloses en zone lagunaire de mars à juin (Kouassi et al., 2001).

À la fin des années 1980, près d'un million d'habitants d'Abidjan étaient connectés au réseau d'égouts déchargeant directement dans la lagune. Les eaux usées y parviennent également via les écoulements de surface et les vidanges de fosses septiques, ces dernières contribuant de manière significative à la charge en matières organiques et en matières en suspension (Dufour et al., 1994). Parmi les contaminants biologiques, les virus entériques occupent une place particulière. Ces virus, dont le genre *Enterovirus* constitue un exemple emblématique, se multiplient dans le tractus gastro-intestinal et sont excrétés en grande quantité dans les fèces. Ils présentent un fort

pouvoir infectieux et une persistance prolongée dans l'environnement, particulièrement dans les eaux usées et les milieux récepteurs tropicaux.

Les *Enterovirus* sont responsables d'infections très fréquentes à l'échelle mondiale, pouvant entraîner des pathologies graves touchant le système nerveux central, le tractus gastro-intestinal, les voies respiratoires, les muscles, la peau et les yeux. Des études antérieures réalisées à Abidjan ont mis en évidence une prévalence élevée de ces virus dans les eaux usées : en 1987, 72 % des isolats étaient des poliovirus et 28 % des coxsackievirus (Gershy-Damet et al., 1987). Plus récemment, en 2006, une détection directe par RT-PCR a révélé une positivité de 31,8 % des échantillons testés, sans toutefois permettre le typage moléculaire ni l'évaluation de l'infectiosité des souches (Bini et al., 2006).

Dans ce contexte, la présente thèse s'inscrit dans la problématique de la contamination virologique des eaux usées et des eaux de surface lagunaires, du maintien de l'infection et des variations spatio-temporelles de la concentration des *Enterovirus*. Elle vise à contribuer à une meilleure connaissance de la diversité de ces virus isolés à Abidjan et de leur persistance dans les eaux usées brutes et lagunaires sous l'influence des paramètres environnementaux. Ce travail s'intègre dans l'axe de recherche sur la variabilité et l'évolution des entérovirus du Réseau International des Instituts Pasteur et Instituts associés (RIIPa). Il doit permettre d'acquérir des données récentes sur les entérovirus circulant en Côte d'Ivoire et d'améliorer la compréhension de leur stabilité et de leur dynamique de transmission en relation avec les facteurs hydroclimatiques et physico-chimiques.

Objectifs de la thèse

Objectif général : Contribuer à la connaissance de la diversité des *Enterovirus* isolés des eaux usées à Abidjan et apprécier leur persistance dans les eaux usées brutes et lagunaires sous l'influence des paramètres environnementaux.

Objectifs spécifiques :

- a) Déterminer les caractéristiques physico-chimiques des eaux usées brutes et lagunaires ;
- b) Apprécier l'influence des facteurs environnementaux sur la persistance des entérovirus;
- c) Isoler et identifier les entérovirus présents dans les eaux usées brutes et lagunaires.

Ces objectifs visent à répondre aux questions suivantes :

1. Quelle est l'influence des variations hydroclimatiques sur la teneur en matières organiques oxydables et particulaires dans ces eaux ?
2. Quel rôle jouent la pollution urbaine et les variations hydroclimatiques sur le comportement des éléments nutritifs dans les eaux lagunaires réceptrices ?
3. La distribution des entérovirus dans ces eaux est-elle fonction des variations hydroclimatiques ?
4. Les facteurs environnementaux influencent-ils la concentration et la persistance des entérovirus ?
5. Des poliovirus sauvages et/ou des poliovirus Sabin-like existent-ils dans ces eaux ?
6. Les entérovirus non poliomyélitiques (ENPV) présents sont-ils tous typables par les techniques conventionnelles ?

Présentation du plan de la thèse

Cette thèse est organisée en trois parties. La **première partie** constitue une synthèse bibliographique portant sur les caractéristiques physico-chimiques des eaux usées, le comportement des virus entériques face aux facteurs environnementaux, l'épidémiologie des entérovirus, les risques d'exposition associés et les mécanismes de leur persistance dans le milieu aquatique.

La **deuxième partie** décrit les protocoles de préparation et d'analyse des échantillons mis en œuvre.

La **troisième partie**, consacrée aux résultats, comprend trois chapitres : le premier traite des caractéristiques physico-chimiques et de l'évolution spatio-temporelle de la qualité des eaux usées brutes et lagunaires sous l'effet des précipitations ; le deuxième examine la répartition et la persistance des entérovirus en fonction des facteurs abiotiques et de la pollution organique/particulaire ; le troisième porte sur l'isolement, la caractérisation antigénique et moléculaire des souches virales et sur l'analyse de leur variabilité.

PREMIÈRE PARTIE:
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1. GÉNÉRALITÉS SUR LES EAUX USÉES

1.1. Introduction

Les eaux usées désignent les effluents rejetés par les collectivités humaines et les industries, acheminés via les réseaux d'égouts. Elles se répartissent en deux catégories principales : les eaux résiduaires urbaines (ERU) et les eaux résiduaires industrielles (ERI). Les ERU comprennent les eaux ménagères, les eaux vannes et les eaux de ruissellement (Salghi, 2000). Ces effluents forment des milieux extrêmement complexes, profondément altérés par les activités anthropiques d'origine domestique, industrielle, agricole ou autre. Considérés comme pollués, ils nécessitent un traitement préalable à tout rejet ou réutilisation dans les milieux naturels. Leur composition hétérogène engendre simultanément des pollutions de nature organique, chimique, physique et microbiologique.

La caractérisation qualitative et quantitative des eaux usées brutes ou épurées soulève les problématiques centrales liées à ces effluents : risques sanitaires associés à leur réutilisation directe (maladies hydriques), contamination des eaux superficielles et des nappes phréatiques, ainsi que les coûts élevés d'amélioration des ressources en eau. L'évaluation de l'impact d'un effluent sur son milieu récepteur doit intégrer, au-delà des concentrations, les charges polluantes rejetées et les caractéristiques physicochimiques du milieu naturel récepteur (Salghi, 2000).

La présente synthèse bibliographique se concentre sur l'aspect physicochimique des eaux usées et de leur milieu récepteur, afin d'appréhender spécifiquement la pollution organique. Elle intègre également les cycles biogéochimiques de l'azote et du soufre, essentiels pour comprendre les dynamiques des composés azotés et sulfatés en milieu lagunaire et le rôle joué par les microorganismes dans ces transformations.

1.2. Les eaux usées comme réservoir de polluants

Conformément à la Directive CEE n°76/464 du 4 mai 1976, la pollution se définit comme « l'introduction par l'homme, directement ou indirectement, de substances ou d'énergie dans le milieu aquatique, susceptible de mettre en danger la santé humaine, de porter atteinte aux ressources biologiques et aux écosystèmes aquatiques, de nuire à leur agrément ou d'entraver toute autre utilisation légitime de l'eau ». Il s'agit donc d'une altération défavorable des propriétés physicochimiques et biologiques de l'eau, induite par les activités humaines, la rendant impropre à ses usages habituels.

Les substances manifestement toxiques, telles que les métaux lourds, sont reconnues comme polluants et font l'objet d'une réglementation stricte. À l'inverse, les nutriments fertilisants (phosphore, azote, carbone), indispensables au fonctionnement des réseaux trophiques aquatiques, peuvent, lorsqu'ils sont déversés en quantités excessives, stimuler une prolifération

végétale excessive et générer des nuisances comparables à celles de la pollution organique. Ces apports excessifs relèvent pleinement de la définition de la pollution et sont qualifiés de « pollution nutritionnelle », concept introduit dans la littérature scientifique à la fin des années 1970 (Barroin, 1978, 1980).

La composition des eaux usées varie considérablement selon leur origine (domestique, industrielle, etc.). Elles contiennent des substances sous forme solide ou dissoute, ainsi que de nombreux microorganismes. En fonction de leurs caractéristiques physiques, chimiques, biologiques et de leur potentiel danger sanitaire, ces constituants sont classés en quatre groupes principaux : microorganismes pathogènes, matières en suspension, éléments traces (minéraux ou organiques) et substances nutritives (Melchbbeck, 2000).

1.3. Rôle des microorganismes dans l'environnement et les processus biogéochimiques

Pour assurer leur croissance et leur reproduction, les microorganismes requièrent l'ensemble des éléments nutritifs présents dans le milieu naturel. Leur développement est modulé par de nombreux facteurs abiotiques (température, pH, concentration en oxygène dissous, disponibilité des nutriments, rayonnement solaire) et biotiques (compétition interspécifique, prédation, parasitisme).

1.4. Cycles biogéochimiques des éléments nutritifs : soufre et azote

Le soufre constitue un élément essentiel, entrant dans la composition des acides aminés et des protéines. Il se présente dans la nature sous trois formes principales : sulfure (S^{2-} , forme réduite), soufre élémentaire (S^0) et sulfate (SO_4^{2-} , forme la plus oxydée et la plus stable). Ces formes subissent des transformations biotiques (médiées par les microorganismes) et abiotiques. Selon les conditions de pH et de potentiel d'oxydo-réduction, des réactions chimiques abiotiques peuvent survenir, parfois plus rapides que l'oxydation biologique, mais souvent incomplètes (Figure 1).

L'azote existe sous de multiples formes chimiques et fait l'objet de nombreuses réactions métaboliques permettant aux organismes d'acquérir l'azote nécessaire à leurs synthèses structurales ou à leur métabolisme énergétique. Deux processus microbiens jouent un rôle central dans son cycle : la fixation de l'azote gazeux (N_2) par diazotrophie, convertissant l'azote atmosphérique en formes organiques, et la dénitrification, qui réduit les nitrates en azote gazeux (N_2) (Figure 2).

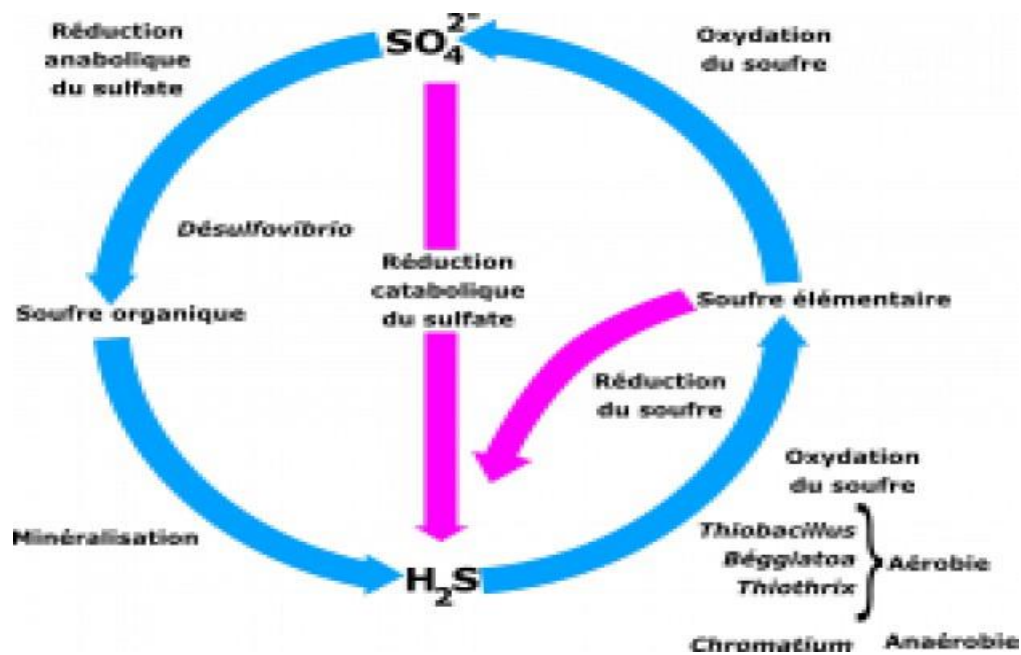


Figure 1: Cycle du soufre dans l'environnement par Castel et al., (1996) modifié

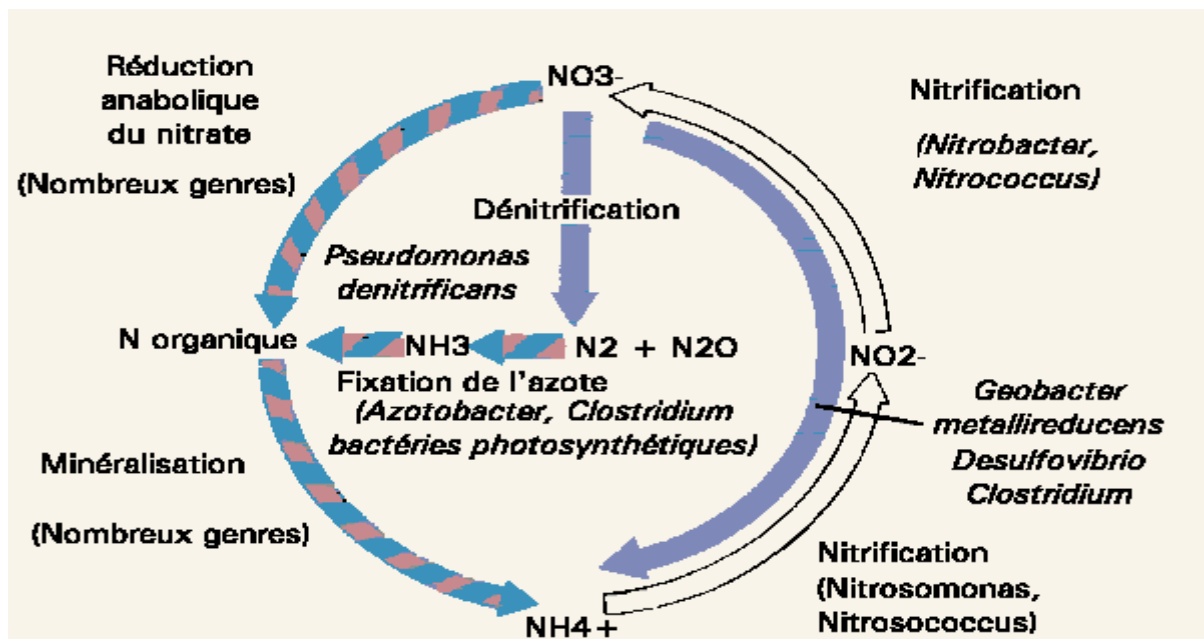


Figure 2 : Cycle de l'azote dans l'environnement par Castel et al., (1996) modifié

1.5. Principaux paramètres de la pollution organique

1.5.1. Matières en suspension (MES)

Majoritairement biodégradables, les MES servent fréquemment de support aux microorganismes, qui s'y adsorbent et sont ainsi transportés dans le milieu aquatique. Leur composition (minérale ou organique) est très variable. Elles peuvent adsorber des éléments toxiques et constituer une voie privilégiée de transfert de contaminants vers les organismes vivants (Salghi, 2000).

1.5.2. Substances nutritives (potassium, phosphates, nitrates, etc.)

Présentes dans les eaux usées, ces substances exercent un impact négatif sur la santé humaine et sur la qualité des eaux superficielles, tout en présentant un intérêt agronomique potentiel en cas de réutilisation contrôlée en agriculture (Melchbbeck, 2000). Les composés azotés et phosphorés, en particulier l'ammoniac, proviennent principalement des rejets urbains et de certaines industries (fabrication d'engrais, hauts-fourneaux, industries agroalimentaires) (Salghi, 2000). Leurs effets varient selon la forme chimique:

- l'azote organique contribue à la désoxygénation du milieu ;
- l'azote ammoniacal perturbe la production d'eau potable et libère de l'ammoniac gazeux, toxique pour la faune piscicole ;
- l'azote nitrique (nitrates) favorise l'eutrophisation, avec des conséquences écologiques et esthétiques sévères ; sa présence dans l'eau de consommation est particulièrement déconseillée pour les nourrissons ;
- les phosphates, à l'instar des nitrates, stimulent la prolifération algale, entraînant mauvaises odeurs et mortalités piscicoles.

1.6. Paramètres classiques d'analyse de la pollution organique

La pollution organique est principalement quantifiée par la demande biochimique en oxygène (DBO_5), exprimée en mg/L. Les analyses les plus couramment réalisées sur les eaux et effluents incluent la demande chimique en oxygène (DCO), la DBO_5 , le pH et les matières en suspension totales (MEST). Les matières organiques, oxydables, consomment l'oxygène dissous lors de leur décomposition, appauvrissant ainsi le milieu naturel. Deux paramètres permettent d'évaluer leur teneur : la DCO (oxydation chimique) et la DBO_5 (oxydation biologique sur cinq jours).

1.7. Conclusion

Les caractéristiques physiques, chimiques et biologiques des eaux usées conventionnelles sont aujourd'hui bien documentées. La pollution d'origine urbaine est essentiellement organique et dépend étroitement de la taille des agglomérations, de la présence ou non de stations d'épuration

performantes, ainsi que des pratiques locales d'élimination des déchets. Dans de nombreuses villes africaines, les réseaux d'égouts à ciel ouvert, souvent submergés en saison des pluies, provoquent des déversements massifs et brutaux de matières organiques dans les eaux réceptrices, aggravant considérablement la dégradation des milieux aquatiques.

2. VIRUS ENTÉRIQUES ET EAUX USÉES

2.1. Introduction

Les virus entériques ne se multiplient pas dans l'environnement extérieur, mais ils y persistent plus longtemps que la plupart des bactéries intestinales et se révèlent plus infectieux que de nombreux microorganismes. Leur importante variabilité génétique favorise la pérennisation du risque fécal viral et complique le développement de vaccins efficaces. Leur survie dépend de facteurs intrinsèques aux virus eux-mêmes, de la présence d'autres microorganismes et des caractéristiques physicochimiques de l'eau (pH, température, turbidité, rayonnement ultraviolet).

L'évaluation des risques microbiologiques liés aux pathogènes présents dans les eaux usées varie selon les conditions environnementales du milieu récepteur. Cette section de la synthèse bibliographique examine l'exposition aux virus entériques, l'origine de leur stabilité structurale dans l'eau, leur cycle dans l'environnement, leur niveau de contamination ainsi que leur survie sous l'influence des facteurs environnementaux.

2.2. Voies d'exposition

Les virus entériques se transmettent principalement par voie féco-orale. Les vecteurs de transmission incluent l'eau, les aliments (notamment les mollusques, crustacés et crudités), les aérosols, les fomites (objets inanimés contaminés) et le contact interpersonnel (Santé Canada, 2004).

2.3. Épidémies

Les virus entériques constituent une cause majeure d'épidémies de maladies d'origine hydrique dans le monde. Certains agents viraux responsables de ces éclosions n'ont été identifiés que récemment, et la prévalence réelle des infections virales transmises par l'eau reste mal connue.

2.4. Architecture et caractéristiques physicochimiques des virus entériques dans l'eau

La plupart des virus entériques sont des virus nus, dépourvus d'enveloppe lipidique, ce qui leur confère une plus grande résistance au stress de dessiccation, principal facteur limitant leur persistance dans l'environnement (Marieb, 1995).

Leur stabilité structurale repose sur une symétrie icosaédrique. L'icosaèdre possède 20 faces triangulaires équilatérales, soit 60 triangles au total. La structure virale est décrite par l'équation $T \times 60 = N$, où T représente le nombre triangulaire et N le nombre de sous-unités protéiques (capsomères). Cette géométrie assure une stabilité géométrique optimale avec un codage génétique minimal, une région interne volumineuse et une capsid quasi-équivalente nécessitant peu d'énergie pour son assemblage. Elle présente également une symétrie d'ordre

2-3-5 (Flint et al., 2000). L'interaction avec les surfaces est simplifiée par la répétition de faces protéiques identiques.

2.5. Cycle et niveau de contamination virale de l'environnement

Les selles d'une personne infectée peuvent contenir jusqu'à 10^{11} particules virales par gramme, même en l'absence de signes cliniques (Schwartzbrod, 2000). L'excrétion fécale varie selon le virus : pour le poliovirus, elle débute 24 heures après l'infection et peut persister plusieurs semaines, voire plusieurs mois. La quantité de fèces excrétée par individu oscille entre 100 et 200 g par jour en Europe, avec des extrêmes rapportés de 50 à 1 060 g (Schwartzbrod, 2000).

La consommation d'eau par habitant (30 à 300 L/jour selon White, 1977) détermine le volume des eaux usées, premier maillon d'un cycle hydrique centré sur l'homme, à la fois contaminateur primaire et récepteur secondaire des pathogènes (Schwartzbrod, 1991 – Figure 3).

La concentration en virus entériques dans les eaux usées brutes est relativement stable et atteint un maximum en saison des pluies. Elle peut dépasser 10 000 unités infectieuses par litre et atteindre 10^5 particules par litre dans les communautés urbaines (Santé Canada, 2004 ; Schwartzbrod, 1991). Cette concentration varie selon des facteurs géographiques, socio-économiques, saisonniers et surtout sanitaires : un faible niveau d'hygiène et une forte proportion d'enfants augmentent significativement la charge virale.

Les entérovirus peuvent infiltrer les eaux souterraines par percolation, y survivre jusqu'à deux ans et migrer sur de longues distances (Figure 4). Dans les eaux marines et lagunaires, les mollusques filtreurs (huîtres, moules) accumulent les virus par filtration de grandes quantités d'eau, favorisant leur adsorption dans leur tube digestif et sur leurs tissus (Figure 5). L'utilisation d'eaux usées en irrigation agricole constitue également une source de contamination des cultures, en particulier des légumes consommés crus (Rao et al., 1986).

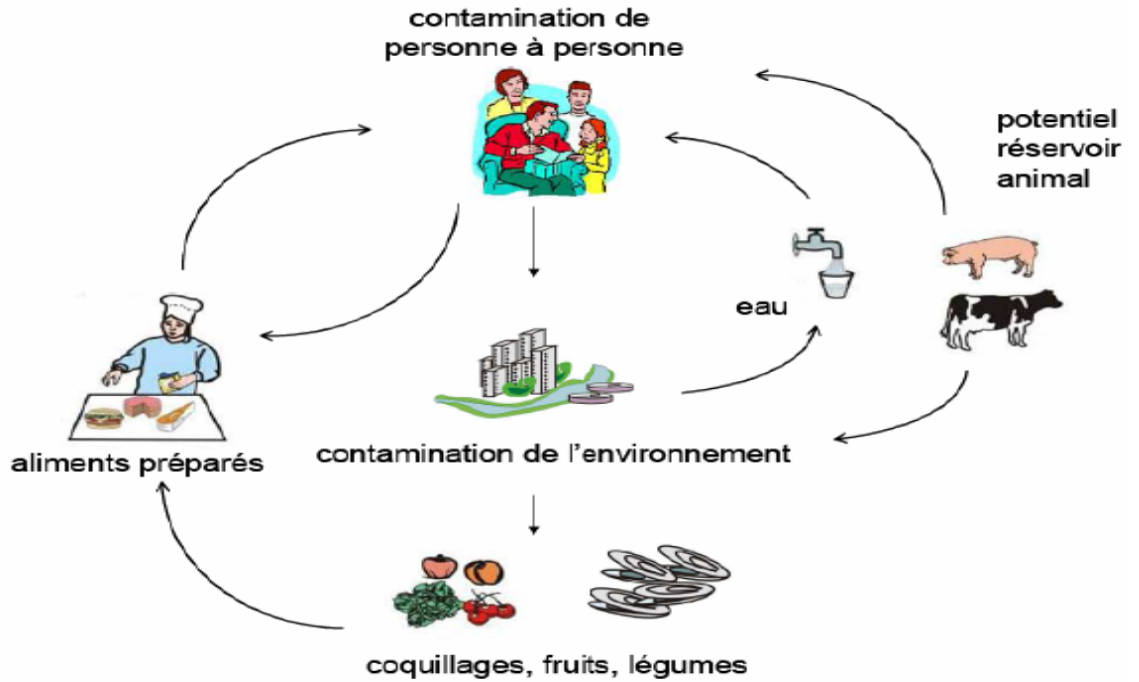


Figure 3 : Cycle de contamination virale d'après Loisy (2004)

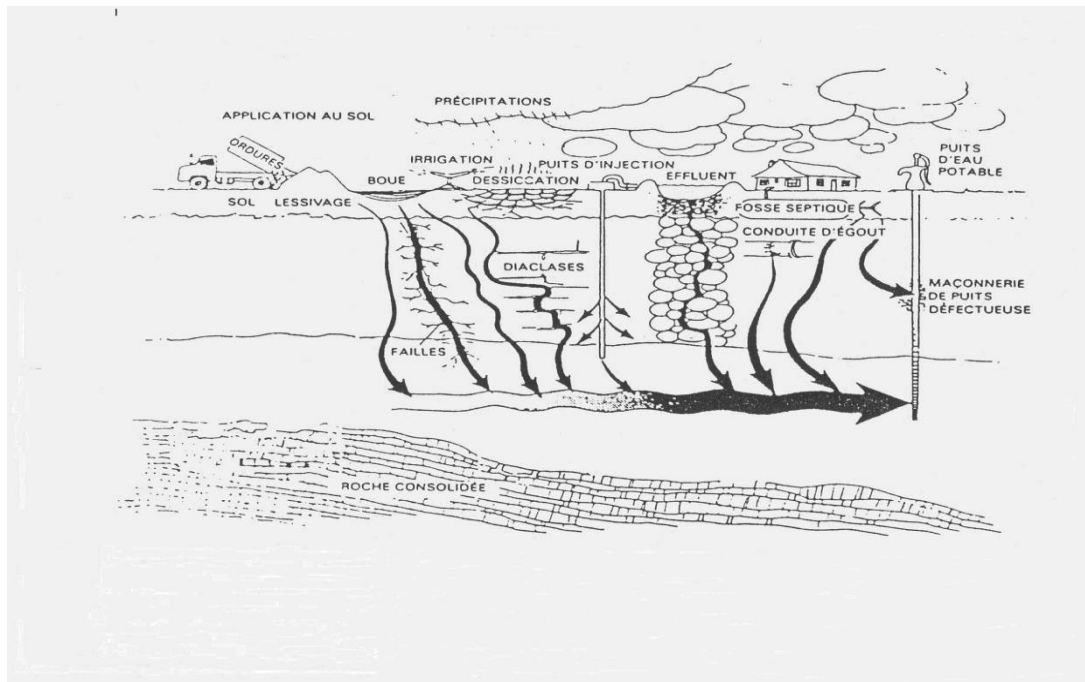


Figure 4: Pénétration survie et migration des virus vers les eaux souterraines sous influence des facteurs environnementaux d'après Melnick et Gerba 1980

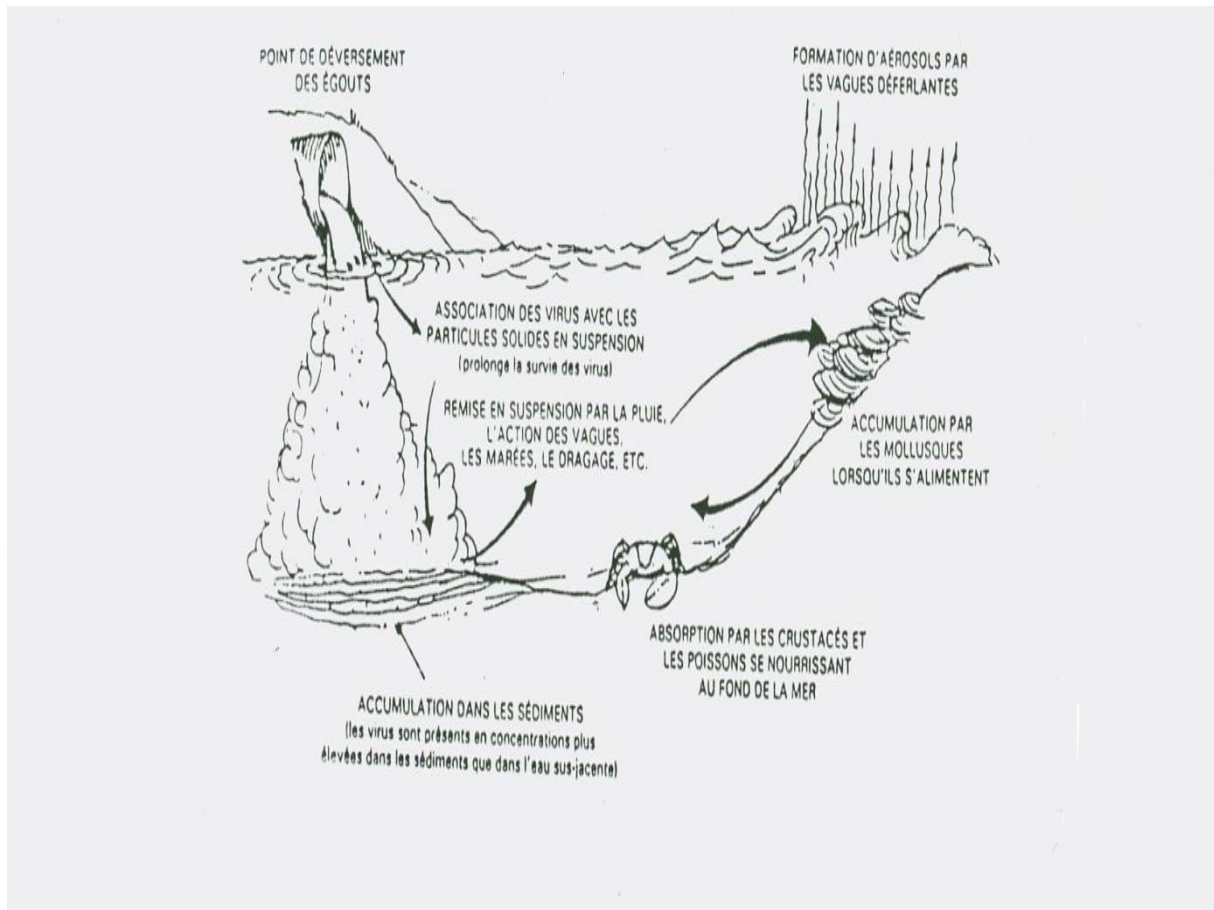


Figure 5 : Sort des *Poliovirus* dans le système côtiers d'après Mellick et Gerba 1980

2.6. Comportement des virus dans les eaux usées

Dans l'environnement aquatique, les virus se comportent comme des colloïdes hydrophiles amphotères dont la charge électrique varie en fonction du pH et de la force ionique du milieu (Schwartzbrod, 2000). À $\text{pH} < 5$, ils sont chargés positivement et s'adsorbent facilement sur des particules négatives. Au-dessus de $\text{pH} 5$, leur charge devient moins positive, réduisant l'adsorption.

Le point isoélectrique de la plupart des virus entériques se situe en zone acide (inférieur à $\text{pH} 7$). Dans les fèces, les eaux usées et la plupart des eaux naturelles (pH neutre ou légèrement alcalin), ils portent une charge négative. Cette charge dépend de la présence de groupes amine, carboxyle et sulfhydryle sur les protéines capsidiales, dont les constantes de dissociation contrôlent les gains et pertes de protons (Murray, 1996). Bien que globalement hydrophiles, les capsides présentent des domaines hydrophobes influençant leur interaction avec les surfaces (Sobsey et Meschke, 2003). Des différences de survie existent non seulement entre familles ou genres, mais aussi entre souches d'un même virus.

2.7. Facteurs influençant la survie des virus entériques

2.7.1. Température

L'élévation de température inactive les virus par dénaturation des protéines capsidiales et dommages à l'ARN, tandis que les basses températures altèrent principalement l'ARN (Sobsey et Meschke, 2003 ; Deng et Cliver, 1995 ; Bosch et al., 2006). À 35 °C, l'inactivation est rapide (5 heures en conditions mésophiles) ; à 55 °C, aucun virus n'est détectable après 10 minutes. À 20 °C, une réduction de 2 log₁₀ des entérovirus est observée après 26 semaines. Les basses températures et la congélation préservent longtemps l'infectivité (Chepurnov et al., 1995 ; Sobsey et Meschke, 2003).

2.7.2. pH

Le pH influence directement la conformation de la capsidie et indirectement l'adsorption/élution des particules virales (Sobsey et Meschke, 2003 ; Bitton, 1980). Le poliovirus reste stable entre pH 3,8 et 8,5 pendant une semaine. L'adsorption augmente lorsque le pH diminue ou lorsque la concentration en cations (surtout multivalents) s'élève, en modifiant l'épaisseur de la double couche diffuse et les forces de Van der Waals.

2.7.3. Rôle antagoniste des microbes

Dans les eaux marines et estuariennes, les communautés microbiennes naturelles exercent une activité antivirale contre les entérovirus (poliovirus type 1, coxsackievirus B4, échovirus 7) (Sobsey et Meschke, 2003).

2.7.4. Dégradation enzymatique et effets chimiques

De nombreuses bactéries, dont *Bacillus subtilis*, produisent des enzymes protéolytiques qui inactivent les virus entériques (Sobsey et Meschke, 2003).

2.7.5. Adsorption et persistance

L'adsorption des virus sur les particules résulte d'interactions ioniques, de liaisons hydrogène, d'interactions hydrophobes, de forces de Van der Waals et de phénomènes de double couche diffuse (Gerba et Bitton, 1984 ; Murray et Parks, 1978/1980 ; Stumm, 1992). Les théories de Gouy-Chapman et Debye-Hückel expliquent ces mécanismes. L'adsorption protège généralement les virus contre l'inactivation, augmentant leur survie par effet stérique (Gerba et al., 1975 ; Liew et Gerba, 1980). Le pH et le potentiel zêta constituent les facteurs principaux influençant ce processus. Dans les eaux usées, 16 à 100 % des virus peuvent s'associer aux particules selon le type viral et le traitement (Bitton et al., 1984).

2.7.6. Matières organiques

La présence de matières organiques améliore la persistance des virus. L'association du poliovirus à des particules fécales organiques augmente sa survie lors de la chloration (Sobsey et Meschke, 2003 ; Nakajima et al., 2003).

2.7.7. Substances chimiques virucides

L'ammoniac (augmentant le pH et fragmentant les acides nucléiques) et certains détergents ioniques altèrent la stabilité des capsides des virus nus et inactivent les entérovirus (Ward, 1978 ; Ward et Ashley, 1980).

2.8. Conclusion

Les facteurs environnementaux (température, pH, matières organiques, adsorption, activité microbienne) permettent de prédire la présence et la persistance des virus entériques dans les eaux usées et les milieux récepteurs. Leur stabilité structurale et leur capacité à survivre longtemps dans l'environnement en font des agents de risque sanitaire majeur, particulièrement dans les contextes de réutilisation des eaux usées ou de contamination des ressources hydriques.

3. GENRE ENTEROVIRUS

3.1. Introduction

L'objectif de cette section de la synthèse bibliographique est de dresser un portrait global et représentatif du risque entéroviral associé aux rejets d'eaux usées, indépendamment des caractéristiques spécifiques du milieu récepteur et de la charge polluante des effluents bruts. Cette revue commence par un aperçu historique du genre *Enterovirus*, se poursuit par une étude virologique approfondie du pathogène et s'achève par une conclusion récapitulative assortie d'une perspective sur les avancées dans la prise en charge des infections liées à ces virus.

3.2. Historique

Les infections à entérovirus remontent à plusieurs milliers d'années. Des preuves de poliomyélite ont été mises en évidence sur une plaque égyptienne datant de 1300 avant J.-C. et sur un squelette égyptien âgé de 3700 ans (Sabin et Ward, 1941 ; Paul, 1971).

Les premières descriptions de paralysie associée à la poliomyélite apparaissent dans la littérature médicale au milieu du XVIIIe siècle (Melnick, 1996). En 1909, Karl Landsteiner et Erwin Popper établissent l'étiologie virale de la maladie en transmettant l'agent infectieux à des singes à partir de tissus nerveux humains (Eggers, 1999).

Le développement des techniques de culture cellulaire constitue un tournant majeur. En 1933, George Gey introduit la méthode des tubes roulants. En 1949, John Enders, Thomas Weller et Frederick Robbins rapportent la multiplication du poliovirus en culture de tissus, permettant l'observation microscopique de l'effet cytopathogène (ECP) (Martha et Lepow, 2004 ; Samuel et Katz, 2004). Robbins décrit les modifications morphologiques des cellules infectées, tandis qu'Enders formalise le concept d'effet cytopathogène.

La virologie des milieux hydriques (aujourd'hui virologie environnementale) émerge dans la seconde moitié du XXe siècle avec les tentatives de détection du poliovirus dans l'eau (Bosch, 1998). Dès 1947, Joseph Melnick démontre le rôle vecteur de l'eau dans la transmission de la poliomyélite (Melnick, 1947 ; Scraba, 1979). Plusieurs études des années 1940 confirment la présence du virus dans les eaux usées (Trask et al., 1943 ; Melnick, 1947). Bien que cette hypothèse ait initialement suscité des controverses, elle est progressivement validée. Entre 1946 et 1960, huit épidémies de poliomyélite ont été liées à une contamination hydrique (Weibel et al., 1964).

Le virus a été détecté dans les eaux usées lors d'épidémies aux États-Unis (Charleston, Détroit) et en Suède (Stockholm) dès 1939. À partir de 1952, les coxsackievirus sont isolés des eaux usées, révélant une prévalence saisonnière marquée en période estivale (Sally et Kelly, 1953).

3.3. Étude virologique

3.3.1. Taxonomie et classification

Le terme *Enterovirus* est introduit en 1963 pour rassembler des virus biologiquement apparentés, initialement incluant entérovirus et rhinovirus (Melnick et al., 1963). Le genre regroupe alors les poliovirus (3 sérotypes), les coxsackievirus A et B, les échovirus et les entérovirus non classés.

Cette classification, fondée sur la culture cellulaire et les propriétés biologiques, a été profondément révisée grâce aux données de biologie moléculaire. Les entérovirus humains appartiennent à la famille des *Picornaviridae* et comptaient initialement environ 66 sérotypes définis par leurs caractères antigéniques.

Une classification moléculaire en quatre espèces principales a été proposée pour les entérovirus humains :

- **Human Enterovirus A (HEV-A)** : incluant plusieurs coxsackievirus A et l'entérovirus 71 ;
- **Human Enterovirus B (HEV-B)** : regroupant les coxsackievirus B, la majorité des échovirus, le coxsackievirus A9 et l'entérovirus 69 ;
- **Human Enterovirus C (HEV-C)** : comprenant plusieurs coxsackievirus A et les poliovirus ;
- **Human Enterovirus D (HEV-D)** : incluant les entérovirus 68 et 70 (Caro et al., 2001 ; Hyypiä et al., 1997 ; Mayo et Pringle, 1998 ; Poyry et al., 1996 ; Rakoto-Andrianarivelo et al., 2002).

Des réclassifications ont concerné plusieurs sérotypes (ex. : coxsackie A23 assimilé à l'échovirus 3 ; échovirus 22 et 23 reclassés en parechovirus). Depuis 2001, de nouveaux sérotypes (EV 73 à 78, 89 à 91, 93 et 94) ont été identifiés grâce au typage moléculaire reposant sur le séquençage partiel du gène codant la protéine capsidiale VP1 (Oberste et al., 1999, 2001, 2004, 2005 ; Norder et al., 2003 ; Junttila et al., 2007). Deux souches appartiennent au même sérotype lorsque leur séquence VP1 présente plus de 75 % d'homologie sur au moins 300 nucléotides.

Tableau 1 : Classification actuelle des entérovirus d'après Racaniello (2007)

Genres	Espèces	Nombre de serotypes	Observations
Entérovirus (EV) Humain	EV humains A	16	CV-A2-8,10,12,14,16, EV71,76,89-91
	EV humains B	42	E1-7,9,11-21,24-27,29-33, CV-B1-6, CV-A9, EV69,73-75,77-78,93
	EV humains C	14	CV-A1,11,13,15,17-22,24, PV1-3
	EV humains D	3	EV-68, EV-70 et EV-94
Entérovirus (EV) Animaux			
	EV bovins	2	
	EV porcins A	1	
	EV porcins B	2	
	EV simiens	20	Encore non classes

3.3.2. Structure et caractères antigéniques

3.3.2.1. Génome viral

Le génome des entérovirus est un ARN monocaténaire de polarité positive, d'environ 7 500 nucléotides (masse moléculaire $\approx 2,5 \times 10^6$ daltons), longueur typique des picornavirus (7,2 à 8,5 kb). Il comporte une protéine VPg (23 acides aminés) liée covalamment à l'extrémité 5', une longue région 5' non codante (UTR 5', 600-1 200 nt) et une courte région 3' non codante (UTR 3', 50-100 nt). Une phase de lecture ouverte unique code une polyprotéine de 2 100-2 400 acides aminés, ultérieurement clivée en protéines structurales (VP1 à VP4) et non structurales (Figure 6).

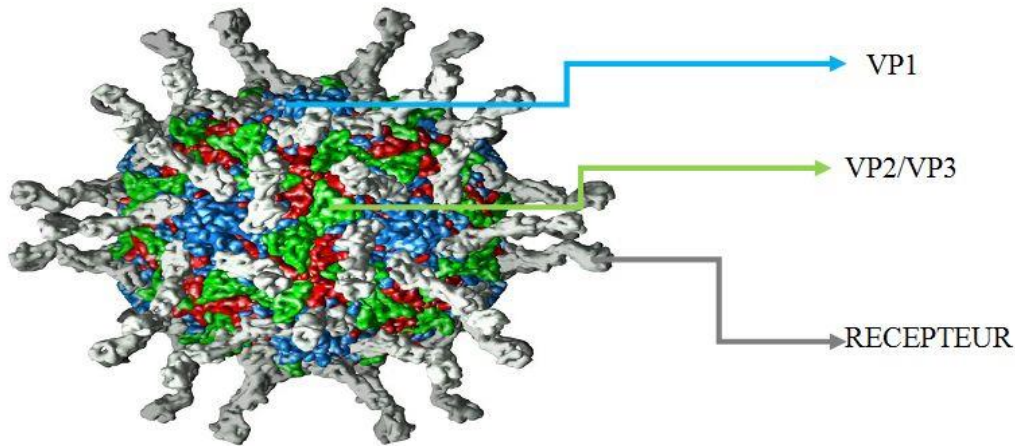


Figure 6 : *Enterovirus* (poliovirus)-famille picornaviridae par Mammette (2002)

3.3.2.2. Organisation génomique et protéique

Les entérovirus sont de petits virus icosaédriques nus (diamètre 22-30 nm) composés de quatre protéines capsidiales : VP1 (34 kDa, majeure), VP2 (30 kDa), VP3 (26 kDa) et VP4 (7 kDa) (Melnick, 1997 ; Grandien et al., 1989). Les protéines VP1, VP2 et VP3 constituent la surface externe et portent la majorité des épitopes antigéniques, tandis que VP4 est interne et associée à l'ARN viral (Rotbart, 2002).

- **Région 5' non codante (5'NC)** : Longue (≈ 750 nt) et hautement conservée, elle adopte une structure secondaire complexe impliquée dans l'initiation de la traduction et la réplication de l'ARN (Caro, 2001).
- **Région 3' non codante (3'NC)** : Variable selon les espèces (60 nt pour le poliovirus, jusqu'à 100 nt pour les coxsackievirus B), elle contient des domaines en épingle à cheveux (X, Y, Z).
- **Phase de lecture ouverte** : Code une polyprotéine d'environ 250 kDa divisée en trois régions : P1 (précurseur des protéines structurales de la capsidie), P2 et P3 (précurseurs des protéines non structurales impliquées dans les clivages protéolytiques, la réplication génomique et l'inhibition des fonctions cellulaires) (Figure 7).

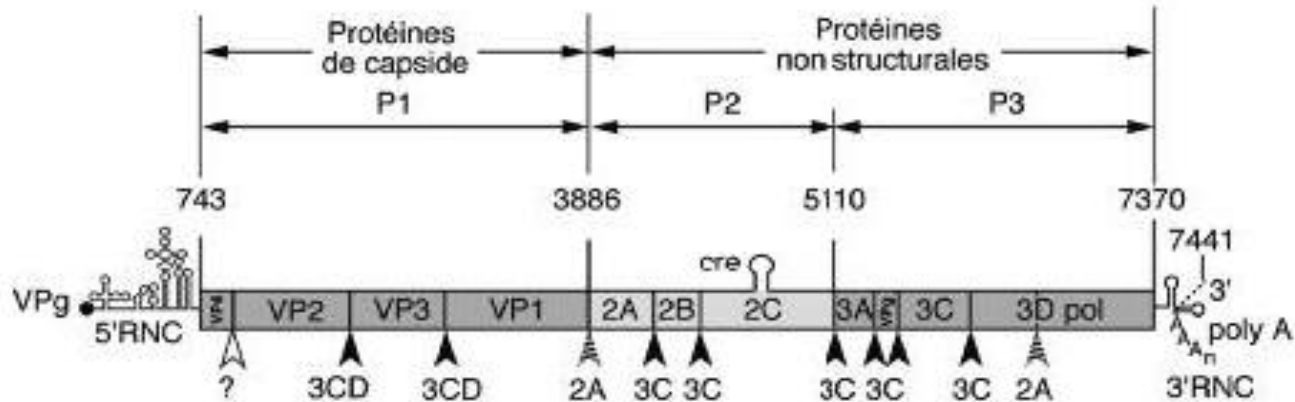


Figure 7 : Organisation génétique du génome du poliovirus de type 1 (PV-1/Mahoney).

*Deux régions non codantes (RNC) en 5' et 3' encadrent une unique phase ouverte de lecture qui code pour une polyprotéine dont les clivages protéolytiques successifs, assurés par les protéases virales 2A, 3C et 3CD, génèrent l'ensemble des protéines virales. La région P1 code les protéines de capsidie et les régions P2 et P3 codent les protéines non structurales impliquées dans les clivages protéolytiques et la réplication du génome viral. La position des nucléotides délimitant les régions P1, P2 et P3 est indiquée. La protéine virale VPg est liée à l'extrémité 5'-terminale du génome par une liaison covalente. Les clivages protéolytiques ont lieu entre les paires d'acides aminés Asn-Ser, Gln-Gly et Tyr-Gly, comme indiqués respectivement par les têtes de flèches vides, pleines et hachurées. Les sites de clivage des protéases 2A, 3CD et 3C, sont indiqués. Le mécanisme de clivage du précurseur VP0 qui génère VP4 et VP2 n'est pas encore déterminé.

Adapté d'après (Kitamura *et al.*, 1981).

3.3.3. Architecture du virion

La capsidie icosaédrique est formée de 60 protomères identiques, chacun composé des quatre protéines VP1-VP4. Cinq protomères s'assemblent en pentamère ; douze pentamères constituent la procapsidie. VP1 s'oriente vers les axes de symétrie d'ordre 5, tandis que VP2 et VP3 forment des protubérances aux axes d'ordre 3. VP4 tapisse exclusivement la face interne de la capsidie. Malgré des différences de séquence primaire, les protéines VP1, VP2 et VP3 présentent une structure tridimensionnelle analogue (Caro, 2001).

3.3.4. Propriétés physicochimiques

Les entérovirus sont stables en milieu acide (pH 3-5) pendant plus de trois heures (Jawetz *et al.*, 1991). Ils résistent à de nombreux désinfectants usuels (alcool 70 %, lysol 5 %, ammonium

quaternaire 1 %) mais sont rapidement inactivés par le formaldéhyde 0,3 % ou l'acide chlorhydrique 0,1 N. Ils supportent mal le chlore résiduel (0,3-0,5 ppm avec un temps de contact minimal de 10 minutes) (Grandien et al., 1989 ; Melnick, 1997). L'inactivation thermique est retardée par la présence de 1 M de MgCl₂ ; elle survient au-dessus de 50 °C en présence de ce sel. Ces virus restent stables plusieurs jours à température ambiante (20-25 °C), une semaine à 4 °C et plusieurs années à l'état congelé.

3.3.5. Multiplication

Le cycle de réplication des entérovirus se déroule entièrement dans le cytoplasme de la cellule hôte.

3.3.6. Attachement

L'attachement spécifique implique l'interaction entre les protéines de surface du virus et des récepteurs cellulaires appartenant souvent à la superfamille des immunoglobulines (ex. : Pvr pour le poliovirus, CAR pour les coxsackievirus B, ICAM-1 pour le coxsackievirus A21) (Figure 8).

Figure 8 : Structure de trois récepteurs des entérovirus (d'après Rossmann et al., 2002).

3.3.7. Pénétration et décapsidation

Les virus nus pénètrent dans la cellule par endocytose ou directement à travers la membrane plasmique. La liaison au récepteur induit des modifications conformationnelles de la capsidite permettant la libération de l'ARN viral dans le cytoplasme.

3.3.8. Réplication et traduction

L'ARN viral de polarité positive sert directement d'ARN messager. Il est traduit en une polyprotéine géante clivée par les protéases virales (2A, 3C, 3CD) en protéines structurales (région P1) et non structurales (régions P2 et P3). La réplication de l'ARN génomique s'effectue via un intermédiaire de polarité négative. Les nouveaux génomes sont traduits, répliqués ou encapsidés dans de nouveaux virions. Les particules matures s'assemblent dans le cytoplasme et sont libérées par lyse cellulaire (Figure 9).

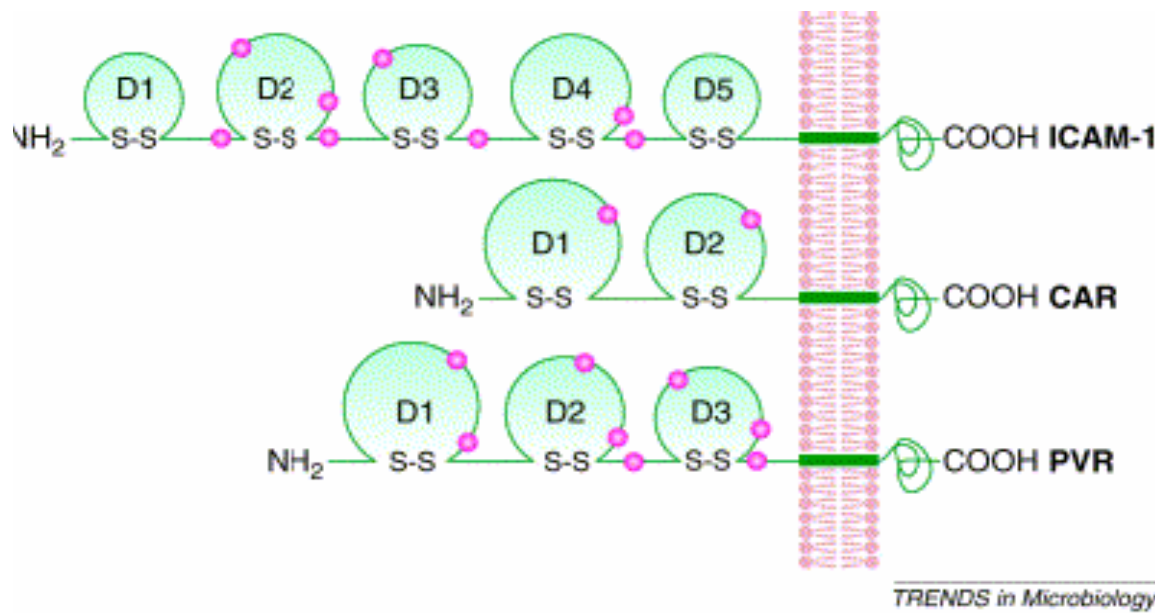


Figure 8. Structure de 3 récepteurs des entérovirus appartenant à la superfamille des immunoglobulines.

*ICAM (Intercellular Adhesion Molecule) pour le coxsackievirus A21, CAR (Coxsackie Adenovirus Receptor) pour les coxsackievirus du groupe B et Pvr (Poliovirus Receptor) pour les poliovirus.

D'après Rossmann *et al.*, 2002.

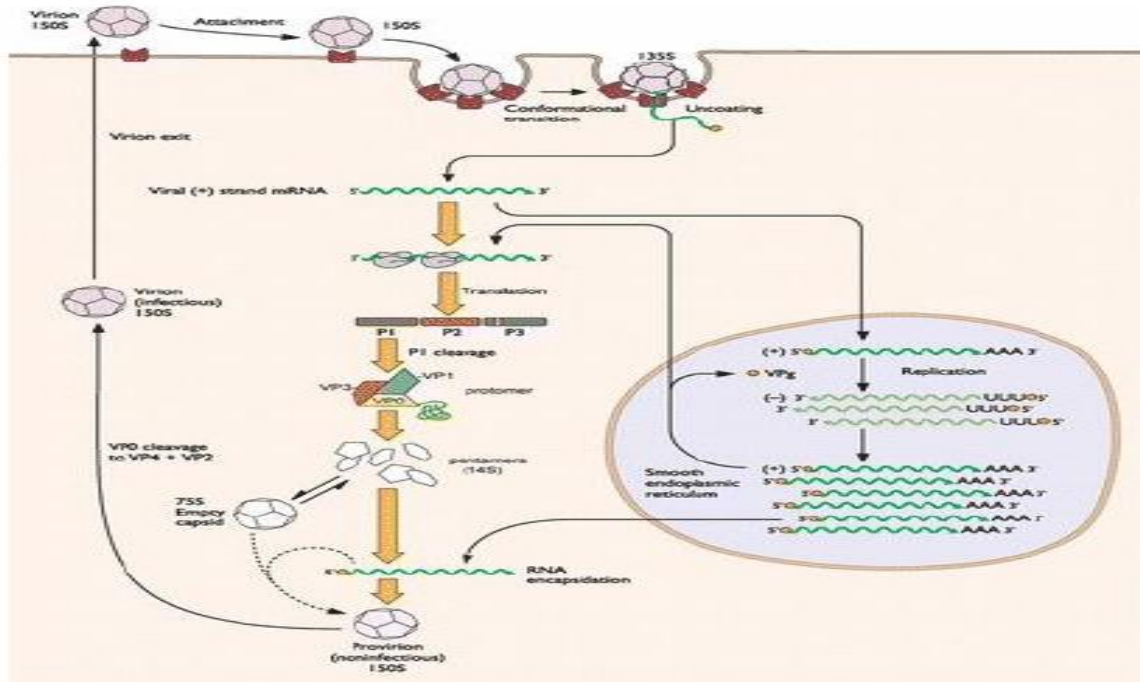


Figure 9. Cycle de réplication du poliovirus dans la cellule humaine.

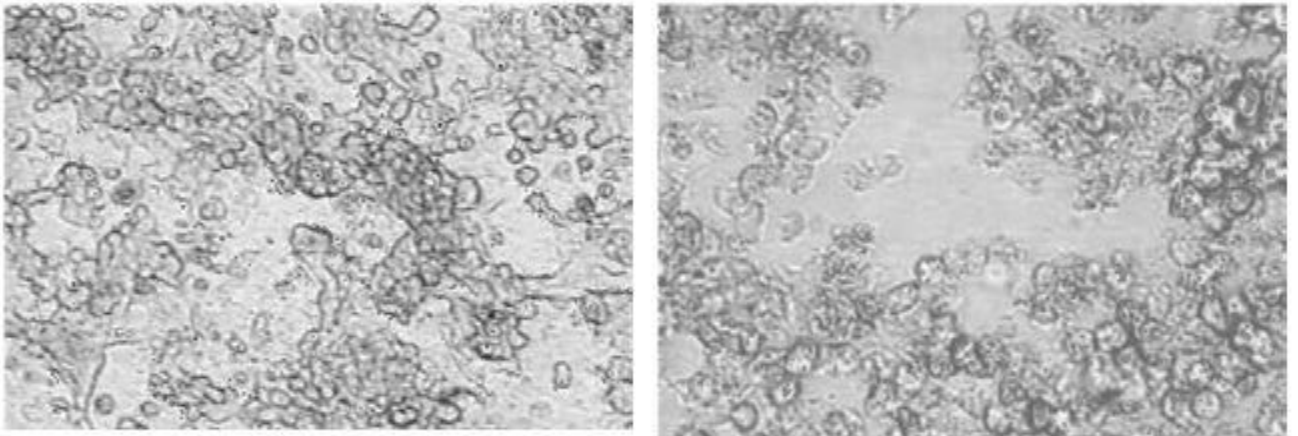
*L'infection débute par l'attachement du virus à son récepteur responsable de changements de conformation de la capside permettant la libération de l'ARN viral dans le cytoplasme où il est aussitôt répliqué et traduit. La traduction du génome aboutit à la formation d'une longue polyprotéine secondairement clivée par des protéases virales. L'assemblage du virus se produit à mesure de la maturation de la polyprotéine à travers une série d'étapes successives : le protomère, le pentamère, la capside vide, le provirion et enfin, le virus. D'après Hogle, 2002.

3.3.9. Morphogenèse et libération des virions

La morphogenèse débute par le clivage protéolytique de la polyprotéine P1 en VP0, VP1 et VP3, suivi de l'assemblage en protomères, pentamères et procapside vide. L'ARN viral néosynthétisé s'associe à la capside immature pour former le provirion. Le clivage final de VP0 en VP4 et VP2 stabilise la particule virale infectieuse (Basavappa et al., 1994 ; Hellen et Wimmer, 1995).

3.3.10. Effet cytopathogène

L'effet cytopathogène (ECP) se manifeste par des altérations nucléaires (déformation, margination de la chromatine, fragmentation) et cytoplasmiques (formation de vésicules membranaires, accumulation de cristaux viraux). La cellule se rétracte, perd son intégrité membranaire et finit par se détacher du support de culture (Grandien et al., 1989 ; Melnick, 1996) (Figure 10).

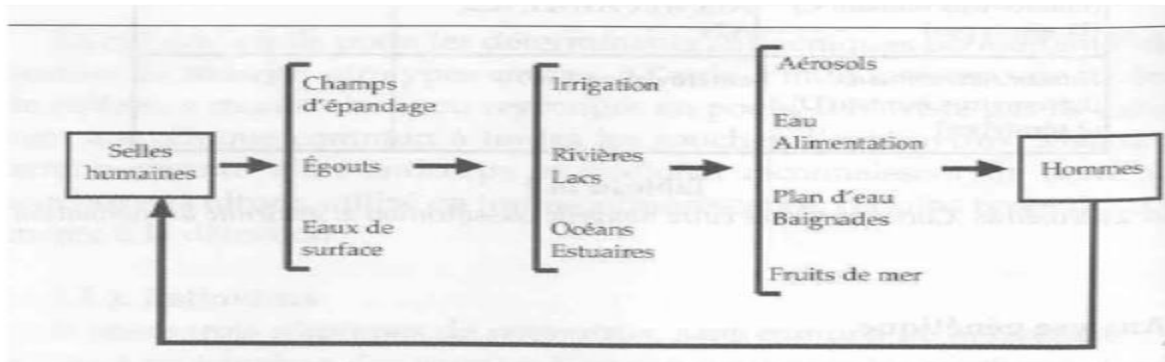


Culture sans ECP (Cellules BGM)

Culture avec ECP (BGM)

Figure 10 : Résultat de l'infection des cellules BGM d'après EPA 2001**3.3.11. Épidémiologie**

Les entérovirus sont des pathogènes cosmopolites dont l'homme constitue le seul réservoir naturel. Ils sont massivement excrétés dans les selles et se retrouvent couramment dans les eaux usées, rivières et effluents de stations d'épuration (Melnick, 1997). La transmission est principalement féco-orale (mains contaminées, aliments, eau). Les jeunes enfants représentent les principaux vecteurs intrafamiliaux. Dans les régions à faible niveau d'hygiène, les eaux contaminées jouent un rôle significatif dans la diffusion virale (Melnick, 1996, 1997 ; Rotbart, 2002) (Figure 11).

**Figure 11: Epidémiologie des *Enterovirus* par Melnick (1996)****3.3.12. Physiopathologie**

La porte d'entrée est oro-fécale. Après multiplication initiale dans le pharynx et les tissus lymphoïdes, le virus induit une virémie secondaire qui lui permet d'atteindre divers organes cibles

(système nerveux central, myocarde, etc.). La période d'incubation varie de 2 à 35 jours (moyenne 7-14 jours). La migration vers le système nerveux central s'effectue probablement via la circulation sanguine et le franchissement de la barrière hémato-encéphalique (Figure 12).

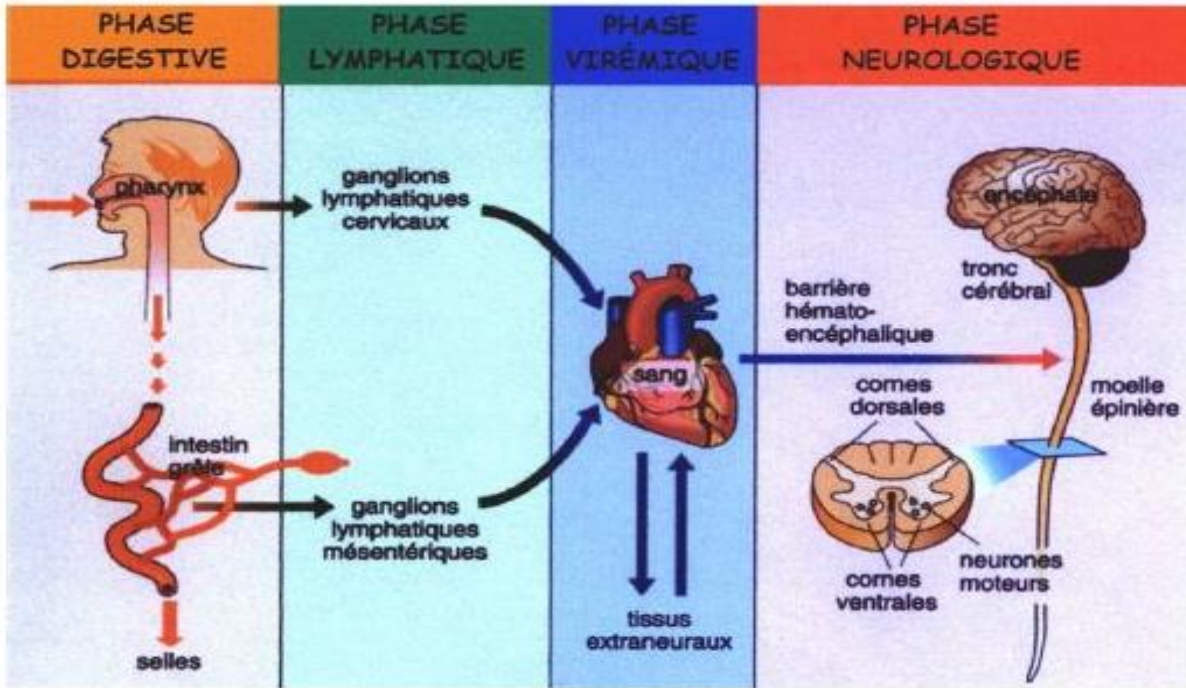


Figure 12: Physiopathologie de l'infection par les *Entérovirus* d'après Crainic *et al.* (1995)

3.3.13. Manifestations cliniques

La majorité des infections à entérovirus est asymptomatique. Lorsqu'elles sont symptomatiques, elles peuvent entraîner des pathologies variées touchant plusieurs systèmes : méningites aseptiques (manifestation la plus fréquente), encéphalites, paralysies flasques (généralement réversibles pour les entérovirus non polio), myocardites, infections respiratoires ou cutanées. Différents sérotypes peuvent produire des syndromes cliniques identiques (Tableau 2, Figure 13). Les échovirus 4 et 71, entre autres, peuvent exceptionnellement provoquer des atteintes neurologiques sévères (Melnick, 1996, 1997 ; Rotbart, 2002).

Tableau 2: Différentes infections dues au coxsachievirus et à l'échovirus

	coxsachievirus A	coxsachievirus B	échovirus
Maladies associées à de nombreux entérovirus	-Infections asymptomatiques -Syndromes fébriles avec ou sans symptômes respiratoires -Méningites aseptiques -Encéphalites -Paralysies	-Infections asymptomatiques -Syndromes fébriles avec ou sans symptômes respiratoires -Méningites aseptiques -Encéphalites -Paralysies	-Infections asymptomatiques -Syndromes fébriles avec ou sans symptômes respiratoires -Méningites aseptiques -Encéphalites -Paralysies
Maladies plus caractéristiques d'un sous-groupe d'entérovirus ou d'un sérotype	-Herpangines (2-6, 8, 10, 22) ¹ -Syndrome pieds-mains-bouche (5, 7, 9, 10, 16) -Pharyngites (10) -Exanthèmes (2, 4, 5, 9, 16) -Epidémie de conjonctivites (24)	-Exanthèmes (1, 3, 4, 5) -Pleurodynies (1-5) -Péricardites (1-5) -Myocardites (1-5) -Infections généralisées du nouveau-né (1-5)	-Exanthèmes (1-9, 11, 14, 18, 19, 25, 30, 32, 33) -Infections généralisées du nouveau-né (4, 6, 7, 9, 11, 12, 14, 19, 21, 51) -Diarrhées du nourrisson (11, 14, 18) -Méningo-encéphalites chroniques chez les patients atteints d'agammaglobulinémie (2, 3, 5, 9, 11, 19, 24, 25, 30, 33)
Rôle étiologique plus incertain ou non défini	-Diarrhées -Syndrome hémolytique et urémique -Myosites -Syndrome de Guillain-Barré -Syndrome de Reye -Syndrome mononucléosique -Lymphocytoses d'origine infectieuse	-Diarrhées -Myosites -Diabète insulino-dépendant -Syndrome hémolytique et urémique -Syndrome mononucléosique -Syndrome de Reye	-Diarrhées -Syndrome hémolytique et urémique -Syndrome de Reye -Myosites -Syndrome de Guillain-Barré -Lymphocytoses d'origine infectieuse

¹ Le chiffre entre parenthèse indique le sérotype concerné

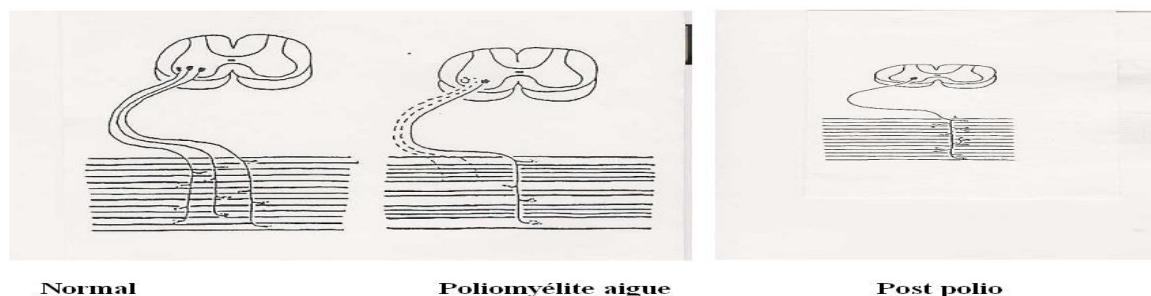


Figure 13: Poliomyélite : cellules nerveuses affectés Melnick (1996)

3.4. Conclusion

Les entérovirus, membres de la famille des *Picornaviridae*, regroupent plusieurs espèces comptant une soixantaine de sérotypes. Ces virus à ARN simple brin de polarité positive, non enveloppés, sont hautement résistants dans l'environnement extérieur et se transmettent principalement par voie féco-orale.

Les entérovirus non polio représentent l'une des causes majeures d'infections virales chez l'enfant et l'adulte. Bien que souvent inapparentes, elles sont responsables de syndromes cliniques variés (respiratoires, cardiovasculaires, neurologiques, materno-fœtaux). Chez les sujets immunodéprimés ou parfois immunocompétents, des infections persistantes peuvent survenir. Le diagnostic virologique direct par biologie moléculaire (amplification de l'ARN viral) permet aujourd'hui une détection rapide et spécifique, facilitant l'arrêt d'une antibiothérapie inutile et la mise en place de mesures d'isolement. Des perspectives thérapeutiques, notamment l'utilisation de molécules antivirales ciblant le cycle de réplication des picornavirus (telles que le pléconaril), pourraient à terme réduire la durée et la sévérité des infections à entérovirus.

DEUXIÈME PARTIE:
MATERIEL ET METHODES

1. Matériel

1.1. Cadre de l'étude

L'étude a été réalisée dans la commune de Yopougon, située au sud d'Abidjan, Côte d'Ivoire, entre les latitudes 4°10' et 5°30' Nord et les longitudes 3°50' et 4°10' Ouest. La ville d'Abidjan est bordée au sud par la lagune Ébrié, qui occupe environ 16 % de sa superficie totale estimée à près de 60 000 hectares (Affian et al., 2002). En 2008, la population d'Abidjan était estimée à 4 267 465 habitants (RGPH, 1998).

La commune de Yopougon s'étend sur une superficie d'environ 85 km² (14 800 hectares). Selon les données de l'Institut National de la Statistique (INS), sa population s'élevait à 688 235 habitants en 1998 et était estimée à 1 114 940 habitants en 2008. La zone d'étude s'étend du nord de la commune, à partir de la zone industrielle, jusqu'à la berge sud de la lagune Ébrié, à proximité de la centrale thermique d'Azito. Les sites lagunaires sont localisés dans le bras ouest de la lagune Ébrié (Figure 14).

En aval, au niveau d'Azito, la population comptait 1 479 habitants répartis dans 333 ménages en 1998, estimée à 2 395 habitants en 2008. Le canal étudié desservait en 2008 une population d'environ 589 500 habitants. Les eaux usées parcourent près de 8,33 km depuis la zone industrielle jusqu'à leur rejet dans la lagune. L'enquête géotechnique réalisée en aval a indiqué que la nappe phréatique se situait entre 0,1 et 4,8 m de profondeur, juste au-dessus du niveau 0 m. À proximité immédiate de la lagune, notamment dans les zones marécageuses, les sols sont sableux avec des dépôts de coquillages et de débris végétaux (ERM, 1997) (Figure 14).



Figure 14: Répartition des sites d'échantillonnages le long d'un canal d'écoulement d'eaux usées débouchant sur une lagune tropicale

1.2. Sites d'échantillonnage

Neuf sites d'échantillonnage ont été sélectionnés le long d'un canal d'écoulement d'eaux usées à ciel ouvert débouchant sur la lagune Ébrié. Ils ont été répartis en trois zones d'étude : trois sites en amont (Zone 1), trois sites dans la partie centrale (Zone 2) et trois sites en aval (Zone 3) (Tableau 3, Figure 14).

Le choix des sites a répondu à des critères de représentativité et aux recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé pour la surveillance environnementale de la circulation des poliovirus et autres entérovirus (WHO, 2003). Ces directives préconisent la sélection de sites desservant une population source comprise idéalement entre 100 000 et 300 000 habitants dans des zones à haut risque. La population desservie par le canal étudié (589 500 habitants en 2008) satisfait pleinement ces critères.

La zone industrielle de Yopougon, d'une superficie totale de 713 hectares (dont moins de 400 hectares en activité), est située entre 05°21' et 05°22' Nord et 04°04' à 04°05' Ouest. Elle regroupait en 1989 environ 5 983 employés dans 103 établissements et une population résidente estimée à 32 171 habitants en 2008 (Nodjimbaten, 1989).

Les caractéristiques des sites sont les suivantes :

- **Site A1** : Situé au pont du lycée commercial et quartier Sipim Galaxie, il reçoit les effluents de l'usine textile Uniwax et d'une partie du quartier Andokoi (population estimée à 70 077 habitants en 2008).
- **Site A2** : Localisé à l'ouest du site A1, à la croisée de la route du CHU de Yopougon et de l'autoroute, il collecte principalement les eaux usées de la zone industrielle.
- **Site B** : Près du pont menant à Gesco, il draine un mélange d'effluents hospitaliers (CHU), industriels et domestiques provenant des sites amont et des quartiers environnants.
- **Site C** : Au pont de la Concorde, il reçoit les eaux des sites amont et des quartiers Banco II (28 030 habitants) et Port-Bouët II (82 322 habitants) en 2008.
- **Site D** : Au quartier Yahosehi, point de confluence de deux canaux, il collecte les eaux des quartiers Ancien Sicogi (73 894 habitants), Sogefia Solic I et II, Selmer, Sicogi canal et Sicobois.
- **Site E** : Près du pont SIDECI-Niangon sud, il draine les eaux des sites amont et des quartiers Yahosehi, Mamie Faitai, Yamoussokro, Saint-Pierre et Gbinta.
- **Site F** : Près du pont Béago-Azito, les eaux usées s'écoulent dans une fosse peu profonde (0,5 à 2 m) sur un relief plat.
- **Site G** : Point de rencontre direct des eaux usées avec la lagune (eaux lagunaires mixtes).
- **Site H** : Au quai près de la centrale thermique d'Azito (eaux lagunaires).

Tableau 3 : Localisation géographique des sites d'échantillonnages aux dates et heures d'échantillonnages

Zone d'étude	Sites	Localisation géographique :		Dates (heures) d'échantillonnages
		GPS		
		Latitude	Longitude	
Amon : Zone1	A1	N 05°21'560''	W004°04'873''	le 15/09 (6h15 à 6h40), le 26/10 (6h05 à 6h12) et le 27/10/2008 (6h15 à 6h40)
	A2	N 05°21'480''	W004°05'152''	le 08/12(7h15 à 7h23) et le 11/12/2008 (7h00 à 7h15)
	B	N 05°21'304''	W004°05'011''	le 18/09 (6h15 à 6h44) et le 02/11/2008 (6h00 à 6h07)
Partie centrale : Zone2	C	N 05°20'534''	W004°04'766''	le 25/09 (6h00 à 6h40), le 05/11 (6h15 à 6h18) et le 21/12/2008 (6h15)
	D	N 05°20'055''	W004°04'760''	le 01/10 (6H05 à 6H30), le 09/11 (6H10 à 6h15) et le 21/12(6h15 à 6h35)
	E	N 05°19'486''	W004°05'082''	le 05/10 (6h45 à 6h54), le 16/11 (7h00 à 7h11) et le 21/12(6h35 à 6h40)
Aval : Zone3	F	N 05°18'273''	W004°04'702''	le 12/10 (7h05 à 7h15), le 23/11(7h03 à 7h15), le 25/12/2008(8h00 à 8h20) et le 05/01/2009 (6h05 à 6h30)
	G	N 05°17'970''	W004°04'291''	le 30/11(8h00 à 8h10), le 04/12(8h06 à 8h15), le 04/12(8h00 à 8h15) et le 14/12/2008 (7h21 à 7h30)

1.3. Prélèvements environnementaux

Les prélèvements ont été effectués à l'interface eau-sédiment à l'aide d'un collecteur en plastique de 2,5 litres relié à une corde de 40 mètres. Pour chaque site, 2 à 4 collecteurs stériles ont été utilisés. Un volume d'environ 2 litres d'eaux usées brutes ou lagunaires a été prélevé à chaque campagne.

Ce volume a été immédiatement réparti comme suit :

- **1 litre destiné aux analyses virologiques** : recueilli dans un flacon stérile en verre Pyrex de 1 litre, placé dans une glacière avec accumulateurs de froid. Après prélèvement, le flacon a été désinfecté à l'hypochlorite de sodium à 3° chlorométrique. Les échantillons, identifiés par un code et accompagnés d'une fiche de renseignements (site, date, heure), ont été maintenus à 4 °C pendant le transport et conservés à cette température pendant au maximum 48 heures avant traitement au Département des Virus Épidémiques, Unité des Virus du Système Nerveux, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire.
- **1 litre destiné aux analyses physicochimiques** : recueilli dans un flacon stérile en plastique de 1 litre, transporté dans les mêmes conditions et acheminé au laboratoire de chimie du CIAPOL après désinfection du flacon.

1.4. Matériel pour les analyses physicochimiques

Les analyses physicochimiques ont été réalisées conformément aux normes françaises NF T90-110, NF T90-015, NF T90-012, NF T90-023 et au système OxiTop (voir Annexe 5).

1.5. Matériel pour les analyses virologiques

1.5.1. Cultures cellulaires

Les lignées cellulaires utilisées provenaient du National Institute for Communicable Diseases (Johannesburg, Afrique du Sud) : cellules L20B (fibroblastes de souris transgéniques LtK⁻) et cellules RD (rhabdomyosarcome humain). D'autres lignées ont été fournies par le Centre Collaborateur de l'OMS pour les Entérovirus et Vaccins Viraux (Institut Pasteur, Paris) : cellules HEp-2c (dérivées d'un épithélioma du col utérin) et cellules BGM (rein de singe vert de Buffalo). Ces cellules, utilisées dans le cadre des activités de référence OMS pour la poliomyélite à l'Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, ont été entretenues en milieu Eagle's Minimum Essential Medium (MEM, Sigma-Aldrich, 9,6 g/L) supplémenté à 2 % (milieu de survie) et 5 % (milieu de croissance) de sérum de veau fœtal (Gibco). La souche témoin positive était le poliovirus type 1 Sabin fourni par l'OMS (WHO, 2004 ; Arita et al., 2005).

1.5.2. Concentration des virus

La concentration des virus a été réalisée par la méthode de séparation en deux phases (voir Annexe 6).

1.5.3. Typage et titrage

Le typage et le titrage des isolats viraux ont été effectués selon les protocoles décrits en Annexe 6.

1.5.4. ELISA

Les analyses immuno-enzymatiques (ELISA) ont été réalisées avec le matériel et les réactifs détaillés en Annexe 6.

1.5.5. RT-PCR

Les analyses par transcription inverse suivie de réaction en chaîne par polymérase (RT-PCR) ont été conduites avec le matériel et les conditions techniques indiqués en Annexe 6.

1.6. Données pluviométriques

Les données pluviométriques ont été fournies par la Société d'Exploitation et de Développement Aéroportuaire, Aéronautique et Météorologique (SODEXAM) (voir Annexe 7).

1.7. Données démographiques

Les données relatives à la population de la commune de Yopougon et des différents quartiers étudiés proviennent de l'Institut National de la Statistique (INS) – Recensement Général de la Population et de l'Habitat (RGPH 1998) et des estimations actualisées pour 2008 (voir Annexe 8).



Figure 15: Site d'échantillonnage A1



Figure 16 : Site d'échantillonnage A2



Figure 17: Site d'échantillonnage B



Figure 18 : Site d'échantillonnage C

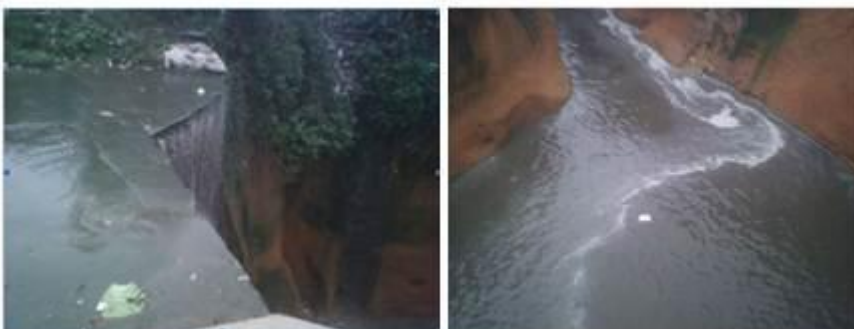


Figure 19 : Site d'échantillonnage D



Figure 20: Site d'échantillonnage F



Figure 21 : Site d'échantillonnage G près d'Azito point de rencontre lagune et eaux usées



Figure 22 : Sites d'échantillonnage lagunaire H près d'Azito au Quai

1.5.2. Matériel pour concentration des virus par la méthode de séparation en 2 phases

(Voir annexe 6).

1.5.3. Matériel pour Typage et titrage (Voir annexe 6).

1.5.4. Matériel pour ELISA (Voir annexe 6).

1.5.5. Matériel pour RT-PCR (Voir annexe 6).

1.6. Données pluviométriques (SODEXAM) (Voir annexe 7).

1.7. Données relatifs à la population de Yopougon (source INS) (Voir annexe 8)

2. MÉTHODES

2.1. Échantillonnage et transport des échantillons

Les campagnes d'échantillonnage ont été réalisées de septembre 2008 à janvier 2009, sur 17 semaines, avec une fréquence hebdomadaire d'une à deux sorties, pour un total de 24 sorties effectuées en temps sec et en temps de pluie.

Trois séries de prélèvements ont été conduites :

- Première série (15 septembre – 19 octobre 2008) : 18 échantillons de 2 litres ;
- Deuxième série (21 octobre – 4 décembre 2008) : 23 échantillons de 2 litres ;
- Troisième série (8 décembre 2008 – 5 janvier 2009) : 21 échantillons de 2 litres auxquels s'ajoutent 4 échantillons d'1 litre prélevés spécifiquement pour les analyses virologiques le 5 janvier 2009.

En incluant les 2 échantillons du pré-test, 68 échantillons ont été collectés au total. Cela a permis d'acheminer 130 échantillons d'un litre aux laboratoires de chimie et de virologie (Tableau 4).

Tableau 4 : récapitulatif des échantillons prélevés lors des campagnes de mesures et d'échantillonnages

Série de prélèvements	Pré-test	1 ^{ère} série	2 ^{ème} série	3 ^{ème} série	Total
Dates	07/09/2008	15/09/08 au 19/10/08	21/10/08 au 04/12/08	08/12/08 au 5/01/09	
Mois	Septembre	Septembre- octobre	Octobre-Novembre- Décembre	Décembre- Janvier	
Nombre d'échantillons	2	18	23	21+4	68
Volume de chaque échantillon en litre	1	2	2	2 +1	/
Nombre d'échantillons d'un litre destiné soit aux analyses physicochimiques soit aux analyses virologiques	2	36	46	46	130

Les prélèvements ont été effectués entre 6 h et 8 h, période correspondant à des températures matinales basses favorables à la survie virale et à un volume élevé d'eaux usées domestiques. Les neuf sites ont été échantillonnés le long du canal unitaire d'écoulement des eaux usées et au point de contact avec la lagune Ébrié (sites G et H), ainsi qu'à 608 m de ce dernier (Figure 14). Les deux premières séries ont suivi le sens amont-aval ; la troisième a ciblé les points critiques. La méthode d'échantillonnage aléatoire simple a été retenue pour des raisons de contraintes techniques et logistiques. Cette approche, largement acceptée en virologie environnementale, permet des prélèvements indépendants dans l'espace et le temps et convient particulièrement aux études à petite échelle lorsque les ressources sont limitées et les analyses virologiques coûteuses (Maul, 1991).

Les prélèvements ont été réalisés à l'interface eau-sédiment afin de maximiser la récupération des virus, dont la densité est généralement plus élevée près des sédiments. Un collecteur en plastique de 2,5 litres relié à une corde de 40 mètres a été traîné au fond puis remonté en surface. Cette technique simple et adaptée aux conditions de terrain a été privilégiée par rapport aux méthodes plus élaborées décrites dans la littérature (Crabtree, 1989 ; Ashley et al., 1992 ; Ahyerre, 1999).

Les échantillons ont été transportés immédiatement à 4 °C dans des glacières équipées d'accumulateurs de froid.

2.2. Caractérisation physicochimique des eaux usées brutes et lagunaires

Les paramètres analysés comprenaient le pH, la température, la conductivité et la salinité (mesurés in situ), ainsi que la demande chimique en oxygène (DCO), la demande biochimique en oxygène à 5 jours (DBO_5), les orthophosphates, le phosphore total, l'azote total Kjeldahl (NTK), l'azote ammoniacal, les nitrates, les matières en suspension (MES) et les sulfates (analysés au laboratoire dans les 3 heures suivant le prélèvement).

2.2.1. Mesures in situ

Le pH et la température ont été mesurés à l'aide d'un multiparamètre portable Orion 4 Star pH/ISE. La conductivité et la salinité ont été déterminées avec un multiparamètre HACH SensIon 5.

2.2.2. Demande chimique en oxygène (DCO)

La DCO a été déterminée par oxydation des matières oxydables par un excès de dichromate de potassium en milieu acide sulfurique à reflux, en présence de sulfate d'argent comme catalyseur et de sulfate de mercure comme agent complexant des chlorures. L'excès de dichromate a été dosé par titrage avec du sulfate de fer(II) et d'ammonium. La DCO ($\text{mg O}_2/\text{L}$) a été calculée selon la formule : $DCO = 800 (V_0 - V_1) \times T / V$ (conforme à la norme NF T90-101, Annexe 5).

2.2.3. Demande biochimique en oxygène à 5 jours (DBO_5)

La DBO_5 a été mesurée par méthode manométrique avec le système OxiTop sur une prise d'essai de 164 mL d'eaux usées brutes non diluées. La consommation d'oxygène a été suivie pendant 5 jours par mesure de la dépression de pression, le CO_2 produit étant piégé par une solution de KOH. La nitrification a été inhibée par addition d'allyl-thio-urée (Annexe 5).

2.2.4. Dosage des orthophosphates

Après ajustement du pH à 7, les orthophosphates ont été dosés par formation d'un complexe phosphomolybdique réduit par l'acide ascorbique, suivi d'une mesure spectrophotométrique à 700 ou 880 nm (spectromètre Shimadzu UV-160A, NF T90-023, Annexe 5).

2.2.5. Dosage du phosphore total

Le phosphore total a été déterminé après minéralisation de 50 mL d'échantillon en présence d'acide sulfurique et de persulfate de sodium, suivie du dosage des orthophosphates selon la méthode précédente (NF T90-023, Annexe 5).

2.2.6. Dosage de l'azote total Kjeldahl (NTK)

Après minéralisation de 50 mL d'échantillon en milieu acide sulfurique avec catalyseur dans des ballons Kjeldahl, l'azote a été dosé par spectrophotométrie au bleu d'indophénol à environ 600 nm (NF T90-110, Annexe 5).

2.2.7. Dosage de l'azote ammoniacal

Sur une prise de 20 mL, l'azote ammoniacal a été dosé par formation d'un complexe indophénol en milieu alcalin (phénol + hypochlorite, catalyseur nitroprussiate), avec mesure spectrophotométrique à environ 630 nm (NF T90-015, Annexe 5).

2.2.8. Dosage des nitrates

Sur une prise de 25 mL, les nitrates ont été dosés par réaction avec l'acide sulfosalicylique, suivie d'une mesure spectrophotométrique à environ 415 nm après alcalinisation (NF T90-012, Annexe 5).

2.2.9. Matières en suspension (MES)

Les MES ont été déterminées par filtration sur membrane Whatman GF/C (1,5 µm), double pesée et calcul selon la formule : $C_{MES} = (M_1 - M_0) / V$.

2.2.10. Dosage des sulfates

Les sulfates ont été dosés sur une prise de 25 mL à l'aide d'un spectrophotomètre portable HACH DR/2010 par la méthode SulfaVer 4 (Method 8051, validée US EPA, Annexe 5).

2.3. Analyses virologiques

Les analyses virologiques ont comporté cinq étapes successives : concentration des virus, isolement sur cultures cellulaires, détermination de la concentration virale, identification antigénique et identification moléculaire (Figure 28).

2.3.1. Concentration des virus

La méthode de séparation en deux phases (PEG 6000 / Dextran T40), recommandée par l'OMS pour les eaux usées, a été utilisée (WHO, 2003 ; Lewis et Metcalf, 1988 ; Schwartzbrod, 1991). Elle a été privilégiée pour les eaux usées brutes et les eaux lagunaires fortement polluées afin d'éviter le colmatage des membranes d'ultrafiltration.

Après clarification par centrifugation (4 000 tr/min, 10 min), le pH du surnageant a été ajusté à 7,2-7,5. Pour 500 mL, 39,5 mL de Dextran T40 (22 %) et 287 mL de PEG 6000 ont été ajoutés en présence de NaCl 5 N. Après agitation (1 h à 4 °C) et décantation nocturne, la phase inférieure et l'interphase ont été recueillies, traitées au chloroforme (20 % v/v) et additionnées d'antibiotiques (pénicilline G 100 UI/mL, streptomycine 100 µg/mL). Les concentrats ont été conservés à -20 °C ou -80 °C.

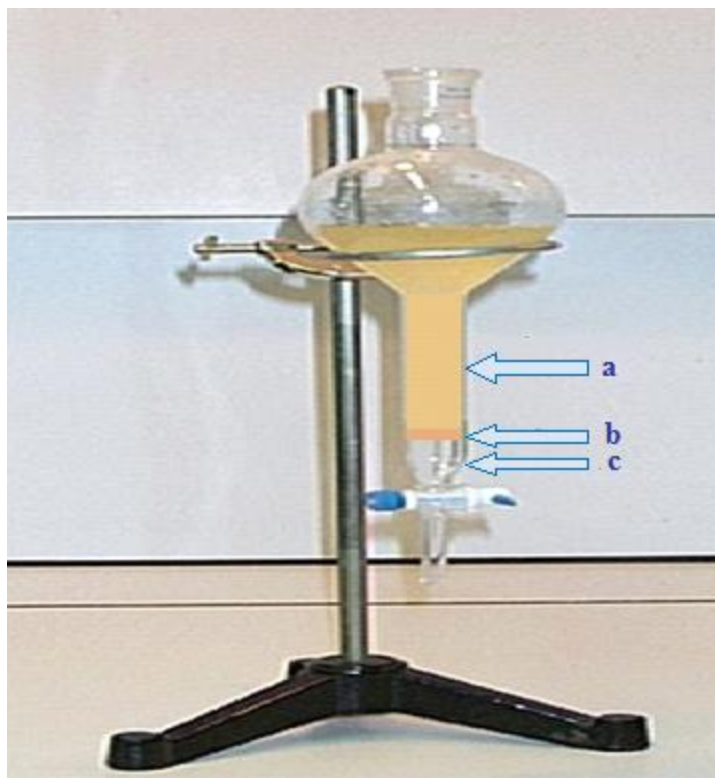


Figure 23: Schéma de la décantation de l'échantillon traité au PEG6000/Dextran T40

a= couche supérieur ; b= interphase ; c= couche inférieur

2.3.2. Isolement viral sur lignées cellulaires

Les suspensions concentrées (500 µL) ont été inoculées sur des monocouches de cellules BGM, HEp-2c, RD et L20B en flacons de 25 cm². Après adsorption (1 h à 36 °C avec agitation toutes les 15 min), 4,5 mL de milieu MEM à 2 % de SVF ont été ajoutés. Les cultures ont été incubées 5 jours à 36 °C (passage P0). Un passage aveugle (P1) a été réalisé en l'absence d'effet cytopathogène (ECP). Les cultures positives ont été confirmées par passage sur cellules L20B. Les échantillons sans ECP après deux passages ont été considérés négatifs.

2.3.3. Détermination de la concentration virale

La concentration virale a été exprimée en unités formant plaque (ufp/mL) ou en dose cytopathogène 50 % (DCP₅₀). Le titrage a été réalisé par séroneutralisation en microplaques de 96 puits. Le titre a été calculé selon la méthode de Spearman-Kärber : $\log DCP_{50} = L - d (S - 0,5)$. Une DCP₅₀/mL correspond approximativement à 0,69 ufp/mL (Maul, 1991 ; WHO, 2004).

2.3.4. Identification antigénique

Le typage des poliovirus a été effectué par séroneutralisation en microplaques à l'aide de pools d'antisérums monovalents et mélangés (anti-PV1, anti-PV2, anti-PV3) selon le protocole OMS (WHO, 2004). L'interprétation a reposé sur la présence ou l'absence d'ECP dans les différents pools.

La différenciation intratypique (ITD) des poliovirus (Sabin-like vs non-Sabin-like) a été réalisée par ELISA avec des anticorps polyclonaux et monoclonaux spécifiques.

Le typage des entérovirus non polio (ENPV) a été réalisé à l'aide de pools d'antisérums dirigés contre les coxsackievirus et échovirus, après titrage préalable des isolats.

2.3.5. Identification moléculaire

La détection des entérovirus et poliovirus a été effectuée par RT-PCR ciblant la région 5' non codante à l'aide d'amorces PanEV et PanPV dégénérées. L'identification des ENPV a suivi le protocole modifié de Zoll et al. (1992), Mamoru et al. (2002) et Bessaud et al. (2008) : extraction d'ARN par phénol-chloroforme, transcription inverse et amplification PCR, révélation sur gel d'agarose à 1 % avec bromure d'éthidium.

La différenciation intratypique des poliovirus par RT-PCR a utilisé des amorces spécifiques des sérotypes et des souches Sabin.

2.4. Analyses statistiques

Les données ont été saisies avec Epi Info 3.3.2 puis transférées sur Excel 2007. Les analyses statistiques ont été réalisées avec Epi Info (tests du Chi² et de Student au seuil $\alpha = 0,05$) et le logiciel R version 2.15.0 (test exact de Fisher).

Les relations entre paramètres physicochimiques ont été étudiées par analyse en composantes principales (ACP) et corrélation paramétrique de Bravais-Pearson avec le logiciel SPSS 13.0. Le coefficient de corrélation de Pearson mesure l'association linéaire entre variables continues (valeurs de -1 à +1).

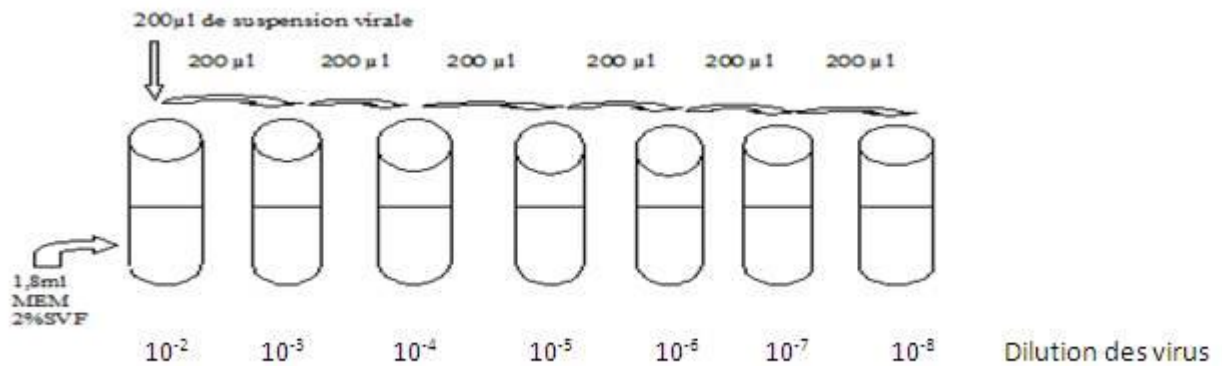


Figure 24: Dilution de la suspension virale pour titrage selon OMS (2004)

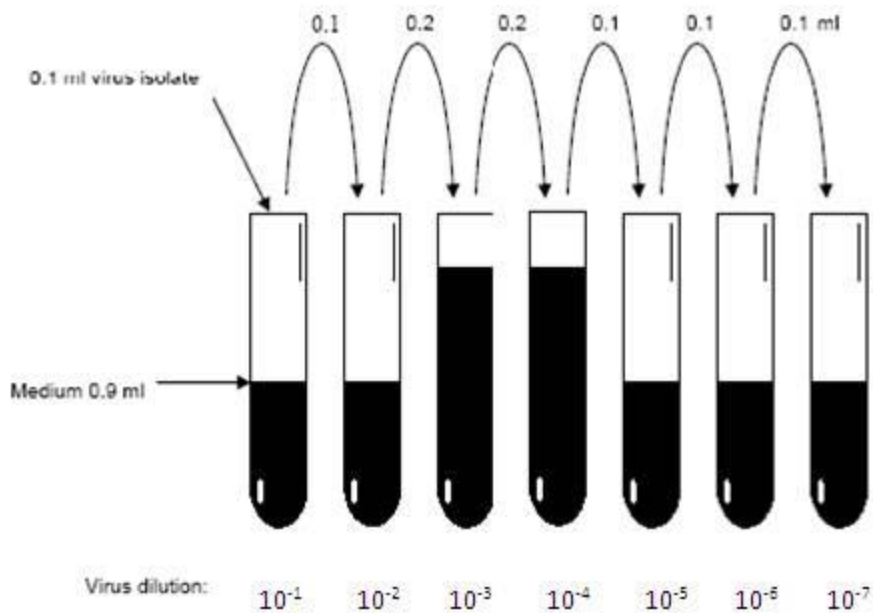


Figure 25: Dilution de la suspension virale pour typage selon OMS (2004)

Tableau 5: Pools d'antisérum préparé à partir d'immuns sérums selon OMS (2004)

Pool	Anti Polio 1, 2 et 3	Anti Polio 1 et 2	Anti Polio 1 et 3	Anti Polio 2 et 3
Volume de chaque antisérum au 1/128				
Anti Polio 1	10	15	15	/
Anti Polio 2	10	15	/	15
Anti Polio 3	10	/	15	15
Total volume	30 ml	30 ml	30 ml	30 ml

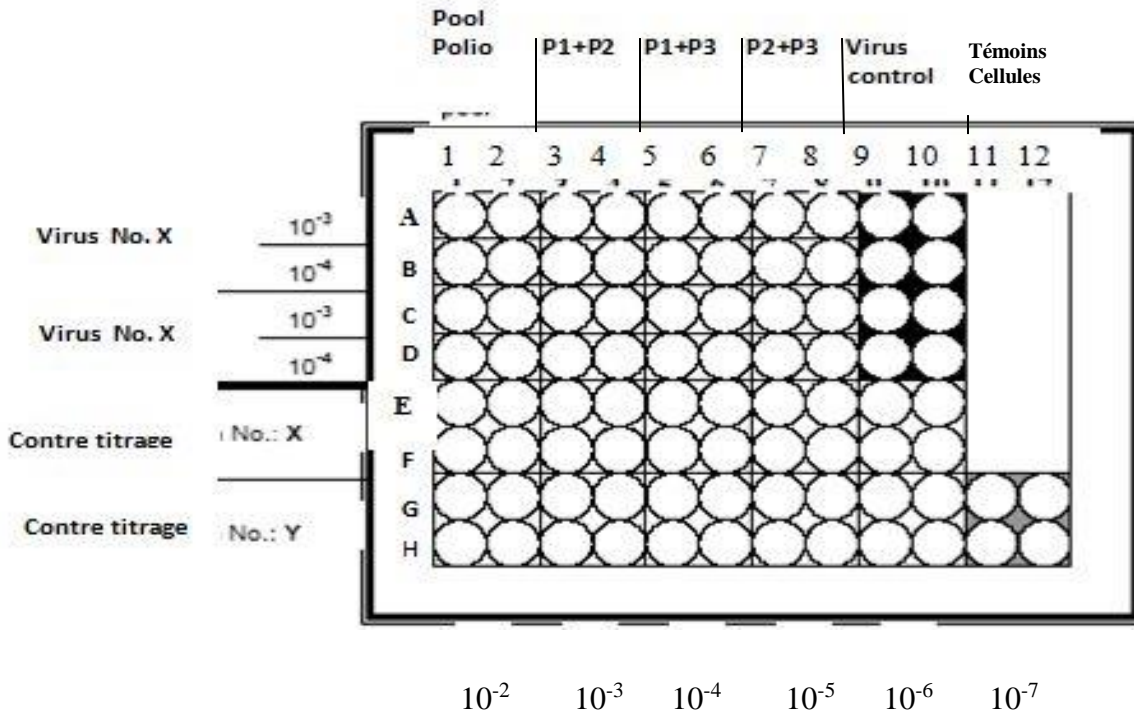


Figure 26: Plaque de microtitration pour typage et contre titrage des isolats selon OMS (2004)

Tableau 6: Critères d'interprétation des tests d'identifications du poliovirus selon OMS (2004)

Pool P1+P2+P3	Pool P1+P2	Pool P1+P3	Pool P2+P3	Identification des virus
0	0	0	+	Poliovirus type 1
0	0	+	0	Poliovirus type 2
0	+	0	0	Poliovirus type 3
0	0	+	+	Mélange Poliovirus type 1 et 2
0	+	0	+	Mélange Poliovirus type 1 et 3
0	+	+	0	Mélange Poliovirus type 2 et 3
0	+	+	+	Mélange des 3 types de polio
+	+	+	+	Pas de poliovirus ou mélange de poliovirus avec d'autre entérovirus
+ = ECP				0 = Pas d'ECP

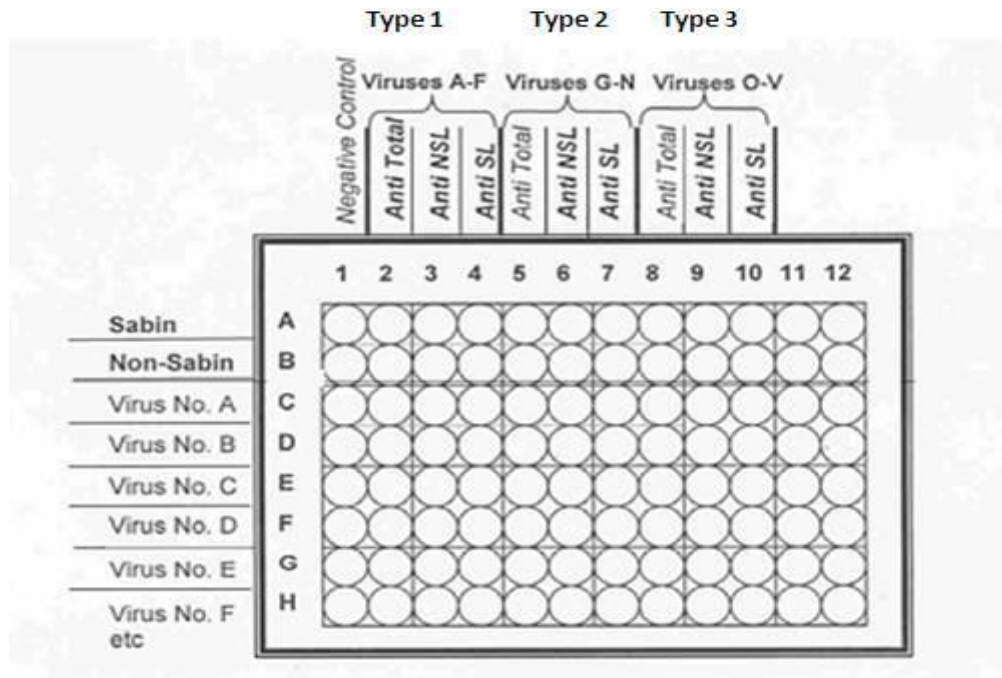


Figure 27: Plaque pour test ELISA de différenciation intratypique des isolats de Poliovirus selon OMS (2004)

Tableau 7: Pool d'antisérum dirigé contre les Echovirus et les coxsachjevirus selon OMS (2004)

	PP	CP	A	B	C	D	E	F	G	T.V	Témoine cellule
Virus 1											
Virus 2											
Titrage Virus 1											
Titrage Virus 1											
	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷					

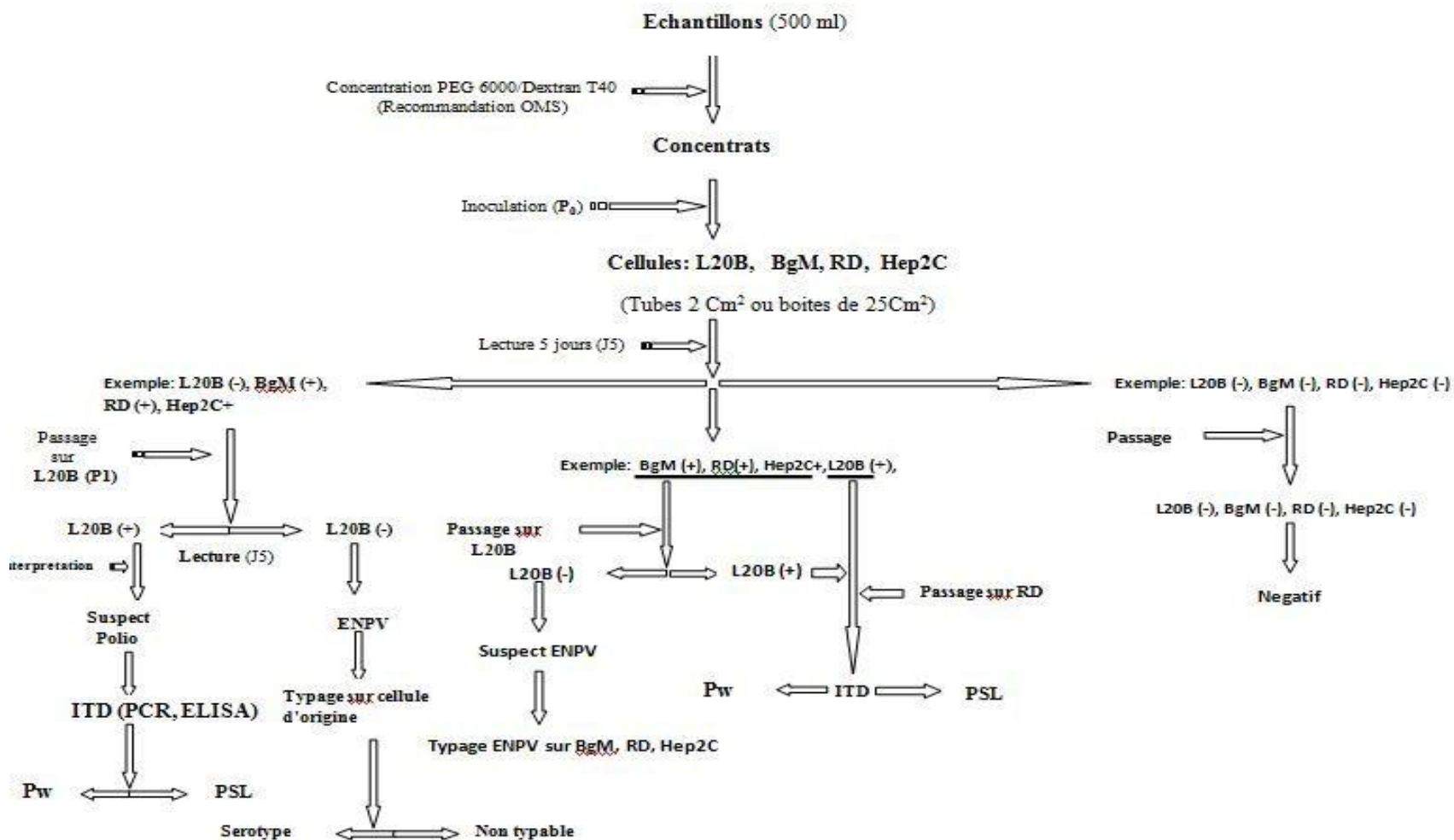


Figure 28 : Schéma simplifié de l'isolement et de l'identification des Poliovirus et ENPV sur lignée cellulaire

TROISIÈME PARTIE:
RESULTATS ET DISCUSSION

1. Caractéristiques physicochimiques des eaux usées brutes et lagunaires

1.1. Température, pH et conductivité

1.1.1. Température

La température moyenne des eaux usées brutes et lagunaires s'établit à 28,16 °C, avec des extrêmes compris entre 27,12 °C et 28,7 °C. Dans le milieu lagunaire, elle atteignait 28 °C lors de la première série de prélèvements et 29,12 °C lors de la deuxième (Tableau 8).

Tableau 8 : Valeurs moyennes des paramètres physicochimiques des eaux usées brutes et lagunaires par site de collecte

Types Sites	Eaux usées brutes							Eaux lagunaires	
	A1	A2	B	C	D	E	F	G	H
Température (°C)	28	27,27	27,17	27,21	27,12	27,64	27,71	28,70	27,83
pH	8,54	7,19	8,17	8,55	6,63	7,70	7,59	7,45	8,14
Conductivité (µS /Cm)	1222	799,40	997,80	1011	1700	1175	1201	9492	12485

Ces valeurs élevées, typiques des milieux tropicaux, accélèrent significativement la cinétique des réactions biochimiques et modifient les constantes d'équilibre des processus chimiques (Varlet, 1978). Elles restent cependant inférieures à la limite de 30 °C souvent retenue pour le rejet direct dans le milieu naturel (CNS, 1994 ; OMS, 2006), limitant ainsi les risques immédiats d'inhibition thermique des processus biologiques.

1.1.2. pH

Le pH moyen enregistré est de 7,9, avec des valeurs extrêmes de 7,1 à 9,57 et un écart-type faible (0,07 à 1,18). Les valeurs les plus élevées ont été observées aux sites A1 (8,54) et C (8,55), tandis que le site D présentait le pH le plus bas (6,63) (Tableau 8).

Ces valeurs, globalement proches de la neutralité, correspondent au pH optimal pour la croissance de la majorité des microorganismes impliqués dans la dégradation de la matière organique. Elles respectent dans l'ensemble les normes de rejet dans le milieu naturel, généralement comprises entre 6,5 et 8,5 (IJC, 1977 ; Chindah et Nduaguibe, 2003).

1.1.3. Conductivité

La conductivité électrique est nettement plus élevée dans les eaux lagunaires (moyenne de 10 988 µS/cm) que dans les eaux usées brutes (1 154 µS/cm), traduisant une forte minéralisation du milieu récepteur. Dans la lagune, elle est passée de 5 127 µS/cm lors de la première série à 7 964 µS/cm lors de la deuxième (Tableau 8).

Ces valeurs dépassent largement celles rapportées dans les eaux usées du Grand Agadir (449,7 à 1 038,3 µS/cm) (Eddabra, 2011). Elles excèdent les seuils recommandés pour l'irrigation (limite générale de 12 mS/cm) et pour le rejet dans le milieu naturel (limite générale de 2 700

$\mu\text{S/cm}$) (Eddabra, 2011 ; OMS, 2006), indiquant un risque de salinisation et une incompatibilité avec une réutilisation agricole ou un rejet sans traitement.

2. Variation de la teneur en matières organiques oxydables et particulières

2.1. Biodégradabilité de la matière organique

Le rapport moyen DCO/DBO₅ s'établit à 1,46, caractéristique d'une matière organique facilement biodégradable, typique des effluents domestiques et agroalimentaires (Figure 29). La matière oxydable moyenne, estimée par la relation $\text{MO} = (2 \text{ DBO}_5 + \text{DCO})/3$, atteint 320 mg/L, confirmant une charge organique élevée dans le collecteur.

Ces résultats sont comparables à ceux observés dans la baie de Cocody (DCO/DBO₅ \approx 1,4) (Britton et al., 2001), suggérant une pollution organique relativement homogène sur une large partie du système lagunaire d'Abidjan.

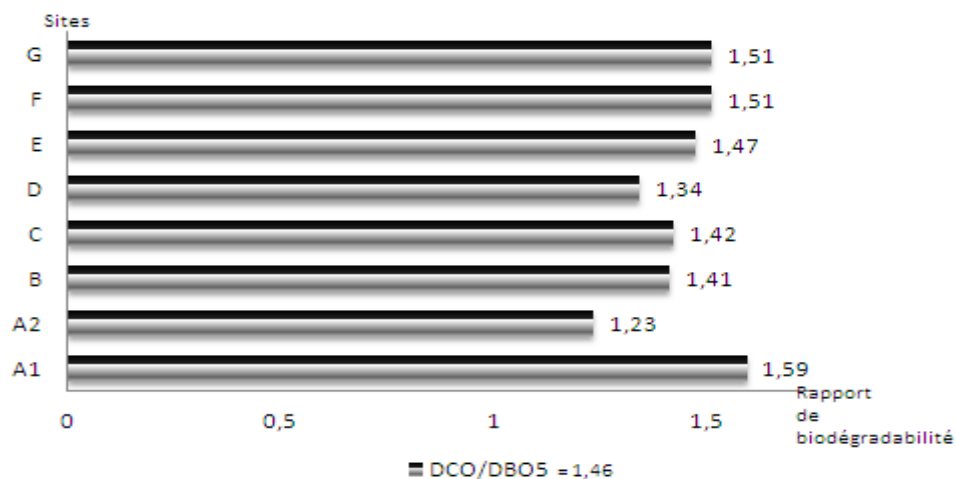


Figure 29: Variation des ratios DCO/DBO₅ par site de prélèvements

Cette figure donne la valeur moyenne des ratios : DCO/DBO₅ par site de prélèvements. La valeur DCO/DBO₅ = 1,46 correspond à la moyenne des ratios des différentes mesures effectuées lors des 3 séries de prélèvements. Elle ne correspond pas à la moyenne calculée à partir de données obtenues par site représenté sur la figure 30.

2.2. DCO, DBO₅, NTK et phosphore total

Les concentrations les plus élevées ont été enregistrées au site D (DCO = 1 258,83 mg/L ; DBO₅ = 932,50 mg/L ; NTK = 57,60 mg/L), tandis que les valeurs les plus faibles en DCO et DBO₅ ont été observées au site F (DCO = 407,37 mg/L ; DBO₅ = 268,75 mg/L) (Tableau 9).

L'ensemble de ces concentrations dépasse largement les limites de rejet direct dans le milieu naturel (DBO₅ : 25 mg/L ; DCO : 125 mg/L ; PT : 2 mg/L ; NTK : 15 mg/L) (European Commission, 1998 ; OMS, 2006), soulignant l'urgence d'un traitement des effluents avant rejet.

Tableau 9 : Valeurs moyennes de la DCO, de la DBO₅, du NTK et du Pt des eaux usées brutes et lagunaires par site de collecte

Type	Sites	DCO (mg/L)	DBO ₅ (mg/L)	NTK (mg/L)	Pt (mg/L)
Eaux usées brutes	A1	522,20	328,20	11,50	8,4
	A2	978,60	790	34,84	9,82
	B	555,75	391,75	31,13	14,75
	C	582,14	407,14	28,79	13,57
	D	1258,83	932,50	57,60	16,71
	E	853	578,42	39,67	13,24
Eaux lagunaires	F	407,37	268,75	35,03	20,02
	G	300,80	197,60	1,49	3,67
	H	<50	<50	0,34	0,87

2.3. Influence de la pluviométrie sur la charge organique

Milieu lagunaire

En période de faible pluviométrie (octobre, 3,4 mm), les concentrations en DCO, DBO₅, NTK et phosphore total étaient très basses. Elles augmentaient fortement lors des fortes précipitations (novembre : 84,5 mm ; décembre : 14,5 mm) (Tableau 10). Des corrélations positives et significatives ont été mises en évidence entre la pluviométrie et les paramètres DCO ($r = +0,66$; $p < 0,01$) et DBO₅ ($r = +0,63$; $p < 0,01$).

Ces observations confirment le rôle majeur des rejets urbains de temps de pluie dans l'apport brutal de charges polluantes au milieu récepteur, avec un effet d'entraînement prédominant (Derradji et al., 2007 ; Gillot, 2008 ; Mouchel et al., 1994).

Tableau 10 : Effets de la pluviométrie sur les valeurs de la charge polluante en milieu lagunaire

Périodes	Pluviométrie	Paramètres (mg/l)			
		DCO	DBO ₅	NTK	Pt
Octobre	3,4 mm	<50	<50	<0,3	0,767
Decembre	14,5 mm	159,12	103,87	0,982	2,43
Novembre	84,5 mm	419,75	275	1,87	4,55

Eaux usées du canal

En absence de précipitations, les concentrations maximales en DCO et DBO₅ ont été observées aux sites D et E. En période pluvieuse (77,4 mm), ces concentrations diminuaient nettement dans le canal (effet de dilution), tandis qu'une augmentation était notée en milieu lagunaire (Figure 30).

La forte charge au site D en temps sec résulte des apports cumulés des quartiers amont. La baisse brutale observée au site E s'explique par la présence d'un vaste bassin de rétention (« canyon ») favorisant la sédimentation et la dégradation biologique de la matière organique, avec consommation d'oxygène et transformation des composés azotés (Koné, 2007 ; Purvaja et al., 2008). La réduction des sulfates entre les sites D et E suggère également une activité significative des bactéries sulfato-réductrices dans la minéralisation anaérobie (Jørgensen, 1983 ; Castel et al., 1996).

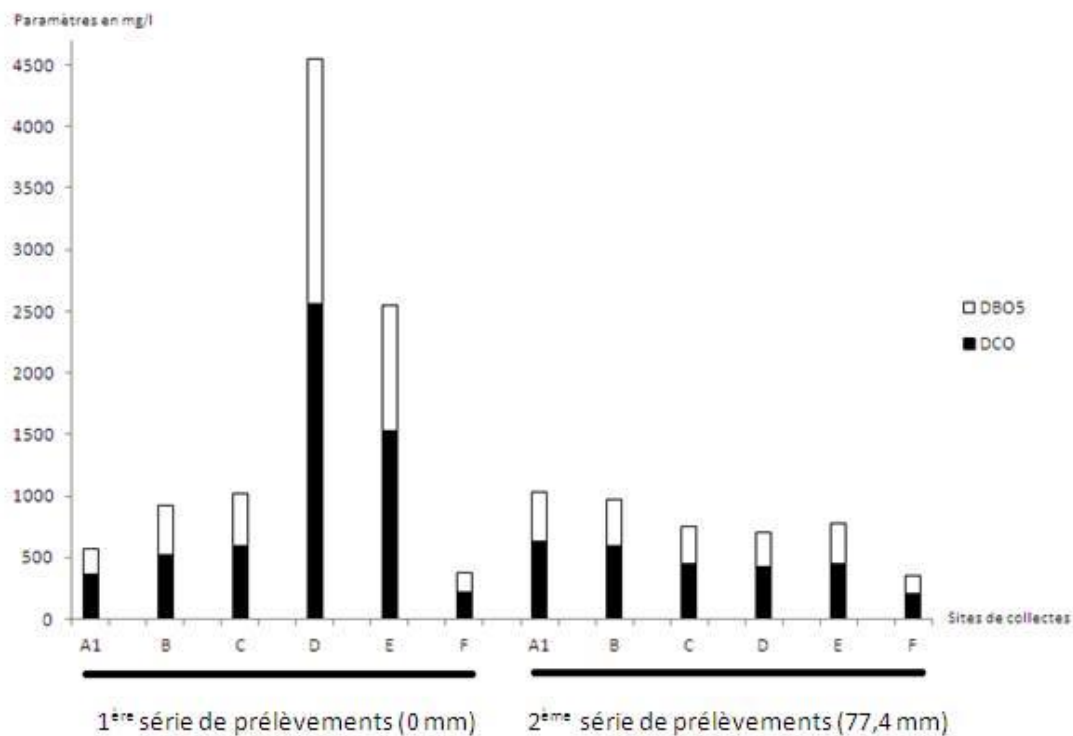


Figure 30 : Variation dans le sens amont aval de la DCO et de la DBO₅ en absence de précipitations et en période de fortes pluviométries

Cet histogramme présente l'influence de la pluviométrie sur l'évolution des concentrations de la DCO et de la DBO₅ dans le canal uniquement. La 1^{ère} série d'échantillonnage a débuté au site A1 le 15/09/2008 et s'est achevée au site F le 12/10/2008. Durant cette 1^{ère} série d'échantillonnages aux dates des prélèvements, nous n'avons pas obtenu de précipitation dans le canal. A la 2^{ème} série d'échantillonnage débuté au site A1 le 21/10/2008 et achevée au site F le 23/11/2008 aux dates des prélèvements nous avons obtenu une pluviométrie de 77,4 mm (Annexe 7). Les valeurs de DBO₅ et de DCO aux différents sites sont les moyennes des différentes valeurs mesurées à ces sites.

2.4. Matières en suspension (MES)

Milieu lagunaire

La concentration moyenne en MES atteignait 272 mg/L dans le milieu lagunaire et augmentait fortement avec la pluviométrie (multiplication par 5 à 7 lors des fortes précipitations) (Tableau 11). Ces valeurs dépassent largement la limite de rejet de 35 mg/L (European Commission, 1998 ; OMS, 2006).

Les apports pluviaux entraînent un ruissellement massif de particules issues des surfaces urbaines et des réseaux d'assainissement, aggravant la turbidité, limitant la pénétration de la lumière et réduisant la photosynthèse et l'oxygénation du milieu (Thornton et al., 2001 ; Mounira, 2006).

Tableau 11: Effets de la pluviométrie sur l'augmentation des MES en milieu lagunaire

Périodes	Pluviométrie	MES (mg/l)
Octobre	3,4 mm	48
Decembre	14,5 mm	358,75
Novembre	84,5 mm	236,25

Canal d'eaux usées

En temps sec, les MES étaient particulièrement élevées au site D (2 360 mg/L). En période pluvieuse, les concentrations diminuaient globalement grâce à la dilution, sauf aux points de confluence. Le bassin de rétention au site E favorisait la sédimentation des particules (Figure 31).

Ces concentrations élevées, supérieures à celles observées dans d'autres contextes urbains africains (El Guamri et al., 2006), mettent en évidence les insuffisances des infrastructures d'assainissement dans les villes d'Afrique subsaharienne (Wéthé et al., 2002). Les MES

réduisent la luminosité, limitent la productivité primaire et peuvent provoquer des effets mécaniques néfastes sur la faune aquatique (colmatage des branchies).

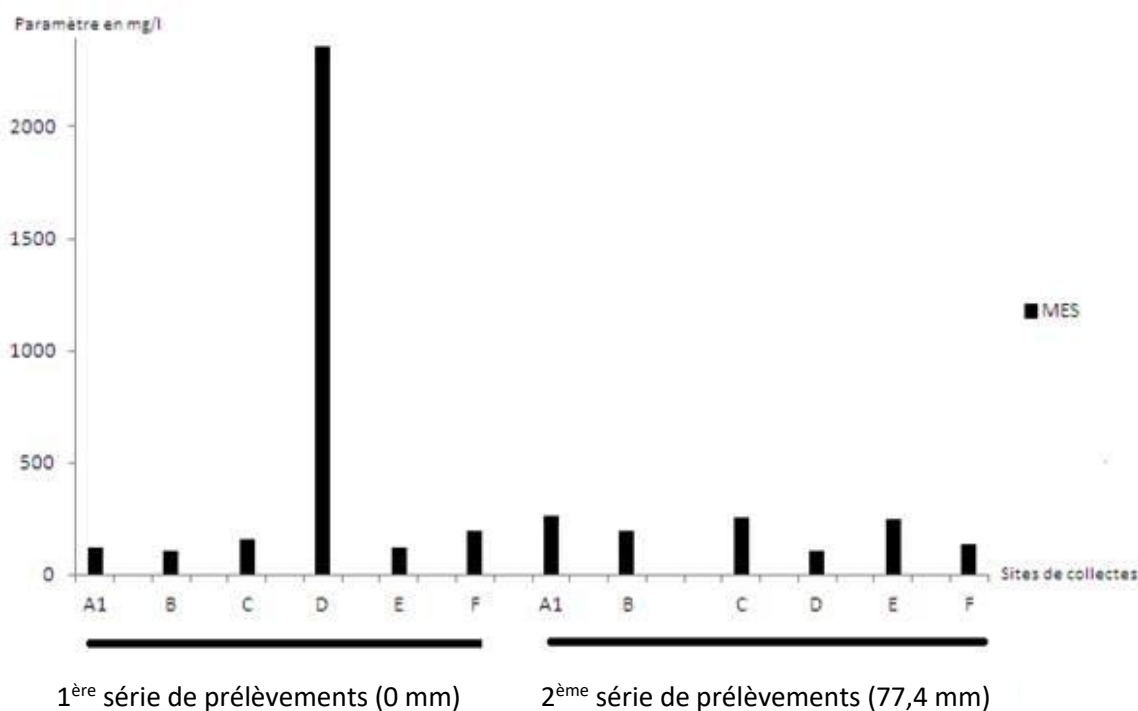


Figure 31: Effets de la pluviométrie sur l'évolution des MES en absence de précipitations et en présence de fortes pluviométries

Cet histogramme présente l'influence de la pluviométrie sur l'évolution de concentration des MES dans le canal uniquement. La 1^{ère} série d'échantillonnage a débuté au site A1 le 15/09/2008 et s'est achevée au site F le 12/10/2008. Durant cette 1^{ère} série d'échantillonnages aux dates des prélèvements nous n'avons pas obtenu de précipitation au niveau des échantillonnages du canal. A la 2^{ème} série d'échantillonnage débuté au site A1 le 21/10/2008 et achevée au site F le 23/11/2008 nous avons obtenu une pluviométrie de 77,4 mm aux dates des prélèvements dans le canal (Annexe 7). Les valeurs de MES aux différents sites sont les moyennes des valeurs mesurées à ces sites.

3. Comportement des éléments nutritifs

Tableau 12: Matrice de corrélation (Bravais Pearson) entre les différents paramètres physicochimiques des eaux lagunaires prélevés

Paramètres	DBO ₅	P-PO ₄ ³⁻	Pt	N0 ₃ ⁻	SO ₄ ²⁻	NTK	NH ₄ ⁺	Salinité	Pluviométrie
DBO ₅	1	0.9261	0.8703	-0.1866	-0.6347	0.7678	-0.5791	0.2866	0.6358
P-PO ₄ ³⁻	0.9261	1	0.9459	-0.3624	-0.9011	0.6069	-0.7560	0.5422	0.8712
Pt	0.8703	0.9459	1	-0.3624	-0.4784	-0.4482	-0.7560	0.5094	0.9238
N0 ₃ ⁻	-0.1866	-0.3624	-0.3624	1	-0.2614	-0.0789	0.5550	-0.4693	-0.4090
SO ₄ ²⁻	-0.6347	-0.9011	-0.4784	-0.2614	1	-0.1718	0.7553	-0.2250	-0.5297
NTK	0.7678	0.6069	-0.4482	-0.0788	-0.1717	1	0.0577	-0.3756	0.1990
NH ₄ ⁺	-0.5791	-0.7560	-0.7560	0.5550	0.7553	0.0577	1	-0.7512	-0.9730
salinité	0.2866	0.5422	0.5094	-0.4693	-0.2250	-0.3756	-0.7512	1	-0.4000
Pluviométrie	0.6358	0.8712	0.9238	-0.4090	-0.5297	0.1990	-0.9730	-0.4000	1

3.1. Composés azotés

Milieu lagunaire

Les concentrations en NTK augmentaient nettement lors des fortes pluviométries, atteignant 1,875 mg/L en novembre (84,5 mm) contre < 0,3 mg/L en octobre (Tableau 13). Ces apports proviennent principalement des urines et matières fécales (Viennerås, 2001) ainsi que des ruissellements urbains (Gromaire-Metz, 1998).

Tableau 13 : Effet de la pluviométrie sur l'augmentation du NTK en milieu lagunaire

Périodes	Pluviométrie	Paramètre (mg/l)
		NTK
Octobre	3,4 mm	<0,3
Decembre	14,5 mm	0,982
Novembre	84,5 mm	1,875

Canal d'eaux usées

En temps sec, les concentrations en NTK et nitrates étaient modérées. En période pluvieuse, elles augmentaient significativement avec un pic au site D, traduisant un effet d'entraînement des stocks accumulés dans le réseau (Gillot, 2008) (Figure 32).

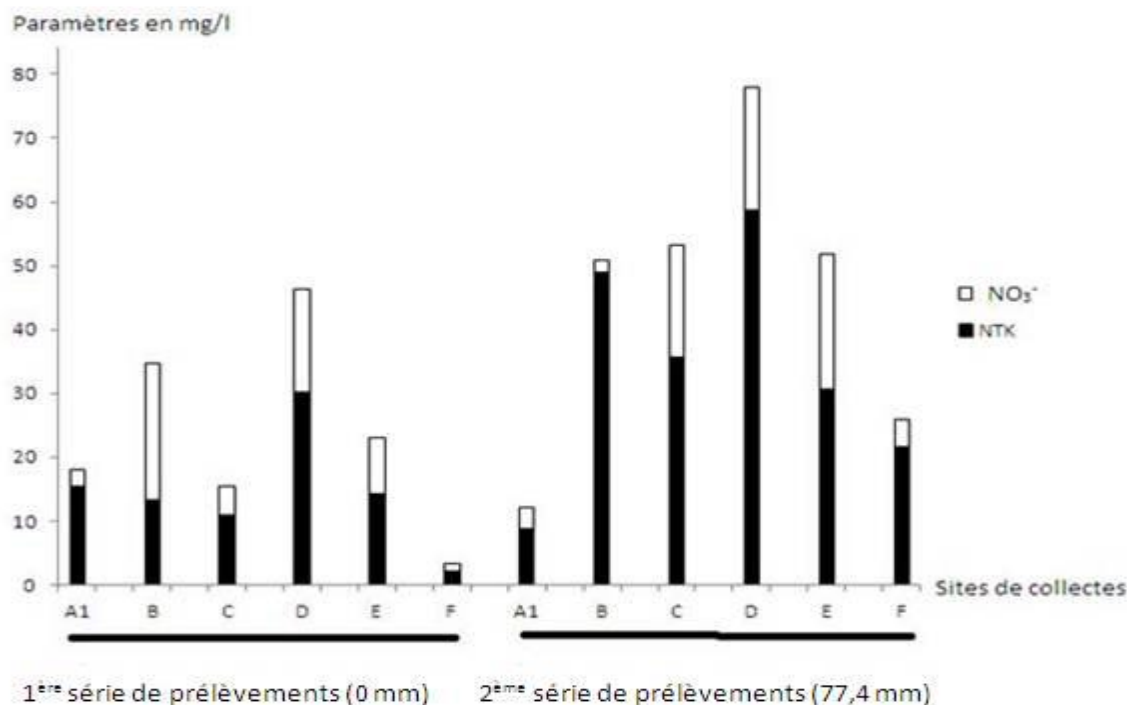


Figure 32: Variation dans le sens amont aval de la NTK et NO₃⁻ en absence de précipitations et en période de fortes pluviométries

Cet histogramme présente l'influence de la pluviométrie sur l'évolution de la concentration des NTK et du nitrate dans le canal uniquement. La 1^{ère} série d'échantillonnage a débuté au site A1 le 15/09/2008 et s'est achevée au site F le 12/10/2008. Durant cette 1^{ère} série d'échantillonnages nous n'avons pas obtenu de précipitation aux dates des prélèvements dans le canal. A la 2^{ème} série d'échantillonnage débuté au site A1 le 21/10/2008 et achevée au site F le 23/11/2008 dans le canal nous avons obtenu une pluviométrie de 77,4 mm. (Annexe 7). Les valeurs de la NTK et de NO_3^- aux différents sites sont les moyennes des valeurs mesurées à ces sites.

3.2. Évolution du nitrate et de l'ammonium en milieu lagunaire

Une alternance entre phases de nitrification (oxydation) et d'ammonification (réduction) a été observée aux sites G et H, étroitement liée à l'état redox de la colonne d'eau et des sédiments (PNUE/PAM, 2007). Les précipitations favorisent la réaération de la colonne d'eau et stimulent la nitrification, tandis qu'en conditions plus calmes, l'ammonification et la réduction du nitrate prédominent (Valdes et Real, 2004 ; Castel et al., 1996 ; Mouchel et al., 1994) (Figure 33).

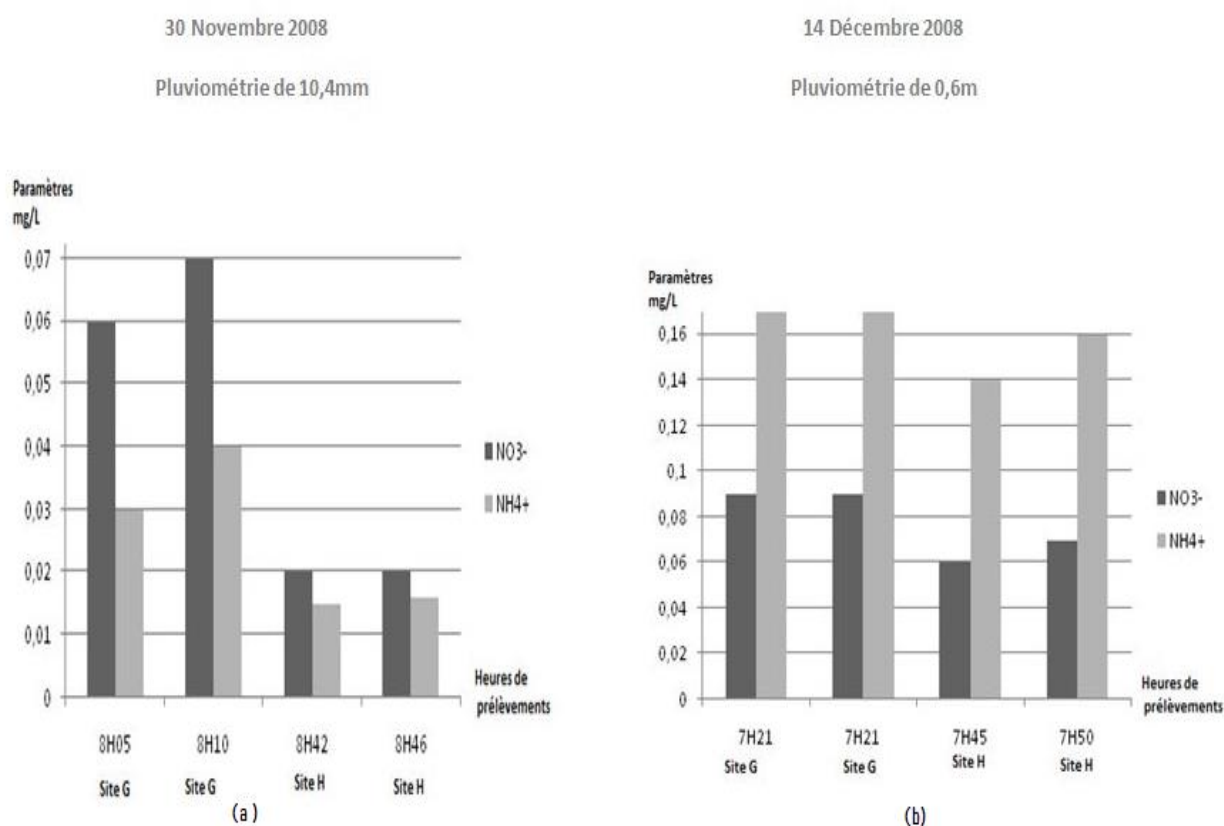


Figure 33 : Evolution du nitrate et de la concentration en ammonium aux sites lagunaires G et H

3.3. Relation entre salinité et concentration en ammonium

Une corrélation négative significative a été mise en évidence entre la salinité et la concentration en NH_4^+ ($r = -0,75$; $p < 0,01$). Les concentrations en ammonium étaient plus élevées aux salinités plus fortes (Figure 34). Ce résultat, qui contraste avec certaines observations

antérieures (Garnier et al., 2003 ; Morel et Koffi, 1995), souligne la nécessité d'un échantillonnage plus dense pour confirmer les dynamiques locales.

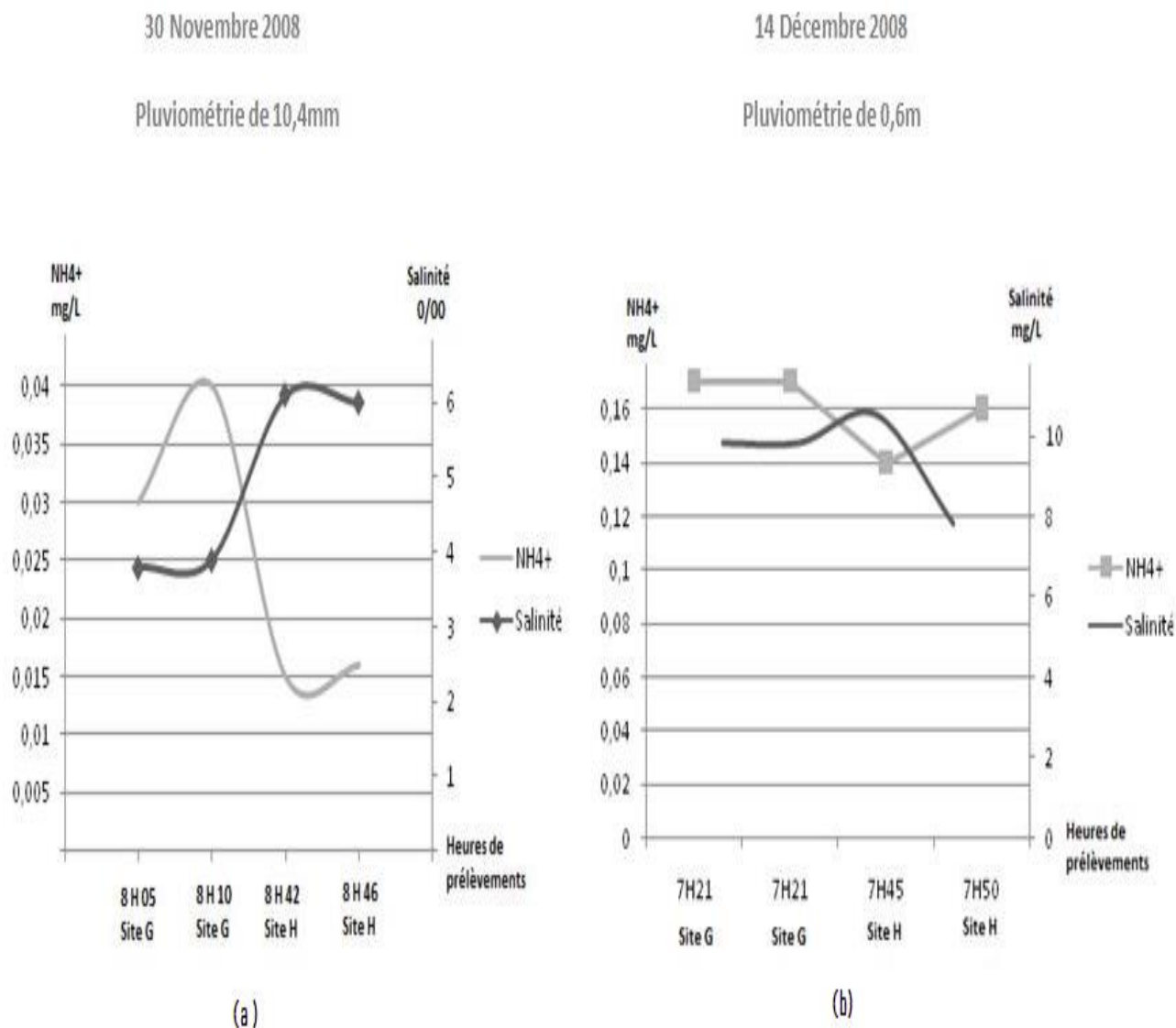


Figure 34 : Courbes d'évolution de la salinité en fonction de la concentration en ammonium aux sites lagunaires G et H

3.4. Composés phosphorés

Milieu lagunaire

Les concentrations en orthophosphates et phosphore total augmentaient nettement lors des fortes pluviométries, augmentant le risque d'eutrophisation. Ces apports excessifs peuvent

stimuler la prolifération algale excessive, entraînant une désoxygénation et des blooms potentiellement toxiques (David et Real, 2004).

Canal d'eaux usées

En temps sec, les concentrations étaient maximales au site F. En période pluvieuse, un effet de dilution était observé au site F, tandis qu'un entraînement des stocks accumulés augmentait les concentrations aux sites B, C, D et E (Figure 35).

Les valeurs observées dépassent celles rapportées dans d'autres contextes urbains (El Guamri et al., 2006 ; Metahri, 2012), traduisant une pollution phosphatée importante à Yopougon.

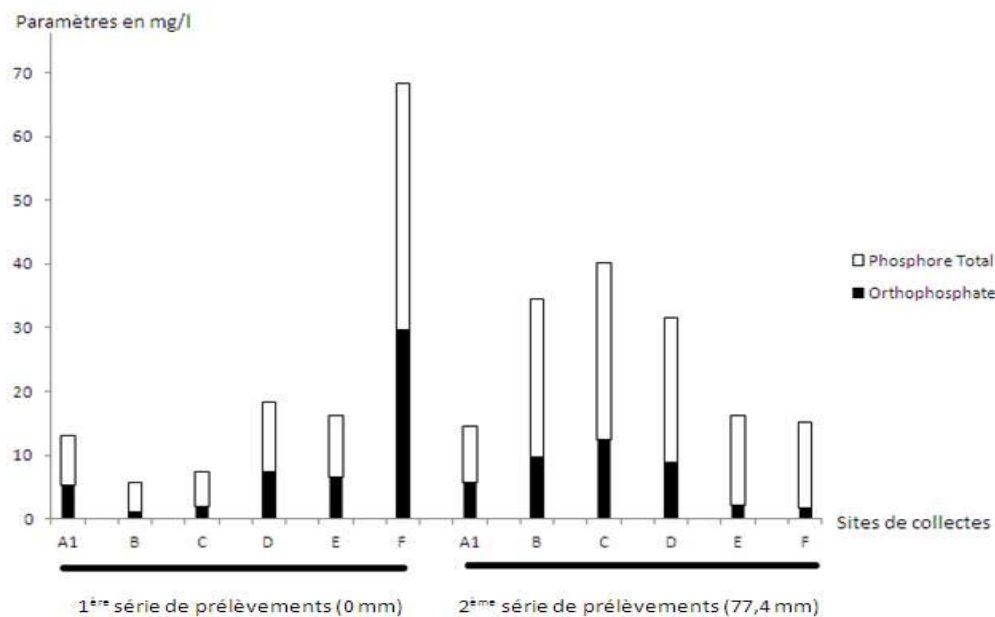


Figure 35 : Variation dans le sens amont aval du Phosphore Total et de l'orthophosphate en absence de précipitations et en présence de fortes pluviométries

Cet histogramme présente l'influence de la pluviométrie sur l'évolution de concentration du Phosphore Total et de l'orthophosphate dans le canal uniquement. La 1^{ère} série d'échantillonnage a débuté au site A1 le 15/09/2008 et s'est achevée au site F le 12/10/2008. Durant la 1^{ère} série d'échantillonnages aux dates des prélèvements, nous n'avons pas obtenu de précipitation dans le canal. A la 2^{ème} série d'échantillonnage débuté au site A1 le 21/10/2008 et achevée au site F le 23/11/2008, nous avons obtenu une pluviométrie de 77,4 mm dans le canal (Annexe 7). Les valeurs du Phosphore Total et de l'orthophosphate aux différents sites sont les moyennes des valeurs mesurées à ces sites.

3.5. Charge organique et évolution des sulfates en milieu lagunaire

La concentration moyenne en sulfates était plus élevée au site H (608,1 mg/L) qu'au site G (279,7 mg/L). Une corrélation négative significative a été observée entre les sulfates et les paramètres de pollution organique (DCO : $r = -0,447$; DBO₅ : $r = -0,634$; $p < 0,01$) (Tableau 12).

Cette réduction des sulfates, accentuée par la pluviométrie ($r = -0,5297$; $p < 0,01$), résulte principalement de l'activité des bactéries sulfato-réductrices (*Desulfovibrio* spp.) en conditions

anaérobies, qui utilisent la matière organique comme substrat et produisent de l'hydrogène sulfuré (Jørgensen, 1983 ; Castel et al., 1996 ; Esnault et al., 1988). Ce processus constitue le principal mode de minéralisation anaérobie dans les lagunes côtières saumâtres et contribue à la production de sulfure d'hydrogène toxique pour l'écosystème (PNUE/PAM, 2007).

Tableau 14 : Valeurs moyennes de la DCO, de la DBO₅ et du sulfate (SO₄²⁻) des eaux usées brutes et lagunaires par site de collecte

Sites	Eaux usées du canal							Eaux lagunaires	
	A1	A2	B	C	D	E	F	G	H
DCO (mg/L)	522,20	978,60	555,75	582,14	1258,83	853	407,37	300,80	<50
DBO₅ (mg/L)	328,20	790	391,75	407,14	932,50	578,42	268,75	197,60	<50
SO₄²⁻ (mg/L)	62,2	2,6	14,06	15,68	8,06	7,97	7,37	279,7	608,1

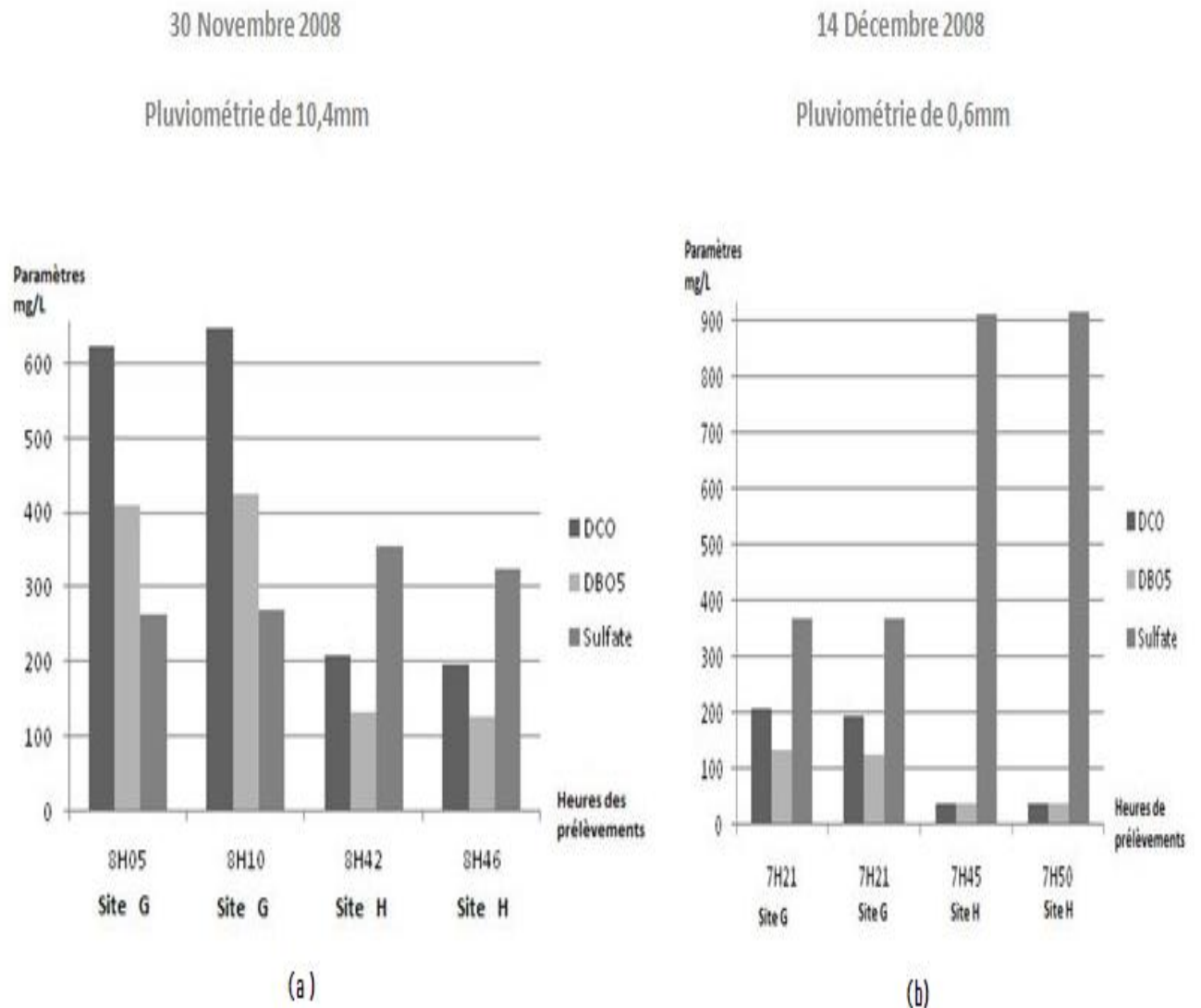


Figure 36 : Variation de la teneur en sulfate en fonction du niveau de la charge polluante aux sites lagunaires G et H

4. Conclusion

Les eaux usées brutes rejetées dans la lagune Ébrié présentent des concentrations élevées en matières organiques (DCO, DBO₅), en azote (NTK, NH₄⁺) et en phosphore, largement supérieures aux normes de rejet direct. La pluviométrie exerce une influence duale : dilution dans le canal et entraînement des charges polluantes vers la lagune.

Ces apports excessifs de nutriments favorisent l'eutrophisation, la prolifération d'algues et de plantes aquatiques (notamment les jacinthes d'eau), et la désoxygénation du milieu récepteur. La réduction des sulfates en conditions anaérobies, associée à la production d'hydrogène

sulfuré, aggrave la dégradation de l'écosystème lagunaire. La restauration durable de la lagune Ébrié exige une réduction drastique des apports polluants et la mise en place de systèmes de traitement performants des eaux usées. Sans une gestion rigoureuse des rejets urbains, la régénération et l'auto-épuration du milieu resteront compromises.

RÉSULTATS ET DISCUSSION (suite)**2. Influence des facteurs environnementaux sur les entérovirus (EV)****2.1. Variations spatiales des virus détectés et de leur concentration dans les eaux usées****2.1.1. Positivité et sites d'échantillonnage**

La proportion d'échantillons positifs en RT-PCR augmente globalement dans le sens amont-aval du canal. Elle passe de 20 % aux sites A1 et A2 à 88,88 % au site F. Une légère diminution est cependant observée entre le site D (71,42 %) et le site E (62,5 %) (Tableau 15).

Cette augmentation progressive s'explique par l'accumulation progressive du volume d'eaux usées drainé le long du collecteur, liée à l'augmentation de la population connectée. Au site G, zone de mélange avec la lagune, la dilution des effluents entraîne une réduction de la proportion d'échantillons positifs. Cette réduction est encore plus marquée au site H, plus éloigné du point de rejet (Tableau 15).

Tableau 15 : Répartition des échantillons positifs en culture et RT-PCR sur le nombre total d'échantillon par sites d'échantillonnage

Sites	Nombre d'échantillons	Nombre d'échantillons positifs en culture	Nombre d'échantillons positifs en culture et RT-PCR	Echantillons positives en RT-PCR (%)	
Canal	A1	5	2	1	20
	A2	5	2	1	20
	B	4	4	2	50
	C	7	4	4	57,14
	D	7	5	5	71,42
	E	8	6	5	62,5
	F	9	8	8	88,88
Lagune	G	9	6	4	55,55
	H	12	5	5	33,33

Les 2 échantillons du pré-test ne sont pas pris en compte le Tableau 15. Les échantillons positifs en culture le sont sur lignées BgM, RD, L20B et Hep2C. Le tableau 14 présente les échantillons positifs en culture, puis en culture et RT-PCR sur le total des échantillons prélevés par site d'échantillonnage.

2.1.2. Concentration virale estimée

La concentration virale moyenne estimée s'élève à $2,14 \times 10^5$ ufp/500 mL. La valeur la plus élevée est observée au site F ($5,4 \times 10^4$ ufp/500 mL), tandis que les valeurs les plus faibles sont enregistrées aux sites A1 ($1,15 \times 10^4$ ufp/500 mL) et A2 ($3,1 \times 10^4$ ufp/500 mL) (Tableau 16). Ces concentrations sont supérieures à celles rapportées par Dahling et al. (1989) à Puerto Rico (100 à $2,42 \times 10^5$ ufp/L) et par Divizia et al. (1990) à Tirana (10^3 à 10^5 ufp/L). Cette charge virale élevée s'explique par le faible niveau d'hygiène des populations riveraines, qui favorise à la fois la transmission féco-orale et le taux d'excrétion virale dans les eaux usées (Schwartzbrod, 1991). Selon cet auteur, les eaux usées urbaines contiennent généralement des entérovirus à des concentrations variables pouvant dépasser 10^5 particules par litre, ce qui est cohérent avec les résultats obtenus.

Tableau 16 : Concentration virale moyenne estimée par site de collecte

	Site	Concentration virale moyenne estimée ufp/500ml
	A1	$1,15.10^4$
	A2	$3,1.10^4$
	B	$4,28.10^5$
Canal	C	$3,33.10^5$
	D	$1,63.10^5$
	E	$9,07.10^4$
	F	$4,53.10^5$
	Lagune	G
H		$5,4.10^4$

2.2. Influence in situ de facteurs environnementaux abiotiques sur la distribution et la persistance des entérovirus

2.2.1. Pluviométrie

Lors de la première série de prélèvements (pluviométrie de 0,1 mm le jour des prélèvements), 44,4 % des échantillons étaient positifs en RT-PCR, contre 60,9 % lors de la deuxième série (pluviométrie de 100,7 mm). La différence n'est cependant pas statistiquement significative ($\chi^2 = 1,1$; $p = 0,30$).

Les concentrations virales étaient nettement plus élevées après de fortes précipitations (jusqu'à $15\,000 \times 10^2$ ufp/500 mL) qu'en période de faible pluviométrie (Figure 37). Cette augmentation

s'explique par le débordement des réseaux d'assainissement et l'entraînement massif des eaux usées vers la lagune lors des pluies intenses.

Ces observations confirment les résultats de Green et Lewis (1999), qui ont isolé un plus grand nombre d'entérovirus infectieux durant les mois pluvieux, ainsi que ceux de Lipp et al. (2001) et Tsai et al. (1993), qui soulignent la forte probabilité de détecter les entérovirus dans les eaux côtières après des événements pluvieux. La pluviométrie agit donc comme un facteur majeur de mobilisation et de transport des virus dans le système hydrique étudié.

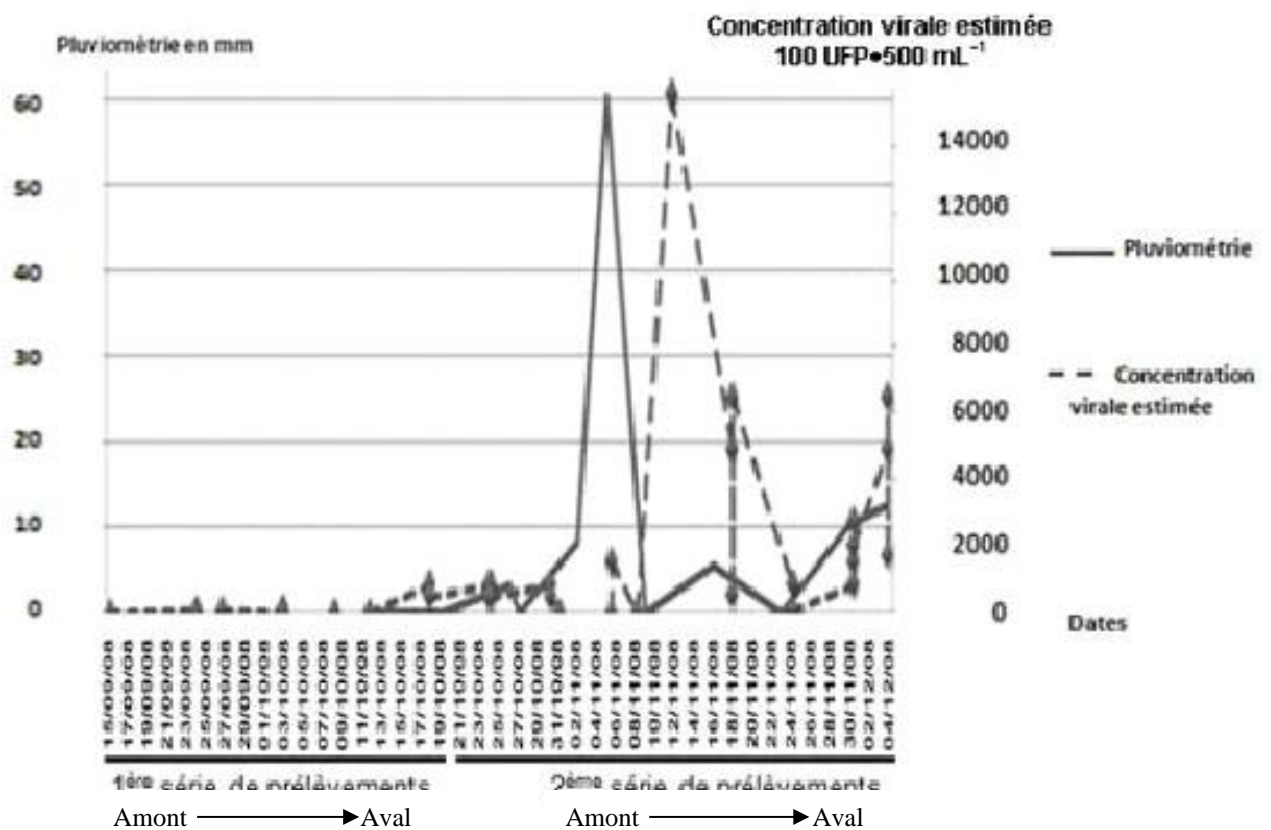


Figure 37 : Evolution de la concentration virale estimée des entérovirus dans le sens amont aval en fonction de la pluviométrie lors des deux premières séries de prélèvements

Cette courbe présente l'influence de la pluviométrie sur l'évolution de concentration virale dans le canal et en lagune. A la 1^{ère} série d'échantillonnage débuté au site A1 le 15/09/2008 et achevé au site H le 19/10/2008, nous avons obtenu une pluviométrie de 0,1 mm dans le canal et en lagune. A la 2^{ème} série d'échantillonnage débuté au site A1 le 21/10/2008 et achevé au site H le 04/12/2008, aux dates des prélèvements nous avons obtenu une pluviométrie de 100,7 mm dans le canal et en lagune (Annexe 7). Les dates de prélèvements sont indiquées à la figure 37.

Figure 37 : Évolution de la concentration virale estimée des entérovirus en fonction de la pluviométrie lors des deux premières séries de prélèvements.

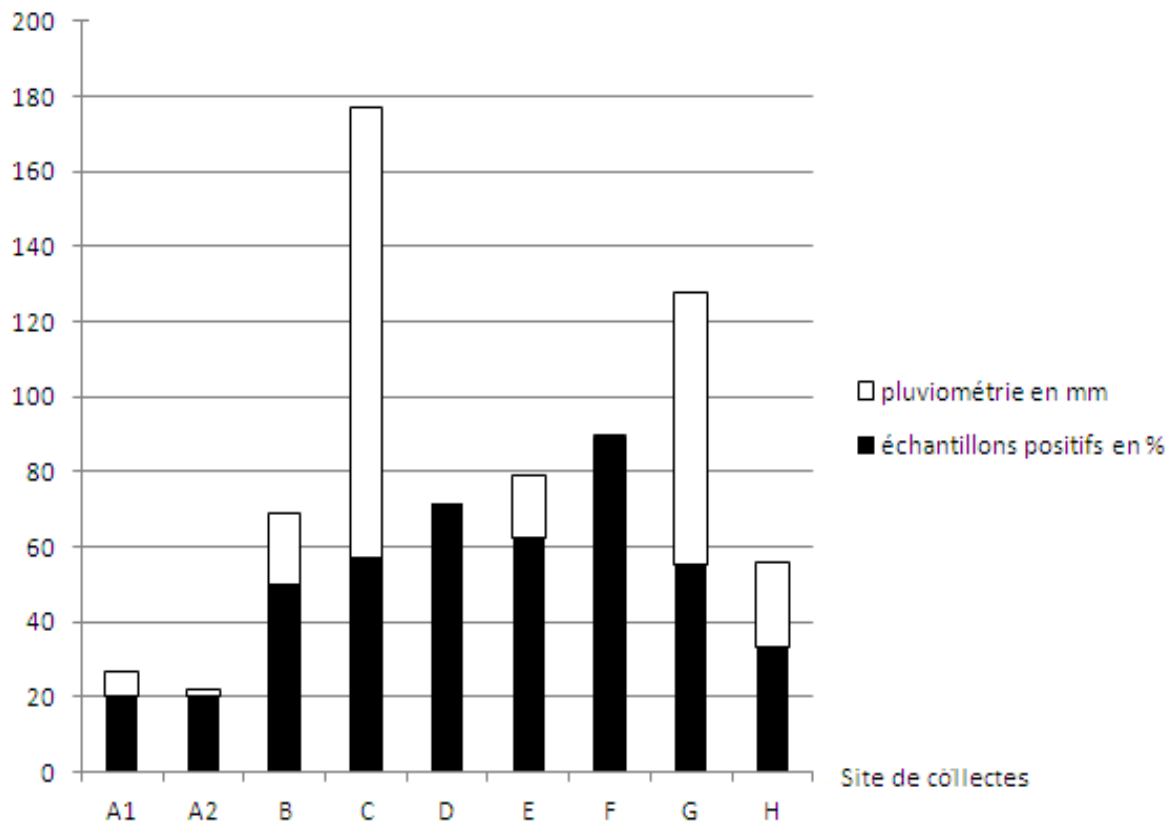


Figure 38 : Variation des échantillons positifs en fonction des précipitations aux jours des prélèvements dans les sites considérés

Cet histogramme présente en plus des variations d'entérovirus, les précipitations aux jours des prélèvements au site considéré. Ainsi, au site A1 il est présenté la pluviométrie moyenne du 15/09, du 26/10 et du 27/10/2008; au site A2 il est présenté la pluviométrie moyenne du 8/12 et du 11/12/2008; au site B, il est présenté la pluviométrie moyenne du 18/09 et du 02/11/2008; au site C, il est présenté la pluviométrie moyenne du 25/09, 05/11 et du 21/12/2008; au site D, le 01/10, le 09/11 et le 21/12/2008, la pluviométrie moyenne était nulle; au site E il est présenté la pluviométrie moyenne du 05/10, du 16/11 et du 21/12/2008; au site F, le 12/10, le 23/11 et le 25/12: la pluviométrie moyenne était nulle; au site G, il est présenté la pluviométrie moyenne du 30/11, du 04/12 et du 14/12/2008; au site H, il est présenté la pluviométrie moyenne du 19/10, du 30/11 et du 14/12/2008.

2.2.2. Température et pH

Aucune relation claire et statistiquement robuste n'a pu être établie entre la température (26 °C à 30 °C) et la présence ou la concentration des entérovirus, en raison du faible nombre de prélèvements et de la variabilité limitée des températures observées (+4 °C). Les résultats suggèrent cependant que les températures maximales (proches de 30 °C) ne favorisent pas la persistance virale, en accord avec les travaux de Wetz et al. (2004) qui montrent que les températures élevées peuvent endommager les capsides ou les acides nucléiques viraux. Lipp et al. (2001) avaient par ailleurs détecté les entérovirus principalement lorsque la température était inférieure à 23 °C.

De même, le pH semble exercer un effet indirect sur la persistance virale. À pH basique élevé (9,57 au site C), la concentration virale estimée était plus faible qu'à pH neutre (7,1 au site A2). Selon Dene et al. (1981) et Fujioka et Ackermann (1975), un pH élevé modifie la charge de surface des virus, réduisant leur adsorption sur les particules et favorisant leur inactivation.

Tableau 17: Variation des échantillons positifs en fonction des paramètres environnementaux : les sites de prélèvements des variables maximales (Max) et minimales (Min) ont été pris en compte

	Température (°C)		pH	
	Max	Min	Max	Min
	30	26	9,57	7,1
Nombre d'échantillons	2	1	1	1
Nombre d'échantillons positifs	0	1/1	1/1	1/1
Concentrations virales estimées (100 UFP•500 mL ⁻¹)	0	87,2	647	1550
Sites d'échantillonnage	G	A1	C	A2

2.2.3. Salinité

Les résultats indiquent une tendance à la diminution du taux de positivité et de la concentration virale lorsque la salinité augmente. Au site H, pour une salinité de 2,6 ‰, 100 % des échantillons étaient positifs, contre 50 % à 10,7 ‰ (Tableau 18). Dans le milieu lagunaire, le taux de positivité passait de 62,5 % (salinité 5,9–6,9 ‰ au site G) à 33,33 % au site H.

Ces observations sont cohérentes avec les travaux de Salo et Cliver (1976), qui ont montré que les faibles salinités améliorent généralement la persistance des virus. Cependant, la complexité du milieu naturel rend difficile l'isolement de l'effet de la salinité seule (Skraber, 2003). Labelle et Gerba (1979) et Gantzer et al. (1998) n'ont pas observé d'effet significatif de la salinité sur l'adsorption ou la survie du poliovirus dans certaines conditions expérimentales.

Tableau 18 : Variation des échantillons positifs en fonction de la salinité : les sites de prélèvements des variables maximales et minimales ont été pris en compte

	Salinité (%)	
	Max	Min
	10,7	2,6
Nombre d'échantillons	2	2
Nombre d'échantillons positifs	1/2 (50%)	2/2(100%)
Concentrations virales estimées (100 UFP/500mL)	1550	490 et 87, 2
Sites d'échantillonnage	H	H

2.2.4. Conductivité

Une tendance inverse a été observée avec la conductivité : le pourcentage d'échantillons positifs était plus élevé (75 %) pour des conductivités élevées (15 480–17 868 $\mu\text{S}/\text{cm}$) lors de la première série, et plus faible (27,8 %) pour des conductivités plus basses (2 253 $\mu\text{S}/\text{cm}$) lors de la troisième série. La différence est à la limite de la significativité ($\chi^2 = 5,93$; $p \approx 0,05$).

Ces résultats concordent avec Sobsey (1975), qui a démontré que des concentrations élevées en sels dissous favorisent l'adsorption des virus sur les particules en suspension. Quignon et al. (1998) ont également mis en évidence une relation linéaire entre la conductivité et l'inactivation virale dans certaines eaux stérilisées, tandis que Hurst et al. (1989) ont souligné le rôle négatif de la dureté et de la minéralisation sur la survie virale.

2.3. Influence de la charge organique sur la distribution et la persistance des EV

La concentration virale moyenne estimée augmente avec la DBO_5 : elle passe de $1,69 \times 10^4$ ufp/500 mL (DBO_5 moyenne = 522,16 mg/L) lors de la première série à $4,06 \times 10^4$ ufp/500 mL (DBO_5 moyenne = 2 835,49 mg/L) lors de la troisième série (Figure 39).

Les concentrations virales étaient plus élevées lorsque la DBO_5 se situait autour de 500 mg/L et plus faibles lorsque la DBO_5 dépassait 1 000–2 000 mg/L (Figure 40). La présence de matières organiques biodégradables semble donc favoriser la persistance des entérovirus, en accord avec Yeager et O'Brien (1979) et Nakajima et al. (2003), qui ont montré que l'association des virus aux particules organiques (fèces, boues) exerce un effet protecteur contre l'inactivation (notamment lors de la chloration).

Cependant, les très fortes charges organiques ($DBO_5 > 1\ 000\text{ mg/L}$) s'accompagnent d'une activité microbienne intense qui peut contribuer à la réduction de la concentration virale par production d'enzymes protéolytiques et nucléases (Fujioka et Ackermann, 1975 ; Sobsey, 1980 ; Cliver et Hermann, 1972).

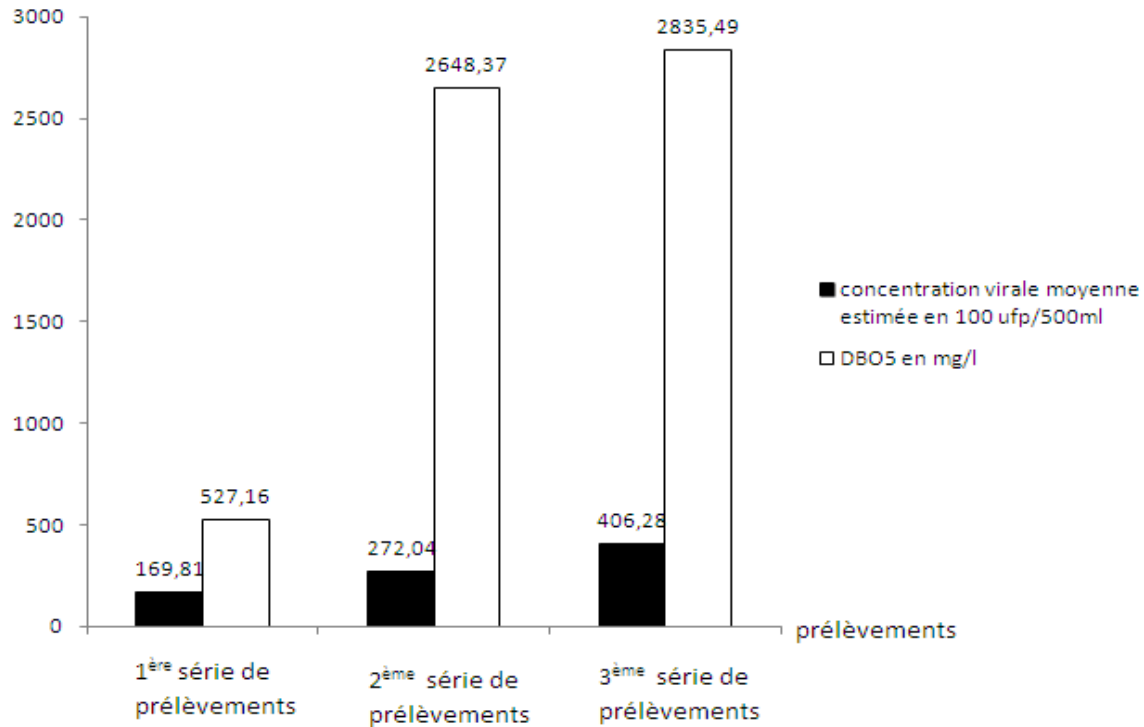


Figure 39 : Variation de la concentration virale moyenne estimée en fonction de la DBO_5 moyenne pour les 3 séries de prélèvements

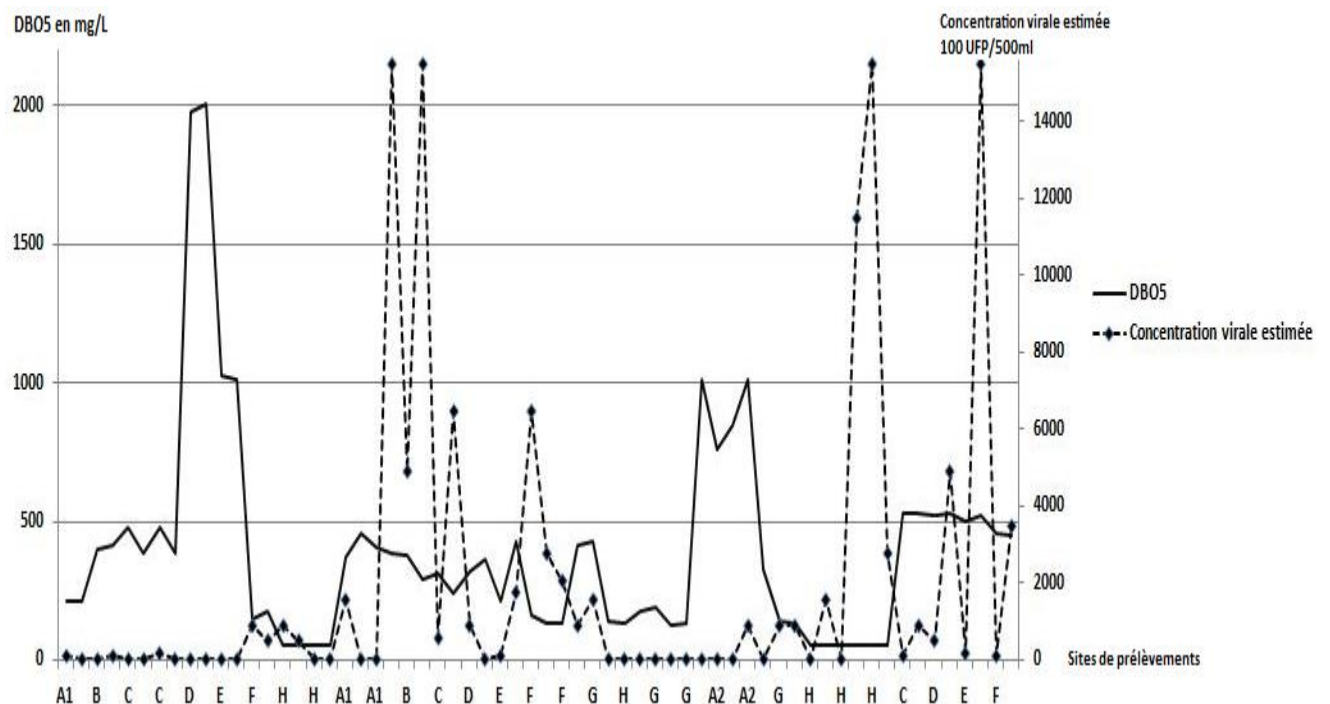


Figure 40: Variation de la concentration virale estimée et de la DBO₅ en fonction des sites de prélèvements

2.3.1. Variation de la concentration virale estimée en fonction de la teneur en sulfates dans les eaux lagunaires

Au site G, la concentration virale estimée était de $9,8 \times 10^4$ ufp/500 mL pour une teneur en sulfates de 375 mg/L, contre $4,9 \times 10^5$ ufp/500 mL au site H pour 880,2 mg/L de sulfates (Figure 41).

La réduction plus marquée des sulfates au site G, associé à une charge organique élevée, suggère une activité importante des bactéries sulfato-réductrices (*Desulfovibrio* spp.) en conditions anaérobies (Jørgensen, 1983). Bien que Lund et al. (1996) n'aient pas mis en évidence d'effet significatif de l'hydrogène sulfuré sur l'inactivation des entérovirus, l'activité enzymatique antivirale de la communauté microbienne (Fujioka et Ackermann, 1975 ; Deng et Cliver, 1985) et l'agrégation virale à forte conductivité pourraient contribuer à la dynamique observée.

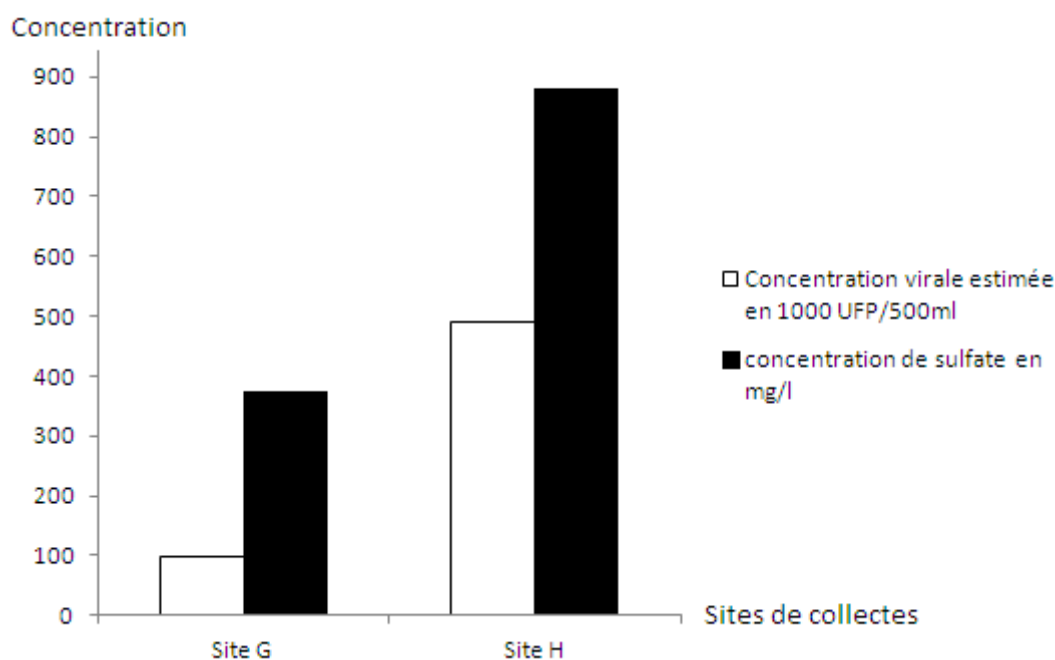


Figure 41: Variation de la concentration virale estimée et de la teneur en sulfate en fonction des sites de collecte G et H à la 3^{ème} série de prélèvements

2.3.2. Influence des matières en suspension (MES) sur la distribution et la persistance des EV

La concentration virale moyenne augmente avec la teneur en MES : elle passe de $1,7 \times 10^4$ ufp/500 mL (MES = 386,82 mg/L) lors de la première série à $2,8 \times 10^5$ ufp/500 mL (MES = 806,72 mg/L) lors de la troisième série, pour des pluviométries faibles (Figure 42).

L'adsorption des virus sur les particules en suspension exerce un effet protecteur majeur, augmentant leur survie par rapport aux virus libres (Gerba et al., 1975 ; Metcalf et al., 1984 ; Payment et al., 1986). La Belle et Gerba (1980) ont montré que l'adsorption sur les sédiments estuariens multiplie par 96 le temps nécessaire à l'inactivation de 99 % des poliovirus. Cependant, lors de la deuxième série (forte pluviométrie de 100,7 mm), une concentration virale élevée ($2,6 \times 10^5$ ufp/500 mL) a été observée pour une teneur en MES plus faible (224,04 mg/L), traduisant l'effet dominant de l'entraînement pluvial.

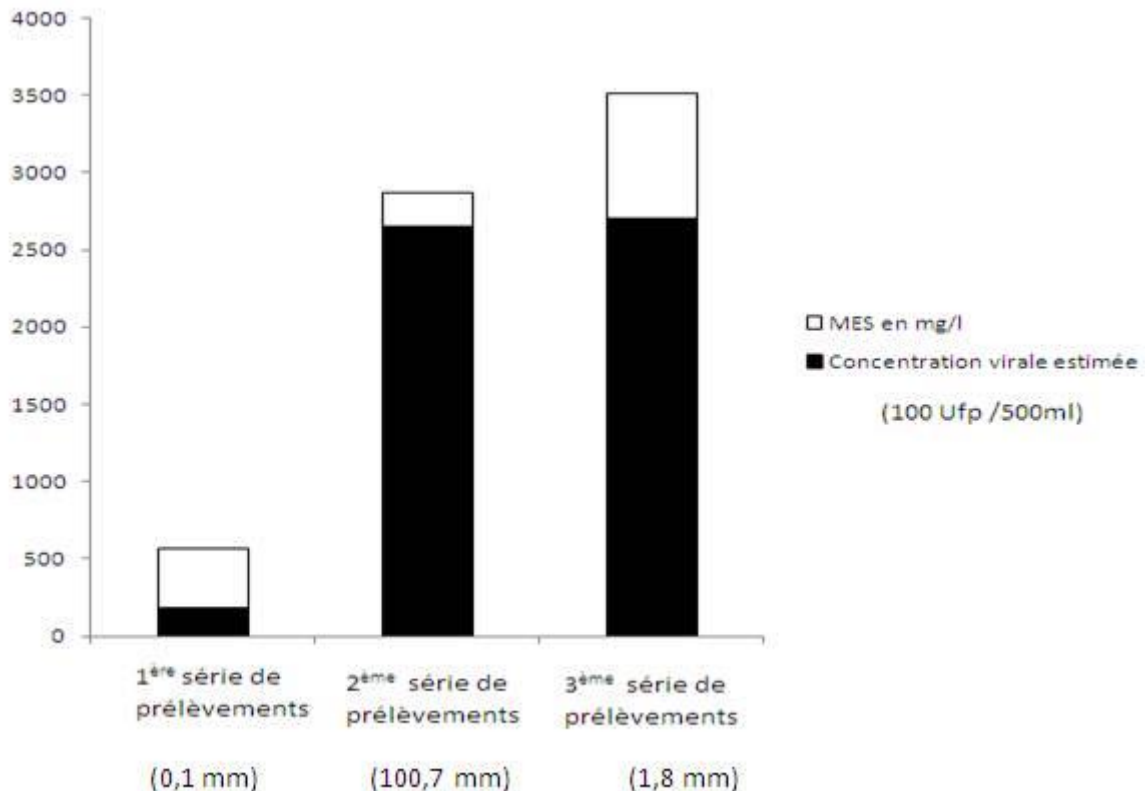


Figure 42: Variation de la concentration virale en fonction de la MES et de la pluviométrie et lors des 3 séries de prélèvements

4. Conclusion

Cette étude a permis d'apprécier *in situ* l'influence des facteurs environnementaux abiotiques (pluviométrie, température, pH, salinité, conductivité), de la charge organique et des matières en suspension sur la distribution, le transport, la survie et la persistance des entérovirus dans les eaux usées urbaines et la lagune Ébrié.

Les résultats confirment le rôle majeur de la pluviométrie comme facteur de mobilisation et de transport des virus, ainsi que l'effet protecteur des matières organiques et particulaires sur leur persistance. La température, le pH et la salinité exercent des effets indirects plus limités dans le

contexte thermique et chimique local. La forte charge virale observée, particulièrement au niveau du rejet et en milieu lagunaire, est favorisée par le faible niveau d'hygiène des populations riveraines.

Ces données soulignent les risques sanitaires importants auxquels sont exposées les populations vivant le long du canal et à proximité de la lagune Ébrié (activités de pêche, usages récréatifs et domestiques). Elles confirment la nécessité urgente d'améliorer le traitement des eaux usées urbaines afin de réduire la contamination virale du milieu lagunaire et de limiter l'exposition des communautés riveraines aux entérovirus.

RÉSULTATS ET DISCUSSION (suite)**3. Isolement et identification des entérovirus (EV) dans les eaux usées brutes et lagunaires****3.1. Isolement viral**

Afin d'augmenter la sensibilité de détection et de maximiser le recouvrement des virus, l'isolement a été réalisé sur quatre lignées cellulaires (RD, HEp-2c, L20B et BGM), conformément aux recommandations de Grabow (1999).

Au total, 43 échantillons sur 68 (63,23 %) se sont révélés positifs en culture sur ces lignées. Parmi les eaux usées brutes (n = 47), le taux de positivité atteignait 68,9 %, contre 52,4 % dans les eaux lagunaires (n = 21). La présence des entérovirus a été confirmée par RT-PCR dans respectivement 57,8 % et 42,8 % des échantillons. Les entérovirus non polio (ENPV) représentaient 55,31 % (26/47) des isolats en eaux usées brutes et 33,33 % (7/21) en eaux lagunaires (Tableau 19).

Ces prévalences sont inférieures à celles rapportées par Mueller et al. (2009) en Argentine (86 % à 99 % selon les sites), probablement en raison du volume d'échantillon traité (500 mL dans notre étude contre des volumes plus importants dans l'étude argentine). Elles restent cependant comparables à celles observées par Gershy-Damet et al. (1987) à Abidjan (56,7 % d'EV dans les eaux usées) et par Grabow et al. (1999) en Afrique du Sud (42,5 % d'ENPV), confirmant un niveau élevé de contamination virale dans les eaux usées urbaines ivoiriennes.

Tableau 19 : Répartition des échantillons positifs en fonction de la lignée cellulaire

Lignées cellulaires et combinaisons	Nombre d'échantillons positifs		Observations
	Eaux usées brutes (%)	Eaux usées lagunaires (%)	
BGM (Seul)	2/47 (4,25)	0/21 (0)	Suspect entérovirus
L20B (Seul)	0/47 (0)	0/21 (0)	-
RD (Seul)	0/47 (0)	0/21 (0)	-
Hep2 C (Seul)	1/47 (2,13)	0/21 (0)	Suspect entérovirus
BGM+L20B	1/47 (2,13)	0/21 (0)	Suspect polio
BGM+RD	5/47 (10,64)	0/21 (0)	Suspect entérovirus
BGM+Hep2 C	1/47 (2,13)	0/21 (0)	Suspect entérovirus
L20B+RD	0/47 (0)	0/21 (0)	-
L20B+Hep2 C	0/47 (0)	0/21 (0)	-
Hep2 C+RD	1/47 (2,13)	0/21 (0)	Suspect entérovirus
BGM+Hep2 C+RD	14/47 (29,79)	3/21 (14,28)	Suspect entérovirus
BGM+L20B+RD	2/47 (4,25)	0/21 (0)	Suspect polio
BGM+L20B+Hep2 C	2/47 (4,25)	1/21 (2,13)	Suspect polio
BGM+L20B+Hep2 C+RD	3/47 (6,38)	5/21 (23,81)	Suspect polio
BGM sur L20B	1/47 (2,13)	0/21 (0)	Suspect polio
Hep2 C sur L20B	1/47 (2,13)	0/21 (0)	Suspect polio
Total	34/47 (72,34)	9 (42,85)	TG=43/68 (63,23 %)

3.2. Appréciation de la sensibilité des lignées cellulaires

Les lignées BGM ont montré la sensibilité la plus élevée avec 60,29 % (41/68) d'échantillons positifs, suivies des lignées HEp-2c (55,88 %) et RD (51,47 %). La lignée L20B a présenté la sensibilité la plus faible (14,7 %). Cependant, la comparaison des proportions par le test exact de Fisher n'a révélé aucune différence statistiquement significative entre les lignées BGM, RD et HEp-2c ($p > 0,05$).

Ces résultats ne confirment pas la supériorité marquée des lignées BGM rapportée par Muscillo et al. (1998) dans des eaux estuariennes et marines italiennes. La variabilité observée souligne que, dans le contexte des eaux usées urbaines tropicales fortement chargées, aucune lignée ne présente une sensibilité significativement supérieure aux autres pour l'isolement des entérovirus.

3.3. Diversité des entérovirus

La prévalence globale des EV était de 51,47 % (35/68) et celle des ENPV de 48,52 % (33/68). Les résultats positifs en culture ont été confirmés par RT-PCR à partir des isolats, tant avec les amorces PanPV/PanEV que par amplification de la région 5'NC selon le protocole modifié de Bessaud et al. (2010) (Figure 43).

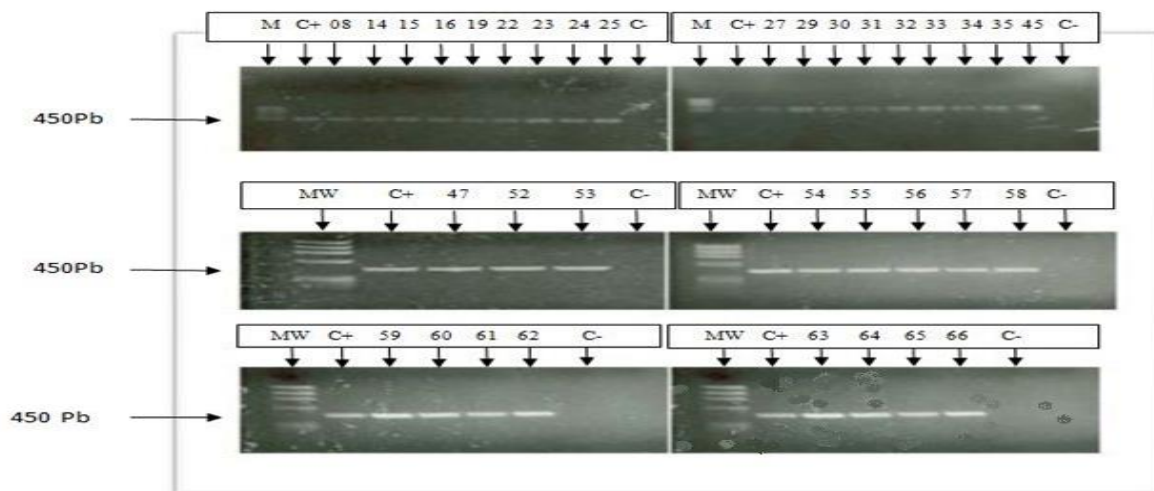


Figure 43 : Produit PCR en gel d'agarose à 1% contenant du bromure d'éthidium à 0,5 µg/ml

Les échantillons 08, 14, 15, 16, 19, 22, 23, 24, 25, 27, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 45, 47, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66 sont celles dont la positivité a été confirmée par la RT-PCR à partir des isolats de culture obtenue et d'amorces Pan PV et Pan EV. Les mêmes isolats de ces échantillons ont été passés en RT-PCR dans la région 5'NC amplifiée par méthode décrite par Bessaud *et al.* (2010) modifiée et révélés sur gel d'agarose à 1%. Les entérovirus positifs à la RT-PCR correspondent aux amplicons (bandes en blancs sur la figure) de tailles 750 Pb. MW est le marqueur de poids moléculaire ; C+ : le Témoin positif, C- : le Témoin négatif.

Parmi les 13 souches d'ENPV typées par séroneutralisation, 8 % étaient des coxsackievirus B, 15 % des échovirus (E7 et E30) et 77 % des ENPV non typables (Figure 44). Les E7 ont été isolés au site C, les E30 et les coxsackievirus B au site D. La différenciation intratypique des poliovirus par RT-PCR et ELISA a révélé la présence exclusive de poliovirus de sérotype 2 Sabin-like (PV2 SL) aux sites F et G (Figure 45a-b et Tableau 20).

La proportion élevée d'ENPV non typables (77 %) est cohérente avec les données de Grabow et al. (1999) en Afrique du Sud (58,62 % d'ENPV non typables) et de Kargar et al. (2009) en Iran (31,52 % d'ENPV non typables). Cette forte proportion de souches non typables par méthodes antigéniques classiques souligne les limites de la séroneutralisation et la nécessité du séquençage moléculaire pour une caractérisation précise des variants antigéniques et des nouveaux sérotypes (Rakoto-Andrianarivelo et al., 2002 ; Shieh et al., 1997).

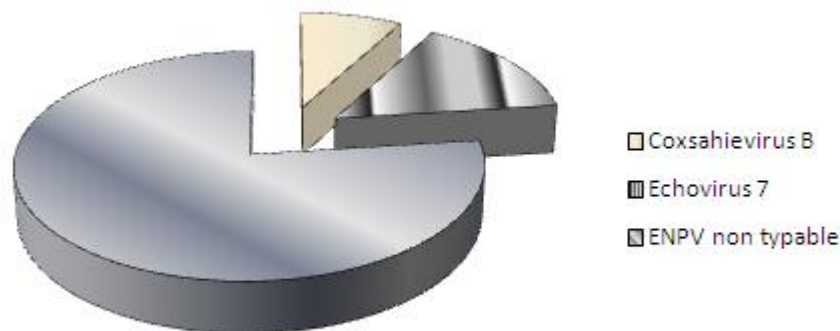


Figure 44 : Typage des ENPV par séroneutralisation sur microplaque de culture cellulaire avec le Kit RIVM

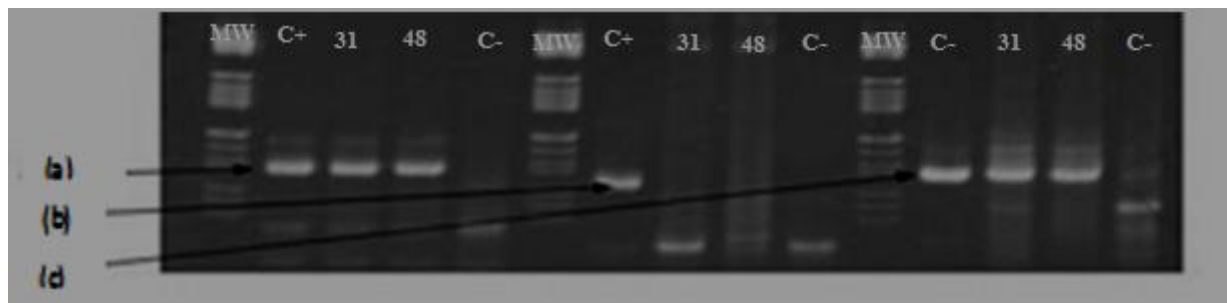


Figure 45a : Différenciation intratypique des poliovirus (DIT)

2 échantillons identifiés comme étant des poliovirus (n°31, 48) correspondent aux amplicons de tailles 79 pb [bande positifs correspondant à colonne (a)]. Comme le confirme l'absence de bande (amplicon) à la colonne (b) dont le C+ a pour taille 70pb les échantillons n°31, 48 ne sont pas de serotype 1, mais de serotype 2 confirmé par la présence de bandes (amplicon) de taille 79pb correspondant aux échantillons n°31, 48.

MW est le marqueur de poids moléculaire ; C+ : le Témoin positif, C- : le Témoin négatif. L'interprétation de ce profil électrophorétique indique que les échantillons n°31 et 48 sont des poliovirus de sérotype 2.

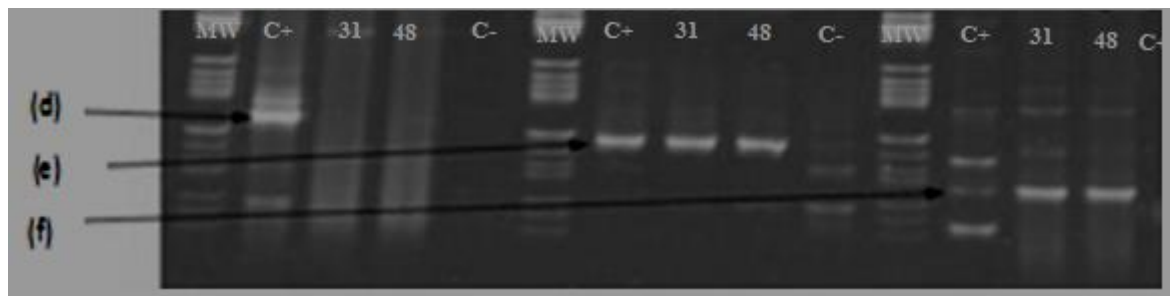


Figure 45b : Différenciation intratypique des poliovirus (DIT)

2 échantillons identifiés comme étant des poliovirus de serotype 2 (n°31, 48) correspondant aux amplicons de tailles 79 pb [bande positifs correspondant à colonne (c)], ne sont pas un mélange des serotype 2 et 3 comme le confirme l'absence de bande (amplicon) à la colonne (d) dont le C+ a pour taille 140pb. Mais les 2 échantillons sont des EV de taille 114pb [amplicon de la colonne (e)], précisément des souches PV sabin like de type 2 comme le confirme la colonne (f) puisque leur amplicons sont de taille 71pb. MW est le marqueur de poids moléculaire et C+: le Témoin positif ; C-: le Témoin négatif. L'interprétation de ce profil électrophorétique indique que les échantillons n°31 et 48 sont des poliovirus de sérotype 2 Sabin-like.

Tableau 20: Valeurs DO tests Elisa Polio (voir annexe 5)

Echantillons	Blanc	Total	NSL	SL	NSL/SL	SL/NSL	Interprétation
31	0,046	2,463	0,146	1,215	0,120	8,321	PV2 SL
48	0,046	2,323	0,139	1,115	0,124	8,021	PV2 SL

3.4. Risques sanitaires

Les concentrations virales moyennes estimées atteignaient $5,78 \times 10^4$ ufp/500 mL au site lagunaire G et $5,4 \times 10^4$ ufp/500 mL au site H, avec des taux de positivité de 55,55 % et 33,33 % respectivement (Tableaux 15 et 16). La présence de coxsackievirus B, d'échovirus 7 et 30, ainsi que de PV2 Sabin-like, dans les eaux lagunaires utilisées pour la pêche, les activités récréatives et domestiques, expose les populations riveraines à un risque sanitaire élevé.

Selon Asano et Sakaji (1990) et Haas (1983), une concentration de 1 virus entérique pour 40 L correspond à une probabilité d'infection comprise entre 10^{-3} et 10^{-7} pour une ingestion de 100 mL. Les normes européennes de 1975 imposaient l'absence totale d'entérovirus dans 100 mL d'eaux de baignade (Servais et al., 1999). Les concentrations et taux de positivité

observés dans cette étude dépassent largement ces seuils, confirmant un risque important de gastro-entérites, de méningites aseptiques, de myocardites et d'autres pathologies associées aux entérovirus (Griffin et al., 2003).

Les modèles d'évaluation des risques quantitatifs (Colwell et al., 1996 ; Griffin et al., 2003) appliqués à des environnements similaires prédisent jusqu'à 1,3 infection pour 100 baigneurs en présence de faibles concentrations virales. Dans le contexte lagunaire d'Abidjan, le risque est donc considérablement plus élevé pour les populations exposées.

4. Conclusion du chapitre

Cette étude a mis en évidence une prévalence élevée d'entérovirus dans les eaux usées brutes (68,9 %) et lagunaires (52,4 %) de la commune de Yopougon, avec une dominance d'ENPV et la circulation exclusive de PV2 Sabin-like. Les lignées BGM, RD et HEp-2c ont montré une sensibilité comparable pour l'isolement, tandis que la forte proportion de souches non typables souligne les limites des méthodes antigéniques classiques.

La contamination virale du milieu lagunaire, liée aux rejets urbains, expose les populations riveraines à des risques sanitaires multiples via les usages récréatifs, la pêche et les activités domestiques. Ces résultats confirment la nécessité d'un traitement adéquat des eaux usées et d'une surveillance environnementale renforcée des entérovirus à Abidjan. Des analyses moléculaires complémentaires (séquençage) sont indispensables pour caractériser les souches circulantes et mieux évaluer les risques sanitaires.

**CONCLUSION GÉNÉRALE,
PERSPECTIVES
ET
RECOMMANDATIONS**

Conclusion générale

Ce travail de recherche, intitulé *Pollution lagunaire, persistance et détection des Enterovirus dans les eaux usées à Abidjan (Côte d'Ivoire)*, a permis d'examiner la contamination virologique des eaux usées et des eaux de surface lagunaires, ainsi que les facteurs influençant la persistance et la distribution spatio-temporelle des Enterovirus dans le milieu lagunaire d'Abidjan.

L'analyse physico-chimique des eaux, mise en relation avec les données pluviométriques, a révélé des corrélations positives et significatives entre les précipitations et l'augmentation des paramètres polluants, notamment les matières en suspension (MES), la DBO₅, la DCO, l'azote Kjeldahl (NTK), les nitrates (NO₃⁻) et le phosphore total (Pt). Cette élévation de la charge organique et particulaire favorise la persistance et l'augmentation de la concentration en Enterovirus dans la lagune Ébrié, exposant ainsi les populations riveraines à des risques sanitaires accrus liés au péril fécal.

Les résultats ont également mis en évidence les impacts néfastes de cette pollution sur l'écosystème lagunaire : réduction de la transparence de l'eau limitant la photosynthèse, diminution de l'oxygène dissous, asphyxie des poissons par colmatage des branchies, et eutrophisation favorisée par l'apport excessif de nutriments azotés et phosphorés. Ces phénomènes contribuent à la prolifération des plantes aquatiques invasives telles que les jacinthes d'eau et à la désoxygénation du milieu.

L'étude confirme que la pluviométrie constitue un facteur déterminant dans la dynamique de la contamination virale. La concentration en Enterovirus augmente significativement après de fortes pluies, tant dans les eaux usées brutes que dans le milieu lagunaire. Bien que les effets d'autres paramètres abiotiques (température, pH, salinité) n'aient pu être définitivement tranchés en raison du nombre limité d'échantillons, les valeurs maximales de ces variables semblent plutôt défavorables à la survie ou à la détection des Enterovirus. En revanche, la charge en matière organique oxydable, les MES et une conductivité élevée (notamment en sulfates) favorisent leur persistance.

Sur le plan virologique, une prévalence élevée d'Enterovirus a été observée tant dans les eaux usées que dans les eaux lagunaires, avec la détection de Coxsackievirus B et d'Echovirus (E7 et E30), associés à des pathologies sévères (myocardites, méningo-encéphalites, méningites aseptiques, paralysies, diabète de type 1, etc.). Seuls deux poliovirus de type Sabin-like (sérotypage 2) ont été isolés, témoignant d'une faible circulation vaccinale dans la zone d'étude. L'absence de

poliovirus sauvage reflète les efforts nationaux déployés dans le cadre du Programme mondial d'éradication de la poliomyélite depuis 1997.

Enfin, l'utilisation combinée de plusieurs lignées cellulaires s'est avérée nécessaire pour maximiser le taux d'isolement viral, tandis que la séroneutralisation a révélé ses limites face à la variabilité génétique des souches, soulignant l'intérêt des approches moléculaires pour un typage plus précis.

Perspectives

Cette étude ouvre plusieurs voies de recherche complémentaires. Il serait pertinent de compléter l'analyse par l'identification et la quantification des communautés bactériennes impliquées dans les cycles biogéochimiques, à l'aide de techniques de biologie moléculaire et de traçage isotopique (carbone 14). Leur activité enzymatique pourrait ensuite être corrélée à la concentration virale afin d'évaluer leur rôle potentiel dans l'inactivation des Enterovirus.

Par ailleurs, le typage moléculaire des souches virales isolées, en particulier des Enterovirus non typables et des souches non entérovirales, permettrait une meilleure évaluation des risques sanitaires et une compréhension plus fine de leur évolution génétique (mutations, recombinaisons). À plus long terme, ce travail peut servir de base à une surveillance environnementale élargie des Enterovirus (poliovirus et entérovirus non poliomyélitiques) en Côte d'Ivoire, en complément de la surveillance épidémiologique humaine. Il constitue également un modèle pour des études approfondies sur la persistance virale face aux facteurs environnementaux (UVA, UVB, lumière solaire, MES, sels dissous, température, etc.), tant *in vitro* qu'*in situ*. Une meilleure connaissance de la résistivité de ces virus dans l'environnement est indispensable pour concevoir des stratégies efficaces d'élimination et de lutte contre les maladies hydriques liées au péril fécal.

RECOMMANDATIONS

Les résultats de cette thèse, consacrée à la pollution lagunaire et à la persistance des entérovirus dans les eaux usées à Abidjan (Côte d'Ivoire), mettent en évidence une contamination virale importante des eaux usées urbaines et du milieu lagunaire récepteur. Ils soulignent la nécessité urgente de renforcer la gestion des eaux usées et de mettre en place un système de surveillance environnementale des entérovirus (poliovirus et entérovirus non polio) en Côte d'Ivoire.

1. Mise en place d'un plan national de surveillance environnementale des entérovirus

La surveillance environnementale des poliovirus et des entérovirus non polio doit devenir complémentaire à la surveillance épidémiologique déjà existante dans le cadre du Programme mondial d'élimination de la poliomyélite initié en 1997. Cette extension requiert une décision nationale impliquant les ministères en charge de l'Environnement, de la Santé publique, et de l'Enseignement supérieur et de la Recherche scientifique.

Un plan national clair et opérationnel doit être élaboré. Il comprendra notamment :

- la définition de la durée, de la fréquence et du calendrier des échantillonnages ;
- le choix et la caractérisation des sites de surveillance (localisation, taille de la population desservie) ;
- la répartition des responsabilités, les procédures de collecte, le transport et la logistique des échantillons ;
- les besoins en infrastructure laboratoire, personnel technique qualifié, équipements et réactifs ;
- les protocoles normalisés de traitement des échantillons et d'identification des virus (culture cellulaire, RT-PCR, typage) ;
- le système de gestion des données, de reporting et d'alerte ;
- les procédures d'assurance qualité et de contrôle qualité ;
- l'analyse des conséquences opérationnelles et sanitaires des résultats obtenus.

Il est essentiel d'évaluer la charge de travail du laboratoire national de référence pour la poliomyélite afin d'anticiper les besoins en ressources humaines et matérielles. L'extension de la surveillance environnementale pourra s'appuyer sur les capacités existantes du laboratoire tout en renforçant ses activités de recherche sur la persistance des entérovirus dans les milieux aquatiques tropicaux et sur les méthodes d'élimination de ces pathogènes.

2. Amélioration de la qualité des eaux usées à Abidjan

Malgré les efforts consentis, le réseau d'assainissement d'Abidjan (1 700 km de conduits et plus de 50 ouvrages) reste insuffisant face à l'urbanisation rapide et à l'augmentation des rejets. Le Plan National d'Action Environnemental doit être renforcé par des mesures spécifiques et prioritaires :

- la mise en place d'un réseau national permanent d'observation de la qualité des eaux ;
- l'élaboration et la mise en œuvre effective du Plan directeur de gestion intégrée des ressources en eau ;
- l'évaluation quantitative et qualitative des apports particuliers et dissous dans la lagune Ébrié ;
- l'amélioration de la salubrité urbaine (assainissement, gestion des déchets solides et drainage des eaux pluviales) ;
- la construction d'ouvrages d'assainissement adaptés, incluant des stations de traitement des eaux usées et des systèmes de lagunage performants ;
- l'organisation de campagnes systématiques de recensement et de quantification des sources de pollution ;
- l'amélioration de l'habitat, en particulier dans les quartiers précaires ;
- l'amélioration générale des conditions de vie des populations riveraines.

Ces mesures sont indispensables pour réduire les rejets polluants organiques, microbiologiques et viraux dans la lagune Ébrié, limiter les risques sanitaires liés aux usages récréatifs, à la pêche et aux activités domestiques, et favoriser la régénération progressive de cet écosystème lagunaire.

La mise en œuvre concertée de ces recommandations, associant autorités publiques, institutions de recherche et partenaires techniques, constitue un levier essentiel pour la protection de la santé environnementale des populations d'Abidjan et la préservation durable de la lagune Ébrié.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

Affian, K., Djagoua, V. E., Kouamé, K. F., Gioan, P., & Bémi, J. (2002). Étude par télédétection aéroportée d'un environnement lagunaire en zone tropicale : cas de la lagune Ebrié en Côte d'Ivoire. *Télédétection*, 2(4), 233-242.

Ahyerre, M. (1999). *Bilans et mécanismes de migration de la pollution organique en réseau d'assainissement unitaire* [Thèse de doctorat, Université Paris VI].

American Public Health Association. (1998). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (20th ed.).

Arita, M., Zhu, S. L., Yoshida, H., Yoneyama, T., Miyamura, T., & Hiroyuki, S. (2005). A Sabin 3-derived poliovirus recombinant contained a sequence homologous with indigenous species C in viral polymerase coding region. *Journal of Virology*, 79(20), 12650-12657.

Asano, T., & Sakaji, R. H. (1990). Virus risk analysis in wastewater reclamation and reuse. In H. H. Hahn & R. Klute (Eds.), *Chemical water and wastewater treatment*. Springer-Verlag.

Ashley, R. M., Wotherspoon, D. J. J., Goghlen, B. P., & McGregor, J. (1992). The erosion and movement of sediments and associated pollutants in combined sewers. *Water Science and Technology*, 25(8), 101-114.

Bailly, J. L., Borman, A. M., Peigue-Lafeuille, H., & Kean, K. M. (1996). Natural isolates of ECHO virus type 25 with extensive variations in IRES sequences and different translational efficiencies. *Virology*, 215(1), 83-96.

Bales, R. C., Hinkle, S. R., Kroeger, T. W., Stocking, K., & Gerba, C. P. (1991). Bacteriophage adsorption during transport through porous media: Chemical perturbations and reversibility. *Environmental Science & Technology*, 25(12), 2088-2095.

Barroin, G. (1978). Techniques d'amélioration de la qualité des plans d'eau. In *Actes du Colloque sur les Lacs Naturels* (pp. 281-305). Université de Savoie & CTGREF.

Barroin, G. (1980). Eutrophisation, pollution nutritionnelle et restauration des lacs. In *La pollution des eaux continentales, incidences sur les biocénoses aquatiques* (pp. 75-96). Gauthier-Villars.

- Basavappa, R., Syed, R., Flore, O., Icenogle, J. P., Filman, D. J., & Hogle, J. M. (1994). Role and mechanism of the maturation cleavage of VP0 in poliovirus assembly: Structure of the empty capsid assembly intermediate at 2.9 Å resolution. *Protein Science*, 3(10), 1651-1669.
- Berner, R. A. (1970). Sedimentary pyrite formation. *American Journal of Science*, 268(1), 1-23.
- Berthe, T., Garnier, J., & Petit, F. (1999). Quantification de bactéries nitrifiantes du genre *Nitrobacter* en milieu aquatique (l'estuaire de la Seine, France). *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, Paris*, 322, 517-526.
- Bessaud, M., Jegouic, S., Joffret, M. L., Barge, C., Balanant, J., et al. (2008). Characterization of the genome of human enteroviruses: Design of generic primers for amplification and sequencing of different regions of the viral genome. *Journal of Virological Methods*, 149, 277-284.
- Bini, J. C., Ekaza, E., Gnagne, T., Borget, A. M. Y., Veh, K. A., Akran, A. V., Coulibaly, D., Faye-Kette, H., Sess, E. D., & Dosso, M. (2006). Apport de la RT-PCR pour la détection des entérovirus dans les eaux usées à Abidjan (Côte d'Ivoire). *Cahiers Santé Publique*, 5(2), 54-63.
- Bitton, G. (1980). Adsorption of viruses to surfaces: Technological and ecological implications. In G. Bitton & K. C. Marshall (Eds.), *Adsorption of microorganisms to surfaces* (pp. 332). John Wiley & Sons.
- Bitton, G., Pancorbo, O. C., & Farrah, S. R. (1984). Virus transport and survival after land application of sewage sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, 47(5), 905-909.
- Bitton, G., Fraxedas, R., & Gifford, G. E. (1979). Effect of solar radiation on poliovirus: Preliminary experiments. *Water Research*, 13(3), 225-228.
- Bosch, A. (1998). Human enteric viruses in the water environment: A mini review. *International Microbiology*, 1, 191-196.

- Bosch, A., Pintó, M. R., & Abad, X. F. (2006). Survival and transport of enteric viruses in the environment. In *Viruses in food* (pp. 151-187). Springer.
- Brion, N., & Billen, G. (1998). Une réévaluation de la méthode d'incorporation de $^{14}\text{HCO}_3^-$ pour mesurer la nitrification autotrophe et son application pour estimer des biomasses de bactéries nitrifiantes. *Revue des Sciences de l'Eau*, *11*, 283-302.
- Briton Bi, G. H., Yao, B., & Ado, G. (2006). Evaluation of Abidjan lagoon pollution. *Journal of Applied Science of Environmental Management*, *10*(3), 175-181.
- Brombach, H. (1981). *Probenahme in Abwasserkanal* (Rapport technique UFT).
- Brown, G. C., & Evans, T. N. (1967). Serologic evidence of coxsackievirus etiology of congenital heart disease. *JAMA*, *199*(3), 183-187.
- Canton, M., Anschutz, P., Coynel, A., Polsenaere, P., Auby, I., & Poirier, D. (2012). Nutrient export to an Eastern Atlantic coastal zone: First modeling and nitrogen mass balance. *Biogeochemistry*, *107*(1-3), 361-377.
- Caro, V. (2001). *Évolution naturelle des entérovirus humains – Implications phylogénétiques, diagnostiques et épidémiologiques* [Thèse de doctorat, Université Paris XI].
- Castel, J., Caumette, P., & Herbert, R. (1996). Eutrophication gradients in coastal lagoons as exemplified by the Bassin d'Arcachon and the Etang of Prevost. *Hydrobiologia*, *329*, 9-28.
- Cébron, A., Garnier, J., Martinez, A., Tallec, G., & Legaigneur, V. (2003). *Émission de N_2O en station d'épuration et dans le milieu naturel* (Rapport Piren-Seine, exercice 2002).
- Chepurnov, A. A., Chuyevyu, P., Pyankov, O. V., & Yefimova, I. V. (1995). The effects of some physical and chemical factors on inactivation of Ebola virus. *Vopr Virus*, *40*(74), 74-76.
- Chindah, A., & Unduagwbe, A. (2003). Effect of tank farm waste water quality and periphyton of lower Bonny River Delta, Nigeria. *Journal of Nigerian Environmental Society*, *1*(2), 206-222.

Chopra, A., Rana, P. V., Narayanaswamy, A. S., et al. (1986). Neurological complications following acute viral conjunctivitis: A new profile. *Tropical and Geographical Medicine*, 38, 197-202.

Clarke, N. A., Stevenson, E. R., Chang, L. S., & Kabler, W. P. (1961). Removal of enteric viruses from sewage by activated sludge treatment. *American Journal of Public Health*, 51(8), 1118-1129.

Cliver, D. O., & Herman, J. E. (1972). Proteolytic and microbial inactivation of enteroviruses. *Water Research*, 6, 797-805.

Conseil National de la Salubrité (CNS). (1994). *Ministère de l'Environnement du Maroc*. Rabat.

Colonno, R. J., Condra, J. H., Mizutani, S., Callahan, P. L., Davies, M. E., & Murcko, M. A. (1988). Evidence for the direct involvement of the rhinovirus canyon in receptor binding. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85(15), 5449-5453.

Colwell, R. R., Orlob, T. G., & Schubel, R. J. (1996). *Mamala Bay study final report* (Vol. I). Mamala Bay Study Commission.

Crabtree, R. W. (1989). Sediments in sewers. *Water and Environmental Journal Management*, 3(6), 569-578.

Crainic, R., Delpeyroux, F., Georgescu, M. M., Otelea, D., Colbère-Garapin, F., Guillot, S., et al. (1995). La poliomyélite : une maladie neurologique provoquée par un virus entérotrope. *Annales de l'Institut Pasteur/Actualité*, 6, 75-85.

Dahling, D. R., Safferman, R. S., & Wright, B. A. (1989). Isolation of enterovirus and reovirus from sewage and treated effluent in selected Puerto Rican communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 55, 503-506.

- David, S. V., & Real, E. (2004). Nitrogen and phosphorus in water and sediments at Ria Lagartos coastal lagoon, Yucatan, Gulf of Mexico. *Indian Journal of Marine Sciences*, 33(4), 338-345.
- Davies, O. Q., Ugwumba, A. A. A., & Abolude, D. S. (2008). Physicochemistry quality of trans-Amadi (Woji) Creek Port Harcourt, Niger Delta, Nigeria. *Journal of Fisheries International*, 3(3), 91-97.
- Deng, M. Y., & Cliver, D. O. (1985). Persistence of inoculated hepatitis A virus in mixed human and animal wastes. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(1), 87-91.
- Dene, H. T., Moore, R. S., & Sturman, L. S. (1981). Influence of pH and electrolyte composition on adsorption of poliovirus by soils and minerals. *Applied and Environmental Microbiology*, 45(6), 976-984.
- De Wilde, H. P. J., & de Bie, M. J. M. (2000). Nitrous oxide in the Scheldt estuary: Production by nitrification and emission to the atmosphere. *Marine Chemistry*, 69, 203-216.
- Deronzier, G., & Chaubert, J. M. (2004). *Traitement du phosphore dans les petites stations d'épuration à boues activées* (Document technique FNDAE n° 29). CEMAGREF & Ministère de l'Agriculture et de la Pêche.
- Derradji, F., Bousnoubra, H., Kherici, N., Romeo, M., & Caruba, R. (2007). Impact de la pollution organique sur la qualité des eaux superficielles dans le Nord-Est algérien. *Science et Changement Planétaires / Sécheresse*, 18(1), 23-27.
- Dimmock, N. L. (1967). Differences between the thermal inactivation of picornaviruses at high and low temperatures. *Virology*, 31, 338-353.
- Divizia, M., Palombi, L., Buonomo, E., Donia, D., Ruscio, V., et al. (1999). Genomic characterisation of human and environmental polioviruses isolated in Albania. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 3534-3539.
- Dosso, M., Duchassin, M., Lombardo, A., Koné, M., & Edoh, V. (1983). Cas sporadiques ou début d'une nouvelle épidémie de choléra. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 76, 121-125.

Dufour, P. (1982). Influence des conditions du milieu sur la biodégradation des matières organiques dans une lagune tropicale (lagune Ébrié, Côte d'Ivoire). *Oceanologica Acta*, 5(3), 355-363.

Dufour, P., Kouassi, M. A., & Lanuse, A. (1994). Les pollutions. In J. R. Durand, P. Dufour, D. Guiral, & G. Zabris (Eds.), *Environnement et ressources aquatiques de Côte d'Ivoire : Les milieux lagunaires*. ORSTOM Éditions.

Eggers, H. J. (1999). Milestones in early poliomyelitis research (1840-1949). *Journal of Virology*, 73(6), 4533-4535.

El Guamri, Y., & Belghyti, D. (2006). Etude de la qualité physico-chimique des eaux usées brutes de la commune urbaine de Saknia, rejetées dans le lac Fouarat (Kénitra, Maroc). *Journal Africain des Sciences de l'Environnement*, 1, 53-60.

El Bassioni, ., Barakat, I., Nasr, E., De Gourville, M., Hovi, ., Blomqvist, S., et al. (2003). Prolonged detection of indigenous wild polioviruses in sewage from communities in Egypt. *American Journal of Epidemiology*, 158, 807-815.

El-Lathy, M. A., El-Taweel, G. E., El-Sonosy, W. M., Samhan, F. A., & Moussa, T. A. (2009). Determination of pathogenic bacteria in wastewater using conventional and PCR techniques. *Environmental Biotechnology*, 5(2), 73-80.

U.S. Environmental Protection Agency. (2001). *A manual of methods for virology* (Chapter 15).

ERM. (1997). *Étude d'impact environnemental de la Centrale à Cycle Combiné d'Azito, Côte d'Ivoire*. Consortium ABB/IPS (CENERGY).

Esnault, G., Caumette, P., & Garcia, J.-L. (1988). Characterization of *Desulfovibrio giganteus* sp. nov., a sulfate-reducing bacterium isolated from a brackish coastal lagoon system. *Applied Microbiology*, 10, 147-151.

European Commission. (1998). Council Directive 91/271/EEC of 21 May 1991 concerning urban waste water treatment, as amended by Commission Directive 98/15/EC of 27 February 1998.

Flint, J. S., Enquist, W. L., Krug, M. R., Racaniello, R. V., & Skalka, M. A. (2000). *Principles of virology: Molecular biology, pathogenesis, and control*. ASM Press.

Floyd, R., & Sharp, G. D. (1978). Viral aggregation: Effects of salts on the aggregation of poliovirus and reovirus at low pH. *Applied and Environmental Microbiology*, 35(6), 1084-1094.

Fong, T. T., & Lipp, K. E. (2005). Enteric viruses of humans and animals in aquatic environments: Health risks, detection, and potential water quality assessment tools. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 69(2), 357-371.

Fujioka, R. S., & Ackermann, W. W. (1975). The inhibitory effects of MgCl₂ on the inactivation kinetics of poliovirus by urea. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 148, 1063-1067.

Fujioka, R. S., Loh, C. P., & Lau, L. S. (1980). Survival of human enteroviruses in the Hawaiian ocean environment: Evidence for virus-inactivating microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 39(6), 1105-1110.

Gammeter, S., & Frutiger, R. (1989). Wirkung kurzer Belastungsspitzen auf die Kleinlebewesen der Flussole. *Gaz Eaux Usées*, 69, 703-713.

Gaudin, O. G. (1991). Enterovirus. In *Encyclopédie de Médecine et Chirurgie* (pp. 1-8). Éditions Techniques.

Gantzer, C., Dubois, E., Crance, J. M., Billaudel, S., Kopecka, H., Schwartzbrod, L., Pommepey, M., & Le Guyader, F. (1998). Devenir des virus entériques en mer et influence des facteurs environnementaux. *Oceanologica Acta*, 21(6), 983-992.

Garnier, J., Berthe, T., Billen, G., L'Hernaut, A., Philippon, X., & Martinez, A. (1999). *Etude de la nitrification et des populations bactériennes associées dans l'estuaire de la Seine* (Rapport Seine-Aval, exercice 1998).

Gerba, C. P. (1984). Applied and theoretical aspects of virus adsorption to surfaces. *Advances in Applied Microbiology*, 30, 133-163.

Gerba, C. P., & Bitton, G. (1984). Microbial pollutants: Their survival and transport pattern to groundwater. In G. Bitton (Ed.), *Groundwater pollution microbiology* (pp. 65-88). John Wiley & Sons.

Gerba, C. P., Wallis, C., & Melnick, J. L. (1975). Fate of wastewater bacteria and viruses in soil. *Journal of the Irrigation and Drainage Division*, 101(IR3), 157-174.

Gershly Damet, G. M., Lanusse, A., & Dosso, M. (1987). Surveillance des entérovirus dans les eaux usées en Côte d'Ivoire. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 80(2), 180-186.

Gillot, C. (2008). *Le système d'observation de l'état environnemental de l'estuaire de la Seine* [Mémoire de Master 2, Université de Rouen].

Girone, R. (2005). Virus humains dans l'environnement. *Canadian Journal of Microbiology*, 51(Editorial).

Glicksman, M. (1979). Gelling hydrocolloids in product applications. In J. V. M. Blanshard & J. R. Mitchell (Eds.), *Polysaccharides in foods* (pp. 185-204). Butterworths.

George, I., & Servais, P. (2002). *Sources et dynamique des coliformes dans le bassin de la Seine*. Centre National de la Recherche Scientifique.

Gouandjika, I., Rakoko Andrianarivelo, M., Akoua-Koffi, ., Zeller, H., Ehouman, A., & Morvan. (2001). Circulation des poliovirus dans les zones endémiques chez les enfants vaccinés par le vaccin polio oral. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 93(3), 198-200.

Goyal, S. M., Gerba, C. P., & Melnick, J. L. (1979). Human enterovirus in oysters and their overlying waters. *Applied and Environmental Microbiology*, 37, 572-581.

- Grabow, W. O. K., Botman, L. K., De Villiers, C. J., Clay, G. C., & Erasmus. (1999). Assessment of cell culture and polymerase chain reaction procedures for the detection of polioviruses in water. *Bulletin of the World Health Organization*, 12, 77-82.
- Grabow, W. O. K., Taylor, M. B., & de Villiers, J. C. (2001). New methods for the detection of viruses: Call for review of drinking water quality guidelines. *Water Science and Technology*, 43(12), 1-8.
- Grandien, M., Forsgren, M., & Ehnst, A. (1989). Enteroviruses and reovirus. In N. J. Schmidt & R. W. Emmons (Eds.), *Diagnostic procedures for viral, rickettsial and chlamydial infections* (6th ed., pp. 513-569). American Public Health Association.
- Green, D. H., & Lewis, G. D. (1999). Comparative detection of enteric viruses in wastewaters, sediments and oysters by reverse transcription PCR and cell culture. *Water Research*, 33, 1195-1200.
- Griffin, W. D., Donaldson, A. K., Paul, H. J., & Rose, B. J. (2003). Pathogenic human viruses in coastal waters. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(1), 129-142.
- Grist, N. R., Bell, E. J., & Follett, E. A. C. (1979). Neutralisation tests. In *Diagnostic methods in clinical virology* (3rd ed., pp. 81-94). Blackwell Scientific Publications.
- Gromaire-Metz, M. C. (1998). *La pollution des eaux pluviales urbaines en réseau d'assainissement unitaire. Caractéristiques et origines* [Thèse de doctorat, École Nationale des Ponts et Chaussées].
- Haas, C. N. (1983). Estimation of risk due to low doses of microorganisms: A comparison of alternative methodologies. *American Journal of Epidemiology*, 118, 573-582.
- Hassine, M., Sdiri, K., Riabi, S., Beji, A., Aouni, Z., & Aouni, M. (2010). Detection of enteric viruses in wastewater of Monastir region by RT-PCR method. *La Tunisie Médicale*, 88(2), 70-75.
- Herrmann, J. E., Kostenbader, K. D., & Cliver, D. O. (1974). Persistence of enteroviruses in lake water. *Applied Microbiology*, 28, 895-896.
- Hellen, C. U., & Wimmer, E. (1995). Translation of encephalomyocarditis virus RNA by internal ribosomal entry. *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 203, 31-63.

Hogle, J. M., Chow, M., & Filman, D. J. (1985). Three-dimensional structure of poliovirus at 2.9 Å resolution. *Science*, 229(4720), 1358-1365.

Hogle, J. M. (2002). Poliovirus cell entry: Common structural themes in viral cell entry pathways. *Annual Review of Microbiology*, 56, 677-702.

Hovi, T., & Stenvik, M. (1994). Selective isolation of poliovirus in recombinant murine cell line expressing the human poliovirus receptor gene. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(6), 1366-1368.

Huraux, S. M., Agut, H., Fillet, A. M., Calvez, V., Thibault, V., Gautheret, A., et al. (2006). *Virologie*. DCEM1, Faculté de médecine Pierre et Marie Curie, Paris VI.

Hurst, C. J. (1988). Effect of environmental variables on enteric virus survival in surface freshwaters. *Water Science and Technology*, 20, 473-476.

Hurst, C. J. (1988). Influence of aerobic microorganisms upon virus survival in soil. *Canadian Journal of Microbiology*, 34, 696-699.

Hyypiä, T., Hovi, T., Knowles, N. J., & Stanway, G. (1997). Classification of enteroviruses based on molecular and biological properties. *Journal of General Virology*, 78, 1-11.

International Joint Commission. (1977). *New and revised specific water quality objectives* (Vol. II). Great Lakes Water Quality Board.

Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelberg, E. A. (1991). Picornaviruses. In *Medical microbiology* (19th ed., pp. 386-396). Prentice Hall International.

Jean, S. J., Guo, R. H., Chen, H. S., Liu, C. C., Chang, T. W., Yang, Y. J., & Huang, M. C. (2006). The association between rainfall rate and occurrence of an enterovirus epidemic due to a contaminated well. *Journal of Applied Microbiology*, 101, 1224-1231.

Jørgensen, B. B. (1983). The microbial sulphur cycle. In W. Krumbein (Ed.), *Microbial geochemistry* (pp. 91-124). Blackwell Scientific Publications.

Jørgensen, B. B., & Bak, F. (1991). Pathways and microbiology of thiosulfate transformations and sulfate reduction in marine sediment (Kattegat, Denmark). *Applied and Environmental Microbiology*, 57(3), 847-856.

Junttila, N., Leveque, N., Kabue, J. P., Cartet, G., Mushiya, F., Muyembe-Tamfum, J. J., Trompette, A., Lina, B., Magnius, L. O., Chomel, J. J., & Norder, H. (2007). New enteroviruses, EV-93 and EV-94, associated with acute flaccid paralysis in the Democratic Republic of the Congo. *Journal of Medical Virology*, 79(4), 393-400.

Kargar, M., Sadeghipour, S., & Nategh, R. (2009). Environmental surveillance of non-polio enteroviruses in Iran. *Virology Journal*, 6(149), 1-5.

Khetsuriani, N., Helfand, R., Pallansch, M., Kew, O., Fowlkes, A., Oberste, M. S., Tukei, P., Muli, J., Makokha, E., & Gary, H. (2009). Limited duration of vaccine poliovirus and other enterovirus excretion among human immunodeficiency virus infected children in Kenya. *BMC Infectious Diseases*, 9, 136.

Kilpatrick, D. R., Nottay, B., Yang, C., Yang, S., Mulders, N. M., Holloway, B. P., Pallansch, A. M., & Kew, M. O. (1996). Group-specific identification of polioviruses by PCR using primers containing mixed-base or deoxyinosine residues at positions of codon degeneracy. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(12), 2990-2996.

Kilpatrick, D. R., Nottay, B., Yang, C., Yang, S., Da Silva, E., Penaranda, S., Pallansch, M., & Kew, O. (1998). Serotype-specific identification of polioviruses by PCR using primers containing mixed-base or deoxyinosine residues at positions of codon degeneracy. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(2), 352-357.

Kitamura, N., Semler, B. L., Rothberg, P. G., Larsen, G. R., Adler, C. J., Dorner, A. J., et al. (1981). Primary structure, gene organization and polypeptide expression of poliovirus RNA. *Nature*, 291, 547-553.

Koné, B. (2007). *Pollution lagunaire, risques sanitaires et environnementaux dans trois villages périurbains de la commune de Yopougon* [Thèse unique de doctorat, Université Nangui Abrogoua].

Kouamé, K., Moreau, U., Timité, K., Diékouadio, K., & Assi, A. U. (1979). La fièvre typhoïde chez l'enfant à Abidjan. *Revue Médicale de Côte d'Ivoire*, 48, 2-15.

Kouassi, E., Pagano, M., Saint-Jean, L., Arfi, R., & Bouvy, M. (2001). Vertical migrations and feeding rhythms of *Acartia clausi* and *Pseudodiaptomus hessei* (Copepoda: Calanoida) in a tropical lagoon (Ebrié, Côte d'Ivoire). *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 52, 715-728.

Labelle, R. L., & Gerba, C. P. (1980). Influence of estuarine sediment on virus survival under field conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 39(4), 749-755.

Le Gall, J. A. (1963). A new species of *Desulfovibrio*. *Journal of Bacteriology*, 86(5), 1120.

Lewis, G. D., & Metcalf, G. T. (1988). Polyethylene glycol precipitation for recovery of pathogenic viruses, including hepatitis A virus and human rotavirus, from oyster, water, and sediment samples. *Applied and Environmental Microbiology*, 54(8), 1983-1988.

Liew, P. F., & Gerba, C. P. (1980). Thermostabilization of enteroviruses by estuarine sediment. *Applied and Environmental Microbiology*, 40(2), 305-308.

Lipp, K. E., Kurz, R., Vincent, R., Rodriguez, Palacios, C., Farrah, R. S., & Rose, B. J. (2001). The effects of seasonal variability and weather on microbial fecal pollution and enteric pathogens in a subtropical estuary. *Estuaries*, 24(2), 266-276.

Lipp, E. K., Jarrell, L. J., Griffin, W. D., Lukasik, J., Jacukiewi, C. Z., & Rose, B. J. (2002). Preliminary evidence for human fecal contamination in corals of the Florida Keys, USA. *Marine Pollution Bulletin*, 44, 666-670.

Loisy, F. (2004). *Devenir des virus entériques humains en milieu marin : Apports des VLPs (virus like particles) pour la purification des coquillages* [Thèse de doctorat, Université Paris XI].

Lund, B., Jensen, V. F., Have, P., & Ahring, B. (1996). Inactivation of virus during anaerobic digestion of manure in laboratory scale biogas reactors. *Antonie van Leeuwenhoek*, 69, 25-31.

Maul, A. (1991). Aspects statistiques des méthodes de quantification en virologie. In L. Schwartzbrod (Ed.), *Virologie des milieux hydriques* (pp. 143-173). Tec & Doc.

- Mammette, A. (2002). *Virologie médicale*. Collection AZAY, Presses Universitaires de Lyon.
- Mamoru, N., Yoshida, T., Sakaguchi, T., Ikeda, Y., Yamaoka, K., & Ogino, T. (2002). Molecular and epidemiological analyses of human adenovirus type 7 strains isolated from the 1995 nationwide outbreak in Japan. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(1), 140-145.
- Marieb, E. (1995). *Biologie humaine : Principes d'anatomie & de physiologie* (8e éd.). Lavoisier.
- Mandel, B. (1971). Characterization of type 1 poliovirus by electrophoretic analysis. *Virology*, 44, 554-559.
- Marsh, M., & Bron, R. (1997). SFV infection in CHO cells: Cell-type specific restrictions to productive virus entry at the cell surface. *Journal of Cell Science*, 110(Pt 1), 95-103.
- Martha, L., & Lepow, M. D. (2004). Advances in virology – Weller and Robbins. *New England Journal of Medicine*, 351, 15-18.
- Marty, D. G., Esnault, P., Caumette, E., Ranaivoson-Rambeloarisoa, & Bertrand, J. C. (1990). Denitrification, sulfato-reduction et methanogenèse dans les sédiments superficiels d'un étang saumâtre méditerranéen. *Oceanologica Acta*, 13, 199-210.
- Maul, A. (1991). Aspects statistiques des méthodes de quantification en virologie. In L. Schwartzbrod (Ed.), *Virologie des milieux hydriques* (pp. 143-173). Tec & Doc.
- Mayo, M. A., & Pringle, C. R. (1998). Virus taxonomy. *Journal of General Virology*, 79, 649-657.
- Melnick, J. L., Schmidt, N. J., Hampil, B., & Ho, H. H. (1977). Lyophilized combination pools of enterovirus equine antisera: Preparation and test procedures for the identification of field strains of 19 group A coxsackievirus serotypes. *Intervirology*, 4, 172-181.
- Melnick, J. L. (1984). Enterovirus type 71 infections: A varied clinical pattern sometimes mimicking paralytic poliomyelitis. *Reviews of Infectious Diseases*, 6(Suppl. 2), 387-390.

Melnick, J. L. (1996). Enteroviruses: Polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses and newer enteroviruses. In B. N. Fields, D. M. Knipe, & P. M. Howley (Eds.), *Fields virology* (3rd ed., Vol. 1, pp. 549-605). Raven Press.

Melnick, J. L. (1997). Poliovirus and other enteroviruses. In A. S. Evans & R. A. Kaslow (Eds.), *Viral infections of humans* (4th ed., pp. 583-663). Plenum Medical Book Company.

Melnick, J. L. (1947). Poliomyelitis in urban sewage in epidemic and non-epidemic times. *American Journal of Hygiene*, 45, 240-253.

Melnick, J. L., & Gerba, C. P. (1980). The ecology of enteroviruses in natural water. *Critical Reviews in Environmental Control*, 10, 65-93.

Metahri, M. S. (2012). *Élimination simultanée de la pollution azotée et phosphatée des eaux usées traitées, par des procédés mixtes. Cas de la STEP Est de la ville de Tizi-Ouzou* [Thèse de doctorat, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou].

Metcalf, T. G., Mullin, B., Eckerson, D., Moulton, E., & Larkin, E. P. (1979). Bioaccumulation and depuration of enteroviruses by the soft-shelled clam, *Mya arenaria*. *Applied and Environmental Microbiology*, 38, 275-282.

Metcalf, T. G., Rao, V. C., & Melnick, J. L. (1984). *Solid-associated viruses in a polluted estuary*. Monographs in Virology.

Melnick, J. L. (1996). Enteroviruses: Polioviruses, coxsackieviruses, echoviruses and newer enteroviruses. In B. N. Fields, D. M. Knipe, P. M. Howley, et al. (Eds.), *Virology* (2nd ed., pp. 549-605). Raven Press.

Melnick, J. L., Chanock, R. M., Gelfand, H., & Hammon, D. M. W. (1963). Picornaviruses: Classification of nine new types. *Science*, 141(3576), 153-154.

Morel, G., & Koffi Koffi. (1995). Implementation of an environmental monitoring network and a pollution combating in Côte d'Ivoire. *Water Science and Technology*, 32(9-10), 141-150.

Mouchel, M. J., Simon, L., & Maldiney, A. M. (1994). Impacts en Seine des rejets urbains de temps de pluie sur les concentrations d'oxygène dissous. *La Houille Blanche*, 1-2, 135-141.

Mounira, K. B. (2006). *Variabilité spatiale des caractéristiques et des origines des polluants de temps de pluie dans le réseau d'assainissement unitaire parisien* [Thèse de doctorat, École Nationale des Ponts et Chaussées].

Mueller, E. J., Bessaud, M., Huang, Q. S., Martinez, L. C., Barril, A. P., Morel, V., Balanant, J., Bocacao, J., Hewitt, J., et al. (2009). Environmental poliovirus surveillance during oral poliovirus vaccine and inactivated poliovirus vaccine use in Cordoba Province, Argentina. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(5), 1395-1401.

Murray, W. R. (1980). Chemically modified electrodes. *Accounts of Chemical Research*, 13(5), 135-141.

Murray, R. R., & Holzer. (1996). *Harper's biochemistry*. Appleton & Lange.

Muscillo, M., Carducci, A., La Rosa, G., Cantiani, L., & Marianelli, C. (1998). Enteric virus detection in Adriatic seawater by cell culture, polymerase chain reaction and polyacrylamide gel electrophoresis. *Water Research*, 31(8), 1980-1984.

Nakajima, M., Uwatoko, K., Kobayashi, K., Pan, I. J., Iwabuchi, N., & Sunairi, M. (2003). Adhesion and releasing of poliovirus to activated sludge of wastewater purifying plants. *Water Science and Technology*, 47(9), 117-121.

Nedeco. (1981). *Assainissement et drainage de la ville d'Abidjan, Côte d'Ivoire*. Setu.

Nishio, T., Koike, I., & Hattori, A. (1982). Denitrification, nitrate reduction and oxygen consumption in coastal and estuarine sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 43, 648-653.

Nuzzolo, L., & Vellucci, A. (1983). Effects of virus on cultured cells. In *Tissue culture techniques* (pp. 206-207). Warren H. Green.

Noble, R. T., & Fuhrman, A. J. (1999). Breakdown and microbial uptake of marine viruses and other lysis products. *Aquatic Microbial Ecology*, 20, 1-11.

Noble, R. T., & Fuhrman, A. J. (1997). Virus decay and its causes in coastal waters. *Applied and Environmental Microbiology*, 63, 77-83.

Nodjimbatem, N. J. (1989). *Relation entre l'emploi et l'occupation des sols. Le cas de six zones industrielles (Marcory, Treichville, Port Bouet, Koumassi, Yopougon, Adjamé)* (Rapport de stage). Direction et Contrôle des Grands Travaux, Atelier d'Urbanisme AWA.

Norder, H., Bjerregaard, L., Magnius, L., Lina, B., Aymard, M., & Chomel, J. J. (2003). Sequencing of 'untypable' enteroviruses reveals two new types, EV-77 and EV-78, within human enterovirus type B and substitutions in the BC loop of the VP1 protein for known types. *Journal of General Virology*, 84(Pt 4), 827-836.

O'Brien, R. T., & Newman, J. S. (1977). Inactivation of polioviruses and coxsackieviruses in surface water. *Applied and Environmental Microbiology*, 33, 334-340.

Oberste, M. S., Maher, K., Kennet, M. L., Flemister, M. R., Marchetti, G., Kilpatrick, D. R., & Pallansch, M. A. (1999). Molecular epidemiology and genetic diversity of echovirus type 30 (E30): Genotypes with temporal dynamics of E30 isolation. *Journal of Clinical Microbiology*, 37, 3928-3933.

Oberste, M., Schnurr, D., Maher, K., Al-Busaidy, S., & Pallansch, M. (2001). Molecular identification of new picornaviruses and characterization of a proposed enterovirus 73 serotype. *Journal of General Virology*, 82(2), 409-416.

Oberste, M. S., Michele, S. M., Maher, K., Schnurr, D., Cisterna, D., Junttila, N., Uddin, M., Chomel, J. J., Lau, C. S., Ridha, W., Al-Busaidy, S., Norder, H., Magnius, L. O., & Pallansch, M. A. (2004). Molecular identification and characterization of two proposed new enterovirus serotypes, EV74 and EV75. *Journal of General Virology*, 85(Pt 11), 3205-3212.

Oberste, M. S., Maher, K., Michele, S. M., Belliot, G., Uddin, M., & Pallansch, M. A. (2005). Enteroviruses 76, 89, 90 and 91 represent a novel group within the species Human enterovirus A. *Journal of General Virology*, 86(Pt 2), 445-451.

Oberste, M. S., Maher, K., Kilpatrick, D. R., & Pallansch, M. A. (1999). Molecular evolution of the human enteroviruses: Correlation of serotype with VP1 sequence and application to picornavirus classification. *Journal of Virology*, 73(3), 1941-1948.

Oberste, M. S., Schnurr, D., Maher, K., Al-Busaidy, S., & Pallansch, M. A. (2001). Molecular identification of proposed enterovirus 73 serotype. *Journal of General Virology*, 82, 409-416.

Organisation Mondiale de la Santé. (2006). *Directives relatives à l'utilisation sans risque des eaux usées, des excréta et des eaux ménagères en agriculture et en pisciculture* (Vols. 1-4).

Organisation Mondiale de la Santé. (2006). Poliovirus dérivés d'une souche vaccinale – Mise à jour. *Relevé Épidémiologique Hebdomadaire*, 81(42), 397-408.

Organisation Mondiale de la Santé. (2004a). *Liens entre l'eau, l'assainissement, l'hygiène et la santé – Faits et chiffres*.

Organisation Mondiale de la Santé. (2004b). Surveillance au laboratoire des poliovirus sauvages et dérivés d'une souche vaccinale, janvier 2003-juin 2004. *Relevé Épidémiologique Hebdomadaire*, 79(44), 393-400.

Pages, J. (1975). Étude de la pollution bactérienne en lagune Ébrié. *Document Scientifique du Centre de Recherche Océanographique d'Abidjan*, 6, 97-101.

Pages, J., & Citeau, I. (1978). La pollution bactérienne de la lagune et de la mer autour d'Abidjan. *Document Scientifique du Centre de Recherche Océanographique d'Abidjan*, 9, 43-50.

Palacios, G., & Oberste, M. S. (2005). Enteroviruses as agents of emerging infectious diseases. *Journal of Neurovirology*, 11(5), 424-433.

- Pancorbo, C. O., Scheuerman, R. P., Samuel, R. Farrah, & Bitton, G. (1981). Effect of sludge type on poliovirus association with and recovery from sludge solids. *Revue Canadienne de Microbiologie*, 27(3), 279-287.
- Parks, W. P., Queiroga, L. T., & Melnick, J. L. (1967). Studies of infantile diarrhea in Karachi, Pakistan. II. Multiple virus isolations from rectal swabs. *American Journal of Epidemiology*, 85, 469-478.
- Paul, J. R. (1971). *A history of poliomyelitis*. Yale University Press.
- Payement, P., Fortin, S., & Tudel, M. (1986). Elimination of human enteroviruses during conventional wastewater treatment by activated sludge. *Canadian Journal of Microbiology*, 32, 1105-1110.
- Pelkmans, L., Kartenbeck, J., & Helenius, A. (2001). Caveolar endocytosis of simian virus 40 reveals a new two-step vesicular-transport pathway to the ER. *Nature Cell Biology*, 3(5), 473-483.
- Petit, F. S., Craquelin, Guespin-Michel, J., & Buffet-Janvresse, C. (1999). Nucleic acid extraction from polluted estuarine water for detection of viruses and bacteria by PCR and RT-PCR analysis. *Research in Microbiology*, 150, 143-151.
- Programme des Nations Unies pour l'Environnement / Plan d'Action pour la Méditerranée. (2007). *Stratégie MED POL de surveillance continue de l'eutrophisation (Révision)*.
- Pollard, M., & Connolly, J. pH stability of MEF poliomyelitis. *Texas Reports on Biology & Medicine*, 7, 92-95.
- Pommepuy, M., & Le Guyader, F. (1998). Devenir des virus entériques en mer et influence des facteurs environnementaux. *Oceanologica Acta*, 21(6), 983-992.
- Postgate, J. R. (1984). *The sulphate-reducing bacteria* (2nd ed.). Cambridge University Press.
- Pourcher, A. M., Jardé, E., Caprais, M. P., Wéry, N., Hécart, A. J., Communal, P. Y., Jaffrezic, R., Marti, S. M., Mieszkin, M., Derrien, O., Solecki, L., Jeanneau, L., & Gourmelon, M. (2010). Développement d'outils microbiologiques et chimiques permettant

d'identifier l'origine des pollutions fécales dans les eaux de baignades. *Les rencontres scientifiques de l'ANSES*.

Purvaja, R., Ramesh, R., Ray, A. K., & Rixen, T. (2008). Nitrogen cycling: A review of the processes, transformations and fluxes in coastal ecosystems. *Current Science*, 94(11), 1419-1428.

Pöyry, T., Kinnunen, L., Hyypiä, T., Brown, B., Horsnell, C., Hovi, T., & Stanway, G. (1996). Genetic and phylogenetic clustering of enteroviruses. *Journal of General Virology*, 77(8), 1699-1717.

Quignon, F. (1995). *Étude en milieu hydrique de l'inactivation du poliovirus 1 et de son adsorption sur argile et sur biofilm* [Thèse de doctorat, Université Nancy I].

Quignon, F., Gantzer, C., Kiéné, L., & Schwartzbrod, L. (1998). Potentiation of the virucidal activity of sterilized natural waters. *Canadian Journal of Microbiology*, 44(2), 190-194.

Racaniello, V. R. (2001). Picornaviridae: The viruses and their replication. In B. N. Fields, D. M. Knipe, & P. M. Howley (Eds.), *Fields virology* (4th ed., Vol. 2, pp. 685-734). Lippincott Williams & Wilkins.

Racaniello, V. R. (2007). Picornaviridae: The viruses and their replication. In D. M. Knipe & P. M. Howley (Eds.), *Fields virology* (5th ed., Vol. 1, pp. 795-838). Lippincott Williams & Wilkins.

Rakoko-Andrianarivelo, M., Rousset, D., Razafindratsimandresy, R., & Delpeyroux, D. (2002). Nouvelle méthode de typage moléculaire des entérovirus humains : Caractérisation des souches malgaches « non sérotypables ». *Archives de l'Institut Pasteur de Madagascar*, 68(1&2), 55-58.

Rakoko-Andrianarivelo, M., Rousset, D., Razafindratsimandresy, R., Randriamanalina, B., Guillot, S., Balanant, J., et al. (2003). Recombinant vaccine-derived poliovirus in Madagascar. *Emerging Infectious Diseases*, 9, 885-885.

Rao, C. V., Metcalf, T. G., & Melnick, J. L. (1986). Virus humains dans les sédiments, les boues et les sols. *Bulletin de l'Organisation Mondiale de la Santé*, 64(2), 341-356.

Razafindratsimandresy, R., Rakoko-Andrianarivelo, M., & Rousset, D. (2003). Variabilité génétique des poliovirus : Étude du polymorphisme de la longueur des fragments de restriction enzymatique de souches isolées à Madagascar. *Archives de l'Institut Pasteur de Madagascar*, 69(1&2), 27-32.

Ristenpart, E., Ashley, R. M., & Uhl, M. (1995). Organic near bed fluid and particulate transport in combined sewers. *Water Science and Technology*, 31(7), 61-68.

Reneau, R. B., Hagedorn, C., Jr., & Degen, M. J. (1985). Fate and transport of biological and inorganic contaminants from on-site disposal of domestic wastewater. *Journal of Environmental Quality*, 18(2), 135-144.

Rueckert, R. R. (1996). Picornaviridae: The viruses and their replication. In B. N. Fields, D. M. Knipe, & P. M. Howley (Eds.), *Fields virology* (3rd ed., Vol. 1, pp. 609-654). Raven Press.

Rossmann, M. G., He, Y., & Kuhn, R. J. (2002). Picornavirus-receptor interactions. *Trends in Microbiology*, 10(7), 324-331.

Rotbart, H. A. (2002). Enterovirus. In D. D. Richman, R. J. Whitley, & F. G. Hayden (Eds.), *Clinical virology* (2nd ed., pp. 971-987). ASM Press.

Rotbart, H. A. (1995). Meningitis and encephalitis. In H. A. Rotbart (Ed.), *Enterovirus infections* (pp. 271-289). American Society for Microbiology.

Rueckert, R. R. (1996). Picornaviridae: The viruses and their replication. In *Fundamental virology* (3rd ed., pp. 609-654). Lippincott-Raven.

Sabin, A. B., & Ward, R. (1941). The natural history of human poliomyelitis. I. Distribution of virus in nervous and non-nervous tissues. *Journal of Experimental Medicine*, 73, 771-793.

Salghi, R. (2000). *Différentes filières de traitement des eaux*. ENSA Agadir, Université Ibn Zohr.

Sally, M., & Kelly, P. H. D. (1953). Detection and occurrence of coxsackie viruses in sewage. *American Journal of Public Health*, 43(12), 1532-1538.

Salo, R. J., & Cliver, D. O. (1976). Effects of acid pH on the infectivity and physical integrity of enteroviruses. *Archives of Virology*, 52, 269-282.

Samuel, L., & Katz, M. D. (2004). From culture to vaccine – Salk and Sabin. *New England Journal of Medicine*, 351, 15-22.

Sampou, P., & Oviatt, A. (1991). Seasonal patterns of sedimentary carbon and anaerobic respiration along a simulated eutrophication gradient. *Marine Ecology Progress Series*, 72, 271-282.

Santé Canada. (2010). *Les virus entériques dans l'eau potable* (Document technique pour consultation publique).

Santé Canada. (2001). *Recommandations pour la qualité de l'eau potable au Canada : Document à l'appui des virus entériques*.

Scherer, B. (1982). Techniques de sondage en écologie. In *Stratégies d'échantillonnage en écologie* (Collection d'Écologie, 17, pp. 63-162). Masson.

Scraba, D. G. (1979). The molecular biology of picornaviruses. In P. Bercoff (Ed.), *The molecular biology of picornaviruses* (pp. 1-23). Plenum Publishing Corp.

Schwartzbrod, L. (1991). Virus et milieu hydrique. In L. Schwartzbrod (Ed.), *Virologie des milieux hydriques* (198 p.). Tec & Doc.

Schwartzbrod, L. (2000). *Virus humains et santé publique : Conséquences de l'utilisation des eaux usées et des boues en agriculture et conchyliculture*. Université de Nancy, Faculté de Pharmacie.

Schwartzbrod, L., & Bosch, A. (1991). Virus et milieu hydrique. In L. Schwartzbrod (Ed.), *Virologie des milieux hydriques*. Tec & Doc.

Sedmak, G., Bina, D., & Macdonald, J. (2009). Assessment of an enterovirus sewage surveillance system by comparison of clinical isolates and sewage isolates from Milwaukee, Wisconsin, collected August 1994 to December 2002. *Applied and Environmental Microbiology*, *69*, 7181-7187.

Servais, P., Castignolles, N., Petit, F., George, I., Buffet-Janvresse, C., & Ficht, A. (1999). *Contamination bactérienne et virale*. Ifremer, Programme scientifique Seine-Aval.

Shieh, C. S. Y., Baric, S. R., & Sobsey, D. M. (1997). Detection of low levels of enteric viruses in metropolitan and airplane sewage. *Applied and Environmental Microbiology*, *63*(11), 4401-4407.

Skraber, S. (2003). *Intérêt des bactériophages en tant que témoin de contamination fécale et de présence de virus entériques pathogènes dans les eaux de la rivière Moselle* [Thèse de doctorat, Université Henri Poincaré-Nancy 1].

Sobsey, M. D., Battigelli, D. A., Shin, G. A., & Newland, S. (1998). RT-PCR amplification detects inactivated viruses in water and wastewater. *Water Science and Technology*, *38*, 91-94.

Sobsey, M. D., Glass, J. S., Robert, J. C., Robert, R. J., & William, A. R. (1999). Evaluation of the tentative standard method for enteric virus concentration from large volumes of tap water. *Journal AWWA*, *72*(5), 292-299.

Sobsey, D. M., & Meschke, S. J. (2003). *Virus survival in the environment with special attention to survival in sewage droplets and other environmental media of fecal or respiratory origin* (Draft, August 21, 2003).

Sobsey, M. D., Wallis, C., & Melnick, J. L. (1975). Studies on the survival and fate of enteroviruses in an experimental model of a municipal solid waste landfill and leachate. *Applied Microbiology*, *30*(4), 565-574.

Souchu, L. R. P., Gasc, A., Collos, Y., Vaquer, A., Tournier, H., Bibent, B., & Deslous-Paoli, J. M. (1998). Biogeochemical aspects of bottom anoxia in a Mediterranean lagoon (Thau, France). *Marine Ecology Progress Series*, 164, 135-146.

Stumm, W. (1992). *Chemistry of the solid-water interface*. John Wiley & Sons.

Suttle, C. A., & Chen, F. (1992). Mechanisms and rates of decay of marine viruses in seawater. *Applied and Environmental Microbiology*, 58, 3721-3729.

Thornton, I., Bulter, D., Docx, P., Hession, M., Makropoulos, C., McMullen, M., Nieuwenhuijsen, M., Pitman, A., Rautiu, R., Sawyer, R., Smith, S., White, D., Wilderer, P., Paris, S., Marani, D., Braguglia, C., & Palerm, J. (2001). *Pollutants in urban wastewater and sewage sludge*. European Commission.

Toyoda, H., Kohara, M., Kataoka, Y., Suganuma, T., Omata, T., Imura, N., & Nomoto, A. (1984). Complete nucleotide sequences of all three poliovirus serotype genomes: Implication for genetic relationship, gene function and antigenic determinants. *Journal of Molecular Biology*, 174, 561-585.

Trask, J. D., Paul, J. R., & Melnick, J. L. (1943). Detection of poliomyelitis virus in flies collected during epidemics of poliomyelitis, methods, results and types of flies involved. *Journal of Experimental Medicine*, 77, 531-545.

Tsai, Y. L., Sobsey, D. M., Sangermano, R. L., & Palmer, J. C. (1993). Single method of concentrating enteroviruses and hepatitis A virus from sewage and ocean water for rapid detection by reverse transcriptase polymerase chain reaction. *Applied and Environmental Microbiology*, 59, 3488-3491.

Valdes, D. S., & Real, E. (1994). Ammonium, nitrite, nitrate and phosphate fluxes across the sediment-water interface in a tropical lagoon. *Scientia Marina*, 20, 65-80.

Varley. (1978). *Régime de la lagune Ébrié (Côte d'Ivoire) : Trait physique essentiel*. Centre National de Recherche Océanographique.

Verbanck, M. A. (1995). Capturing and releasing settleable solids, the significance of dense undercurrents in combined sewer flows. *Water Science and Technology*, 31(7), 85-93.

Viennerås, B. (2001). *Faecal separation and urine diversion of nutrient management of household biodegradation waste and wastewater* [Licentiate thesis, Swedish University of Agricultural Sciences].

Villeneuve, V., Légaré, S., Painchaud, J., & Vincent, W. (2006). Dynamique et modélisation de l'oxygène dissous en rivière. *Revue des Sciences de l'Eau*, 19(4), 259-274.

Wait, D. A., & Sobsey, M. D. (1983). Method for recovery of enteric viruses from estuarine sediments with chaotropic agents. *Applied and Environmental Microbiology*, 46(2), 379-385.

Ward, R. L., & Ashley, C. S. (1980). Identification of the virucidal agent in wastewater sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, 40(2), 305-309.

Ward, R. L., Knowlton, D. R., & Winston, P. E. (1986). Mechanism of inactivation of enteric viruses in fresh water. *Applied and Environmental Microbiology*, 52(3), 450-459.

Weibel, R. S., Dixon, R. F., Weidner, B. R., & McCabe, J. L. (1960). Waterborne-disease outbreaks, 1946-60. *Journal of the American Water Works Association*, 56(8), 947-958.

Wellings, F. M. (1976). Demonstration of solids-associated virus in wastewater and sludge. *Applied and Environmental Microbiology*, 31(3), 354-358.

Wéthé, J., Maïga, A. H., Radoux, M., Tanawa, E., & Seidl, M. (2002). Use of macrophytes for domestic wastewater treatment in developing countries. *Discharged Urban Waters: Resource or Risk?*, 27.

Wetz, J. J., Lipp, K. E., Griffin, W. D., Lukasik, J., Wait, D., Sobsey, D. M., Scott, M. T., & Rose, B. J. (2004). Presence, infectivity, and stability of enteric viruses in seawater: Relationship to marine water quality in the Florida Keys. *Marine Pollution Bulletin*, 48(8), 698-704.

- White, M. J. D. (1977). *Animal cytology and evolution*. Cambridge University Press.
- World Health Organization. (2003). *Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation* (WHO/V&B/03.03).
- World Health Organization. (2004). *Polio laboratory manual* (under revision).
- World Health Organization. (2006). *Guidelines for the safe use of wastewater, excreta and greywater in agriculture and aquaculture*.
- World Health Organization. (2009a). *Eradication de la poliomyélite : Rapport de situation*. Cinquante-neuvième session, Kigali, Rwanda.
- World Health Organization. (2009b). Résurgence du poliovirus sauvage de type 1 et 3 dans 15 pays africains, janvier 2008-mars 2009. *Weekly Epidemiological Record*, 84(16), 133-140.
- Wrage, N., Velthof, G. L., van Beusichem, M. L., & Oenema, O. (2001). Role of nitrifier denitrification in the production of nitrous oxide. *Soil Biology and Biochemistry*, 33(12-13), 1723-1732.
- Organisation Mondiale de la Santé / Programme des Nations Unies pour l'Environnement. (1977). *Directives applicables à la surveillance sanitaire de la qualité des eaux littorales*.
- Yang, C. F., De, B. P., Holloway, M. A., Pallansch, M., & Kew, O. (1991). Detection and identification of vaccine-related polioviruses by the polymerase chain reaction. *Virus Research*, 20, 159-179.
- Yeager, G. J., & O'Brien, R. T. (1999). Enterovirus inactivation in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 38(4), 694-701.
- Zachar, V., Thomas, R. A., & Goustin, A. S. (1993). Absolute quantification of target DNA: A simple competitive PCR for efficient analysis of multiple samples. *Nucleic Acids Research*, 21, 2017-2018.

Zoll, G. J., Melchers, W. J. G., Kopecka, H., Jambroes, G., Van Der Poel, H. J. A., & Galama, J. M. D. (1992). General primer-mediated polymerase chain reaction for detection of enteroviruses: Application for diagnostic routine and persistent infections. *Journal of Clinical Microbiology*, *30*, 160-165.

Article en Annexe 1

Persistance des entérovirus dans les eaux usées à Yopougon, Côte D'Ivoire

Julien Momou Kouassi, Chantal Akoua-Koffi, Karim Sory Traoré, Valéry Adjogoua Edgard, Leontine Tieoulou, Géraud Boni Juste, Paul Koffi Signo, Sosthène Akre Djako, Françoise Guidy, Fanta Traore, Pascal Valentin Houenou et Mireille Dosso

Publié par **Érudit**

Revue des sciences de l'eau/Journal of water science 2011, 24(4): 357-367

doi : 10.7202/1007624ar. ISSN : 1718-8598.

Article en Annexe 2

**Detection of enteroviruses in urban wastewater in
Yopougon, Abidjan**

K J Momou , C Akoua-Koffi , D S Akré, V E Adjogoua , L Tieoulou, M Dosso

Publié par Elsevier

Pathologie-Biologie 2012, 60(3): p.e21-26

doi : 10.1016/j.patbio.2011.05.004. ISSN: 0369-8114.

(Impact factor 2012: 1.672)

Article en Annexe 3

Detection of Enteroviruses in Water Samples from Yopougon, Côte D'Ivoire by Cell Culture and Polymerase Chain Reaction

K. J. Momou • C. Akoua-Koffi • M. Dosso

Publié par Springer

Food and Environmental Virology

DOI: 10.1007/s12560-013-9130-4/ Print ISSN 1867-0334; Online ISSN 1867-0342

(Impact factor 2012: 2.511)

Article en Annexe 4

**Lagoon pollution and nutritive compounds change in urban
tropical area**

Julien Kouassi MOMOU, Karim SORY TRAORÉ and Mireille DOSSO

International Journal of Biological and Chemical Science

2012. 6(6): 8012-8023

DOI : <http://dx.doi.org/10.4314/ijbcs.v6i6.45>. ISSN 1991-8631

Annexe 5

AFNOR, Système OXYTOP, HACH METHOD 8051-US EPA, ELISA

1. Principe

Oxydation par un excès de dichromate de potassium en milieu acide et à l'ébullition, des matières, oxydables dans les conditions de l'essai, contenues dans l'eau, en présence de sulfate d'argent (jouant un rôle de catalyseur d'oxydation) et de sulfate de mercure (agent complexant des chlorures).

Détermination de l'excès de dichromate à l'aide d'une solution titrée de sulfate de fer (II) et d'ammonium.

2. Réactifs

Tous les réactifs devront être d'une pureté analytique reconnue. Leur qualité sera vérifiée en effectuant un essai à blanc sur 500ml d'eau. Si la consommation de solution de dichromate de potassium 0,25N due aux réactifs est supérieure à 0,3 ml, il conviendra de rechercher l'origine de cette valeur élevée et d'essayer d'y remédier, notamment en utilisant des réactifs d'une origine différente.

- Eau distillée fraîchement préparée, ou eau de pureté au moins équivalente.
- Sulfate de mercure (II) en cristaux (HgSO_4).
- Acide sulfurique dans lequel est dissous le sulfate d'argent:
Dissous du sulfate d'argent en cristaux, dans de l'acide sulfurique ($p_{20}=1,84$ g/ml) à raison de 6,6 g par litre.
- Solution de sulfate de fer (II) et d'ammonium, environ 0,25 N :
Dissoudre 98g de sulfate de fer (II) et d'ammonium ($\text{FeSO}_4 (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$) dans de l'eau. Ajouter 20 ml d'acide sulfurique ($p_{20}=1,84$ g/ml) et compléter à 1 litre avec de l'eau. Déterminer au moins chaque jour le titre exact de cette solution à l'aide de la solution de dichromate.
- Solution de dichromate de potassium 0,25 N:
Dissoudre dans de l'eau, 12,2588g, pèses à 0,1 mg près, de dichromate de potassium (K_2CrO_7) préalablement sèche à 110°C pendant deux heures. Diluer à 1000 ml en fiole jaugée.
- Solution de ferroïne :
Utiliser une solution commercialisée ou bien dissoudre 1,485 g de 1-10-phénanthroline et 0,695 g de sulfate de fer ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) dans de l'eau et compléter le volume à 100ml.

3. Equipement

Matériel courant de laboratoire et notamment :

- ballon de 500 ml, a fond, a fond plat et a col court.
- Réfrigérant à 6-8 boules ou réfrigérant équivalent, adaptable au ballon.

4. Mode opératoire

4.1. Prise d'essai

V= 50 ml

Les traitements préalables (filtration, décantation...) que l'échantillon pourrait avoir subi avant le prélèvement de la prise d'essai, devront être mentionnés dans le procès verbal d'essai.

Lorsque l'échantillon a une DCO supérieure a 800 mg d'oxygène par litre, procéder a une dilution avec de l'eau avant de prélever la prise d'essai.

4.2. Détermination

Introduire la prise d'essai dans le ballon. Ajouter 1 g de sulfate de mercure, puis 5 ml d'acide sulfurique et dissoudre. S'assurer qu'il ne subsiste aucun précipité de chlorure d'argent, dans le cas contraire chauffer légèrement jusqu' a dissolution.

Ajouter 25 ml exactement mesurés de solution de dichromate puis 70 ml d'acide sulfurique.

Introduire dans le ballon quelque bille de verre, adapter le réfrigérant et faire bouillir pendant deux heures.

Laisser refroidir, étendre à 350 ml environ avec de l'eau, ajouter quelque goutte de solution de ferroïne et réduire l'excès de dichromate a l'aide de la solution de sulfate de fer et d'ammonium: coloration passe du vert au rouge violacé.

4.3. Essai à blanc

Effectuer, pour chaque série journalière de dosage, un essai à blanc en remplaçant la prise d'essai par 50ml d'eau.

5. Expression des résultats

Soient

V_1 Le volume, en millilitre, de solution de sulfate de fer et d'ammonium utilisé pour la détermination ;

V_0 Le volume, en millilitre, de solution de sulfate de fer et d'ammonium utilisé pour l'essai a blanc ;

T Le titre, exprimé en normalité, de la solution de sulfate de fer et d'ammonium

V Le volume, en millilitres, de la prise d'essai.

La demande chimique en oxygène, exprimée en milligramme d'oxygène par litre, est donnée par l'expression :

$$\frac{8000 (V_0 - V_1) T}{V}$$

Dosage de l'azote kjeldahl

[NF T 90-110]

1. Principe

- Minéralisation des matières organiques en milieu acide et en présence de catalyseur ;
- Dosage par spectrophotométrie au bleu d'indophénol a une longueur d'onde voisine de 630 nm.

2. Réactifs

- Acide sulfurique concentré ($p_{20} = 1,84$ g/ml)
- Hydroxyde de sodium, solution à 400g/l
- Solution alcaline, complexante et chlorée

Dissoudre dans environ 800 ml d'eau, 20g d'hydroxyde de sodium en pastille et 380g de citrate trisodique déshydraté ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$).

Porter à ébullition et maintenir une ébullition douce pendant 20 min. Refroidir, ajouté 4 g du sel de sodium dihydraté ($C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$).

Porter à ébullition et maintenir une ébullition douce pendant 20 min. Refroidir, ajouter 4 g du sel de sodium dihydraté de l'acide dichloro 1,3-iso-cyanurique ($C_3NaCl_2N_3O_3 \cdot 2H_2O$) et amener le volume à 1000 ml avec de l'eau. Conserver cette solution à une température de 4°C environ.

- Solution de phénol et de nitroprussiate

Dissoudre dans de l'eau 35 g de phénol et 0,4 g de nitroprussiate de sodium ($Na_2 [Fe (CN)_5 NO] 2H_2O$) et amener le volume à 1000 ml avec de l'eau.

Conserver cette solution dans un flacon en verre brun et à une température de 4°C environ. Ne jamais la placer à la lumière directe du soleil. La manipuler en lumière atténuée.

- Catalyseur de minéralisation

Préparer un mélange homogène de 995 g de sulfate de potassium (K_2SO_4) et de 5 g de sélénium en poudre.

- Azote, solutions étalons
- Solution mère correspondant à 100mg de N par litre

Dissoudre 381,9mg de chlorure d'ammonium anhydre dans l'eau et amener à 1000ml en fiole jaugée.

- Solution étalon correspondant à 10mg de N par litre

Au moment de l'emploi, diluer au dixième la solution mère.

Solution aqueuse de paranitrophénol à 0,1% (m/V).

3. Equipement

Matériel courant de laboratoire

Ballon de Kjeldahl de 500 ml de capacité et chauffe ballon (ou rampe de minérisation)

Spectrophotomètre (longueur d'onde : 630 nm) équipé de cuves de mesure de 10 mm d'épaisseur.

4. Mode opératoire

Prélever une prise d'essai de l'échantillon d'au moins 50ml de façon a ce qu'elle contienne 20 et chacune de 200µg d'azote, exprimé en N.

4.1. Préparation des solutions d'étalonnage

Pour de mesures spectrophotométriques en cuve de 10mm d'épaisseur, introduite par exemple dans une série de fiole jaugées de 100ml:

0 – 1 – 2 – 5 – 10 – 15 -20 ml de solution étalon. Compléter au volume et homogénéiser.

4.2. Minéralisation

Introduire la prise d'essai et chacune des solutions d'étalonnage dans une série de ballon de Kjeldahl munis d'un dispositif régulateur d'ébullition (billes de verre, de céramique, ou pierre ponce).

Ajouter 0,2 à 0,5g de catalyseur, puis respectivement 2 à 5 ml d'acide sulfurique concentré.

Placer un entonnoir sur le ballon avec la tige plongeant dans le col. Porter lentement à ébullition et évaporer jusqu'à apparition de fumée blanches. Forcer ensuite le chauffage pendant une heure. Laisser refroidir a température ambiante.

4.3. Dosage

Recueillir les minéralisats obtenus ainsi que les eaux de rinçages dans une série de fioles jaugées de 200ml, de façon a obtenir un volume d'environ 150ml. Neutraliser a l'aide solution d'hydroxyde de sodium en présence d'une goutte de paranitrophénol. Compléter au volume avec de l'eau Homogénéiser et laisser décanter si nécessaire.

Prélever 20 ml de chacune des solutions et les introduire dans une série de tube à essai. Ajouter dans l'ordre et sans attendre entre chaque ajout :

- 1,0 ml de la solution de phénol et nitroprussiate, agité ;
- 1,0 ml de la solution alcaline

Agiter et placer à l'obscurité pendant au moins 6 heures.

Effectuer les mesures spectrophotométriques, au maximum de la courbe d'absorption (longueur d'onde généralement voisine de 630nm) après avoir régler l'appareil au zéro d'absorbance par rapport a l'essai témoin.

4.4. Expression des résultats

A partir des concentrations des solutions d'étalonnages, établir une courbe une courbe d'étalonnage et en déduire la teneur en azote Kjeldahl de la prise d'essai en tenant compte des éventuelle dilutions pratiqué, l'exprimer en milligramme d'N par litre.

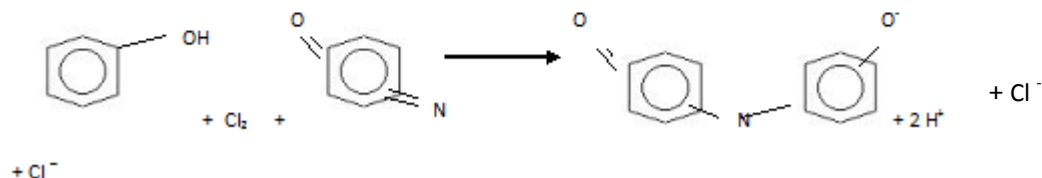
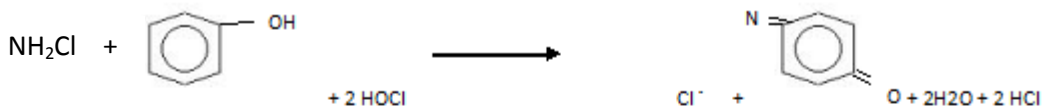
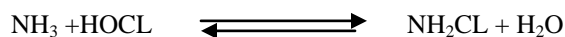
Dosage de l'azote ammoniacal

[NF T 90-015]

1. Méthode spectrophotométrique au bleu d'indophénol

2. Principe

Formation en milieu alcalin ($10,4 < \text{pH} < 11,5$) d'un composé type indophénol par réaction des ions ammonium avec du phénol et de l'hypochlorite, en présence de nitroprussiate comme catalyseur.



3. Réactifs

Au cours de l'analyse n'utiliser que de l'eau récemment déminéralisée sur résine cationique forte ou de l'eau de pureté équivalente dont la teneur en azote ammoniacale est négligeable.

- Solution alcaline complexante et chlorée

Dissoudre dans environ 800ml d'eau, 20g d'hydroxyde de sodium en pastille de 380g de citrate trisodique ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7, 2 \text{H}_2\text{O}$). Porter à ébullition et maintenir une ébullition douce pendant 20 minutes.

Refroidir, ajouter 4 grammes de sel de sodium de l'acide dichloroisocyanurique ($\text{C}_3\text{NaCl}_2\text{N}_3\text{O}_3$) et amener le volume à 1000 ml, conserver cette solution à une température de 4° environ.

- Solution de phénol et de nitroprussiate

Dissoudre dans de l'eau 35g de phénol et 0,4g de nitroprussiate de sodium $\text{Na}_2 [\text{Fe} (\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ et amener le volume à 1000 ml,

Conserver cette solution dans un flacon de verre brun et à une température de 4°C environ. La manipuler en lumière atténuée.

- Azote ammoniacal, solution étalons

Solution mère à 100mg de NH_4 par litre ;

Dissoudre 297 mg de chlorure d'ammonium dans l'eau et amener à 1000ml en fiole jaugée.

Solution étalon à 10mg de NH_4 par litre. Diluer au dixième au moment de l'emploi la solution

Solution étalon à 1mg de NH₄ par litre. Diluer au dixième au moment de l'emploi de la solution.

4. Equipement

4.1. Matériel courant de laboratoire

Spectrophotomètre (longueur d'onde : 630nm)

5. Mode opératoire

Si la teneur de l'échantillon en NH₄ est inférieur à 1 mg/L, prélever une prise d'essai de 20 ml ;

Si la teneur de l'échantillon en NH₄ est supérieur à 1 mg/L, prélever un volume plus petit et ajuster à 20 ml avec de l'eau.

5.1. Courbe d'étalonnage

GAMME I POUR DES MESURES EN CUVES DE 50 mm		GAMME II POUR DES MESURES EN CUVES DE 10 mm	
Volume de solution étalon de 1 mg de NH ₄ /l	Correspondant à une teneur de: µg/l	Volume de solution étalon de 10 mg de NH ₄ /l	Correspondant à une teneur de: mg NH ₄ /l
1	10	1	0,1
2	20	2	0,2
5	50	4	0,4
10	100	6	0,6
15	150	8	0,8
20	200	10	1,0

Compléter au volume avec de l'eau et homogénéiser.

Prélever 20 ml de chacune des solutions obtenues et les introduire dans une série de 6 tubes à essai. Introduire également 20 ml d'eau dans 7^{ème} tube à essai (terme zéro).

Ajouter dans l'ordre et sans attendre entre chaque ajout:

- 1,0 ml de la solution de phénol et nitroprussiate ; agiter.
- 1,0 ml de la solution alcaline.

Agiter et placer à l'obscurité pendant au moins 6 h.

Effectuer la mesure spectrophotométrique, au maximum de la courbe d'absorption (longueur d'onde généralement voisine de 630 nm) après avoir réglé l'appareil au zéro d'absorbance par rapport au terme zéro.

5.2. Dosage

Introduire la prise d'essai dans un tube à essai. Ajouter dans l'ordre et sans attendre entre chaque ajout:

- 1,0 ml de la solution de phénol et nitroprussiate ; agiter ;
- 1,0 ml de la solution alcaline ;

Agiter et placer à l'obscurité pendant au moins 6 h ;

Effectuer la mesure spectrophotométrique, au maximum de la courbe d'absorption (longueur d'onde généralement voisine de 630 nm) après avoir régler l'appareil au zéro d'absorbance par rapport à l'essai témoin.

5.3. Expression des résultats

Déduire de la courbe d'étalonnage la teneur en azote ammoniacal de l'échantillon et l'exprimer en milligrammes de NH_4 par litre.

1. Principe

Réaction des nitrates avec l'acide sulfosalicylique (formé par l'addition à l'échantillon, de salicylate de sodium et d'acide sulfurique). Le dérivé obtenu donne, en présence d'ammoniaque, une coloration jaune stable.

Mesure spectrophotométrique, à une longueur d'onde voisine de 415 nm, de cette coloration.

2. Réactifs

Au cours de l'analyse n'utiliser que de l'eau distillée ou de l'eau de pureté équivalente.

Acide sulfurique, $\rho_{20} = 1,84$ g/ml.

Acide acétique cristallisable.

Ammoniaque,

Azoture de sodium NaN_3 , solution à 5 g/l,

Sulfate d'argent.

Laver à l'eau du sulfate d'argent en poudre pour le rendre exempt de nitrates.

Solution étalon de nitrates à 5 mg de NO_3 par litre.

Préparer une solution mère à 0,1 g de NO_3 par litre (soit 163,05 mg/l de nitrate de potassium).

Diluer, au moment de l'emploi, au vingtième cette solution mère.

3. Equipement

Matériel courant de laboratoire.

Spectrophotomètre (longueur d'onde 415 nm).

Nettoyer très soigneusement la verrerie utilisée et, de préférence, réserver son usage au seul dosage des nitrates.

4. Mode opératoire

4.1. Prise d'essai

Si l'échantillon contient moins de 1 mg de NO_3 par litre, prélever une prise d'essai de 25 ml.

Si l'échantillon contient entre 1 mg et 5 mg de NO_3 par litre, prélever une prise d'essai d'un volume compris entre 5 et 25 ml, telle qu'elle contienne moins de 25 μg de NO_3 .

Si l'échantillon contient plus de 5 mg de NO_3 par litre, procéder, immédiatement avant le dosage à une dilution.

4.2. Courbe d'étalonnage (valable pour un parcours optique de 40 mm)

Introduire dans une série de capsules, en verre borosilicaté, respectivement :

0 – 1 – 2 – 3 – 4 – 5 ml de solution étalon de nitrates correspondant à :

0 – 5 – 10 – 15 – 20 – 25 μg de nitrate.

Ajouter, dans chaque capsule, 0,2 ml d'acide acétique.

Attendre 5 min, puis faire évaporer à sec sur un bain d'eau bouillante.

Ajouter ensuite 1 ml de solution de salicylate de sodium, homogénéiser et faire à nouveau évaporer à sec. Laisser refroidir en dessiccateur.

Ajouter, dans chaque capsule, 1 ml d'acide sulfurique, en veillant à bien mouiller la totalité du résidu. Attendre 10 min. Ajouter dans chaque capsule environ 10 ml d'eau et 10 ml d'ammoniaque. Transvaser le contenu de chaque capsule dans une série de fioles jaugées de 25 ml. Ajouter à 25 ml avec l'eau de rinçage de la capsule.

Effectuer les mesures photométriques au maximum de la courbe d'absorption (longueur d'onde généralement voisine de 415 nm) après avoir réglé l'appareil au zéro d'absorbance par rapport à l'eau.

4.3. Dosage

Développement de la coloration et spectrophotométrie

Contrôler le pH de l'échantillon. S'il est supérieur à 8,0, neutraliser un volume suffisant d'échantillon d'acide acétique. Placer la prise d'essai prélevée sur l'échantillon éventuellement neutralisée dans une capsule en verre borosilicaté.

Ajouter 0,5 ml de la solution d'azoture de sodium et 0,2 ml d'acide acétique. Attendre 5 min, puis faire évaporer à sec sur un bain d'eau bouillante. Ajouter ensuite 1 ml de solution de salicylate de sodium, homogénéiser et faire à nouveau évaporer à sec. Laisser refroidir en dessiccateur.

Poursuivre comme pour l'établissement de la courbe d'étalonnage.

5. Expression des résultats

Déduire de la courbe d'étalonnage, en tenant compte de l'absorbance de la solution de compensation, la teneur en nitrates de l'échantillon et l'exprimer en milligramme de NO_3 par litre [Voir Méthode 8192 For water, wastewater, and seawater, Nitrate, LR (0 to 0.40 mg/L NO_3^- -N, comme méthode alternative pour la détermination de la teneur en nitrate).

Dosage des orthophosphates

[NF T90-023]

1. Principe

- Formation en milieu acide d'un complexe avec le molybdate d'ammonium et le tartrate double d'antimoine et de potassium.
- Réduction par l'acide ascorbique en un complexe coloré en bleu qui présente deux valeurs maximales d'absorption, l'une vers 700 nm, l'autre, plus importante à 880 nm.
- Dosage spectrométrique.

2. Réactifs

Au cours de l'analyse et pour la préparation des réactifs, n'utiliser que de l'eau distillée exempte de phosphore ou de l'eau de pureté équivalente.

- Acide sulfurique: solution à environ 15% (V/V) d'acide ($\rho = 1,84 \text{ g/ml}$).
- Hydroxyde de sodium: solution à 120g / l environ.
- Acide ascorbique: solution à 20 g/l.

Préparer la solution le jour de l'emploi.

Molybdate d'ammonium: solution à 40 g/l.

Dissoudre 20 g de molybdate d'ammonium $((\text{NH}_4)_6\text{Mo}_2\text{O}_{24}, 4\text{H}_2\text{O})$ dans de l'eau et compléter à 500 ml avec celle-ci.

Filtrer éventuellement. La solution obtenue peut être conservée à $+4^\circ \text{C}$ dans un flacon en polyéthylène.

- Réactif combiné

Dans une fiole jaugée de 100 ml, mélanger: 50 ml d'acide sulfurique, 5ml de solution de tartrate, 15 ml de la solution de molybdate d'ammonium. Compléter au volume avec de l'eau. Ce réactif peut être conservé à 4°C .

- Solution mère de phosphate, correspondant à 50 mg de P par litre.

Peser 0,2197 g dihydrogénophosphate de potassium (KH_2PO_3), séché à 105°C à l'étuve pendant 1 heure, puis dissoudre dans de l'eau. Ajouter 1ml d'acide sulfurique et compléter à 1000 ml avec l'eau.

- Solution étalon de phosphate, correspondant à 1 mg de P par litre.

Prélever 20,0 ml de la solution mère de phosphate et compléter exactement à 1000 ml avec de l'eau distillé (1 ml de cette solution contient 1 μg de P).

Préparer cette solution au moment de l'emploi.

- Solution étalon de phosphate, correspondant à 0,20 mg de P par litre.

Prélever 4,0 ml de la solution mère de phosphate et compléter exactement à 1000 ml avec de l'eau distillé (1 ml de cette solution contient 0,2 μg de P).

Préparer cette solution au moment de l'emploi.

3. Equipement

Spectromètre (réglable aux longueurs d'onde de 700 ou 880 nm) équipé de cuves de 10 ou 50 mm d'épaisseur.

4. Mode opératoire

4.1. Prise d'essai

Amener éventuellement l'échantillon à un pH compris entre 2 et 7, contrôler au pH-mètre, à l'aide de la solution d'acide sulfurique ou de la solution d'hydroxyde de sodium.

Si la teneur présumé en orthophosphate est inférieure à 1 mg / l de P, prélever une prise d'essai de cet échantillon de 20,0 ml.

Si la teneur présumé en orthophosphate est supérieure à 1 mg / l de P, procéder à une dilution préalable de l'échantillon et prélever 20,0 ml de cette dilution.

4.2. Etalonnage

Dans une série de fiole jaugée de 25 ml, introduire par exemple:

- Pour les mesures en cuve de 10 mm d'épaisseur :

0 – 1- 5 – 10 – 15 – 20 ml de solution étalon correspondant à la gamme 0 – 1 mg / l de P.

- Pour les mesures en cuve de 50 mm d'épaisseur :

0 – 1- 5 – 10 – 15 – 20 ml de solution étalon correspondant à la gamme 0 – 200 µg / l de P.

Ajouter 1,0 ml d'acide ascorbique. Agiter énergiquement et ajouter 4,0 ml de réactif combiné. Agiter, Compléter au volume avec de l'eau.

Attendre 30 minutes le développement de la coloration bleu.

Effectuer la mesure spectrométrique à l'une des deux longueurs d'onde maximale (700 ou 880 nm) après avoir réglé l'appareil au zéro d'absorbance par rapport au terme zéro de la gamme d'étalonnage. Tracer la courbe d'étalonnage.

4.3. Dosage

Introduire la prise d'essai dans une fiole jaugée de 25 ml.

Ajouter 1,0 ml d'acide ascorbique. Agiter énergiquement et ajouter 4,0 ml de réactif combiné. Agiter attendre 30 min le développement de la coloration bleu.

Effectuer la mesure spectrométrique à l'une des deux longueurs d'onde d'absorption maximale (700 ou 880 nm) après avoir réglé l'appareil au zéro d'absorbance par rapport au terme zéro de la gamme d'étalonnage.

4.4. Essai à blanc

Effectuer un essai à blanc dans les mêmes conditions que le dosage.

5. Expression des résultats

La teneur en orthophosphates (C1) de l'échantillon, exprimée en milligramme de P par litre est donnée par l'expression :

$$C1 = K \cdot d (Ae - Ab)$$

K est la pente de la courbe d'étalonnage en milligrammes de P par litre et par unité d'absorbance.

D est le facteur de dilution de l'éventuelle dilution de l'échantillon

Ae est l'absorbance de la solution d'essai spectrométrées

Ab est l'absorbance de l'essai à blanc.

Dosage après minéralisation au persulfate en ballon Kjeldahl

1. Principe

Minéralisation à chaud d'une prise d'essai de l'échantillon en présence d'acide sulfurique et de persulfate de sodium.

Dosage spectrométrique des orthophosphates obtenus.

2. Réactifs

En plus des réactifs utilisés dans le cadre du dosage des orthophosphates ;

Acide sulfurique ($p = 1,84$ g/ml) ;

Persulfate de sodium ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$), solution à 500 g/l.

3. Equipement

En plus de l'appareillage utilisé pour l'orthophosphate ;

- Ballon de Kjeldahl de 250 ml (rampe de minéralisation).
- Dispositif de chauffage

Tube d'aspiration des fumées équipé d'un dispositif de collecte des condensats de vapeur d'eau (par exemple entonnoir à tige longue).

4. Mode opératoire

4.1. Prise d'essai

En général, prélever une prise d'essai de l'échantillon de 50 ml. Si l'échantillon est chargé, prélever une prise d'essai de volume inférieur ou effectuer une dilution préalable.

4.2. Minéralisation

Introduire la prise d'essai dans un ballon de Kjeldahl de 250 ml. Ajouter 5 ml d'acide sulfurique concentré et 5 ml de solution de persulfate de sodium.

Porter à ébullition et évaporer jusqu'à apparition des fumées blanches. Poursuivre ensuite le chauffage pendant 90 min.

Reprendre le résidu avec de l'eau et rincer plusieurs fois de façon à obtenir un total de 150 ml de solution. Ajuster le pH entre 1,5 et 2,5 contrôlé au pH-mètre, avec la solution d'hydroxyde de sodium à 120 g/l.

Refroidir à température ambiante, filtrer si nécessaire. Compléter à 200 ml avec de l'eau.

4.3. Dosage

Prélever 20 ml de cette solution ou un volume inférieur de façon à ce que la quantité de phosphore dans cette prise n'excède pas 20 μg . Introduire dans une fiole jaugée de 25 ml.

Effectuer le dosage spectrométrique par rapport au terme zéro de la gamme d'étalonnage comme indiqué dans le cas du dosage de l'orthophosphate après avoir éventuellement ajusté au volume après l'ajout des réactifs.

4.4. Essai à blanc

Effectuer un essai à blanc dans les mêmes conditions de minéralisation et de dosage en remplaçant la prise d'essai par l'eau distillée.

5. Expression des résultats

La prise d'essai de l'échantillon d'eaux usées a été de 50 ml. Le dosage a été effectué sur la base de la minéralisation à chaud de l'échantillon d'eaux usées en présence d'acide sulfurique et de persulfate de sodium $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$ dans un ballon Kjeldahl de 250 ml et du dosage spectrophotométrique des orthophosphates obtenus.

La teneur en phosphore total (C_3), de l'échantillon, exprimée en milligramme de P par litre est donnée par :

$$C_3 = \frac{K \cdot d_1 \cdot d_2 \cdot 200 (Ae - Ab)}{V}$$

ou :

K est la pente de la courbe d'étalonnage en milligrammes de P par litre et par unité d'absorbance.

d_1 est le facteur de dilution éventuelle de l'échantillon avant minéralisation.

d_2 est le facteur de dilution dû au prélèvement dans le minérisat du volume utilisé pour le dosage.

V est le volume en millilitre de la prise d'essai.

Ae est l'absorbance de la solution d'essai par le spectromètre

Ab est l'absorbance de l'essai à blanc.

Détermination des Matières En Suspension (MES)

La détermination des MES a été effectuée par filtration sur une membrane GFC (Filtres en microfibres de verre Wattman GF/C). La mesure des MES par filtration a reposé sur le principe de la double pesée : un volume d'eau est filtré sur une membrane (préalablement pesée à vide) de 1,5 microns et les résidus sur cette dernière sont pesés. Le rapport de la différence de masse sur le volume d'eau filtré donne la concentration des MES en milligramme/litre.

On applique la formule suivante :

$$C_{MES} = (M_1 - M_0) / V$$

C_{MES} : concentration des MES en mg/l ;

M_0 : masse de la membrane avant filtration ;

M_1 : masse de la membrane après filtration ;

V : volume d'échantillon filtré.

BOD₅ determination

Normally municipal wastewater does not contain toxic or impeding substances. There are enough nutrient salts and suitable microorganisms. Under those conditions the BOD₅ determination with the OxiTop® measuring system is possible in the undiluted sample

Required instruments and accessories

- OxiTop® measuring system
- Inductive stirring system
- Incubator thermostatic box (temperature 20°C ± 1K)
- Sample bottles brown (nominal volume 510 ml)
- Stirring rods
- Stirring rod remover
- suitable overflow measuring beakers
- Rubber quivers
- Sodium hydroxide tablets

Selection of sample volume

Estimate the BOD₅ value to be expected for the wastewater sample:

Expected BOD₅ value = 80 % of the COD value

Look for corresponding measuring range in the following chart and gather correct values for sample volume and factor.

Sample volume (ml)	Measuring range (mg/l)	Factor
432	0 - 40	1
365	0 - 80	2
250	0 - 200	5
164	0 - 400	10
97	0 - 800	20
43.5	0 - 2000	50
22.7	0 - 4000	100

Sample preparation

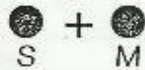
See following WTW application reports:

- WTW Application report 895230:
"BOD measurement in household wastewater"
- WTW Application report 895231:
"BOD measurement in organically heavily contaminated wastewater"
- WTW Application report 895232:
"BOD measurement with presence of impeding or toxic substances"

Measurement

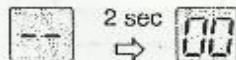
Information: To measure the sample volume, usually overflow measuring beakers or measuring cylinders are used. Choose the volume according to the measured value expected. Too large measuring ranges will lead to inaccurate results. To estimate the measured value you can reckon with approx. 80% of the CBS value.

- **Sample preparation and filling of the measuring bottles** compare following instruction: DIN 38409 part 52: "Measurement of the oxygen consumption" as well as WTW applicationsreports see chapter "Sample preparation and measurement".
- **Rinse measuring bottle with sample.** Empty thoroughly.
- **Exactly measure the required oxygen-saturated (thoroughly homogenized) quantity of the sample** according to information.
- **Put the magnetic stirring rod into the bottle.**
- **Insert a rubber quiver in the neck of the bottle.**
- **Put 2 sodium hydroxide tablets into the rubber quiver with a tweezers.** (Caution: The tablets must never come into the sample!)
- **Screw OxiTop® directly on sample bottle (tightly close).**



Start measurement:

Press S and M simultaneously. (2 seconds) until the display shows 00.



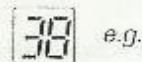
Display: Stored values are deleted.

- **Keep the measuring bottle with the OxiTop put on for 5 days at 20°C** (e.g. in an incubator). After the meas. temperaturo has been reached (after 1 hour at the earliest, after 3 hours at the latest; **AutoTemp function**), the OxiTop automatically starts the measurement of the oxygen consumption.
- **During the 5 days the sample is continuously stirred.** The OxiTop automatically stores one value every 24 hours for 5 days. To have the current value shown press the M key.



Display current measured value:

Press M until measured value is displayed (1 second).



- **Readout of the stored values after the 5 days have passed.**



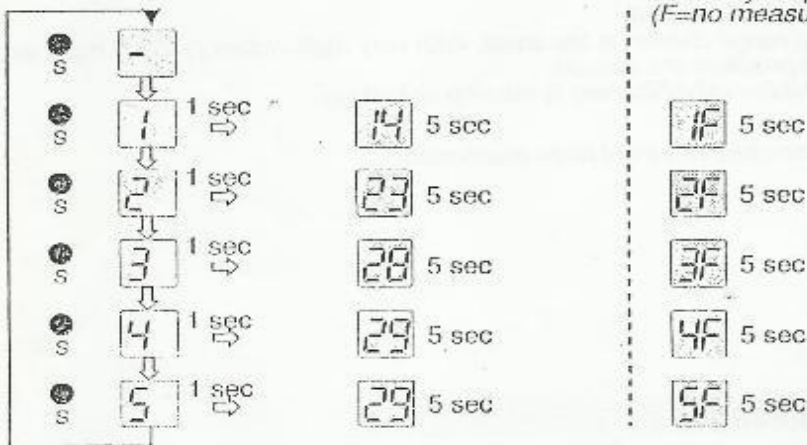
Recall stored values:

Press S until measured value is displayed (1 second).

Scroll to next day by repressing the S key while the measured value is displayed (5 sec). Fast scrolling by repeatedly pressing the S key.

Measuring day either stored value, e. g.

or system message "memory empty" (F=no measured value):



- Convert the displayed measured value (digits) into the BOD value with the following table (Digits x Factor = BOD₅ in mg/l):

Sample volume (ml)	Measuring range (mg/l)	Factor
432	0 - 40	1
365	0 - 80	2
250	0 - 200	5
164	0 - 400	10
97	0 - 800	20
43.5	0 - 2000	50
22.7	0 - 4000	100

Disturbances

- **Measured value remains below measuring range**
The display shows zero or too low a value.
The measuring equipment is not water-tight.
Check rubber quiver, screw top and bottle.
Insufficient sample pretreatment or preservation.
The temperature of the sample had not sufficiently been adjusted (< 15°C).
- **Measuring range exceeded.**
The measuring range chosen is too small. With very high values (> 2000 mg/l) we recommend to predilute the sample.
Nitrification inhibitor (allylthiourea) is missing or lacking.

Errors due to procedure have not been mentioned.

System messages



Memory empty (E^F = measured value of day 1 is missing)



Change batteries (approx. every 3 years)



Value remains below measuring range (< 0 digits)

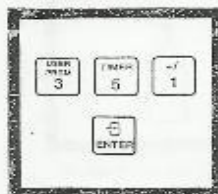


Value exceeds measuring range (> 50 digits)

NITRATE, LR (0 to 0.40 mg/L NO₃⁻-N)

Method 8192
For water, wastewater, and seawater*

Cadmium Reduction Method



1. Enter the stored program number for low range nitrate nitrogen (NO₃⁻-N).

Press: **3 5 1 ENTER**

The display will show:

Dial nm to 507

Note: The Four-Turn Cell can be used with this procedure.

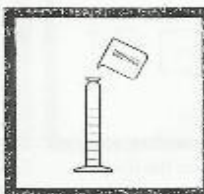


2. Rotate the wavelength dial until the small display shows:

507 nm

When the correct wavelength is dialed in, the display will quickly show: **Zero Sample**

then: **mg/L NO₃⁻-N LR**



3. Fill a 50-mL mixing graduated cylinder to the 30-mL mark with sample.

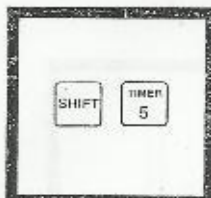


4. Add the contents of one NitraVer 6 Nitrate Reagent Powder Pillow to the cylinder. Stopper.

Note: Determine a reagent blank for each new lot of powder pillows. Repeat Steps 3 to 13, using deionized water as the sample. Subtract this value from each result obtained with this lot of reagent.

* Seawater requires a manual calibration, see *Interferences*.

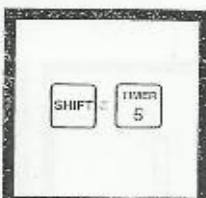
NITRATE, I.R., continued



5. Press:
SHIFT TIMER

A 3-minute reaction period will begin. Shake the cylinder continuously during this period.

Note: Shaking time and technique influence color development. For most accurate results, analyze a standard solution several times and adjust the shaking time to obtain the correct result.



6. When the timer beeps, press:
SHIFT TIMER

A 2-minute period allows the cadmium to settle.

Note: A cadmium deposit will remain after the NitroVer 6 Reagent powder dissolves and will not affect results.



7. When the timer beeps, pour 25 mL of sample from the cylinder into a sample cell.

Note: Do not transfer any cadmium particles.



8. Add the contents of one NitriVer 3 Nitrite Reagent Powder Pillow to the sample cell (the prepared sample). Stopper.

Shake to dissolve.



9. Press:
SHIFT TIMER

A 10-minute reaction period will begin.



10. When the timer beeps, the display will show: mg/L N NO_3^- LR

Fill another sample cell with 25 mL of sample (the blank). Place the blank into the cell holder. Close the light shield.



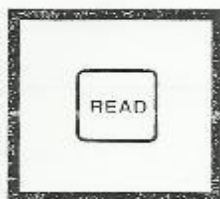
11. Press: **ZERO**
The display will show:
Zeroing . .
then:

0.00 mg/L NO_3^- -N LR



12. Within ten minutes after the timer beeps, remove the stopper from the prepared sample. Place the prepared sample into the cell holder. Close the light shield.

NITRATE, LR, continued



13. Press: READ

The display will show:

Reading . . .

then the result in mg/L nitrate expressed as nitrogen ($\text{NO}_3\text{-N}$) will be displayed.

Note: Rinse the sample cell and cylinders immediately after use to remove all cadmium particles.

Forms \blacktriangle $\text{NO}_3\text{-N}$
 \blacktriangledown NO_3^-

Sampling and Storage

Collect samples in clean plastic or glass bottles. Store at 4 °C (39 °F) or lower if the sample is to be analyzed within 24 to 48 hours. Warm to room temperature before running the test. For longer storage periods, adjust sample pH to 2 or less with sulfuric acid, ACS (about 2 mL per liter). Sample refrigeration is still required.

Before testing the stored sample, warm to room temperature and neutralize with 5.0 N Sodium Hydroxide Standard Solution. Do not use mercury compounds as preservatives. Correct the test result for volume additions; see Correction for Volume Additions, (Section I) for more information.

NITRATE, LR, continued

Accuracy Check

Standard additions Method

- a) Measure 30 mL of sample into three cylinders.
- b) Using the TenSette Pipet, add 0.1, 0.2, and 0.3 mL of Nitrate Nitrogen, Voluette Ampule Standard Solution, 12 mg/L as (NO_3^- -N), to the three samples. Mix well.
- c) Analyze each sample as described above. The nitrate nitrogen concentration should increase 0.04 mg/L for each 0.1 mL of standard added.
- d) If these increases do not occur, see Standard Additions (Section T) for more information.

Standard Solution Method

Prepare a 0.20 mg/L nitrate nitrogen standard by diluting 2.00 mL of the 10 mg/L Nitrate Nitrogen Standard Solution to 100 mL with deionized water. Or, using the TenSette Pipet, a 0.12 mg/L nitrate nitrogen standard can be prepared by diluting 1.0 mL of a Nitrate Nitrogen Voluette Ampule Standard Solution, 12 mg/L, to 100 mL with deionized water. Use these prepared standards in place of sample in Step 3.

Precision

In a single laboratory using standard solutions of 0.25 mg/L nitrate nitrogen (NO_3^- -N) and two representative lots of reagent with the DR/2010, a single operator obtained a standard deviation of ± 0.010 mg/L nitrate nitrogen.

Interferences

This method registers both the nitrate and nitrite nitrogen present in the sample. If nitrite is present, the nitrite nitrogen test using program number 371 should be done on the sample.

The amount of nitrite nitrogen found should be subtracted from the results of the nitrate nitrogen test when the following pretreatment is used:

- a) Add Bromine Water drop-wise to 30-mL of sample until a yellow color persists. Mix after adding each drop.
- b) Add one drop of Phenol Solution. Swirl to destroy the yellow color.
- c) Continue with Step 3 of the nitrate procedure.

SulfaVer 4 Method* (Powder Pillows or AccuVac Ampuls),
USEPA accepted for reporting wastewater analysis**

Using Powder Pillows



1. A User-Entered Calibration is necessary to obtain the most accurate results. See the *User Calibration* section at the back of this procedure. Program 680 can be used directly for process control or applications where a high degree of accuracy is not needed.

Note: The nature of turbidimetric tests and reagent lot variation necessitate user calibration for best results.



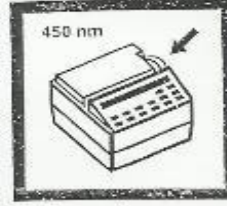
2. Enter the appropriate stored program number for sulfate (SO_4^{2-}) powder pillows.

Press: **6 8 0 ENTER**
or

9 ? ? ENTER

The display will show:
Dial nm to 450

Note: The Pour-Thru cell cannot be used with this procedure.



3. Rotate the wavelength dial until the small display shows:

450 nm

When the correct wavelength is dialed in the display will quickly show: **Zero Sample** then: **mg/L SO_4^{2-}**

Note: For greater accuracy, perform a user calibration for each new lot of SulfaVer 4 Sulfate Reagent Powder Pillows; see User Calibration following these steps.



4. Fill a clean sample cell with 25 mL of sample.

Note: Filter highly turbid or colored samples. Use filtered sample in this step and Step 7.

* Adapted from *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*
** Procedure is equivalent to USEPA method 375.4 for wastewater.

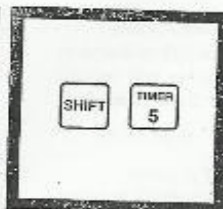
SULFATE, continued



5. Add the contents of one SulfaVer 4 Sulfate Reagent Powder Pillow to the sample cell (the prepared sample). Swirl to dissolve.

A white turbidity will develop if sulfate is present.

Accuracy is not affected by undissolved powder.

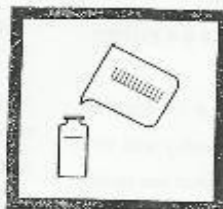


6. Press:

SHIFT TIMER

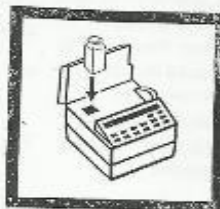
A 5-minute reaction period will begin.

Allow the cell to stand undisturbed.



7. When the timer beeps, the display will show: mg/L SO_4^{2-}

Fill a second sample cell with 25 mL of sample (the blank).



8. Place the blank into the cell holder. Close the light shield.

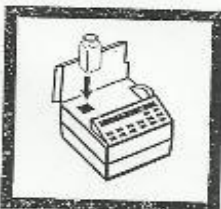


9. Press: **ZERO**

The display will show:

Zeroing...

then: 0. mg/L SO_4^{2-}



10. Within five minutes after the timer beeps, place the prepared sample into the cell holder. Close the light shield.



11. Press: **READ**

The display will show:

Reading...

then the results in mg/L SO_4^{2-} will be displayed.

Note: Clean the sample cells with soap and a brush.

VALEURS DO TESTS ELISA POLIO

date manipulation: 05-01-2010
 technicien(ne): Romou Julien et M^e France

Kit Lot No. _____
 Validé par: _____

Sample/Control Arrangement & Results:

Sample/ Control	Strip No.	Polio Type: <u>PV2 SL</u>				Validity anti-Total /controls	O.D. Ratio		Interpret ation
		Blank	Total	NSL	SL		NSL/SL	SL/NSL	
		1	2	3	4				
A	C+SL	0,044	2,661	0,126	1,414		0,089	11,222	
B	C+NSL	0,045	2,483	1,389	0,151		12,509	0,079	
C	2,220	0,047	1,704	0,170	0,788		0,215	4,635	PV2SL
D	2,271	0,045	2,030	0,214	0,579		0,218	4,574	PV2SL
E	031	0,046	2,463	0,146	1,215		0,120	8,321	PV2SL
F	048	0,046	2,323	0,139	1,115		0,124	8,021	PV2SL
G									
H									

Sample/ Control	Strip No.	Polio Type:				Validity anti-Total /controls	O.D. Ratio		Result/ Interpret ation
		Blank	Total	NSL	SL		NSL/SL	SL/NSL	
		5	6	7	8				
A									
B									
C									
D									
E									
F									
G									
H									

Sample/ Control	Strip No.	Polio Type:				Validity anti-Total /controls	O.D. Ratio		Result/ Interpret ation
		Blank	Total	NSL	SL		NSL/SL	SL/NSL	
		9	10	11	12				
A									
B									
C									
D									
E									
F									
G									
H									

MULTISCREEN EX
 PRIMARY EIA
 D 2.3
 ABSORBANCE MODE
 CONTINUOUS MOVEMENT
 FILTER 450
 ABSORBANCES
 06. JAN 2010 01:05:33

B 1 T 2 NSG
 A 0.044 2.661 0.126 C+SL
 B 0.045 2.483 1.000 C+NSL
 C 0.047 1.704 0.170 2220
 D 0.045 2.030 0.214 221
 E 0.046 2.463 0.146 031
 F 0.046 2.323 0.139 048
 G 0.050 0.054 0.051
 H 0.069 0.090 0.075

SL 4 5 6
 A 1.414 0.001 0.001 C+SL
 B 0.151 0.001 0.001 C+NSL
 C 0.788 0.001 0.001 2210
 D 0.979 0.001 0.001 1111
 E 1.215 0.001 0.001 031
 F 1.115 0.001 0.001 048
 G 0.055 0.001 0.001
 H 0.088 0.001 0.001

7 8 9
 A 0.001 0.001 0.001
 B 0.001 0.001 0.001
 C 0.001 0.001 0.001
 D 0.001 0.001 0.001
 E 0.001 0.001 0.001
 F 0.001 0.001 0.001
 G 0.001 0.001 0.001
 H 0.001 0.001 0.001

10
 A 0.001
 B 0.001

ANNEXE 6

Matériel pour analyses virologiques

Concentration des virus par la méthode de séparation en 2 phases

Equipement, matériel

Les équipements et matériels nécessaires à la réalisation de cette étude sont :

- une hôte a flux laminaire (Poste de sécurité microbiologique de niveau 2)
- une centrifugeuse réfrigérée a +4⁰C
- une balance de précision Balance
- six entonnoirs avec robinet ou ampoules à décanté
- six Erlenmeyers
- un pH-mètre
- une autoclave
- un agitateur magnétique

Réactifs

- Les réactifs pour 4 x 0.5 litre échantillons nécessaires sont:
 - de la Pénicilline et de la Streptomycine (aux concentrations 100IU/ml et 100 mg/ml respective)
 - du Dextran /40 g Dextran T40 (Amersham – Pharmacia; products of other) (22% (w/w))
 - de l'eau distillée (142 ml)
 - de l'eau distillée (888 ml)
 - du NaCl (150 ml 5N)
 - du NaOH (1N) HCl (1N)
 - du PEG6000 (Fluka AG) (363 g), PEG 6000 (29% (w/w))

Cultures cellulaires

Equipement, matériel

Les équipements et matériels nécessaires à la réalisation de ces tests sont:

- une hôte a flux laminaire (Poste de sécurité microbiologique de niveau 2),
- une balance de précision,
- des pipettes stériles 1 ml, 10 ml et 25ml,
- une aide pipette
- des boites de cultures stériles de 25 cm², 75 cm² (avec monocouche confluent de L20B, RD, Hep2c, BgM)
- des tubes de culture, 18×125 mm
- des cryotubes de 2ml et 4ml
- un microscope inversé
- un agitateur magnétique agitateur de type vortex
- un compteur de cellules
- des cellules hématimétriques de NEUBAUER

Réactifs

Les réactifs nécessaires pour la réalisation de ces tests sont:

- du bleu trypan
- de l'eau distillée
- du PBS sans calcium et magnésium
- de la Trypsine

- du milieu de croissance MEM
- du rouge de phénol

Typage et titrage

Équipement, matériel

Les équipements et matériels nécessaires à la réalisation de ces tests sont:

- un poste de sécurité microbiologique de niveau 2
- un Vortex
- une aide pipette
- une étuve à 37⁰C
- des microplaques de 96 cupules
- des tubes à hémolyse stériles
- un distributeur eppendorf
- des combitips de 2,5ml
- des combitips de 5ml
- des pipettes stériles de 1ml ou 2ml
- des portoirs à glace
- de la glace pillée
- des rubans adhésifs ou tésa
- des adhésifs autocollants pour microplaques

Réactifs

Les réactifs nécessaires pour la réalisation de ces tests sont:

- du MEM sans SVF
- des Pool d'antisérum préalablement reconstituée (pool polio, pool coxsackie, pool A, pool B, pool C, pool D, pool E, pool F, pool G)
- un diluant RPMI ou MEM

ELISA

Réactifs

Les réactifs nécessaires pour la réalisation de ces tests sont:

- le kit RIVM, composé de Bovine sérum, Rabbit sérum, Rabbit sérum adsorbé, souches de références (souches de références polio, types non infectieux 1,2 et 3, non-Sabin-like (NSL). Conservé à +4⁰C
- le conjugué
- une solution de lavage PBS-Tween (0,5 ml Tween 20 à 1 litre PBS)
- une solution de dilution (solution de lavage 5% SVF)
- une solution de dilution de blocage (acide sulfurique, 2N)
- une solution de TMB
- du Tampon carbonate à pH 9,5
- du Tampon acétate de sodium à pH 5,5

PCR

Equipement et matériel d'étude

Les équipements et matériels nécessaires à la réalisation de ces tests sont:

- une microcentrifugeuse
- un dispositif de prise de photo
- un dispositif pour préparation et électrophorèse vertical de mini-gels de polyacrylamide
- un générateur d'électrophorèse
- un Thermocycleur (BIO-RAD DNA Engine, Peltier thermalcycler)
- un agitateur de type vortex

Matériel biologique

- un stock de virus de titre élevé amplifiés sur cellule RD est placé à -80°C

Réactifs

Les réactifs nécessaires pour la réalisation de ces tests sont:

- de l'acétate de sodium
- des amorces HeptaN (1 μl à 100 $\mu\text{g/ml}$),
- de l'AMVRT (Promega) (5 U/ μl d'enzyme),
- de l'avian myeloblastosis virus reverse transcriptase (Boehringer Mannheim) (1.25 U);
- du bleu de bromophenol (bleu dépôt)
- du bromure d'éthidium
- du chloroforme: alcool isoamylique (24:1)
- du dATP, du dCTP, du dGTP et du dTTP (Pharmacia, Piscataway, N.J.) (100 μM (chacun));
- du dithiothreitol (10Mm) ;
- du dNTP (10 mM)
- du dNTPx (50 μl) (1 μl de solution à 10 mM)
- de la DTT (1 μl à 0,01M),
- de l'éthanol absolu à -20°C
- de l'eau ppi (40,75 μl)
- du Kcl (70mM);
- du Mgcl (25mM);
- PanPV et Pan EV (80pmol) ;
- du phénol saturé à l'eau à pH 4
- du placental RNase inhibitor (BOEHRINGER Mannheim Biochemicals, Indianapolis,Ind) (5u) ;
- du RNAsin (Roche) (20U/ μl)
- du Tris-Hcl (pH8, 3)
- du Taq DNA polymérase (perkin Elmer, Norwalk, Conn) (1.25U)
- du Tampon 5X AMVRT (Promega),
- du Tampon 10X + MgCl₂ (Q-Bio) (25mM),
- du Tampon TBE
- du TaQ DNA pol (Qiagen) (5U/ μl d'enzyme),
- du Temed
- du Persulfate d'ammonium

Les oligonucléotides

Amorces sélectionnées pour l'identification des entérovirus par RT-PCR, Toyoda *et al.* (1984), Yang *et al.* (1991,1992) et OMS 2004

Amorces	séquences des amorces	Taille des Amplicons
Amorce spécifique Pan-Enterovirus (PanEV)	5'-ACACGGACACCCAAAGTAGTCGGTTCC-3' 5'-TCCGGCCCCTGAATGCGGCTAATCC-3'	114 paires de base
Amorce spécifique Pan-Poliovirus* (PanPV)	5'-TTIAIIGCRTGICCRTRTT-3' 5'-CITAITCIMGITTYGAYATG-3'	79 paires de base

*Amorces dégénérés: M = A ou C; R = A ou G; Y = C ou T; I = Inosine

Amorces spécifiques sélectionnées pour typage des Poliovirus isolés par RT-PCR selon Yang *et al.* (1991) et OMS (2004)

Amorces spécifiques	Séquences spécifiques	Longueur des Amplicons
PV1 ,2S-Serotype 1* (Sero1)	5'-ATCATICTYTCIARCATYTG-3' 5'-TGCGIGAYACIACICAYAT-3'	70 paires de base
PV-Serotype 2* (Sero2)	5'-AYICCYTCIACIRCICCYTC-3' 5'-TGCGIGAYACIACICAYAT-3'	79 paires de base
PV-Serotype 3* (Sero3)	5'-CCIAIYTGITCRTTIGYRTC-3' 5'-AA YCCITCIRTITTYTAYAC-3'	140 paires de base

*Amorces dégénérés: M = A et C; R = A et G; Y = C et T; I = Inosine

Amorces sabin spécifiques RT-PCR utilisés dans la détection et la différenciation de sabin PV types 1 ,2 et 3 Selon Yang *et al.* (1991) et OMS (2004)

Amorces spécifiques	Séquences des amorces	Longueur des Amplicons
Sabin 1 (Sabins)	5'-TCCACTGGCTTCAGTGTT-3' 5'-AGGTCAGATGCTTGAAAGC-3'	97 paires de bases
Sabin 2 (Sabins)	5'-CGGCTTTGIGTCAGGC-3' 5'-CCGTTGAAGGGATTACTAAA-3'	71 paires de bases
Sabin 3 (Sabins)	5'-AGTATCAGGTAAGCTATCC-3' 5'-AGGGCGCCCTAACTTTG-3'	53 paires de bases

Amorces sabin spécifiques RT-PCR utilisés dans la détection et la différenciation de sabin PV types 1, 2 et 3 selon Yang *et al.* (1991) et OMS (2004)

Amorces spécifiques	Séquences des amorces	Longueur des Amplicons
Sabin 1 (Sabins)	5'-TCCACTGGCTTCAGTGTT-3' 5'-AGGTCAGATGCTTGAAAGC-3'	97 paires de bases
Sabin 2 (Sabins)	5'-CGGCTTTGTGTCAGGC-3' 5'-CCGTTGAAGGGATTACTAAA-3'	71 paires de bases
Sabin 3 (Sabins)	5'-AGTATCAGGTAAGCTATCC-3' 5'-AGGGCGCCCTAACTTTG-3'	53 paires de bases

Amorces utilisés pour l'identification moléculaire ENPV (RT-PCR 5'UTR) selon Zoll *et al.* (1992) ; Mamoru *et al.* (2002) et Bessaud *et al.* (2008) modifié

Amorces spécifiques	Séquences spécifiques	Longueur des Amplicons
amorce 1	5'CAAGCACTTCTGTTTCCCCGG-3'	[160-180]
amorce 2	5'TTGTCACCATAAGCAGCCA-3'	[580-599]

ANNEXE 7

Données pluviométriques

Données pluviométriques

Durant la période d'échantillonnages, nous avons enregistré 34 événements pluvieux pour une pluviométrie totale de 268,4 mm sur la ville Abidjan (Cote d'Ivoire).

La pluviométrie a été forte **au jour des prélèvements**, au mois de **novembre** avec **84,5 mm** sur 173,6 mm de pluie enregistré ce mois, contre **14,5mm** de pluie sur un total de 40,9 mm le mois de **décembre** et **3,4 mm** de pluie sur un total 53,9 mm le mois d'**octobre** 2008.

Aux dates des prélèvements, la pluviométrie était de **0,1 mm** lors de la première série de prélèvements sur 21,4 mm de pluie sur la période (Septembre-octobre), de **100,7 mm** à la deuxième série de prélèvements sur 217,4 mm de pluie sur la période (Octobre-Novembre-Décembre) et **1,8 mm** à la troisième série de prélèvements sur 11,9 mm de pluie sur la période (Décembre-Janvier) **tant dans le canal qu'en milieu lagunaire**.

Aux dates des prélèvements dans **le canal uniquement** à la deuxième série de prélèvements nous avons obtenu **77,4 mm** de pluie sur 194,3 mm sur la période, contre **0 mm** à la première série de prélèvements sur 13,5 mm de pluie sur la période et **1,8 mm** à la 3^{ème} série de prélèvements sur 11, 3 mm sur la période (Source : Sodexam).



Direction de la Météorologie Nationale
 15 B.P. 990 ABIDJAN 15
 TEL: (225) 21-58-30-06
 FAX: (225) 21-27-73-44

PLUVIOMETRIE JOURNALIERE (en mm)

ABIDJAN - AERO

AN	MOIS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	Total	JOURS
2008	GCT	0	0,2	0	0	0	0	1,8	11,7	0	0	0	0	0	1,4	3	3,7	0	0,1	0	0,9	0	0,2	0,4	0,5	0	3,3	0	0	0	13,1	13,6	53,6	14
2008	NOV	0,9	0,4	0	0,4	50	28,9	9,1	0	0	0	0	0	8,5	8,5	5,5	0	0	0	32,8	0	0,2	0	0	0	0	0	0	0	10,4	0	173,8	12	
2008	DEC	0	0	0	12,7	16,2	0	0	0	0	1,1	0	3,1	0,8	0,2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,1	0	0	0	0	0	6,8	40,9	8	



Annexe 8

Données relatifs à la population de Yopougon

INSTITUT NATIONAL DE LA STATISTIQUE



Répartition de la population de la Commune de Yopougon par quartier

Quartiers	Nombre de ménages	Effectif	%
Adiopo Doumé	2 482	11 745	1,71
Ancien Quartier (SICOGI)	7 029	45 614	6,63
Andokoi	8 848	43 258	6,29
Azito	333	1 479	0,21
Banco II	3 028	17 303	2,51
Béago	624	2 593	0,38
Camp Militaire	4 351	25 114	3,65
Gare - Sud SODECI - GEFI	10 849	62 044	9,01
Gesco Manutention	8 699	46 354	6,74
Ile Boulay	1 272	4 709	0,68
KM 17	77	456	0,07
Kouté Village	2 799	16 765	2,44
Mairie	6 957	43 480	6,32
Niangon Adjamé	582	3 072	0,45
Niangon Loko	1 333	6 145	0,89
Niangon Nord	3 302	22 636	3,29
Niangon Sud	9 401	57 348	8,33
Nouveau Quartier Sopim Banco	4 250	28 703	4,17
Port - Bouët II	10 523	50 816	7,38
SIDECI - SICOGI Location Vente LEM	12 673	59 746	8,68
SOGEFIHA - KOUTE - MUNICIPALITE	4 804	24 820	3,61
Toit Rouge	7 938	41 497	6,47
Yopougon Attié	4 652	26 579	3,86
Yopougon Santé	4 394	21 080	3,06
Zone Industrielle	3 864	19 859	2,89
Non Défini	349	2 020	0,29
TOTAL	125 413	688 235	100,00

Taux de Croissance. 6,20.