



MEDITERRANEAN ACTION PLAN
MED POL

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME



WORLD HEALTH ORGANIZATION

**ASSESSMENT OF THE STATE OF MICROBIOLOGICAL
POLLUTION OF THE MEDITERRANEAN SEA**

**EVALUATION DE L'ETAT DE LA POLLUTION
MICROBIOLOGIQUE DE LA MER MEDITERRANEE**

MAP Technical Reports Series No. 108

Note: The designations employed and the presentation of the material in this document do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of UNEP or WHO concerning the legal status of any State, Territory, city or area, or of its authorities, or concerning the delimitation of their frontiers or boundaries.

The first version of this document was prepared by Dr Louis Saliba. The overall technical responsibility was entrusted to WHO (Responsible Officer: Dr G. Kamizoulis).

Note: Les appellations employées dans ce document et la présentation des données qui y figurent n'impliquent de la part du PNUE ou de l'OMS aucune prise de position quant au statut juridique des états, territoires, villes ou zones, ou de leurs autorités, ni quant au tracé de leurs frontières ou limites. La première version du document a été préparée par Dr Louis Saliba. L'OMS a été chargée de la responsabilité technique de l'ouvrage (Responsable pour l'OMS: Dr G. Kamizoulis).

© 1996 United Nations Environment Programme
P.O. Box 18019, Athens, Greece

ISBN 92-807-1615-8

This publication may be reproduced in whole or in part and in any form for educational or non-profit purposes without special permission from the copyright holder, provided acknowledgement of the source is made. UNEP would appreciate receiving a copy of any publication that uses this publication as a source.

No use of this publication may be made for resale or for any other commercial purpose whatsoever without prior permission in writing from UNEP.

For bibliographic purposes this volume may be cited as:

UNEP/WHO: Assessment of the state of microbiological pollution of the Mediterranean Sea. MAP Technical Reports Series No. 108 UNEP, Athens, 1996.

Pour des fins bibliographiques, citer le présent volume comme suit:

PNUE/OMS: Evaluation de l'état de la pollution microbiologique de la mer Méditerranée. MAP Technical Reports Series No. 108 UNEP, Athens, 1996.



MEDITERRANEAN ACTION PLAN
MED POL

UNITED NATIONS ENVIRONMENT PROGRAMME



WORLD HEALTH ORGANIZATION

**ASSESSMENT OF THE STATE OF MICROBIOLOGICAL
POLLUTION OF THE MEDITERRANEAN SEA**

**EVALUATION DE L'ETAT DE LA POLLUTION
MICROBIOLOGIQUE DE LA MER MEDITERRANEE**

MAP Technical Reports Series No. 108

This volume is the one hundred and eighth of the Mediterranean Action Plan Technical Reports Series.

This series will collect and disseminate selected scientific reports obtained through the implementation of the various MAP components: Pollution Monitoring and Research Programme (MED POL), Blue Plan, Priority Actions Programme, Specially Protected Areas, Regional Marine Pollution Emergency Response Centre for the Mediterranean Sea, Environment Remote Sensing and Protection of Historic Sites.

Ce volume constitue le cent huitième de la série des Rapports techniques du Plan d'action pour la Méditerranée.

Cette série permettra de rassembler et de diffuser certains des rapports scientifiques établis dans le cadre de la mise en oeuvre des diverses composantes du PAM: Programme de surveillance continue et de recherche en matière de pollution (MED POL), Plan Bleu, Programme d'actions prioritaires, Aires spécialement protégées, Centre régional méditerranéen pour l'intervention d'urgence contre la pollution marine accidentelle, Centre méditerranéen de télédétection et Protection des sites historiques.

EXECUTIVE SUMMARY

A considerable number of species and strains of pathogenic microorganisms, including mainly bacteria and viruses, but also fungi and protozoa, are known to be present in varying degrees of population density in Mediterranean coastal waters. Some of these are endemic in a number of Mediterranean areas. A number of algal species producing biotoxins affecting man mainly through consumption of contaminated shellfish have also been identified in various parts of the Mediterranean, and are posing a risk in areas where local conditions lead to eutrophication and the development of algal blooms.

The diseases and disorders associated with infection by such pathogenic organisms have been recorded both among local Mediterranean populations and among tourists visiting the region. Except under specific circumstances, however, it is difficult to link infection with bathing in polluted coastal marine areas, or consumption of contaminated shellfish, as practically all such diseases and disorders can result from causes other than marine pollution. In the case of a number of non-gastrointestinal diseases contracted through bathing, it is being recognized that the cause may be high bather density rather than polluted seawater.

In conformity with global practice, the rationale for developing and enforcing seawater and shellfish quality criteria and standards in all Mediterranean countries is through the establishment of upper concentration limits of one or more bacterial indicator organisms as an index of acceptability or otherwise. Criteria and standards for bathing waters vary in the different countries, most of them being based either on the interim criteria for bathing waters adopted by the Contracting Parties to the Barcelona Convention and Protocols in 1985, or on the 1975 EC Directive on the quality of bathing waters. There is a similar variation between the different national criteria and standards for shellfish waters.

Records for bathing water monitoring for the period 1983 to 1992 from thirteen Mediterranean countries submitting their data to MED POL and assessed on the basis of conformity with the 1985 interim criteria for bathing waters appear to show reasonable microbiological quality, but cannot be properly evaluated owing to non-compliance with the stipulated monitoring frequency. These records, however, are known to present an incomplete picture of actual monitoring programmes in at least some Mediterranean states. On the other hand, the quality of bathing waters in the four Mediterranean EC Member States, assessed on the basis of compliance with the guide values of the 1975 EC bathing water Directive, show a positive trend over the last few years, probably as a result of improved wastewater management practices. The two sets of criteria and standards are not directly comparable. In the case of shellfish waters, no monitoring data is available since the completion of the first phase of MED POL in 1981.

Recent international epidemiological data have cast doubts on the validity of current indicator bacteria as an accurate index of pathogen presence and density, in view of the longer survival of the latter in seawater and shellfish and greater resistance (particularly in the case of viruses) to conventional sewage treatment, as compared to the former. The results of the studies in question have also accentuated the need for reliance on multiple, as opposed to single, indicator bacteria, supplemented by monitoring for the more serious pathogens at appropriate times. There is now sufficient data on the basis of which criteria and standards of a more permanent nature than the interim ones adopted in 1985 can be developed, in order to ensure adequate health protection for both local populations and tourists using coastal marine recreational amenities. In view of the lack of data, the matter of shellfish requires further study.

While the general situation can be said to have improved to a variable extent over the Mediterranean region, an acceleration of effort in achieving those targets listed in the 1985 Genoa Declaration related to the establishment of sewage treatment plants and submarine outfall structures is necessary in order to further reduce marine pollution and its resultant threats to human health.

RESUME A L'INTENTION DES DECIDEURS

On sait qu'un nombre considérable d'espèces et de souches de microorganismes pathogènes, comprenant principalement des bactéries et des virus mais aussi des champignons et des protozoaires, se rencontrent à divers degrés de densité de population dans les eaux côtières de la Méditerranée. Certaines d'entre elles sont endémiques dans bon nombre de zones méditerranéennes. Plusieurs espèces d'algues produisant des biotoxines affectant l'homme, surtout après consommation de coquillages contaminés, ont été identifiées en diverses parties de la Méditerranée et font courir un risque dans les zones où des conditions locales entraînent un état d'eutrophisation et l'apparition de proliférations anormales d'algues.

Des maladies et troubles associés à une infection par ces organismes pathogènes ont été enregistrés parmi les populations locales méditerranéennes et parmi les touristes séjournant dans la région. Toutefois, sauf dans des conditions bien précises, il est difficile d'établir un lien entre d'une part l'infection et d'autre part la baignade dans des zones marines côtières polluées ou la consommation de mollusques/crustacés contaminés, vu que presque toutes ces maladies et troubles peuvent être imputables à des causes autres que la pollution marine. Dans le cas de plusieurs affections gastro-intestinales contractées lors de la baignade, il est admis qu'on peut les attribuer à l'affluence des baigneurs plutôt qu'à l'eau de mer polluée.

Conformément à la pratique adoptée au plan international, la mise au point et l'application effective de critères et normes de qualité à l'eau de mer et aux mollusques/crustacés reposent essentiellement sur la fixation des concentrations supérieures limites d'un ou plusieurs organismes indicateurs bactériens comme indice d'acceptabilité ou non. Les critères et normes pour les eaux de baignade varient selon les pays, la plupart d'entre eux se fondant soit sur les critères provisoires pour les eaux de baignade adoptés par les Parties contractantes à la Convention de Barcelone et aux Protocoles en 1985, soit à la directive CEE de 1975 sur la qualité des eaux de baignade. On relève des variations semblables entre les divers critères et normes nationales applicables aux eaux conchylicoles.

Les relevés de la surveillance continue des eaux de baignade pour la période allant de 1983 à 1992 dans treize pays méditerranéens soumettant leurs données dans le cadre du MED POL, appréciés sur la base de leur conformité aux critères provisoires de 1985 pour les eaux de baignade, font ressortir une qualité microbiologique acceptable, mais ils ne peuvent faire l'objet d'une évaluation convenable étant donné qu'ils ne répondent pas aux prescriptions concernant la fréquence d'échantillonnage. Et il est notoire que ces relevés n'offrent qu'une image imparfaite de véritables programmes de surveillance, du moins dans certains pays méditerranéens. En revanche, la qualité des eaux de baignade dans les quatre pays méditerranéens membres de l'UE, évaluée en fonction de leur conformité aux valeurs guides de la directive CEE de 1975 sur les eaux de baignade, présente une tendance positive pour ces dernières années, probablement par suite d'une amélioration des pratiques de gestion des eaux usées. Les deux ensembles de critères et normes ne sont pas directement comparables. En ce qui concerne les eaux conchylicoles, aucune donnée n'est disponible depuis l'achèvement de la première phase du MED POL en 1981.

Des données épidémiologiques internationales récentes mettent en question la validité des indicateurs bactériens actuels comme indice précis de la présence et de la densité des agents pathogènes, compte tenu de la survie plus longue de ces derniers dans l'eau de mer et les mollusques/crustacés ainsi que de leur plus grande résistance (notamment pour les virus) au traitement classique des eaux usées, par comparaison avec les premiers. Les résultats des études en question ont aussi fait davantage ressortir la nécessité de se fonder sur des indicateurs bactériens multiples plutôt que sur un seul, et de compléter cette surveillance des

indicateurs par celle des agents pathogènes les plus préoccupants aux moments voulus. On dispose maintenant de données suffisantes sur la base desquelles on peut mettre au point des critères et des normes d'une nature plus durable que les critères et normes provisoires adoptés en 1985, en vue d'assurer une protection sanitaire suffisante aussi bien des populations locales que des touristes fréquentant les zones marines côtières à usage récréatif. En ce qui concerne les mollusques/crustacés, le manque de données appelle des études plus poussées.

Si l'on peut dire que la situation générale s'est améliorée à un degré variable dans la région méditerranéenne, il est impératif, pour réduire encore la pollution marine et les risques qui en résultent pour la santé humaine, d'intensifier les efforts visant à atteindre les objectifs assignés par la Déclaration de Gênes de 1985 concernant la mise en place de stations d'épuration des eaux usées et d'émissaires sous-marins.

**ASSESSMENT OF THE STATE OF MICROBIOLOGICAL
POLLUTION OF THE MEDITERRANEAN SEA**

TABLE OF CONTENTS

	Page
1. INTRODUCTION AND BACKGROUND	1
2. THE ORIGIN OF MICROBIOLOGICAL POLLUTION OF THE MEDITERRANEAN SEA	6
2.1 Sources of pollution	6
2.2 Dispersion and fate of microorganisms in the Mediterranean marine environment	8
3. PATHOGENIC MICROORGANISMS IN THE MEDITERRANEAN MARINE ENVIRONMENT	17
3.1 General considerations	17
3.2 Bacteria	18
3.3 Viruses	25
3.4 Other microparasites	29
3.5 Fungi	30
3.6 Toxic algae	30
4. MICROBIOLOGICAL CRITERIA AND STANDARDS FOR MEDITERRANEAN COASTAL AREAS	34
4.1 Existing international provisions for coastal recreational areas	36
4.2 Existing national provisions for coastal recreational areas	43
4.3 Existing international provisions for shellfish areas	47
4.4 Existing national provisions for shellfish areas	53
5. THE STATE OF MICROBIOLOGICAL POLLUTION OF MEDITERRANEAN SENSITIVE COASTAL AREAS	58
5.1 The state of coastal recreational areas	58
5.2 The state of shellfish areas	71

	Page
6. HEALTH RISKS FROM POLLUTED RECREATIONAL AND SHELLFISH AREAS IN THE MEDITERRANEAN	75
6.1 General health risks	75
6.2 Diseases and disorders	77
6.3 Correlation between recreational water quality and health effects	78
6.4 Correlation between shellfish quality and health effects	84
6.5 Public health implications	86
7. CONCLUSIONS	89
7.1 Analysis of the current Mediterranean situation	89
7.2 Recommended action	95
REFERENCES	101

PART 1

INTRODUCTION AND BACKGROUND

1-1. The steady process of deterioration of the state of the Mediterranean Sea as a result of continuous pollution, particularly in coastal areas, first started to draw attention, and to give rise to a certain amount of concern, during the late 1960s. One of the main causes was identified as the considerable amount of largely-uncontrolled coastal discharges of untreated or partially-treated municipal and industrial wastes. Although early reports, coming mainly from oceanographic cruises and expeditions, tended to highlight depletion of marine life and the destruction of natural marine habitats and ecosystems, it became increasingly apparent that the situation created an equal, if not greater, threat to human health, both through bathing in polluted coastal seawater and through consumption of microbiologically or chemically contaminated seafood.

1-2. By the early 1970s, a considerable amount of data on various aspects of Mediterranean pollution had already been recorded. Early studies on those aspects of pollution having a direct or indirect bearing on human health consisted, in the main, in the measurement of concentrations of various bacteria (mainly the orthodox indicators of sewage pollution) in coastal bathing and shellfish areas, and of a number of organic and inorganic chemicals in various species of seafood. Some of these studies were performed as part of international programmes, others on an institutional or individual basis. By and large, studies were uncoordinated, and also showed a considerable geographical imbalance from the viewpoint of the region as a whole. The situation attracted the attention of the major United Nations Agencies, which immediately recognised the need for a properly-balanced region-wide programme in order to reach a reasonably-accurate estimate on the actual state of pollution of the Mediterranean Sea. This would enable actual and potential threats to both human health and marine life to be more specifically identified and quantified, and data obtained would provide national authorities with the basis for development and implementation of appropriate preventive and remedial measures.

The framework for pollution assessment and control

1-3. By the end of 1974, such a programme - the Joint Coordinated Mediterranean Pollution Monitoring and Research programme (MED POL) - had been developed jointly by the United Nations Environment Programme (UNEP), the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), the World Health Organization (WHO), the United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization (UNESCO), the Intergovernmental Oceanographic Commission (IOC), the World Meteorological Organization (WMO) and the International Atomic Energy Agency (IAEA). During the first Intergovernmental Meeting on the Protection of the Mediterranean (Barcelona, 28 January to 4 February 1975) this programme was formally approved by the governments of the region within the overall framework of a more comprehensive venture - the Mediterranean Action Plan - which included two other main components consisting of a set of regional legal instruments to bind Mediterranean States to individual or joint action with regard to various aspects of pollution prevention and control, and a socio-economic programme designed to link developmental processes with environmental preservation. (UNEP, 1975).

1-4. In February 1976, also in Barcelona, Mediterranean States adopted and signed the Convention for the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution, along with two protocols dealing respectively with pollution from dumping by ships and aircraft, and cooperation in pollution emergencies (UNEP, 1978). Article 8 of the Convention stipulates that Contracting Parties shall take all appropriate measures to prevent, abate and combat pollution of the Mediterranean Sea area caused by discharges from rivers, coastal establishments or outfalls, or emanating from any other land-based sources within their territories. In conformity with the terms of this article, preparations already in progress were continued towards the development of a further protocol on pollution from land-based sources, which was recognised as the greatest problem, and within the framework of which control measures against both microbiological and chemical pollution could eventually be taken.

1-5. The Protocol for the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution from Land-based Sources was adopted and signed in Athens on 17 May 1980. Under the terms of Article 7.1 of the Protocol (UNEP, 1980), Contracting Parties are bound to progressively formulate and adopt, in cooperation with the competent international organizations, common guidelines and, as appropriate, standards or criteria dealing in particular with a number of aspects, including the quality of seawater used for specific purposes that is necessary for the protection of human health, living resources and ecosystems. The Protocol came into force on 17 June 1983 and, as originally adopted, contained three annexes, the first listing substances pollution by which had to be progressively eliminated, the second listing substances and sources pollution by which had to be reduced, and the third listing the factors to be considered in the granting or otherwise of discharge authorizations. Pathogenic microorganisms were included as an item in Annex II.

1-6 The 1976 Convention and the 1976 Dumping Protocol, together with a Protocol concerning Mediterranean Specially Protected Areas which had been adopted and signed in 1982, were amended by the Ninth Ordinary Meeting of the Contracting Parties, held in Barcelona from 5 to 8 June 1995 (UNEP, 1995b), and the instruments, as amended, were formally adopted by an *ad hoc* Meeting of Plenipotentiaries convened, also in Barcelona, from 9 to 10 June 1995 (UNEP, 1995c). In conformity with the general trend of updating the Convention and Protocols, two meetings of legal and technical experts were convened by UNEP in Syracuse from 4 to 6 May 1995 and from 3 to 4 March 1996 respectively to examine proposed amendments to the 1980 Athens Protocol. (UNEP, 1995a, 1996a). Following agreement at this level on a number of issues, including consolidation of Annexes I and II into one annex, which also includes a list of terrestrial activities linked with marine pollution, amendments to the 1980 Land-based Sources Protocol were formally adopted and signed during a Conference of Plenipotentiaries convened by UNEP in Syracuse from 6 to 7 March 1996, the new title of the Protocol becoming "Protocol for the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution from Land-based Sources and Activities". (UNEP, 1996b). The respective amendments to all these legal instruments are expected to come into force shortly.

1-7. A meeting of experts on the technical implementation of the Protocol for the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution from Land-based Sources was convened by UNEP in Athens from 9 to 13 December 1985 (UNEP, 1985b). The meeting approved a workplan and timetable for the progressive implementation of the Protocol, which included the phased preparation of assessments of the state of pollution of the Mediterranean Sea by the substances listed in Annexes I and II to the Protocol, together with proposed control measures on the basis of such assessments. It was agreed that assessment documents should include, *inter alia*, chapters on:

- (a) sources, points of entry, and amounts of pollutants from industrial, municipal and other discharges into the Mediterranean Sea;
- (b) levels of pollution
- (c) effects of pollution
- (d) present legal, administrative and technical measures at national and international levels.

Microbiological pollution of the Mediterranean Sea

1-8. The problem of microbiological pollution in the marine environment of the region was specifically recognised by Mediterranean states when adopting the MED POL programme in 1975. One particular pilot project within this component of the Action Plan (FAO/UNESCO/IOC/WHO/WMO/IAEA/UNEP, 1983), entitled "Coastal Water Quality Control" (MED POL VII) entailed the regular monitoring by designated Mediterranean national institutions of coastal recreational waters, shellfish-growing waters and shellfish flesh, the main parameters being microbiological. Thirty institutions from fourteen Mediterranean countries participated in the pilot project, which was coordinated by the World Health Organization. During the course of the pilot project, desirable environmental quality criteria for both recreational and shellfish-growing waters were elaborated by participants, with a view to their eventual proposal for adoption by Mediterranean Governments.

1-9. The Intergovernmental Review Meeting of Mediterranean Coastal States and the First Meeting of the Contracting Parties to the 1976 Convention (Geneva, 5-10 February 1979) recommended (UNEP, 1979) that:

"Work should be continued on the development of the scientific rationale for the criteria applicable to the quality of recreational waters, shellfish-growing areas, waters used for aquaculture and seafood. Based on this rationale, and taking into account existing national provisions and international arrangements and agreements, the criteria should be formulated on a scientific basis and submitted to the Governments and the EEC for their consideration".

1-10. The first or pilot phase of the MED POL programme was concluded in 1981. The Second Meeting of the Contracting Parties to the Convention for the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution and its related Protocols, held in Cannes from 2 to 7 March 1981 (UNEP, 1981), approved the second phase of the programme, now termed the Long-term Programme of Pollution Monitoring and Research in the Mediterranean Sea (MED POL Phase II). Originally designed to cover the period 1981-1990, the programme was later extended until the end of 1995. The monitoring component of the programme (UNEP, 1983) included microbiological monitoring of recreational and shellfish areas within the framework of national marine pollution monitoring programmes to be upgraded or established. The research component included three activities wholly or partially devoted to microbiological pollution. The first of these activities, entitled "Development and testing of sampling and analytical techniques for monitoring of marine pollution", provided for the upgrading of microbiological methodology in current use, and the developing of standard methods for determination of microbiological parameters (particularly pathogens) for which no methods appropriate for Mediterranean

conditions were then available. A considerable number of such methods were, in fact, developed during the course of MED POL Phase II. The second activity, entitled "Biogeochemical cycles of pollutants", included a sub-activity on survival of pathogens, on which several studies were performed during the same period. The third activity was entitled "Epidemiological studies related to the confirmation or possible revision of the proposed environmental quality criteria (standards of use) of bathing waters, shellfish-growing waters and edible marine organisms". A number of studies performed within the framework of this activity aimed at finding a correlation between the microbiological quality of coastal recreational waters and observed health effects on exposed population groups. The first such study was initiated in 1982 and completed in 1986, and was followed by others throughout the course of the programme. However, shortage of funds resulted in all of them being necessarily small-scale.

Previous assessments of microbiological pollution of the Mediterranean Sea

1-11. In view of the fact that interim microbiological criteria for recreational and shellfish waters had already been prepared during the first phase of the MED POL programme, these were proposed to the Governments of the region within the framework of an assessment on the current state of microbial pollution of the Mediterranean Sea (UNEP/WHO, 1985) which was prepared by WHO mainly on the basis of monitoring data from the MED POL VII pilot project. The Fourth Ordinary Meeting of the Contracting Parties to the Convention and Protocols, held in Genoa from 9 to 13 September 1985 (UNEP, 1985a) decided to postpone the issue of shellfish waters and shellfish to a later date. Insofar as the recommendations regarding recreational waters were concerned, these were approved only in part, Contracting Parties adopting joint interim criteria for bathing waters based on maximum acceptable concentrations of only one indicator organism (faecal coliforms), instead of the two (faecal coliforms and faecal streptococci) proposed. Details of the proposals and the interim criteria for recreational waters adopted are contained in Part 4 of this document.

1-12. At their Fifth Ordinary Meeting, held in Athens from 8 to 11 September 1987, (UNEP, 1987), Contracting Parties adopted environmental quality criteria for shellfish waters, proposed on the basis of a revised assessment (UNEP/WHO, 1987) prepared by WHO on the recommendations of a meeting of experts convened by that Organization earlier that year (WHO/UNEP, 1987), which had the task of preparing alternative proposals to those submitted in 1985. The criteria recommended, and eventually adopted, were limited to shellfish waters, and were identical with the relevant EEC Directive on the subject (EEC, 1979). In this context, it was understood that the scope of the resolution in question, the operative parts of which are given in Part 4 of this document, was only designed to cater for acceptability of marine areas for shellfish growing and harvesting, and did not in any way intrude on acceptability of the shellfish for human consumption, which aspect would continue to be handled by appropriate public health or related legislation in the various countries (WHO, 1989).

1-13. The first *ad hoc* assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by pathogenic microorganisms was prepared by WHO in 1991 (UNEP/WHO, 1991), and submitted to the seventh ordinary meeting of the Contracting Parties to the Barcelona Convention and Protocols (UNEP, 1991). Except for a brief review of the situation regarding temporal trends in concentrations of bacterial indicator organisms in coastal (mainly recreational) waters on the basis of an interim review of MED POL Phase II monitoring data (UNEP, 1989) and data from Mediterranean States contained in annual EEC reports on bathing waters, the document concentrated on pathogenic microorganisms recorded in the Mediterranean, their source,

dispersal and fate, and on microbiological/epidemiological studies conducted to date on the correlation between coastal water quality and health effects on exposed population groups. A number of recommendations on data acquisition through monitoring and research were made. It was not, however, recommended that, at that particular stage in time, any formal action be taken to amend the current interim microbiological criterion for acceptability of bathing waters, even on a further interim basis, as the global situation regarding the validity of the several bacterial indicators in current use was in a state of flux.

Scope of the present document

1-14. In approving and adopting the workplan and time-table for the progressive implementation of the Protocol for the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution from Land-based Sources, it was understood by the Contracting Parties that any particular item should be updated as appropriate. In view of the relative importance of microbiological pollution of coastal areas, and the facts that (a) the interim criteria for bathing waters and the environmental quality criteria for shellfish areas were now ten and eight years old respectively, (b) a considerable amount of MED POL monitoring and related data, mainly concerning recreational waters, were available for evaluation and interpretation, (c) there have been recent advance in the field of epidemiological studies correlating recreational water quality and health effects, and (d) a number of bathing water quality standards, including international ones, are in the process of revision, it has been considered that a comprehensive and updated review of the situation is due, with a view to the improvement of current prevention and control measures.

1-15. The recent amendments made to the 1976 Barcelona Convention on the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution (UNEP, 1995b, 1995c) and to the 1980 Athens Protocol for the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution from Land-based Sources (UNEP, 1996b) in no way affect the importance accorded to the prevention and control of microbiological pollution of the Mediterranean Sea. In general terms, Article 8 of the revised version of the Convention further strengthens the importance accorded to land-based pollution, while in the new version of the Protocol, Article 7.1 remains unchanged and Pathogenic microorganisms retain their place in the new Annex I. Similarly, the revisions do not affect the general procedures for the preparation, development and adoption of any individual or joint measures designed to achieve this purpose.

1-16. The present document was prepared for the World Health Organization and the United Nations Environment Programme by a consultant (Dr L.J. Saliba, Malta), and was reviewed by a WHO/UNEP consultation on microbiological monitoring of recreational and shellfish-growing waters, held in Athens, Greece, from 29 November to 2 December 1995 within the framework of the MED POL Phase II programme. The present version of the document incorporates, or takes account of, as appropriate, the comments of this expert meeting. It follows the general lines of content and format agreed on for MED POL assessments, and attempts to consolidate and update all previous information on the state of microbiological pollution of the Mediterranean Sea with particular reference to coastal recreational and shellfish areas through the inclusion of monitoring and research data, drawn from national MED POL monitoring programmes, MED POL research projects, EC annual reports on bathing waters, and other national and international sources. Wherever appropriate, relevant data from previous documents has been included, either in the original or in an abridged form, as appropriate, to make the document more self-contained, and provide a better view of temporal trends. An overview of the current situation, together with recommendations for possible action, is also included.

PART 2

THE ORIGIN OF MICROBIOLOGICAL POLLUTION OF THE MEDITERRANEAN SEA

2.1 SOURCES OF POLLUTION

2-1. Pathogenic and other microorganisms enter the marine environment mainly through municipal wastewater discharges. As is the case in other regions, microbiological pollution of the Mediterranean Sea is principally the direct result of the discharge of untreated or partially-treated sewage into the immediate coastal zone. In this regard, on the basis of the results of a pilot project on pollutants from land-based sources in the Mediterranean, carried out in 1976-77 within the framework of the MED POL Phase I Programme, it was estimated that at least up to the late 1970s, over 80% of liquid municipal waste used to be discharged into the sea in the raw state (UNEP/ECE/UNIDO/FAO/UNESCO/WHO/IAEA, 1983). The same project provided an estimate of approximately $2 \times 10^9 \text{ m}^3$ /year for the total volume of wastewater discharges from coastal communities in the region. This figure has been considered as marginal compared to the estimated amount of $420 \times 10^9 \text{ m}^3$ /year of freshwater discharged by rivers. However, although rivers may add a considerable amount of microbiological pollution, mainly from upstream wastewater discharges, their actual relative contribution to pollution of the Mediterranean Sea by microorganisms (pathogenic and otherwise) has not been assessed, and it has been assumed that the high concentrations of microorganisms in wastewater discharges directly into coastal waters makes such discharges the major source of microbiological pollution reaching the Mediterranean Sea (UNEP/WHO, 1985).

2-2. During the fourth ordinary meeting of the Contracting Parties to the Barcelona Convention and Protocols in Genoa in September 1985, Mediterranean States adopted a formal Declaration (subsequently termed the Genoa Declaration) wherein they committed themselves to the achievement of a number of environmental targets during the second decade of operation (1986-1995) of the Mediterranean Action Plan. These targets included the establishment as a matter of priority of sewage treatment plants in all cities around the Mediterranean with more than 100,000 inhabitants, and appropriate outfalls and/or appropriate treatment plants for all towns with more than 10,000 inhabitants (UNEP, 1985a).

2-3. This target has only been partially achieved, but the general situation has improved considerably. An updated survey on pollutants from land-based sources in the Mediterranean was commenced in 1989. Owing to problems in the acquisition of the necessary data in a number of countries, this survey is not yet complete. Preliminary (unpublished) results available show that although there is an indication that the total volume of wastewater discharges has increased in global terms, due to new coastal development projects implemented during the past two decades, a significant amount of municipal wastewater, at least in some areas, now undergoes various stages of treatment prior to discharge. Data available from the survey show that, at the time of submission, in France, 87% of a total volume of municipal wastewater of 361×10^6 cubic metres per year was undergoing treatment prior to discharge. The figures for Slovenia are 82% of a total of $6.13 \times 10^6 \text{ m}^3$ per year, for Spain, 69% of a total of $589,29 \times 10^6 \text{ m}^3$ per year, for Croatia, 14% of a total of $71.44 \times 10^6 \text{ m}^3$ per year, and for Cyprus 12% of a total of $16.66 \times 10^6 \text{ m}^3$ per year. The figure for Cyprus will be considerably increased when a new treatment plant becomes operational. Information from other countries is either unavailable, or shows that still very little, if any, treatment of municipal wastewater is being carried out.

2-4. This, together with the number of new submarine outfalls constructed during the last decade in various parts of the Mediterranean, means that a certain proportion of wastewater is no longer being discharged in the immediate coastal zone, *i.e.* practically at the land/sea interface, as a result of which better dilution and dispersion is achieved. Guidelines for submarine outfall structures for Mediterranean small and medium-sized communities have recently been prepared and distributed (WHO/UNEP, 1994a). However, untreated or inadequately-treated sewage, and disposal of this into the immediate coastal marine environment through relatively short outfalls, in many cases at the coastline itself, still remains the main factor of concern in a number of Mediterranean areas, and will remain so until the targets set in Genoa in 1985 are fully achieved.

2-5. The atmosphere may also serve as a pathway for the entry of pathogenic and other microorganisms into the coastal marine environment. It has been stated (Brisou, 1976) that winds blowing from the continents towards the sea carry, *inter alia*, bacteria, viruses and parasites, and that rain facilitates the descent of these pollutants into rivers and oceans. One other possible source, which affects mainly coastal recreational areas, is bathers themselves. Recreational waters not affected by sewage effluent discharges can be contaminated with enteroviruses, and that the serotype found in the water is likely to be the same one predominating in concomitant human infections (Shuval, 1986). Therefore, bathing waters contaminated by the bathers themselves may at times serve as an effective route of transmission of some viral diseases. This could also apply to other bacterial and fungal infections (Papadakis *et al*, 1992), and it has been reported that skin counts of certain bacteria and fungi can increase after bathing, even if the water is unpolluted (Papapetropoulou and Sotiracopoulou, 1995). There is currently an increasing amount of evidence linking adverse health effects with bathing in high-population-density beaches, and the contribution of bathers themselves as a source of pollution of recreational waters by pathogenic microorganisms is a subject which calls for serious consideration (WHO/UNEP, 1995).

2-6. Apart from pathogenic microorganisms (principally bacteria, viruses and fungi) discharged into the marine environment in municipal sewage effluents or from other terrestrial sources, another group of naturally-occurring marine microorganisms, which can be considered as pathogenic through their ability to produce various toxins, to which man is exposed mainly through the consumption of contaminated shellfish, can pose a similar problem to human health when present in large numbers. These microorganisms, mainly dinoflagellate algae, constitute a phenomenon known as an algal bloom or a red tide when their concentration in seawater reaches levels of 10^4 to 10^6 cells per litre. While the environmental conditions under which these microorganisms are able to reproduce asexually at high rates does not yet appear to have been fully elucidated, the fact that red tides are essentially a coastal phenomenon indicates that terrestrial factors are at least partially responsible. Land drainage has been considered as playing a role in their initiation (WHO, 1984). It has also been considered that the size of algal blooms is in proportion to the magnitude of incoming nutrient masses through rivers (WHO, 1991). In a review of the problem, Shumway (1990) states that a number of factors are thought to enhance algal blooms, including nutrient enrichment (eutrophication), decreased grazing pressure, large-scale hydrometeorological changes, upwelling of nutrient-rich bottom water, heavy precipitation and run-off, and even the presence of previous blooms of other phytoplankton species.

2-7. Eutrophication can be defined as the process of enrichment of waters with plant nutrients, primarily nitrogen and phosphorus, that stimulates aquatic primary production. Apart from algal blooms (or red tides), its most serious manifestations are algal scum, enhanced benthic algal growth leading at times to massive growth of submerged and floating macrophytes (Vollenweider, 1968, 1981). Sometimes these manifestations are accompanied by, or alternate with, cycles of visible bacterial blooms (Aubert, 1988) and fungal development. Eutrophication as a water quality problem differs from pollution-related ones mainly in the increased difficulty in distinguishing the process of eutrophication caused by man from processes and phenomena that may also occur naturally. Although not its main cause, sewage and other forms of water pollution may directly or indirectly enhance or counteract eutrophication (Vollenweider *et al*, 1993). In this context, it has been stated (Shumway, 1990) that it has been firmly established that there is a direct correlation between the number of red tides and the extent of coastal pollution, particularly from sewage and some forms of industrial waste.

2-8. Marine eutrophication is mainly an inshore problem that affects lagoons, harbours, estuaries and coastal areas adjacent to river mouths. Major publicity has been accorded to the Northern Adriatic as a problem area but, in the Mediterranean as a whole, coastal marine areas and lagoons prone to eutrophication problems exist in practically every country (UNEP/FAO/WHO, 1995). No comprehensive estimate of the total nutrient load to the Mediterranean Sea as a whole appears to have been made, a lacuna difficult to fill because of the lack of exhaustive source and reliable input data for all the countries bordering the Mediterranean Sea. A provisional estimate of 590,000 to 1,070,000 tons nitrogen and 104,000 to 120,000 tons of phosphorus annually has recently been made (UNEP/FAO/WHO, 1995). Although the main body of the Mediterranean Sea as a whole is not yet seriously threatened by eutrophication, there are localized problems, which can be quite serious in their actual or potential socio-economic and sanitary impact on tourism, aquaculture, fisheries and other water uses and which, in the light of projected population increases, will be aggravated in future years unless the necessary remedial and preventive measures are taken (UNEP/FAO/WHO, 1995).

2.2 DISPERSION AND FATE OF MICROORGANISMS IN THE MEDITERRANEAN MARINE ENVIRONMENT

Dispersion

2-9. Seawater is not the natural environment for most of the microorganisms discharged in wastewater effluents, particularly those originating in the intestinal tract of humans and other warm-blooded animals. In the first assessment of the state of microbial pollution of the Mediterranean Sea (UNEP/WHO, 1985), it was explained that concentrations of the three major groups of indicator bacteria normally utilized for determining the state of pollution of the sea by sewage (total coliforms, faecal coliforms and faecal streptococci) would not remain unaltered in the receiving waters, but would progressively disappear. However, it was also stated that whether or not all the microorganisms discharged in wastewater effluents were permanently inactivated during the hours following their mixing with the receiving seawater was the subject of considerable debate and of continuing research. Over the past century, many studies have been carried out to estimate the fate of pathogenic microorganisms (viruses, bacteria, fungi and protozoa) and bacterial indicator organisms in estuaries and seawater through both field and laboratory observations and experiments. (WHO/UNEP, 1991).

2-10. Microorganisms contained in sewage are dispersed by the turbulence of diffusion where they are discharged into the sea. On discharge into seawater, they are rapidly adsorbed on to particles of every kind that float in the water. (plankton, mineral particles, assorted organic debris) and when routine counts are made, this adsorption results in an apparent diminution in the number of microorganisms per unit of volume of seawater (Brisou, 1976). These adsorbents are diluted, dispersed, flocculated, sedimented or carried back to the coast. The coarse particulate matter contained in sewage has a tendency to settle rapidly in seawater, fixing microorganisms which are adsorbed onto it. Although this process of sedimentation plays an important role in the vicinity of waste discharge points (Mitchell and Chamberlin, 1975; Geldreich, 1978), it does not appear to be an essential factor in microbial disappearance, considering the high bacterial concentrations detected in these waters. On the other hand, the fine particles undergo a diffusion process whereby they transport a large quantity of microorganisms with them (Gauthier, 1980; Mujeriego *et al*, 1982; Borrego, 1982).

2.11. The physicochemical processes of flocculation of microbial cells, and their subsequent sedimentation to the sea bottom, have also been considered as the mechanism responsible for the microbial enrichment of sediments in the areas surrounding wastewater discharges (Mitchell and Chamberlin, 1975). Natural turbulence and marine currents can become a plausible mechanism by which the contaminated sediments can be re-suspended, with the consequent impairment of the microbiological quality of the overlying seawater (Volterra and Aulicino, 1981; Velescu, 1983).

Adaptation and survival

2-12. The survival of enteric bacteria in the marine environment was originally considered as essentially of short duration, these bacteria supposedly being destroyed comparatively rapidly by an assembly of antagonistic factors including physical factors such as temperature and solar radiation, chemical factors such as salinity, heavy metals, pH and xenobiotics, and biological factors such as macropredators, lytic substances or antibiotics produced by marine bacteria, algae or fungi. The effects of each of these factors will be briefly discussed later in this part of the document. During the last two decades, it has been progressively recognised that these bacteria, instead of being destroyed, can be subjected to considerable stress from hostile factors, particularly under the conditions prevailing in the marine environment (essentially low temperature, high salinity and nutritional insufficiency). It has been demonstrated that these bacteria can evolve towards a viable but not cultivable state which could be irreversible. During the course of such evolution towards dormancy, the cells become subject to highly significant structural and metabolic modifications which render them progressively inert, and which are essentially attributed to food scarcity. In effect, a striking analogy exists between such evolution and that of autochthonous marine bacteria in oligotrophic waters (Gauthier, 1992b).

2-13. The capability of a microbial cell to adapt may be overcome by its contact with seawater, which constitutes a hostile environment, such contact resulting in physiological damage which may be either sublethal or so intensive that it causes the death of the cell. The physiological damage or stress exerted by the marine environment on the allochthonous microorganism can be studied by observing either the degree of structural disorganization in the microorganism, or its inability to carry out a determined metabolic function when grown in a selective medium. However, these stressed cells can develop in culture media which do not contain inhibitory substances (Romero and Borrego, 1991). The importance of the study of physiological damage to pathogenic cells is based on the non-detection of these cells in the performance of standard

microbiological tests which, in turn, are based on the examination of selective culture media (Hoadley, 1981).

2-14. Large variations in T_{90} values (the time taken for a 90% reduction in bacterial counts) are observed in different marine areas. These differences are attributable to very different environmental conditions (WHO, 1991). Salinity, natural light, temperature, dissolved substances and natural predators are among the factors known to affect the survival of these microorganisms in seawater. The saline content of seawater varies from 3.3 to 3.8%, while the most favourable habitat for allochthonous microorganisms requires a salinity level of close to 0.9%. This significant difference in salt concentration anticipates the sea water's ability to inactivate these microorganisms. Such inactivation may be achieved through osmotic shock or through the specific toxicity of the ions (Carlucci and Pramer, 1960). It is also commonly known that increase in cellular metabolism is dependent on temperature. The accelerated activity of microorganisms caused by this increase can produce a greater inactivation of the toxic factors in the water (Aubert and Aubert, 1969; Vasconcelos and Swartz, 1976). The effects of temperature depend closely on the organism tested. Some bacteria or viruses (e.g. *Salmonella typhi* and some coliphages) are more sensitive than others (e.g. *Shigella* species) to high temperatures. *Vibrio* species (*Vibrio cholerae*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahaemolyticus*) are very sensitive to low temperatures; they generally become undetectable in marine environments at temperatures below 15 to 18EC (WHO, 1991).

2-15. Because of the specific toxicity of some metallic ions to numerous organisms, they can exert a negative effect on the sewage flora in even remotely low concentrations (Jones, 1971; Jones and Cobet, 1975). Because of their ability to inactivate enzymatic systems, it appears that these ions, or complexes of heavy metals, form part of the sea water's purifying process. The amount of available nutrients is another factor. Seawater is an oligotrophic substrate as a nutritive source, with a low level of nutrients, organic matter being a limiting factor in the growth of polluting microorganisms (Savage and Haines, 1971; Sinclair and Alexander, 1984). On the other hand, the presence of organic substances originating from sewage in the water stimulates bacterial growth, thus intervening in partial compensation of the bactericidal effects of other negative factors. This, of course, is not the case for strict parasites such as viruses.

2-16. In particular, solar radiation has been identified as the single most important factor responsible for microbial inactivation, and the inactivating effect of light is proportional to the intensity of, and the time exposed to, radiation (Gameson & Gould, 1975), its effect being determined by the transparency and concentration of organic matter dissolved in water (Fujioka *et al*, 1981). The lethal effect of light increases with intensity; the T_{90} values for bacteria are generally 90 to 100-fold lower in the light than in the dark (WHO, 1991). It has been indicated that the sublethal injuries induced by solar radiation in the catalase enzyme system of *Escherichia coli* render the cells sensitive to otherwise innocuous peroxide concentrations (Kapuschinski & Mitchell, 1981). In these authors' experiments, although standard cultivation techniques did not allow recovery of all the stressed microbial cells, the addition of peroxide scavengers, and particularly the catalase enzyme itself, proved capable of recovering a considerable portion of the affected *E. coli* cells. Furthermore, light acts synergistically with salinity and, to some extent, temperature. Maximal lethal action is observed in water with high solar radiation, high salinity and high temperature (WHO, 1991).

2-17. However, these physico-chemical factors, due to their large ecological influence, could have a direct or indirect effect on microbial pathogens by enhancing growth. In addition, antagonistic or protective activity by other marine organisms (bacteria, plants or animals) is possible. Extrapolation from laboratory results to natural environments is somewhat hazardous; discrepancies observed between *in situ* and *in vitro* studies arise from the high complexity of natural conditions.

2-18. Furthermore, both *in situ* experiments and laboratory studies have shown the antagonistic activity of marine organisms on microbial pathogens. Sewage contains bacteriophages (bacterial viruses) of different microorganisms, which are also detected in seawater where the waste is discharged. Phages are strict parasites and usually kill bacterial cells, producing lysis plaques when the optimum conditions necessary for the growth of these bacteria occur. Because of these conditions, it is difficult to specify the degree of influence that phages exert on the process of seawater purification (Borrego, 1982). Another predator of bacteria, *Bdellovibrio bacteriovorus*, is widely distributed in soil, freshwater, seawater and sewage. However, it is difficult to determine its true ecological role (Starr and Seidler, 1971). Myxobacteria have the ability to hydrolyze insoluble molecules, or to lyse bacterial cells and use them as a substrate. The purifying action of these bacteria, which act mainly on dead bacterial cells, is well established (Verstraee and Voets, 1976). Protozoa play an efficient part, directly or indirectly, in the purification process, eliminating the organic matter and also the bacteria in the environment (Mitchell, 1971; McCambridge and McMeekin, 1980, 1981; Mallory *et al*, 1983). Naturally-occurring marine bacteria are generally better adapted than allochthonous microorganisms to the concentrations of nutrients found in their environment (Sinclair and Alexander, 1984). Thus, a competitive phenomenon for nutrients may occur in areas where the incidence of autochthonous flora is significant.

2-19. Several authors have indicated the importance of antibiotic substances in the water as inactivating agents of polluting microorganisms in the marine environment (Aubert and Aubert, 1969; Paoletti, 1970). Different microorganisms, such as *Actinomyces* species, *Streptomyces* species, *Bacillus* species and other algae, show the ability to synthesize antibiotic substances. A negative effect of these antibiotic substances on sewage flora has been observed in laboratory experiments, but its role *in situ* is of little importance, as the production of antibiotics is conditioned by the growth of the microorganisms in very rich media, conditions which are only produced with difficulty in the sea (Mitchell, 1971).

2-20. The mechanisms responsible for the evolution and disappearance of allochthonous microbial pathogens also appears to be different in other components of the marine environment, such as sediments or animal intestinal tracts. All the experiments performed in marine sediments have led to the conclusion that terrestrial bacteria can survive much longer (weeks, sometimes months) in such deposits than in the water column. This important increase in survival ability was initially attributed to the absence of light and to the presence of organic nutrients, although sediments contain many micro-and macropredators and antibiotic-producing microorganisms. Recent findings have emphasized the fact that marine sediments contain osmolytes, enabling enteric bacterial cells to regulate their turgor pressure and to restore a normal metabolism under marine conditions (WHO, 1991).

2-21. This regulatory activity can be considered an adaptive process that would help the human pathogens to survive in the marine environment. Organic osmolytes have been detected in marine deposits, sometimes at rather high concentrations. In addition, enteric bacteria are able to take up and use these osmolytes under marine conditions. Therefore, marine sediments

could favour the maintenance (and probably growth) of enteric bacterial pathogens in a virulent state and thus act as a reservoir for such allochthonous contaminants. Furthermore, some eutrophicated waters could act in the same way, the overall survival capability of pathogens then depending, at least partly, on the balance between the antagonistic activity (antibiotics) and the protective action (osmolytes) of the algal population. More specifically, it is considered that some marine eutrophicated waters and sediments could be considered as "high risk areas", as they could act as reservoirs yielding "adapted" resistant cells of enteric pathogens retaining their entire virulence. In such areas, it is assumed that "survival" would result from the balance between the antagonistic activity of several inhibitory factors (such as light, toxins and antibiotics) and the protective effect of organic matter (nutrition and osmoregulation) which would largely depend on the composition of algal and invertebrate populations (WHO, 1991). The prospective influence of marine sediments should, however, be emphasized since they prevent solar irradiation, they contain organic nutrients favouring bacterial growth, and they contain many quaternary amines and possibly osmolytes produced by microorganisms, plants and animals which could be transported through specific systems and increase osmoprotection (Gauthier *et al*, 1991). Enhanced survival of *Escherichia coli* and *Salmonella* have, in fact, been demonstrated in bottom sediments (Geldreich, 1985).

2-22. The behaviour of microbial pathogens in aquatic animal intestinal tracts and tissues is far less well known. Once taken up in fish or molluscs, they could behave differently than they do in the water. However, additional data are needed to confirm such differences and to elucidate the processes responsible for a special *in vivo* adaptation of terrestrial bacteria (WHO, 1991).

2-23. Besides these "classical" considerations, account should also be taken of recent metabolic and molecular studies of the reactions of bacteria to starvation and other environmental stresses. The ultraviolet component (wavelengths 300-400 nm) of bright sunshine is actively lethal to vegetative bacterial cells, and acts by the damaging (thymine dimerisation) of deoxyribonucleic acid (DNA). Unless this is reparable, the cell is unable to replicate. If Gram-negative bacteria are stored in suspension in water, they progressively lose the ability to be cultured. One of the first stages of starvation is an internal reorganization resulting in rapid degradation of cell protein, followed by resynthesis of new proteins, mediated by genes induced by carbon starvation and other genes, responsible for conferring resistance to stress. Mutations occur at an accelerated rate in an attempt to confer selective advantage. If the bacterial concentration is high, then metabolic products may be sufficient to maintain a small culturable population. The use of standardized studies on survival by Colwell and co-workers at the University of Maryland have suggested that bacterial pathogens can evolve toward a viable (*i.e.* a metabolically responsive) but non-cultivable state in seawater in which they could retain infectivity and virulence Colwell *et al*, 1985). This observation results from experiments in which large numbers of non-culturable but viable cells were injected into ligated rabbit ileum, resulting in an enterotoxigenic reaction and production of isolable cells. Other attempts to demonstrate retention of virulence in non-culturable gram-negative pathogens have been less successful. It is likely that the non-culturable state is a transient phase in bacterial decline in the environment. It has no significance at all for viruses, which can only multiply in their hosts.

2-24. Apart from this, any modification of environmental conditions could significantly modify the survival and evolution of microbial pathogens in the sea. The proliferation of mucilaginous algae in the Adriatic Sea in 1988 and 1989 has suggested the possibility that, under such new conditions, opportunistic pathogens may exceptionally resist or multiply. Recent studies dealing

with the presence and evolution of bacterial indicators or pathogens during "mucilage" episodes have shown that the coloured tides observed along the Adriatic coast correspond to a generalized reduction of enteric microbial titres of these waters for the periods in question. However, samples containing mucilage appeared particularly enriched in marine halophilic organisms, such as *Vibrio*, *Aeromonas* and *Pseudomonas* species, indicating that opportunist autochthonous pathogens may be present in seawater and may overgrow under such abnormal conditions (WHO, 1991).

Comparative survival

2-25. Results from field studies carried out during the Coastal Water Quality Control pilot project (MED VII) between 1976 and 1980 within the framework of the MED POL Phase I Programme and elsewhere pointed out the different survival patterns of the three bacterial indicator organisms utilized for assessment of the microbiological quality of seawater. While total coliforms and faecal coliforms appear to be inactivated in seawater rather rapidly and progressively under natural conditions, faecal streptococci show a lower inactivation rate, as well as a smaller long-term percentage reduction (WHO/UNEP, 1981).

2-26. Volterra & Aulicino (1981) and Velescu (1983) have also recorded that, as is the case in circulating seawater, faecal streptococci are able to survive in sediments for longer periods than faecal coliforms, in some instances to the point of the former outnumbering the latter which is the reverse of the normal ratio observed in wastewater effluents themselves. However, the sea-bottom not being the natural environment for most of the microorganisms discharged in wastewater effluents, it can be expected that termination of the discharge or improvement in its quality, with subsequent depletion of organic substrates, the survival of these microorganisms would be highly impaired.

2-27. Considerable work on the comparative survival of pathogenic and indicator bacteria under Mediterranean conditions has been performed within the framework of the research component of MED POL Phase II. The effects of organic matter, temperature and light intensity on the survival of three *Salmonella* strains (*Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium* and *Salmonella flexneri*), *Shigella sonnei* and *Escherichia coli* were studied (Fuks 1991), both in the marine environment and in laboratory experiments with natural seawater. The survival of all *Salmonella* and *Shigella* strains tested, as well as of faecal coliforms, was higher than that of *Escherichia coli*. Results also showed that sea temperature may exert an important influence on the magnitude of decay rates in all organisms studied. However, *in situ* experiments revealed that a large amount of organic matter may overcome the bactericidal effects of sea temperature and light. It was also concluded that although the die-off rate of *Escherichia coli* did not differ significantly from that of *Salmonella typhimurium* in some experiments, their different tolerances to light and temperature should be taken into account, particularly when utilizing *Escherichia coli* as an indicator of the presence of *Salmonella typhimurium* in seawater.

2-28. A similar study was conducted to determine the comparative effects of temperature, salinity and light on the rate of die-off of *Salmonella typhi*, *Salmonella wien*, *Shigella flexneri* and *Escherichia coli* (El-Sharkawi *et al*, 1991), which were tested in natural seawater, sterilized seawater, tap water and normal saline. No great differences were found between the survival times of all test organisms at 25-35EC, and all dies off more rapidly at 40EC. The salinity of seawater did not appear to affect the survival time of the two *Salmonella* species and of *Shigella*

flexneri, but *Escherichia coli* survived longer in fresh water than in seawater at temperatures between 30 and 35EC. Sunlight had a lethal effect on all test organisms. *Salmonella* and *Shigella* could only be isolated from the sewage boil, and could not be found more than 100 metres from the boil during daylight. At night, *Salmonella* could only be isolated within 400 metres, and *Shigella* within 200 metres, of the periphery of the boil.

2-29. A comprehensive study on the comparative survival of various strains of *Salmonella paratyphi*, *Salmonella thompson*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus faecium*, *Candida albicans* and *Escherichia coli*, utilizing both strains isolated from seawater and reference strains, was performed in Malaga, Spain (Romero and Borrego, 1991), including both *in situ* and laboratory tests. In one series of tests, the results, graphically obtained from the kinetics of inactivation, showed *Escherichia coli* as having the greatest survival rate, followed in descending order by *Salmonella* species, *Pseudomonas aeruginosa*, faecal streptococci, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. In other tests, the T_{90} values observed for *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* were superior to those of the indicators, thereby supposing that these pathogens can create a potential public health risk in waters in which the concentrations of indicator organisms are within normal acceptable values. A gradual process of cellular damage was observed in all the microorganisms tested. This increased in proportion to the time they were exposed to the sea. Metabolic damage was very important in the case of the enterococci and *Staphylococcus aureus*. *Escherichia coli*, *Candida albicans* and *Salmonella* species showed a significant recuperation of damaged cells with respect to initial percentages. In general terms, a more prolonged survival time of the microorganisms was found in laboratory experiments than in those tests carried out *in situ*. This has been explained as basically due to environmental factors, principally physical, which diminish concentrations in the sea while having no inactivating effects.

Survival mechanisms

2-30. The various strains of *Escherichia coli* have been the subject of a number of survival and adaptation studies, aimed at analyzing somatic, metabolic and genetic modifications of enteric bacteria placed in natural marine conditions. The structural and metabolic changes observed in thirteen strains of *Escherichia coli* cells during different periods of starvation in seawater have been described (Papapetropoulou *et al*, 1993), the conclusions of the study being that clinical *Escherichia coli* strains entering starvation in seawater face an altered physiological situation leading to different changes in the cells. The changes referred to are modification of enzymatic activity (biotyping changes), alteration of protein synthesis, loss of some factors contributing to virulence, and changes in sensitivity patterns. A number of studies have demonstrated that certain strains of *Escherichia coli* can adapt to various extents to marine conditions, thus prolonging their survival therein. In a comparative study of strains isolated from terrestrial wastewaters and those from merino samples, it was concluded that the former were more resistant to three antibiotics (novobiocin, tetracyclin and erythromycin), while the latter showed a greater tolerance to the salinity of their growth-medium, a greater resistance to certain antibiotics (cephaloridin, aminosides, nalidixic acid) and, in some cases, a greater overall resistance to antibiotics, and less tendency towards haemolysis and haemagglutination. In the case of species isolated from marine sediments, an increased sensitivity to high temperatures was recorded (Gauthier *et al*, 1991). The results suggested that the sojourn of *Escherichia coli* cells in the marine environment for a period not yet precisely defined could lead to an augmentation of their capacity to develop in saline media. In other studies, it was concluded,

inter alia, that the survival of *Escherichia coli* cells (as well as that of other enteric bacteria such as *Salmonella paratyphi* B, *Shigella dysenteriae* and *Klebsiella pneumoniae*) in the sea depends, at least in part, on the events preceding their entry into seawater, that such survival closely depends on the possibility of the cells compensating for the osmotic shock they receive on entry into the sea as a result of the osmoprotective mechanisms at their disposal, and that cells from sediments acquire a considerable resistance to seawater and, when replaced in suspension in oligotrophic water, can survive for a comparatively long period (Gauthier, 1992a, 1992b).

2-31. The latter of the above-mentioned studies, on the influence of osmoregulatory mechanisms on the survival and adaptation of enteric bacteria, as exemplified by *Escherichia coli*, in the marine environment (Gauthier, 1992b) describes the genes responsible for the intracellular synthesis, or acquisition from the external environment, of organic osmolytes such as betaines. Such acquisition or transport of some betaines by *Escherichia coli* is very efficient in marine sediments, which contain a considerable quantity of assimilable organic materials. This observation is considered to confer considerable sanitary importance to certain marine sediments, in the sense that, as already stated earlier in this section, these could play the role of reservoirs of enteric bacteria, and eventually pathogens, where such bacteria can develop an acquired resistance to marine conditions. It is concluded that it appears clear that enteric bacteria can survive in the marine environment according to the degree of possession of, or possibility of expressing, a certain number of genes which are directly implicated in the maintenance of homeostasis under high osmotic conditions. In this connection, the presence of nutritive organic substrates appears to play a determining role. Experimental studies on the mechanism of gene plasmid transfer in enteric bacteria (*Escherichia coli*) in seawater, sediments and the digestive tract of marine invertebrates have been described (Gauthier, 1992c; Gauthier *et al*, 1992).

Survival of viruses

2-32. Irrespective of the source of the antagonistic processes occurring in the marine environment mentioned earlier in this chapter, both pathogenic viruses (enteric viruses, polio virus, Hepatitis virus A) and fungi (*Candida albicans*) survive for longer periods of time in seawater than bacteria (UNEP/WHO, 1991). Viruses are able to survive for extended periods of time outside an animal host (Akin *et al*, 1975) and can remain infectious for several weeks or longer after discharge into receiving waters. Enteric viruses can survive from a few days to over 130 days in marine water, survival being dependent on temperature, salinity, type of virus, bacterial antagonism, suspended solids and pollution. Factors affecting viral survival have been discussed by Gerba and Goyal (1978). Temperature appears to be the prime determining factor in viral survival in seawater, with increased inactivation in warmer waters. Little inactivation of Poliovirus 1 and Hepatitis A virus was observed at 5EC after 30 days, and at 25EC, Hepatitis A virus persisted significantly longer than Poliovirus (Bosch *et al*, 1993). In the same study, Poliovirus 1, Coxsackie virus B5, Echovirus 1 and Hepatitis A virus were shown to survive much longer in autoclaved as compared with natural seawater.

2-33. Several authors have suggested that particle association significantly extends the survival capacity of viruses, and increases their potential for interaction with local marine organisms (Shumway and Hurst, 1991). The results of a comparative study showed that the presence of marine sediment enhanced virus survival in seawater at 25EC, and the protective action of solids was particularly significant for Poliovirus after 30 days in marine waters (Bosch

et al, 1993). Retention of viruses by gill structures is enhanced by adsorption of viruses to fine particulate matter, and this may have special significance for mussels, which are known to feed heavily on re-suspended organic matter. Solids-associated viruses transported to bathing beaches and shellfish-growing waters may therefore result in virus transmission to humans (Rao *et al*, 1986). In the 1972-1978 US Environmental Protection Agency's study on water quality and gastro-intestinal symptoms, the association between illnesses recorded and the presence of very few indicator bacteria (10 *Escherichia coli* per 100 ml) suggested that the agents responsible for the illness were highly infectious, were present in sewage in large numbers, and survived much longer than *Escherichia coli* in the marine environment. These characteristics, along with the clinical aspects of the illness, suggested a viral aetiology (Cabelli *et al*, 1982). Recent experiments carried out in the Adriatic Sea indicate that some algal species adsorb viruses and reduce their detectable infectivity. (Patti *et al*, 1990). The adsorbed viruses, however, may be infectious as free viruses, and it is considered that unicellular algae, particularly during bloom episodes, may be a vehicle for transporting viruses to recreational and shellfish areas.

2-34. Uptake of viruses by shellfish has been clearly demonstrated (Metcalf and Stiles, 1965) and numerous studies have similarly demonstrated that shellfish can concentrate viruses in their tissues at densities that are much greater than those in the overlying waters (Geldreich, 1985). Like bacteria, the majority of viruses are concentrated in the digestive system of the host and, once inside a shellfish, the survival of viruses appears to be further prolonged (Metcalf and Stiles, 1965). Virus retention in shellfish appears to be even longer than that of bacterial pathogens (Geldreich, 1985). As an example, virus carriage for Hepatitis A in oysters has been reported to range from six to eight weeks (Portnoy *et al*, 1975; Macowiak *et al*, 1976). Carriage of enteric viruses in oysters for a period of five months with little reduction in numbers and no loss of infectious state has been reported as possible during the winter months when shellfish metabolism declined to a minimal level (Metcalf, 1982).

PART 3

PATHOGENIC MICROORGANISMS IN THE MEDITERRANEAN MARINE ENVIRONMENT

3.1 GENERAL CONSIDERATIONS

3-1. With very few exceptions, as is the case in other regions, monitoring programmes in the Mediterranean aimed at the estimation of the state of pollution of marine recreational and shellfish waters continue to rely largely on concentrations of one or more bacterial indicator organisms as an index of sanitary acceptability or otherwise, while the main risks to human health through bathing or seafood consumption depend on the presence and density of pathogenic microorganisms which are the real agents of disease. Among the exceptions are those Mediterranean EC Member States which apply the Community's 1975 Directive on bathing water Quality (European Community, 1976). This has a zero tolerance for *Salmonella* and enteroviruses, but limits sampling frequency to the discretion of national authorities by stipulating that concentrations should be checked by them when an inspection of the bathing area shows that the substance may be present or that the quality of the water has deteriorated. In the recent proposal for a new Council Directive on bathing waters (EC, 1994), the zero tolerance for enteroviruses have been retained, under conditions described in Part 4 of this document, but *Salmonella* has been removed as a monitoring parameter.

3-2. Since bacterial indicator concentrations provide a measure of the degree of faecal pollution based on total population figures, while the presence and concentration of pathogens in wastewaters depend on the incidence and amount of clinical or subclinical cases excreting the specific organisms in question, expected concentrations of pathogens in seawater or in shellfish would be much lower than those of indicators. Routine examination of wastewater or seawater for pathogenic microorganisms is rendered impracticable in most countries by the facts that:

- (a) the procedures involved in isolation and identification vary with each different pathogens;
- (b) even in the case of what is probably the most ubiquitous organism, *Salmonella*, isolation techniques involve relatively complicated procedures that exceed the routine capabilities of a number of laboratories;
- (c) negative findings for specific pathogens could only be considered provisional because state-of-the-act methodology is not sufficiently sensitive to detect a level of one pathogen in the volumes of seawater (100 ml) normally used for indicators, though this could be partially offset by the use of larger samples;
- (d) In this case of viruses, the procedures involved can only be carried out in laboratories specifically equipped for such work and, more often than not, are performed as part of special research projects and other related studies.

3-3. As a result of this, data on the presence and density of pathogenic microorganisms in seawater and shellfish is sparse in relation to that available for the commonly-used indicators of faecal pollution of the sea by sewage. Diarrhoeal diseases are prevalent throughout the

Mediterranean region, and the agents concerned, usually a wide variety of enteropathogenic microorganisms, are discharged into the coastal marine environment in sewage containing the faeces of diseased individuals or carriers. The incidence of such diseases, and the isolation of the pathogens concerned, in a coastal community will therefore provide a qualitative indication of the microbiological state of the sewage being discharged into the sea from that community, and the potential concentration of any particular microorganism in sewage will depend on its prevalence in each individual locality.

3-4. Correlation between concentrations of the more common bacterial indicators (which are found in normal human faeces) on the one hand and pathogens on the other is not possible on a general scale, as the former are determined by population density, while the latter are determined by the morbidity pattern of the pathogen in question. Studies on such correlation have been conducted in the Mediterranean (WHO/UNEP, 1995), but, as expected, results have varied considerably according to the locality in which they have been carried out.

3-5. Pathogenic microorganisms encountered in the Mediterranean marine environment include bacteria, viruses, fungi, other microparasites (mainly protozoa) and toxic algae. The more important species, are classified and described below. The data on incidence of the various microorganisms in specific areas should be taken only as examples, as it would not be possible to include all of the vast literature available on record. The information available as a whole, however, shows a geographical imbalance, and a large proportion of records are from the Northern part of the region. Information from the Southern and Eastern parts, where one would expect to find more pathogens in coastal seawater, are relatively sparse.

3.2 BACTERIA

Salmonella

3-6. *Salmonella* species, which are the agents for typhoid and paratyphoid fevers, food poisoning and gastroenteritis, have a worldwide distribution, and are abundantly represented in the Mediterranean. They are found in both untreated and treated sewage, and it has been stated (Abdussalam, 1990) that even the most effective sewage treatment only brings about reduction, rather than elimination. Over 2,200 serotypes are known though, at any given time, only a few (about 10 to 12) are prevalent in a given area or country (Abdussalam, 1990). It is considered (Brisou, 1976) that all the countries of the Mediterranean seaboard are, in general, major reservoirs of *Salmonella*. While major attention has been paid to *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi* A and *Salmonella paratyphi* B, a large number of other serotypes have been isolated in the region. A total of 29 serotypes were isolated in Greece during the course of one study (Vassiliadis *et al*, (1987), 24 of these from sewage-polluted river water. Several different serotypes have also been isolated from France, Israel, Italy, Spain and Former Yugoslavia (Brisou, 1976). In a 3-year survey of *Salmonella* pollution of coastal seawater in the Gulf of Trieste, Majori *et al*, (1978), 401 of 1059 samples (37.8%) were positive for *Salmonella* strains, which were distributed among a wide range of serotypes. A total of 220 strains of *Salmonella* have been isolated from sewage effluents in Alexandria (El-Sharkawi *et al*, 1982b). 16 serotypes were isolated from coastal seawater samples from locations near a river mouth in the vicinity of Malaga, Spain, using different enrichment media (Borrego and MoriZigo, 1994).

3-7. *Salmonella* species do not survive long in seawater, and direct infection as a result of bathing or other recreational activity is not likely to occur due to the relatively high infective dose required in the case of most serotypes. On the other hand, the infective dose for *S. typhi* and *S. paratyphi* A and B is considerably lower. Consumption of seafood is a different problem, as the bacteria are concentrated either by filter-feeding shellfish or on fish gills. In shellfish, the bacterial concentration may be 50 times that in water (UNEP/WHO/IAEA, 1988).

Vibrio

3-8. Cholera is one of the major diseases associated with the consumption of sewage-contaminated shellfish, and the causative agent, *Vibrio cholerae*, was discovered by Koch in Egypt during the 1883-1884 epidemic. The seventh pandemic wave of cholera, due to *Vibrio El Tor*, which originated in 1961 in Indonesia and is still active, spread to the Mediterranean region in the early 1970s. Cases have been reported in various parts of the region, including Algeria, France, Morocco and Spain (Brisou, 1976) and a major outbreak, in which mussels were identified as the carriers, occurred in Italy in 1973, where it caused 277 cases and 24 deaths (Baine *et al*, 1974). Brisou *et al* (1962) isolated 44 strains of *Vibrio* from the Algerian coast, Although only some of these can be considered pathogenic, there is clear evidence that some strains of naturally-resident aquatic bacteria are capable of causing gastroenteritis, systemic infections and intoxications in humans (Shumway and Hurst, 1991). An investigation in Morocco of the process and efficiency of sewage treatment by stabilization ponds under an arid Mediterranean climate showed that this treatment process appeared to be ineffective in eliminating *Vibrio cholerae* non-01, no bacterial reduction occurring during the season, and no significant reduction during the cold season.

3-9. NAG (non-agglutinable) vibrios, which cause gastroenteritis, are also frequently found in shellfish in the region. As in the case of *Vibrio cholerae*, NAG-vibrios are also discharged through sewage effluents, and infection is most likely to occur through consumption of contaminated shellfish. A total of 214 *Vibrio* serotypes were analyzed and identified during a relatively recent study in Toulon, (Martin and Bonnefont, 1990), comprising effluent, seawater and mussel samples. The *Vibrio* population in the effluent was the most diverse, including several species of public health interest, such as *Vibrio fluvialis*, *Vibrio cholerae* (non-01) and *Vibrio Metschnikovii*. these three species, however, were not found in seawater or mussels.

3-10. Two other *Vibrio* species widespread in the Mediterranean are natural to the marine environment, and no correlation exists between their presence and pollution of the sea by sewage. In the case of *Vibrio parahaemolyticus*, the main cause of infection is again shellfish (UNEP/WHO/IAEA, 1988), though wound infection by contact with seawater is another route of transmission (WHO, 1982) *Vibrio alginolyticus*, which causes otitis, sore throat and wound infections, occurs in coastal marine areas, and its main route of transmission in man is through contact with seawater and sediments. Isolations of *Vibrio parahaemolyticus* and, to a lesser extent, *Vibrio alginolyticus*, have been reported from a large number of Mediterranean countries (Boccia *et al*, 1978), the samples examined including seawater, mussels, benthic molluscs and sediments. In a study of various mollusc beds located along the Tyrrhenian coast, concentrations of *Vibrio parahaemolyticus* recorded were 10^3 in mussels (*Mytilus galloprovincialis*), 10^4 in *Ensis siliqua* minor, and 10^5 in *Chamelea gallina*, as compared to 10^1 in seawater (Volterra, 1991).

3-11. In a total of 165 samples collected in the neighbourhood of Alexandria in 1979-1980, average counts of *Vibrio parahaemolyticus* per 100 ml or 100 g were 36 for seawater, 345 for the sea urchin *Echinus*, 436 for sediments, and 534 and 1872 for the molluscs *Tapes* and *Donax trunculus* respectively. Samples collected during summer contained higher levels than those collected during winter (El-Sahn *et al*, 1982). *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus* were also isolated from samples of seawater in North Adriatic bathing areas in 1989 (Maini *et al*, 1990), and the latter species was found to be the prevalent one in seawater and mussels during the Toulon survey (Martin and Bonnefont, 1990). Levels of *Vibrio* species recorded in seawater during an epidemiological study conducted on two beaches in Spain between 1988 and 1989 ranged from 100 to 2800 per 100 ml in the less polluted beach and from 250 to 12000 in the more polluted one (Borrego *et al*, 1991). No distinction between species was made.

3-12. Recent studies indicate that the old concept of considering *Vibrio cholerae* as a pathogenic microorganism found mainly in countries with no sanitary facilities, and that survival of this type of *Vibrio* outside the human intestine is limited, has to be radically revised. *Vibrio cholerae* and a number of other *Vibrio* species are commonly found as natural residents of aquatic environments in cholera-free areas, and their presence is not necessarily associated with faecal contamination (West, 1989).

3-13. In the last 25 years, the increasing number of epidemiological and ecological observations in many countries indicate that many environmental strains of *Vibrio* species are human pathogens. Out of 11 *Vibrio* species considered as causing illness in man (West, 1989), *Vibrio cholerae* 01, *Vibrio cholerae* non-01, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Vibrio mimicus* (previously known as *Vibrio cholerae*) and *Vibrio alginolyticus* have been found increasingly often associated with human illness, either through seafood consumption or through water contact and abrasion. More attention is being paid to *Vibrio vulnificus*, which can cause fatal septicaemia and gastroenteritis, as well as wound infections. However, the presence of vibriaceous organisms, particularly *Vibrio vulnificus*, in seawater and shellfish depends on temperature and salinity, and the species appears seasonally in the records (Kelly and Stroh, 1988; O'Neil *et al*, 1992; Kaspar and Tamplin, 1993; Cook, 1994).

Shigella

3-14. *Shigella* species, which are the agents of bacillary dysentery, are also, like *Salmonella*, widely distributed throughout the world, and enter into the marine environment in sewage effluents. The proportion of cases diarrhoea due to *Shigella* species varies in different parts of the world, but they are among the first five agents in many studies. Shigellae cannot be considered as one single entity, as the four main species known, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii* and *Shigella sonnei*, are different in their pathogenicity, means of spreading and resistance to environment. Epidemiological data available indicate that the incidence of *Shigella* infection has not decreased much during the last decade or so in developed countries, where *Shigella sonnei* and, to a certain extent, *Shigella flexneri*, are predominant. In developing countries, the other two species, *Shigella dysenteriae* and *Shigella boydii*, are also frequent. (Dardanoni and Nastasi, 1990). Multiresistant *Shigella dysenteriae* and *Shigella flexneri* infections show a high case-fatality rate, since both oral rehydration and antibiotic treatment may be ineffective. The importation of multiresistant *Shigella* strains carrying transmissible plasmids may be the source of spread to other enteric bacteria and to indigenous *Shigella* strains (Dardanoni and Nastasi, 1990).

3-15. *Shigella* is endemic on the eastern and southern shores of the Mediterranean (Brisou, 1976). All four species have been recorded in France and (with the exception of *Shigella dysenteriae*) in Italy (Dardanoni and Nastasi, 1990). Isolations have also been made in Egypt (El-Sharkawi *et al*, 1991) and along the Eastern Adriatic coast (Fuks, 1991). In the 1991 assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by pathogenic microorganisms (UNEP/WHO, 1991), it was noted that cases of dysentery reported from the region called for a more comprehensive assessment of the situation than had hitherto been undertaken, and that statistics on the occurrence of *Shigella* species in sewage should be the first step in correlating this with cases of dysentery. This statement still holds good.

Staphylococcus

3-16. *Staphylococcus aureus* and related species, particularly *Staphylococcus epidermidis*, are potential pathogens associated with skin, skin glands and mucous membranes of warm-blooded animals, including man. They are found in swimming pools and natural bathing waters, and coagulase-positive strains cause a wide range of infections and intoxications, including boils, abscesses, meningitis, furunculosis, pyaemia, osteomyelitis, otitis, suppuration of wounds and food poisoning. *Staphylococcus aureus* is salt-tolerant, and can survive in the marine environment (UNEP/WHO/IAEA, 1988). Ear infections due to *Staphylococcus aureus*, as well as other infections affecting the skin and naso-pharyngeal tract, are suspected of being transmitted through bathing water (WHO, 1982). The origin of the pathogen in seawater is attributed to human activity, as all strains have been found to be shed by bathers under all conditions of swimming (Robinton and Mood, 1966).

3-17. In 628 samples of coastal water monitored in Israel, 60.7% contained *Staphylococcus aureus*, including 33 samples (5.3%) with one cell per 100 ml, ranging from 49.5% in less populated beaches to 91% in beaches sampled during the highest bathing load (Yoshpe-Purer and Golderman, 1991). In a later study in the same general area, varying counts of *Staphylococcus aureus* were recorded in both seawater and sand (Ghinsberg *et al*, 1994). A comparison between concentrations of *Staphylococcus aureus* in seawater and sand of heavily-populated and slightly-populated beaches in Greece (Papadakis *et al*, 1992) showed positive readings in all samples. While concentrations of *Staphylococcus aureus* in seawater were not significantly different between the various beaches, considerably higher concentrations were found in the sand of highly-populated beaches. *Staphylococcus aureus* was not isolated from seawater and sand in the 1988-1989 study conducted in Malaga (Borrego *et al*, 1991), but the authors confirm its presence in previous surveys. Out of 265 samples of coastal seawater from bathing beaches in Greece, 6.8% were found to contain *Staphylococcus aureus*, three of the 18 positive samples having between 101 and 500 CFU per 100 ml, and the remaining 15 between 11 and 100 CFU per 100 ml (Papapetropoulou and Rodopoulou, 1994). In another study in Greece, *Staphylococcus aureus* was recorded in various concentrations from both seawater and sand samples, and a significant correlation was found between bacterial counts in both media and the number of swimmers at the beach, the correlation being clearer in a high population density beach (Papadakis, 1994).

3-18. Although *Staphylococcus aureus* is linked with food-poisoning in general, records of transmission through shellfish are relatively sparse. In Egypt, shellfish taken from highly-polluted water have been considered unacceptable in quality due to the presence of pathogenic microorganisms, including *Staphylococcus aureus* (El-Sharkawi *et al*, 1982a).

Pseudomonas

3-19. *Pseudomonas aeruginosa* causes ear, eye, wound, burn and urinary tract infections, as well as enteritis. The route of transmission to man was previously considered to be mainly infected swimming pools (WHO, 1982). but the organism is becoming increasingly implicated in ear, throat and skin infections through bathing in contaminated seawater (UNEP/WHO/IAEA, 1988). Numerous cases of folliculitis, dermatitis, ear and urinary tract infections due to *Pseudomonas aeruginosa* that were acquired by bathing in contaminated water (mainly swimming pools, but including seawater) have been reported (Yoshpe-Purer and Golderman, 1991).

3-20. *Pseudomonas aeruginosa* can be recovered from about 10% of normal human stools, and is consequently frequently found in sewage, where concentrations may reach 10^5 per 100 ml (Rhame, 1979). Counts in excess of 1600 per 100 ml have been recorded in Spain in a polluted river near its outlet to the sea (Alonso Molina *et al*, 1984), and lower counts in seawater, also in Spain, ranging from 0 to 210 (Borrego *et al*, 1991). In Israel, out of 652 samples of seawater from various beaches collected between 1983 and 1984, nearly 50% contained *Pseudomonas aeruginosa*. In a small number of these samples, the normal indicators of faecal pollution (Faecal coliforms and *Escherichia coli*) were either low in concentration, or absent (Yoshpe-Purer and Golderman, 1991). In a later study in the same area, both seawater and sand in a number of beaches contained various levels of *Pseudomonas aeruginosa* (Ghinsberg *et al*, 1994) Out of 265 samples of coastal seawater from bathing beaches in Greece, 12.4% were found to contain *Pseudomonas aeruginosa*, counts varying from below 2 to between 101 and 500 cfu per 100 ml (Papapetropoulou and Rodopoulou, 1994). In water samples collected from several aquatic environments in Malaga, Spain, *Pseudomonas aeruginosa* counts and isolation frequencies were clearly associated with the degree of faecal pollution, the results confirming that sewage, from which it was isolated at densities of 10^5 cfu per 100 ml, was the major source (de Vicente *et al*, 1991).

3-21. High concentrations of *Pseudomonas* species have been recorded in shellfish. Concentrations as high as 110,000 per 100 ml in *Mytilus galloprovincialis*, 460,000 per 100 ml in *Donax trunculus*, 420,000 per 100 ml in *Ensis siliqua* and 34,000 per 100 ml in *Chamelea gallina* have been reported, these concentrations varying from one to four orders of magnitude greater than that of the surrounding waters (Volterra, 1991).

Campylobacter

3-22. *Campylobacter* (*Helicobacter*) became recognised as an important bacterial pathogen of humans about a decade ago (Geldreich, 1985). The occurrence of campylobacters in natural water is extremely variable, and it is not yet exactly known how many of the organisms isolated are pathogenic to humans (APHA, 1985). Thermophilic campylobacters have received considerable attention in recent years as a major cause of bacterial enteritis in man (Jones *et al*, 1984; Fricker, 1987; Skirrow, 1987). Two species, *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* cause diarrhoea and fever, and can both be transmitted through seafood consumption or ingestion of water. *Campylobacter jejuni* can be found worldwide and, in developed countries, is now recognised as one of the most common causes of bacterial diarrhoea (Skirrow, 1987). To a lesser extent, enteritis is also associated with *Campylobacter coli*. Enteritis is also produced by Nalidixic Acid Resistant Thermophilic *Campylobacter* (NARTC), formally described

as a new species with the proposed name of *Campylobacter laridis* (Benjamin *et al*, 1983) and by a fourth thermophilic species, *Campylobacter upsaliensis* (Sandstedt and Ursing, 1986). Thermophilic campylobacters are common gastrointestinal pathogens, and they may cause more enteritis than salmonellas do (Svedhem and Kaijser, 1980; Blaser *et al*, 1983). Enteritis produced by *Campylobacter* is usually a mild to moderate self-limited illness; however, patients with severe, prolonged or relapsing enteritis should receive treatment (Lariviere *et al*, 1986).

3-23. *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* and *Campylobacter faecalis*, have been isolated from sewage outfalls and polluted seawater in various parts of the Mediterranean (UNEP/WHO, 1991). In Greece, isolations from such matrices of *Campylobacter jejuni* and, to a lesser extent, *Campylobacter faecalis*, have been reported as occurring fairly regularly, particularly during July and August (Papadakis, 1987). A total of 21 *Campylobacter* strains were subtyped during a study in Spain (Alonso Molina *et al*, 1993). These include strains of *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, and a number of unidentified species. Low levels of *Campylobacter jejuni* were recorded in both coastal seawater and sand (mainly in the latter matrix) in a number of Israeli beaches. Its presence in sand indicated that it may be considered a possible hazard factor for enteritis in the population bathing in the beaches in question (Ghinsberg *et al*, 1994).

Aeromonas

3-24. One of the not wholly enteric bacterial pathogens in the Mediterranean is *Aeromonas hydrophila*, which causes septicaemia in immunosuppressed hosts, diarrhoea, pneumonia, abscesses and wound infections (UNEP/WHO, 1991). It can be transmitted through contact with, or ingestion of, water or through consumption of contaminated seafood. *Aeromonas* species are known for their importance as pathogens in fish, reptiles and warm-blooded animals (Janda and Duffey, 1988). Over a decade ago, the significance of *Aeromonas* species as human pathogens started to receive increasing attention (Burke *et al*, 1983, 1984). They are considered to be of public health significance when found in the environment in large numbers (Kaper *et al*, 1981). The aquatic environment is considered to be the major source of infection (Joseph *et al*, 1979; Burke *et al*, 1984). Reports from many parts of the world suggest that *Aeromonas* species cause an acute self-limiting diarrhoeal illness in man (Barer *et al*, 1986; Mascher *et al*, 1989). *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas sobria* have been more frequently associated with human infections (Daily *et al*, 1981; Diaz and Velasco, 1987), whereas *Aeromonas caviae* is less invasive (Watson *et al*, 1985). *Aeromonas* species may possess virulence factors such as proteases, enterotoxins, haemolysins, endotoxins and cytotoxins (Turnbull *et al*, 1984; Watson *et al*, 1985; Burke *et al*, 1986; Steima *et al*, 1986; Barer *et al*, 1986).

3-25. The Mediterranean appears to be an ideal environment for the proliferation of *Aeromonas* species, since the climate is temperate throughout the year, the rivers have little flow and a high load of organic matter, and many of the beaches affected by these rivers serve as bathing areas for thousands of people (Araujo *et al*, 1988). Levels of *Aeromonas hydrophila* recorded in seawater during an epidemiological study in Malaga, Spain, varied between 0 and 50 per 100 ml in non-polluted beach waters to between 80 and 11,800 in polluted beaches (Borrego *et al*, 1991). High counts of total motile aeromonads were recorded in seawater at various beaches in Valencia, Spain, levels varying considerably, but exceeding 10^6 cfu per 100 ml in many instances. Biochemical reactions were recorded for 759 motile aeromonad strains. Biotyping

distinguished three species, the most frequent being *Aeromonas caviae* (79.8%, followed by *Aeromonas hydrophila* (14.9%) and *Aeromonas sobria* (5.3%) (Alonso Molina *et al*, 1993). Out of 265 samples of coastal seawater from bathing beaches in Greece, 5.6% were found to contain *Aeromonas hydrophila*, counts varying from between 2 and 10 to between 101 and 500 cfu per 100 ml (Papapetropoulou and Rodopoulou, 1994). Levels recorded in shellfish include 36,000 per 100 ml in *Mytilus galloprovincialis*, 740,000 per 100 ml in *Donax trunculus*, and 22,000 per 100 ml in *Ensis siliqua* (Volterra, 1991).

Escherichia coli

3-26. *Escherichia coli*, which falls within the faecal coliform group, is a normal inhabitant of the human alimentary tract. Some strains cause diarrhoea. Those which do can be grouped into five categories: Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC), which causes travellers' diarrhoea and childhood diarrhoea in developing countries, Enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC), which causes a dysentery-like illness more commonly reported from developing countries, Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC), which causes infantile diarrhoea in epidemic and sporadic form in children below two years of age, Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC), which causes haemorrhagic colitis and haemolytic uraemic syndrome, and Enteroadherent *Escherichia coli* (EAEC), which causes diarrhoea in travellers, and possibly in others (Barua, 1990).

Other bacterial pathogens and indicators

3-27. Members of the Lancefield's Group D of streptococci (*Streptococcus faecalis*, *Streptococcus faecium*, *Streptococcus bovis* and *Streptococcus equinum*) have been incriminated in a number of outbreaks of food-borne diseases associated with mainly non-marine sources. Cases involving shellfish are less documented (WHO/UNEP, 1995). Haemolytic streptococci (Lancefield's Group A and C) have been recorded from bathing waters (WHO, 1982), and their transmission to humans by this route is suspected.

3-28. *Clostridium perfringens* is discharged in significant amounts in sewage, where it is mainly of human origin. It is more resistant than other indicators, but its detection in seawater is difficult. It does not multiply in sediments, but survives longer in the marine environment than *Escherichia coli*, and the two organisms can therefore be considered as complementary. In a study in the Barcelona area, Spain, levels of *Clostridium perfringens* were higher in naturally-occurring mussels than those of faecal coliforms and faecal streptococci (Jofre *et al*, 1994). As there are significant differences in *Clostridium perfringens* counts near to and far from sewage discharge points, interpretation of the counts appears to be feasible. The use of this species as a monitoring parameter, however, is still a matter for discussion.

3-29. *Yersinia* has been recognized as an important type of bacterium in terms of epidemiology and zoonoses (WHO/UNEP, 1995). It has been demonstrated as present in seawater, as well as in other media, and pigs and rodents are considered to be the main natural reservoirs. Its status can be considered to be similar to that of *Shigella* in that more information is required, the examination of sewage being the necessary initial step.

3-30. The sanitary significance of *Klebsiella pneumoniae* and other non-*Escherichia coli* strains within the coliform group in shellfish waters has been the subject of some controversy (Geldreich, 1985). The problem appears to be restricted to estuarine waters receiving an overlay of pulp and paper mill effluents, sugar cane processing wastes and textile manufacturing wastes. In these discharges, environmental strains of *Klebsiella pneumoniae* are the predominant coliform, representing 50 to 90% of the total coliform population, and often undergo multiplication within the warm process waters. Coliform densities may range from 10^4 to 10^6 per 100 ml upon release into the receiving waters. While these *Klebsiella* strains are not of sanitary significance, their occurrence indicates the presence of organic wastes which could seriously reduce or destroy shellfish productivity in the affected estuarine environment (Presnell and Brown, 1977). Other *Klebsiella* occurrences are of sanitary significance, as 30 to 40% of humans carry this coliform in their intestinal tract and the *Klebsiella* density may range from 10^6 to 10^8 organisms per gram of faeces (Geldreich, 1985).

3.3 VIRUSES

3-31. More than 140 different viruses are known to be excreted in human faeces by infected persons, whether or not they manifest illness (Rao *et al*, 1986). These viruses belong to various families, including enteroviruses (polioviruses, coxsackieviruses and echoviruses), the new genus *Hepatovirus*, of the family Picornaviridae (Hepatitis A virus), reoviruses, adenoviruses, parvoviruses (adeno-associated viruses), and the family Calciviridae (Norwalk virus) (Schwartzbrod and Deloince, 1995). These groups, with the number of types, and the diseases caused, are outlined in Table 3.3.1

3-32. The frequency of isolation and the quantity of virus recovered from sewage depend not only on the infections caused by naturally-occurring viruses and those induced by oral poliovirus vaccine, but also on the efficiency of the recovery procedures. According to Sellwood *et al* (1981), the serotypes that can be detected at any specific time in sewage, except for polioviruses, reflect to a greater or lesser extent those viruses circulating within the community with the highest frequency. However, in countries using the Sabin vaccine to immunize against poliomyelitis, it is expected that all three strains of polioviruses would be present in urban sewage. In more than one Mediterranean country, polioviruses are detected in every sewage sample tested (Krikelis *et al*, 1985a).

Viruses in the Mediterranean Sea

3-33. Enteroviruses have been recorded in sewage effluents and various matrices (Seawater, sediments and/or mussels) of the Mediterranean marine environment. There is a geographical imbalance in the records, all of those apparently available coming from only four countries - France, Greece, Italy and Spain. According to available literature, isolates include all three serotypes of polioviruses, thirteen serotypes (1,2,3,4,5,6,11, 15,19,20,21,23,30) of echovirus, four serotypes (7,16,18,21) of Coxsackie virus A, six serotypes (1,2,3,4,5,6) of Coxsackie virus B, Hepatitis A virus, and a large number of unspecified serotypes (Crovari *et al*, 1974; De Flora *et al*, 1975; Hugues, 1994; Hugues *et al*, 1993; Krikelis, 1987; Krikelis *et al*, 1985a, 1985b, 1986; Maini *et al*, 1990). Records are summarized in Table 3.3.2.

TABLE 3.3.1

HUMAN VIRUSES THAT MAY BE PRESENT IN POLLUTED WATER
(after Schwartzbrod and Deloince, 1995)

Family	Genus	Virus	Serotypes	Disease caused
Picornaviridae	<i>Enterovirus</i>	Poliovirus	3	Paralysis, meningitis, fever, poliomyelitis
		Coxsackie A virus	23	Herpangina, respiratory disease, meningitis, fever
		Coxsackie B virus	8	Myocardia, congenital heart anomalies, rash, fever, meningitis, respiratory disease, pleurodynia.
		Echovirus	32	Meningitis, respiratory disease, rash, diarrhoea, fever
		Enterovirus 68 to 71	4	Meningitis, encephalitis, respiratory disease, acute haemorrhagic conjunctivitis, fever
	<i>Hepatovirus</i>	Hepatitis A virus	1	Viral hepatitis A
Reoviridae	<i>Reovirus</i>	Human Reovirus	3	Not clearly established
	<i>Rotavirus</i>	Human Rotavirus	6	Gastroenteritis
Calciviridae	<i>Calcivirus</i>	Human Calcivirus	3(5)	Gastroenteritis
		Norwalk virus	1	Gastroenteritis
		Small round virus	13	Gastroenteritis
		Hepatitis E virus	1	Infectious hepatitis
	<i>Astrovirus</i>	Human Astrovirus	5	Gastroenteritis
		Parvovirus-like virus (H.F.P.L.V.)	1	Gastroenteritis
Coronaviridae	<i>Coronavirus</i>	Human Coronavirus	1	Enterocolitis
Toroviridae		Coronavirus-like virus		Gastroenteritis
Adenoviridae	<i>Mastadeno-virus</i>	Human Adenovirus	41	Respiratory diseases, eye infections, gastroenteritis

TABLE 3.3.2

VIRUSES ISOLATED IN THE MEDITERRANEAN MARINE ENVIRONMENT

(from WHO/UNEP, 1995)

Virus	Type	Location	Matrix
Enteroviruses			
Poliovirus	2 (vaccine-like) 1,2,3 (vaccine-like) 1,2,3	Italy Italy Greece	sediments seawater wastewater, seawater
Echovirus	9,11 1,3,7,15,19,21,23,30 5,7,23 6, unspecified 5,11,20 4,6,11,12,19	Italy, France Greece Greece France France France	seawater wastewater seawater seawater seawater wastewater
Coxsackie virus A	7 7,16,21	France France	seawater wastewater
Coxsackie virus B	1,2,3,5 1,2,3,4,5,6 1,5,6 4,5 2,4,5,6 1,6	Italy, France Greece France France Greece France	seawater wastewater wastewater seawater seawater seawater
Hepatitis A virus		Spain	wastewater
unspecified, non-polio		France Italy	seawater sediments
unspecified		Greece Italy	wastewater, seawater wastewater, seawater
Other viruses			
Adenoviruses	1,2,3,4,5,7,15 1, unspecified unspecified unspecified	Greece France France Italy	wastewater wastewater wastewater seawater
Rotavirus	unspecified	Spain	wastewater

3-34. As even a few plaque-forming units (PFU) or, as alternatively termed, cytopathogenic units (CPU) of virus may lead to infection when swallowed, provided they reach target cells in the organism, the presence of human viruses in seawater has to be taken seriously, and the danger of infection as a result of bathing in polluted waters is therefore not imaginary (Katzenelson, 1977). Although epidemiological studies have not, so far, shown any clear correlation between swimming in polluted water and viral epidemics, sporadic cases of infection cannot be ruled out. Fattal and Shuval (1991) attempted to establish the aetiology of swimming-associated gastroenteritis observed in earlier epidemiological studies correlating bathing water quality with observed health effects on exposed population groups. The response of the study population to blood donation was poor, forty individuals (4.9%) donating at least one blood sample, of which only 24 (2.9%) donated both acute and convalescent blood samples. All blood sera were positive for rotavirus in both samples, and no seroconversion was detected.

3-35. Most research work performed in the Mediterranean on viruses in sewage effluents or seawater have been qualitative as distinct from quantitative. Among the results in the latter category, enterovirus concentrations recorded in sewage effluents in the Eastern Mediterranean have ranged from 10 to 90 PFU per litre, and adenovirus concentrations from 70 to 3200 PFU per litre. In coastal waters, a total virus range of 5 to 145 PFU per litre has been recorded (Krikelis *et al*, 1985a, 1987). In the Tyrrhenian Sea, the concentration of enteroviruses in coastal waters ranged between 2 and 160 TCD₅₀ per litre (Crovari *et al*, 1974).. In inshore shallow waters (0.5 to 12 metres deep), enteroviruses were shown to accumulate in clastic sediments, with concentrations ranging between 0.8 and 40.2 TCD₅₀ per 100 ml sediment eluate. Viruses were easily released into water by means of mechanical shaking and simulation of wave motion and bottom currents (De Flora *et al*, 1975). Among other records for the Western Mediterranean, mean values for total enteroviruses are 258 PFU per 10 litres in raw sewage, and 1.35 to 2.1 PFU per kg in marine sediments (Jofre, 1987). In another series of experiments, mean values for recovery of enteroviruses from 24 sediment samples varied between 200 PFU enteroviruses and 57 FF rotaviruses per kg, and 130 PFU enteroviruses and 140 FF rotaviruses per kg, depending on the specific elution procedure used (Jofre *et al*, 1989). During the years 1990 and 1991, in biologically-treated sewage effluents in the central Mediterranean (the French coast), the quantity of virus ranged from <1 to 250 MPNCU per litre (Hugues *et al*, 1993).

Viruses in Mediterranean shellfish

3-36. The role of shellfish as vectors in human enterovirus diseases is well-documented. Viruses which have been shown epidemiologically to be transmitted by shellfish are Hepatitis A and E (the latter of which, however, is not endemic to the Mediterranean region), Norwalk, Snow Mountain agent, astroviruses, Coxsackie viruses and small round viruses. Of these, Hepatitis A and Norwalk viruses appear to be of chief concern to public health officials (Shumway and Hurst, 1991). There are a number of reports worldwide of gastrointestinal disease due to eating shellfish for which no causative agent has been identified, and many of these cases were believed to involve an unidentifiable viral agent, rather than a bacterial pathogen (Geldreich, 1985).

3-37. A number of epidemics of Hepatitis A have occurred in Europe, as well as worldwide, over the last 30 years, in addition to the endemic background of sporadic cases that may total several hundred per year (Shuval, 1986). It has been indicated (Stille *et al*, 1972) that consumption of contaminated molluscs accounted for an estimated 19% of the cases of

Hepatitis A in Frankfurt, and that German cases were mainly attributable to consumption of oysters and mussels on the Mediterranean littoral. Poliovirus, Coxsackie virus A 18 and Echovirus 3,5,6,8,9,12 and 13 have been variously reported from France and Italy, while in Greece, Hepatitis A virus and Hepatitis A antigen have been recorded in shellfish from polluted waters (Crovari *et al*, 1974; Hugues, 1994; Hugues *et al*, 1993; Maini *et al*, 1990; Papaevangelou *et al*, 1990). Records are summarized in Table 3.3.3.

3-38. It should be noted that clinical diagnosis of viral diseases depends on isolation of the virus and/or a specific seroconversion. The relative unavailability of the necessary specialized diagnostic facilities on a routine basis in many Mediterranean countries indicates that the extent of viral disease, particularly on an individual case basis, is still largely unknown (WHO/UNEP, 1995).

TABLE 3.3.3
VIRUSES ISOLATED FROM MEDITERRANEAN SHELLFISH

(from WHO/UNEP, 1995)

Virus	Type	Location	Matrix
Enteroviruses			
Poliovirus	3	Italy	mussels
Echovirus	3,5,6,8,9,12,13	Italy, France	mussels
Coxsackie virus A	18 18	Italy France	mussels mussels
Hepatitis A virus		Greece France	mussels mussels

3.4 OTHER MICROPARASITES

3-39. Relatively little information is available on risks to human health arising from the presence of animal parasites in the marine environment. The eggs of *Ascaris*, *Toxoplasma*, *Oxyuris* and *Trichurus* are able to survive for months in the marine environment, and ingestion of a single egg is sufficient to cause infection (UNEP/WHO/IAEA, 1988). All the four nematode species mentioned above are prevalent in the Mediterranean region. The eggs are discharged in faeces by affected individuals, and transmission by swimming in polluted water is a possibility (WHO, 1982).

3-40. Protozoan parasites of either worldwide distribution or present in the Mediterranean region include *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Balantidium coli* and *Naegleria* species among those present in sewage and constituting a potential health hazard. It has been

recommended that particular attention should be devoted to these and to nematode eggs when monitoring shellfish harvested in the vicinity of sewage outfalls WHO/UNEP. 1995).

3-41. Interest in *Giardia lamblia* has increased considerably in recent years, partly with recognition of its enteropathogenicity, and partly with the publication of many reports of episodes of giardiasis both among indigenous populations and travellers to many localities. It is now recognised as the most common intestinal parasite in developed countries which affects all ages and all socio-economic classes (Barua, 1990). Transmission of *Giardia lamblia* is mainly by contaminated water, as the cysts survive in cold waters for about two months. In the case of drinking water, the usual chlorine concentration used for treatment cannot kill the protozoal cyst.

3.5 FUNGI

3-42. A number of fungal species are pathogenic to man, causing superficial, sub-cutaneous or deep mycoses according to the eventual location of the pathogen within the host after infection. The most common one associated with infection through contact with beach sand and, to a lesser extent, seawater is *Candida albicans*, a yeast considered responsible for a number of superficial and deep mycoses. A number of other genera are also considered important, again mainly from the point of view of infection via beach sand.

3-43. *Candida albicans*, together with other *Candida* species, has been isolated from a number of sandy beaches in the Mediterranean. , including the south of France (Bernard, 1985), Greece (Papadakis, 1987, Papapetropoulou and Sotiracopoulou, 1995) and Israel (Ghinsberg *et al*, 1990, 1994). In Greece, its presence in seawater has been associated with sewage pollution, as evidenced by bacterial indicator counts (Papadakis, 1987). Low counts of *Candida albicans* in seawater have been recorded on some beaches in Israel (Ghinsberg *et al*, 1994).

3-44. Work performed in the region on the identification of other fungi has included two comprehensive studies. The first, carried out along the Northern Mediterranean coast of Spain between 1983 and 1985, resulted in over 16 species of fungi isolated in both beach sand and seawater (Izquierdo *et al*, 1986). 80% of the total isolations consisted of *Penicillium*, *Aspergillus* and *Cladosporium*, the latter two of which genera contain pathogenic species. The second study, carried out on beach sand along the French Mediterranean coast between 1986 and 1987, did not result in the isolation of any pathogenic species. Eight keratinophilic and eleven non-keratinophilic species, all of which exhibit only weak pathogenic activity, were isolated (Bernard *et al*, 1988). Another study on the microbiological content of beach sand and seawater in Israel has so far revealed a considerable fungal flora, which still awaits identification (Ghinsberg *et al*, 1994). Records from Greece (Papadakis *et al*, 1990) include isolations of *Aspergillus niger*, other *Aspergillus* species, and *Mucor*, *Fusarium* and *Rhizopus* species in seawater. All of these are opportunistic pathogens, but attention is drawn to *Fusarium*, which is toxinogenic and one of the major causes of eye infections.

3.6 TOXIC ALGAE

3-45. Blooms of toxic algal species are common occurrences in shellfish-growing areas worldwide, the algal species involved, which produce potent toxins, mainly belonging to the dinoflagellate group. The shellfish accumulate the toxic cells during filter feeding, becoming vectors in various forms of shellfish poisoning (Shumway and Hurst, 1991). Of all shellfish

consumed, mussels probably pose the greatest threat with regard to shellfish poisoning. Diseases (WHO, 1984; UNEP/FAO/WHO, 1995) include:

Paralytic shellfish poisoning (PSP), which is caused by a number of toxic components falling into three into three chemical groups, of which the carbamate toxins - Saxitoxin, neosaxitoxin and gonyautoxin - are the dominant component in shellfish, saxitoxin being the first component identified. They are produced by a well-defined dinoflagellate group, mainly *Gonyaulax* (also known as *Alexandrium*) and *Gymnodinium* species, occurring in both tropical and temperate sea. The toxins usually have little effect on shellfish, but are potent neurotoxins to vertebrates, including man, causing respiratory paralysis and death by asphyxia .

Neurotoxic shellfish poisoning (NSP), which is caused by *Gymnodinium breve*, with symptoms similar to, but milder than, PSP. The motile form of the dinoflagellate produces several neurotoxins, collectively called brevetoxins.

Diarrhetic shellfish poisoning (DSP), which is caused by a number of toxic components isolated from shellfish associated with human symptoms characterized by diarrhoea, nausea, vomiting and abdominal pain. The algae responsible are considered to be *Dinophysis*, *Prorocentrum* and related species.

Venerupin poisoning, which is a non-paralytic human intoxication different from DSP, is caused by consumption of oysters and clams which feed on toxic dinoflagellates of the genus *Prorocentrum*, mainly *Prorocentrum minimum*. The heat-stable toxin induces the rapid onset of nausea, vomiting, diarrhoea, headache and nervousness. In fatal poisoning, acute yellow atrophy of the liver, extreme excitation, delirium and coma occur.

Amnesic shellfish poisoning (ASP), which is caused by a toxin (Domoic acid) produced by the diatom *Nitzschia pungens*. This toxin is a mild neurological poison compared to PSP, causing gastrointestinal distress with abdominal cramps, nausea, vomiting and diarrhoea, as well as neurological symptoms involving memory loss and disorientation which can persist in severely-affected cases.

3-46. In addition to dinoflagellates, a number of chlorophytes (green algae) and rhodophytes (red algae) can also be responsible for human intoxications, pathological phenomena being present in the respiratory tract in association with neurotoxic shellfish poisoning. Other biotoxins produced by cyanophytes (blue-green algae), also called cyanobacteria, cause contact dermatitis and respiratory irritation has also been described. Comprehensive reviews of aquatic biotoxins have been compiled (WHO, 1984; UNEP/FAO/WHO, 1995). A summary of toxic and noxious algal blooms and their effects on shellfish has also been compiled (Shumway, 1990).

Algae causing PSP

3-47. Blooms of dinoflagellates producing PSP group toxins have been reported from various parts of the Mediterranean. 26 cases of algal blooms along the French Mediterranean coast in which *Gonyaulax* and *Gymnodinium* species were present have been described (Belin *et al*, 1989). *Gymnodinium catenatum* was present along the Andalusian coast of Spain in concentrations in excess of 3×10^3 cells per litre in early 1989 (Bravo *et al*, 1990), resulting in

the presence of toxins in the marine bivalves *Venus verrucosa* and *Cytherea*, This was the first record in Spain's Mediterranean coast. The same species was recorded at concentrations of up to 11×10^6 cells per litre in the Bay of Volos, Greece, in July 1987 (Gotsis-Skretas, 1988) and up to 6×10^6 cells per litre in the lagoon of Fusaro, near Naples in 1988 (Carrada *et al*, 1988).

Gymnodinium species have also been recorded from the Northwestern Adriatic practically every year between 1976 and 1985 at maximum concentrations of 230×10^6 cells per litre (Mancini *et al*, 1986), in the Bay of Pula (Degobbis, 1990), and from Lake El-Mellah, in Eastern Algeria (Samson Kachacha and Touahria, 1992),

3-48. *Gonyaulax polyhedra* blooms have been recorded several times between 1977 and 1985 in the Northwestern Adriatic (Mancini *et al*, 1986) and in the Gulf of Trieste since 1977 (Fonda Umani, 1985). Algae responsible for red tides in the Emilia-Romagna region of the Adriatic in 1984 were identified as *Gonyaulax polyhedra*, but analysis of both algae and shellfish failed to reveal measurable quantities of saxitoxin, as compared to those contained in laboratory stock cultures of *Gonyaulax tamarensis* from Canada (Fortuna *et al*, 1985). Records of blooms of the same species in the Eastern Adriatic include Pula Bay (Degobbis, 1990), Sibenik Bay (Legovic *et al*, 1991a, 1991b) and Kastela Bay, near Split, in which last-named locality, blooms are stated to have occurred for the last 20 years (Marasovic, 1990). Records of *Gonyaulax polyhedra* blooms from other Mediterranean areas include the Gulf of Kavala, Greece in August 1986 at concentrations of up to 10×10^6 cells per litre, and regularly between April and June along the Western coast of Turkey at up to 50×10^3 cells per litre, during May and June the blooms also containing *Gonyaulax spinifera* at up to 20×10^3 cells per litre (Koray, 1990; Koray *et al*, 1992), *Gonyaulax polyhedra* has also been recorded along the coast of Lebanon where, however, concentrations are low and no health problems are involved (Lakkis, 1991). Blooms containing *Gonyaulax* species have been recorded from Lake El-Mellah, in Eastern Algeria Samson Kachacha and Touahria, 1992). PSP toxins caused by *Gonyaulax tamarensis* in mussels have also been reported from Spain (Shumway, 1990). From a total of 128 samples of seawater in shellfish culture areas in Greece, *Gonyaulax* and *Gymnodinium* species were only found in 12 and 18 samples respectively, the former in low and the latter in relatively high numbers. Concentrations of Saxitoxin both in these samples and in shellfish collected from the market were below detection limits (Papadakis, 1991).

3-49. *Alexandrium minutum* in mussels is reported as causing the first recorded case of PSP in France in 1989 (Shumway, 1990). The same species has been observed as a large bloom (28×10^6 cells per litre) in the harbour of San Carlos de la Rapita, south of the Ebro delta in Spain in May 1989, PSP being recorded from mussels in both this and neighbouring harbours (Delgado *et al*, 1990). *Alexandrium minutum* was present in red tides inside the Eastern harbour of Alexandria, Egypt (Zaghloud and Halim, 1992), and along the Western coast of Turkey in May 1983 Koray and Buyukisik, 1988). Recurrent blooms in the last-named area are stated to contain the species between March and June (Koray, 1990; Koray *et al*, 1992), *Alexandrium minutum* has also been recorded along the coast of Lebanon where, however, concentrations are low and no health problems are involved (Lakkis, 1991).

Algae causing NSP

3-50. Apart from *Gymnodinium* blooms in which individual species were not identified (*vide* para 3-47 above), blooms containing the species responsible for causing NSP, *Gymnodinium breve*, are also mentioned as having been recorded in the North of Spain and in the Eastern Mediterranean (Steidinger, 1983; Berland and Bellan, 1990; Pagou and Ignatiades, 1990).

Records of blooms in specific Mediterranean localities containing *Gymnodinium breve* include the Gulf of Saronikos, Greece, where the species was present at a concentration of 10×10^6 cells per litre in November 1977, and in Alimos Beach, in the same locality near the sewage outfall, where its concentration was 12 to 27×10^6 cells per litre (Pagou, 1990).

Algae causing DSP and Venerupin Poisoning

3-51. *Dinophysis sacculus* toxins (responsible for DSP) in shellfish were the cause of a ban on marketing affected seafood in France between 1987 and 1989 (Shumway, 1990). The species is reported as present along the southern coast of France since 1987 (Leveau *et al*, 1989; Lassus *et al*, 1991). The same species has also been recorded at a concentration of 40×10^3 cells per litre in brine lakes near Messina in Sicily (Magazzj, 1982, Magazzj *et al*, 1991), and as widespread at above 2×10^3 cells per litre in coastal waters off Syracuse, also in Sicily (Giacobbe and Maimone, 1991). DSP is reported as widespread in the Adriatic (Shumway, 1990), and *Dinophysis* species have been recorded in both the Northern and Central Adriatic, DSP intoxication being recorded in the former sub-region (Boni *et al*, 1992). A number of *Dinophysis* species are present in the Tyrrhenian Sea, but DSP was never detected in local shellfish (Innamorati *et al*, 1989b).

3-52. *Prorocentrum lima*, the species within the genus *Prorocentrum* responsible for DSP, has been recorded from the Northwestern Adriatic (Moro and Andreoli, 1991), the Gulf of Trieste (Boni *et al*, 1992) and the Tyrrhenian Sea (Innamorati *et al*, 1989a, 1989b). *Prorocentrum minimum*, responsible for Venerupin Poisoning, is described as recently increasing in occurrence in the Eastern Adriatic (Marasovic, 1986). There are numerous records of the species from other parts of the Adriatic (UNEP/FAO/WHO, 1995). It has also been recorded from lagoons along the French Mediterranean coast (Leveau *et al*, 1989).

Algae causing ASP

3-53. *Nitzschia* species, including *Nitzschia pungens*, responsible for ASP, occurs in mucilaginous aggregates from diatoms (Viviani *et al*, 1992). This mucilage phenomenon in the Adriatic has given rise to worries over health on both sides of this Sea. The presence of domoic acid, however, was not recorded during monitoring programmes (Viviani *et al*, 1992).

Cyanophyta (Cyanobacteria)

3-54. About 25 species of cyanophyta (blue-green algae), also called cyanobacteria, have been implicated in poisoning incidents worldwide, and about 75% of blooms tested have been found to produce toxins (Philipp, 1991). Ingestion of cyanophyta or body-immersion in scum-containing water have been associated with dizziness, headaches, muscle cramps, nausea, vomiting, gastroenteritis, liver damage and pneumonia (Codd *et al*, 1989; Turner *et al*, 1990). Most species are freshwater, but a number are marine. Of these latter, a filamentous species, *Lyngbya majuscula* has been identified as the causative agent of a severe contact dermatitis affecting bathers in the Pacific and Caribbean (Grauer, 1959; Moore, 1984). Seven species of *Lyngbya* have been recorded in the Mediterranean and although these do not include *Lyngbya majuscula*, another filamentous species, *Lyngbya confervoides*, has been identified (UNEP/FAO/WHO, 1995). Cyanophyte blooms have been observed in the Lake of Tunis (Kelly and Naguib, 1984), the Nile Estuary (Halim, 1989) and in the North Adriatic (Kaltenböck and Hemdl, 1992). However, no effects on human health have been described.

PART 4

MICROBIOLOGICAL CRITERIA AND STANDARDS FOR MEDITERRANEAN COASTAL AREAS

4-1. In line with global practice, recreational and shellfish water quality standards in the Mediterranean are based on acceptable concentrations of bacterial indicator organisms (mainly faecal coliforms, supplemented to a lesser extent by faecal streptococci) and, in some instances, pathogens such as *Salmonella* and enteroviruses. The use of faecal indicators for indexing the health hazards in water and seafood exposed to sewage pollution dates back to the late 1800s and early 1990s, shortly after these microorganisms were first isolated and associated with the faecal wastes of warm-blooded animals. Taking into account certain limitations based on illness rates in the discharging populations, it was recognized (WHO/UNEP, 1977b) that:

A large number of pathogenic bacteria and viruses may be present in municipal sewage, each with its own probability of illness associated with a given dose;

Routine monitoring of each of these pathogens would be a Herculean task;

Enumeration methods are not available for some of the more important pathogens, and are difficult for others;

Pathogen density data are difficult to interpret because the methodology is generally time-consuming, expensive and not always quantitative, and because in some instances dose-response data are meagre or not available; and

On theoretical grounds, the real purpose is not to index the presence of the pathogen, but rather the likelihood that it may be present in sufficient numbers to constitute an unacceptable health risk.

4-2. Since the issue of the above conclusions by the WHO/UNEP Groups of Experts in 1977, the situation has altered to the extent that available methodology for identification and enumeration of pathogenic microorganisms, including viruses, has increased significantly. Nevertheless, in many instances, such methodology is not within the reach of the majority of Mediterranean laboratories, particularly those dealing with marine pollution monitoring on a routine basis.

4-3. In their acceptance of the terms of the 1970 Athens Protocol for the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution from Land-based Sources, Mediterranean States, as Contracting Parties to the Protocol, bound themselves to progressively formulate and adopt, in cooperation with the competent international organizations, common guidelines and, as appropriate, standards or criteria dealing in particular with a number of aspects, including the quality of seawater used for specific purposes that is necessary for the protection of human health, living resources and ecosystems. This eventually led to the adoption of two common measures - the Interim environmental quality criteria for bathing waters in 1985 (UNEP, 1985a), and the Environmental quality criteria for shellfish waters in 1987 (UNEP, 1987). As a matter of fact, both include standards. In both cases, the microbiological parameter selected (faecal coliforms) for evaluating the quality of the environmental matrix in question constitutes the

criterion; the maximum concentration limits stipulated for acceptance constitutes the standard.

In both cases, as is usual in international agreements of this nature, the standards adopted were recognised as minimum ones, each individual country being free to adopt stricter measures if such were considered necessary in the light of national or local circumstances. The situation is rather different in the case of the common interim criteria for bathing waters, as the relevant resolution specifically provided that countries already possessing national criteria and/or standards should continue to utilize such until an adequate comparison exercise had been carried out (UNEP, 1985).

4-4. The four Mediterranean countries (France, Greece, Italy and Spain) which are Member States of the European Community are also bound by the relevant EC Directives: Council Directive 76/160/EEC of 8 December 1975 concerning the quality of bathing water (EC, 1976), in which there are five microbiological parameters, and the standard values for faecal coliforms differ from those jointly adopted by Mediterranean states in 1985; and Council Directive 79/923/EEC of 30 October 1979 on the quality of shellfish waters (EC, 1979), in which the microbiological parameters are identical with those jointly adopted for the Mediterranean. Both Directives include a number of physico-chemical parameters, in addition to microbiological. In each case, Member States are bound not to set less stringent values than the ones stipulated as mandatory standards, but are free to set more stringent ones. In their national legislation, all four countries concerned have set microbiological standards for bathing water which are stricter than the EC mandatory values. Greece and Spain have adopted the EC values in their national microbiological standards for shellfish waters, France and Italy have done the same (EC, 1995b), but both countries also have a classification system for shellfish waters with stricter standards (WHO/UNEP, 1987).

4-5. Standards and criteria for both recreational and shellfish waters exist in practically all countries of the region but, particularly in the case of recreational waters, differ to a large extent both as to the particular microorganism(s) monitored, and the acceptable levels of each (WHO, 1989). Apart from this, even were the same standards to be prevalent throughout the Mediterranean, comparison would still be difficult, owing to differences in sampling techniques, analytical methodologies and interpretation of results (Saliba and Helmer, 1990). As far as analytical methodologies are concerned, approximately half the countries in the region utilize the Most Probable Number (MPN) method for determination of the major bacterial indicator organisms in seawater, while the rest utilize the Membrane Filtration (MF) method. The two methods are not fully comparable, and there is a degree of controversy regarding the respective advantages and disadvantages of each under different circumstances. Apart from the technique itself, culture media recommended can produce unexpected results. Methods used for seawater analysis have been developed from those used for potable water which, in the unpolluted state, is bacteriologically pure. Components of the natural marine bacterial flora often interfere with readings and as, within the Mediterranean itself, the natural marine bacterial species vary according to the particular area, it has been found difficult to develop standard methodology guaranteed to produce the same results wherever applied. Comparison of the state of microbiological pollution in coastal recreational and shellfish waters in different areas of the region can therefore be quite misleading if restricted solely to counts obtained, without taking sampling and analytical methodology, not to mention quality control, into account (Saliba and Helmer, 1990).

4.1 EXISTING INTERNATIONAL PROVISIONS FOR COASTAL RECREATIONAL AREAS

4-6. The earliest international guidelines of relevance to the Mediterranean concerning recreational water quality were the recommendations of the WHO Working Group on guides and criteria for recreational quality of beaches and coastal waters, convened in Bilthoven in the Netherlands in October/November 1974 (WHO, 1975), which are commonly considered as constituting the first pronouncement of the Organization on this issue. The guidelines and criteria recommended by this group covered microbiological, chemical and aesthetic characteristics. From the first-named viewpoint, acting on the basic assumption that the variability pattern within the marine environment called for classification of bacterial concentrations by orders of magnitude rather than by detailed numerical figures, the working group came up with specific suggested guidelines based on the presence of bacterial indicator organisms in coastal bathing waters: consistently less than 100 *Escherichia coli* per 100 ml for highly satisfactory bathing areas, and not consistently greater than 1000 *Escherichia coli* per 100 ml for bathing waters to be considered acceptable. These suggested guidelines were eventually generally followed in a number of European and Mediterranean countries, a number of which incorporated the suggested standards in their legislation, and equally generally, referred to as the "WHO guidelines" or "WHO standards even though, strictly speaking, they had no formal status (Saliba, 1993).

Common Mediterranean criteria and standards

4-7. During the course of MED POL Phase I, WHO and UNEP convened a group of experts in Athens in 1977 within the framework of the MED VII pilot project on coastal water quality control to initiate a scientific study concerning health criteria and epidemiological studies related to coastal water pollution. One of the purposes of the meeting was to review the epidemiological factors on which quality standards for recreational and other coastal waters were based. After examining the available evidence, the group concluded that there was still not enough epidemiological evidence to justify any recommendation for altering the guidelines proposed by the 1974 WHO Bilthoven working group. It was considered, however that, while there might be sufficient justification for water quality control at existing recreational facilities in the Mediterranean to continue to be based on the more lenient standard of 1000 *Escherichia coli* per 100 ml, the stricter standard of 100 *Escherichia coli* per 100 ml should be considered for new recreational facilities, as well as for long-term decisions on water quality management involving large investments. The group also considered that the above numerical limitation of 1000 *Escherichia coli* per 100 ml should be more closely defined statistically, and recommended the term "no more than 10% of at least ten consecutive samples collected during the bathing season should exceed 1000 *Escherichia coli* per 100 ml (WHO/UNEP, 1977).

4-8. Following a number of further expert meetings organized within the framework of the MED VII pilot project, it was considered that, under the climatic and other conditions relating to bathing in the Mediterranean, the stricter Bilthoven value would be a more reasonable standard. It was similarly considered that more than one bacterial indicator was necessary. After a comprehensive review of both scientific evidence and prevailing standards in the various countries, it was concluded that the coastal bathing waters of the Mediterranean could be considered as satisfactory and safe for use by the general public if the concentrations of faecal coliforms (FC) and of faecal streptococci (FS) in at least ten representative water samples

collected during the bathing season at intervals of not more than 14 days did not exceed 100 faecal coliforms or 100 faecal streptococci per 100 ml in 50% of the samples and 1000 faecal coliforms or faecal streptococci in 90% of the samples. It was also concluded that the concentrations of faecal coliforms and faecal streptococci should be determined by agreed-on reference methods, or by methods yielding comparable results, proved through intercalibration with the relevant reference methods.

4-9. In terms of the above, WHO and UNEP formally proposed interim environmental quality criteria for recreational waters to the Contracting Parties for adoption on a joint Mediterranean basis. The proposals were designed to be of an interim nature, pending the acquisition of sufficient hard epidemiological evidence on the correlation between water quality and health effects, on which "permanent" standards would be proposed. The interim proposals are given in Table 4.1.1. The Contracting Parties accepted only one bacterial indicator organism, faecal coliforms, as a criterion. The analytical method was also altered to include both the membrane filtration (MF) and the Most Probable Number (MPN) methods. The interim criteria as adopted by Contracting Parties are shown in Table 4.1.2. The relevant resolution regarding the measure adopted referred to it as a measure for a transitory period that would assure, as a minimum common requirement, that the quality of bathing waters would conform with the proposed WHO/UNEP environmental quality criteria concerning faecal coliforms. In effect, the criteria adopted could no longer be termed the WHO/UNEP criteria, as these were essentially based on two parameters, not one. The resolution also stated during the transition period, the Contracting Parties which already had standards would continue to apply them without modifying their legislation, and would perform comparative studies between their own standards and the WHO/UNEP criteria. To date, there is no information from any country to the effect that such comparative studies have been carried out.

European Community standards

4-10. The European Community's Directive on the quality of bathing water (EC, 1976), which affects four Mediterranean countries, contains both microbiological and physico-chemical parameters. The former are reproduced in Table 4.1.3. There are two sets of standards: mandatory or imperative (I) values, representing the minimum Member States can use in setting their national standards, and stricter guide (G) values, which Member States shall endeavour to observe as guidelines. There is a provision in Article 7 of the Directive to prevent the downgrading of already-existing standards to the mandatory values. Paragraph 1 of the Article states that implementation of the measures taken pursuant to the Directive may under no circumstances lead either directly or indirectly to deterioration of the current quality of bathing water. In the case of the mandatory parameters, bathing waters shall be deemed to conform to each relevant parameter if 95% of the samples taken comply with the standard value. In the case of the guide parameters, the degree of compliance with these higher standards required is 80% for total coliforms and faecal coliforms in addition to 95% compliance with the mandatory values, and 90% for faecal streptococci.

TABLE 4.1.1

**INTERIM ENVIRONMENTAL QUALITY CRITERIA FOR RECREATIONAL WATERS
PROPOSED BY WHO AND UNEP IN 1985**

Parameter	Concentrations per 100 ml not to be exceeded in 50% 90% of the samples		Minimum number of samples	Analytical method	Interpretation method
Faecal coliforms	100	1000	10	Membrane filtration, m-FC broth or agar incubated at 44.5±0.2EC for 24h	Graphical or Analytical adjustment to a log-normal probability distribution
Faecal streptococci	100	1000	10	Membrane filtration, <i>M-enterococcus</i> agar incubated at 35±0.5EC for 48h	

TABLE 4.1.2

**INTERIM ENVIRONMENTAL QUALITY CRITERIA FOR BATHING WATERS ADOPTED
BY THE CONTRACTING PARTIES IN 1985**

Parameter	Concentrations per 100 ml not to be exceeded in 50% 90% of the samples		Minimum number of samples	Analytical method	Interpretation method
Faecal coliforms	100	1000	10	WHO/UNEP Reference Method No. 3. "Determination of Faecal Coliforms in sea water by the Membrane Filtration Culture Method" or WHO/UNEP Reference Method No. 22. "Determination of Faecal Coliforms in sea water by the Multiple Test Tube Method"	Graphical or Analytical adjustment to a log-normal probability distribution

TABLE 4.1.3

**EC MICROBIOLOGICAL QUALITY REQUIREMENTS FOR BATHING WATERS
AS PER COUNCIL DIRECTIVE 76/160/EEC OF 8 DECEMBER 1975**

(From EC, 1976)

Parameters	Guide value	Mandatory value	Minimum sampling frequency	Method of analysis and inspection
Total coliforms per 100 ml	500	10 000	Fortnightly (1)	Fermentation in multiple tubes. Subculturing of the positive tubes on a confirmation medium. Count according to MPN (most probable number) or membrane filtration and culture on an appropriate medium such as Tergitol lactose agar, endo-agar, 0.4% Teepol broth, subculturing and identification of the suspect colonies.
Faecal coliforms per 100 ml	100	2 000	Fortnightly (1)	In the case of coliforms, the incubation temperature is variable, according to whether total or faecal coliforms are being investigated.
Faecal streptococci per 100 ml	100	--	(2)	Litsky method. Count according to MPN (most probable number) or filtration on membrane. Culture on an appropriate medium.
<i>Salmonella</i> per 1 litre	--	0	(2)	Concentration by membrane filtration. Inoculation on a standard medium. Enrichment -- subculturing or isolating agar -- identification.
Enteroviruses PFU per 10 litres	--	0	(2)	Concentration by filtration, flocculation or centrifuging and confirmation.

- (1) When a sampling taken in previous years produced results which are appreciably better than those in the annex and when no new factor likely to lower the quality of the water has appeared, the competent authorities may reduce the sampling frequency by a factor of 2.
- (2) Concentrations to be checked by the competent authorities when there is a tendency towards the eutrophication of the water.

4-11. A proposal for a Council Directive concerning the quality of bathing water, with the aim of replacing the 1975 Directive, has recently been published (EC, 1994b). The new proposed microbiological parameters are given in Table 4.1.4. This constitutes part of table 1 of the Annex to the proposed Directive. The main points to note are (a) total coliforms have been removed as a parameter, which is understandable, considering their doubtful value in this regard, and (b) Faecal coliforms have been replaced by *Escherichia coli*, with the guide and mandatory standards remaining at 100 and 2000 respectively per 100 ml, as they were for faecal coliforms. In effect, however, as *Escherichia coli* falls within the faecal coliform group, retention of the same figures represents a degree of relaxation, as the upper limits now apply to one species, as opposed to the whole group. (c) The guide value for faecal streptococci remains the same, but a mandatory standard of 400 per 100 ml has been introduced, (d) *Salmonella* has also been removed as a parameter from the technical annex, and (e) bacteriophages are being introduced as a new parameter with values, however, still to be decided. Such standards (for bacteriophages) are expected to be introduced as soon as the necessary scientific information becomes available.

4-12. Tables 2 and 3 in the annex to the proposed new Directive give the number of samples which need not comply with the mandatory and guide standards respectively, *i.e.* the degree of compliance. In essence, compliance requirements for mandatory values has remained at 95% only where more than 59 samples are taken. Otherwise the tolerance is zero for 1 to 19 samples, 1 for 20 to 39 samples, and 2 for 40 to 50 samples. In practice, therefore, as the bathing stations are hardly ever sampled more than 19 times in one year, 100% compliance will be required for the mandatory standards. In the case of the guide standards, the number of samples allowed to exceed the standard rises by one for every additional five samples taken. There is a zero tolerance for up to 4 samples taken from a station in one year, 1 for 5 to 9 samples, 2 for 10 to 14 samples, and so on up to 11 for 50 to 59 samples. Beyond this figure, it is 20% (*i.e.* 80% compliance). In practice compliance remains at 80% for stations where samplings are in multiples of five, otherwise, it is stricter. In the case of faecal streptococci, which also fall into this category, compliance requirements with the guide value have gone down from the 90% stipulated in the 1976 Directive, although this is offset by the requirement of 95% compliance with the new mandatory value. The two tables showing compliance requirements are reproduced in Table 4.1.5.

4-13. There are therefore two different international standards for recreational waters in the Mediterranean: the 1985 common adopted measure which applies to the whole region, and the 1976 EC Directive, which applies to four countries, which between them make up a considerable part of the Northern seaboard of the Mediterranean. The provision in the former that countries already having standards of their own need not alter their legislation results in a trichotomy with different states (a) observing the EC standards, while at the same time enforcing variably stricter measures through their national legislation, (b) observing the 1985 Mediterranean standards, and (c) with independent legislation based on or other of the former two, or in at least one case, on the 1975 WHO Bilthoven recommendations.

TABLE 4.1.4

**EC MICROBIOLOGICAL QUALITY REQUIREMENTS FOR BATHING WATERS
AS PER PROPOSED COUNCIL DIRECTIVE, 1994**

(From EC, 1994b)

Parameters	Guide value	Mandatory value	Minimum sampling frequency	Method of analysis and inspection
<i>Escherichia coli</i> per 100 ml	100	2 000	Fortnightly	Incubation at 44EC. Fermentation in multiple tubes. Subculturing of the positive tubes on a confirmation medium. Count according to MPN (most probable number) or membrane filtration and culture on an appropriate medium such as Tergitol lactose agar, endo-agar, 0.4% Teepol broth, subculturing and identification of the suspect colonies.
Faecal streptococci per 100 ml	100	400 (1)	Fortnightly	Litsky method with incubation at 37EC. Count according to MPN (most probable number) or filtration on membrane. Culture on an appropriate medium.
Enteroviruses PFU per 10 litres (2)	--	0	Monthly	Concentration by filtration, flocculation or centrifuging and confirmation.
Bacteriophages No. per 100 ml				

- (1) In case of abnormal peak value, Member States can within 2 working days re-test this parameter. If following re-testing a normal value is recorded, the peak value can be disregarded. The Commission shall be informed of the number of peak values disregarded for each bathing zone.
- (2) This parameter must be checked once in the fortnight before the start of the bathing season. If during the two preceding bathing seasons the bathing water complied with the G value for *Escherichia coli* and the I value for faecal streptococci, on the basis of Tables 3 and 2 respectively, and the bathing water does not receive discharges of chemically treated sewage, then the parameter needs to be measured only once more. This measurement should be made in the middle of the bathing season.

TABLE 4.1.5

EC MICROBIOLOGICAL QUALITY COMPLIANCE REQUIREMENTS FOR BATHING WATERS AS PER PROPOSED COUNCIL DIRECTIVE, 1994

(From EC, 1994b)

Number of samples taken and analyzed	Maximum number which need not conform to the I value
up to 19 inclusive 20 to 39 inclusive 40 to 59 inclusive	0 1 2
Greater than 59	5% of number of samples

Number of samples taken and analyzed	Maximum number which need not conform to the G value
up to 4 inclusive 5 to 9 inclusive 10 to 14 inclusive 15 to 19 inclusive 20 to 24 inclusive 25 to 29 inclusive 30 to 34 inclusive 35 to 39 inclusive 40 to 44 inclusive 45 to 49 inclusive 50 to 54 inclusive 55 to 59 inclusive	0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11
Greater than 59	20% of number of samples

4.2 EXISTING NATIONAL PROVISIONS FOR COASTAL RECREATIONAL AREAS

4-14. Although all Mediterranean countries have long-standing comprehensive regulatory mechanisms for ensuring strict quality control for drinking water, the situation has still not reached the same level, at least in the matter of enforcement, in the case of recreational waters.

In addition, apart from the diversity of quality standards adopted, there is a similar degree of variation in the particular position such standards occupy within national legislative frameworks: *i.e.* whether they are incorporated in principal or in subsidiary legislation or, alternatively, are fixed and enforced through administrative procedures stipulated in umbrella-type covering legislation. The last practice, which has now practically disappeared as a result of adherence to international legal instruments which normally demand that standards be fixed by law, obviously provided a greater degree of flexibility in the response to change. Apart from this, in what is fast becoming the norm in national laws, not only the standards themselves, but also all related aspects, including frequency of sampling, methods of analysis and interpretation of results, are prescribed by the law itself. While this is desirable from a number of aspects, it raises problems when legislation requires updating or amendment, particularly when the national mechanism through which such alterations have to be made happens to be (as is not unusual) variously cumbersome (Saliba, 1993).

4-15. The salient features of national legislation and related measures concerning the quality of recreational waters in the various Mediterranean countries are summarized in the following paragraphs. The picture is not quite complete, as information from some countries was not made available by the time of finalisation of this document.

Albania

4-16. Up to 1988, Albania used the 1974 WHO Bilthoven guidelines as a basis for evaluating recreational water quality as part of its Public Health legislation. Specific standards regarding the quality of bathing water were established by Ministerial Regulation in 1989. Under these regulations:

Pathogenic microorganisms should be absent

Escherichia coli should not generally be present in concentrations above 200-400 per 100 ml water.

Croatia

4-17. Coastal seawater quality in Croatia is performed under the terms of the Bathing and Recreational Sea Waters Ordinance (Croatian Official Gazette 48/86), which regulates the manner of controlling seawater for bathing and recreation, whereas local authorities have to specify the areas of the sea intended for such use, as well as provide all site details and sampling points. The Ordinance prescribes sampling throughout the bathing season (May through October) twice a month.

4-18. The standards, which are identical with the guide values in the EC 1975 bathing water Directive, except for the zero tolerance for total coliforms, are as follows:

100% of samples tested must not exceed 500 total coliforms per 100 ml;
80% of samples tested must not exceed 100 faecal coliforms per 100 ml;
80% of samples tested must not exceed 100 faecal streptococci per 100 ml.

Cyprus

4-19. There are no standards prescribed by law for bathing water quality. The standards adopted by Contracting Parties in 1985 are applied. Since January 1995, Cyprus commenced participation in a pilot project of the European Blue Flag programme. The standards in the EC 1975 Directive are used for evaluation of bathing waters in the case of those bathing beaches applying for the Flag.

France

4-20. French Law is based on the 1975 EC bathing water Directive. On the basis of the limit values therein, the French authorities assign four categories to bathing water:

- A. High quality
- B. Moderate quality
- C. Temporary pollution possible
- D. Poor quality.

4-21. Category A is assigned to stations monitored at the required frequency, and complying with the EC guide values for all three indicator parameters (total coliforms, faecal coliforms and streptococci). Category B is assigned to stations complying with frequency requirements and with the EC mandatory values for total coliforms and faecal coliforms. Category C is assigned to those stations which exceed the EC mandatory values 5% to 33% of the time. Category D is assigned to stations in which at least one of the mandatory parameter values is exceeded over 33% of the time. Any area classified under Category D for two consecutive years must be closed to bathers.

Greece

4-22. Greek legislation has standards based on the 1975 EC Directive, but samples have to conform with both mandatory and guide standards, which are identical with those in the Directive, except for faecal coliforms, where the mandatory value in Greece is set at 500 per 100 ml. as against 2000 per 100 ml in the Directive. In the case of faecal streptococci, the EC guide value of 100 CFU per 100 ml is the mandatory value under Greek legislation.

Israel

4-23. According to Israeli law, the quality of sea water at bathing beaches shall be in accordance with, inter alia, the following provisions:

The geometric mean of seawater tests taken during the season at the bathing beach shall not exceed 200 faecal coliforms per 100 ml of seawater, and individual samples shall not exceed 400 faecal coliforms in more than 20% of all the samples;

If more than 400 faecal coliforms are discovered in a single sample, a follow-up test shall be performed 24 to 48 hours after results of the sample exceeding 400 faecal coliforms are known. The follow-up test shall include three seawater samples taken from three different locations along the bathing beach in question.

If one or more of the follow-up samples also shows a result on excess of 400 faecal coliform bacteria, a sanitation inspection shall be performed to locate the source of contamination.

If the results of the follow-up test indicate a danger to public health, the Ministry of Health shall prohibit bathing at that beach until completion of the sanitary inspection and cessation of contamination. The sanitation inspection may include tests as directed by the Ministry of Health.

4-24. The law also defines the circumstances under which public bathing shall be prohibited. these include failure of the seawater to meet stipulated quality standards.

Italy

4-25. Italian legislation is based on the 1975 EC bathing water directive, but is stricter in the sense that national standards are set at 2,000 total coliforms (as compared to the mandatory limit of 10,000) per ml, and are equivalent to the EC guide values for faecal coliforms and faecal streptococci (100 per 100 ml in each case).

Libya

4-26 National standards for recreational waters have been in force in Libya since 1977 and are based on upper limits of 100 total coliforms per 100 ml, and 100 faecal coliforms per 100 ml, with a 100% compliance requirement in both cases. These standards are now being revised, and in the meantime, Libya is following the standards adopted by the Contracting Parties in 1985, pending finalisation of new national standards.

Malta

4-27. There are no standards specifically established by Maltese regarding bathing water quality. Control is exercised by the Department of Health under overall Public Health legislation, under which bathing in any area can be prohibited if, in the opinion of the Superintendent of Public Health, this would constitute a health risk. In assessing bathing water quality, the standards adopted by the Contracting Parties are used as a basis. Stations are also categorized as follows:

First class: Stations with faecal coliform counts of less than 100 per 100 ml in 95% or more of the samples;

Second class: Stations complying with the 1985 standards (50% of samples less than 100 faecal coliforms per 100 ml, and 90% less than 1000 per 100 ml) throughout the whole of the bathing season;

Third class: Stations complying with the 1985 standards on a seasonal basis, but not on a monthly basis;

Fourth class: Stations failing to conform over the whole of the whole 4-month bathing season.

Bathing at any beach is temporarily prohibited when faecal coliform counts exceed 1000 faecal coliforms per ml for any period.

Morocco

4-28. National standards in force are those adopted by Mediterranean Governments in 1985 (50% of samples not to exceed 100 faecal coliforms per 100 ml, and 90% not to exceed 1000 per 100 ml). Beaches are classified into five categories based on total coliform and faecal coliform levels per 100 ml:

Class I	Good quality	< 500 TC	+	< 100 FC
Class II	Medium quality	500 < 2500 TC	+	100 < 500 FC
Class III	Poor quality	2500 < 5000 TC	+	500 < 1000 FC
Class IV	Bad quality	5000 < 10000 TC	+	1000 < 2000 FC
Class V	Unsuitable	> 10000 TC	+	> 2000 FC

Slovenia

4-29. Bathing water quality control in Slovenia is carried out under the terms of the Bathing Waters Ordinance of 1988. Standards are generally based on the 1975 EC Directive.

Spain

4-30. Spanish law is based on the 1975 EC Directive, and classifies bathing water into three quality categories:

- A. Stations complying with both the mandatory values and guide values for each parameter measured or assessed;
- B. Stations complying with the mandatory values for each parameter measured or assessed;
- C. Stations not complying with the mandatory values for one or more of the parameters measured or assessed.

Tunisia

4-31. Tunisian legislation on bathing water quality incorporates standards based on the 1975 EC guide values, and mandatory limits are 500 total coliforms per 100 ml, 100 faecal coliforms per 100 ml, and 100 faecal streptococci per 100 ml. The following classification is applied: Stations classified as of good quality are those where, on the basis of at least ten samples per year, 80% of the samples conform with total coliform and faecal coliform limits, and 90% of the samples conform with the faecal streptococci limit.

Turkey

4-32. Under the terms of Turkish law, the standards for sea water used for recreational purposes are generally modeled on the 1975 EC Directive, and contain both microbiological and physico-chemical parameters. The former are:

Total coliforms (MPN/100 ml)	1000
Faecal coliforms (MPN/100 ml)	200

Turkey also has Blue Flag water quality criteria, the microbiological parameters of which have standards to the 1975 EC guide values (500 total coliforms per 100 ml, 100 faecal coliforms per 100 ml and 100 faecal streptococci per 100 ml).

4.3 EXISTING INTERNATIONAL PROVISIONS FOR SHELLFISH AREAS

4-33. At the beginning of the first phase of the MED POL programme, no international agreement on the quality of shellfish-growing waters covering the Mediterranean area existed (UNEP/WHO, 1985). A proposed draft code of hygiene practice for molluscan shellfish was prepared by the Codex Alimentarius Commission (1978). Appendix III to the draft code provided general recommendations on environmental sanitation, including the classification, control and re-classification of shellfish-growing areas. In the same appendix, a list of microbiological standards and methods currently employed in several developed countries included only two Mediterranean countries; France and Italy. The situation prevailing at the time was that successful shellfish control programmes had been in operation in a number of countries for many years, using a wide range of bacteriological standards and methods, but at the same time, it was virtually impossible to reach agreement on any specific set of standards and methods (UNEP/WHO, 1985).

Common Mediterranean standards

4-34. During the course of the pilot project on Coastal water quality control (MED VII), attempts were made to harmonize methodology through the development of microbiological methods suitable for use in the Mediterranean marine environment. A number of these methods had been completed by the end of the pilot project, including specific ones on the determination of concentrations of the major bacterial indicator organisms in seawater and shellfish (WHO/UNEP, 1981).

4-35. Within the framework of the same pilot project, a seminar on the monitoring of recreational coastal water quality and shellfish culture areas was convened by WHO and UNEP in Rome in April 1978 (WHO/UNEP, 1978). With regard to monitoring of shellfish and shellfish-growing waters, it was considered by the seminar that the first two phases in assessing shellfish quality (the culture area and the shellfish in its natural surroundings), should comply with appropriate microbiological limits, it being understood that for a full quality assessment of shellfish as a food product, these should also be examined at subsequent phases of handling (transport, processing and marketing). The group also endorsed the recommendations made by a previous WHO/UNEP working group earlier that year (WHO/UNEP, 1977a) that in shellfish, the flesh alone, as opposed to the flesh and intervalvular fluid, should be utilized for microbiological analysis. The seminar recommended interim standards for shellfish waters, based on concentrations of faecal coliforms in the water itself, and for shellfish, based on concentrations of faecal coliforms in the flesh. These recommendations were renewed by a meeting of principal investigators of the MED VII pilot project convened by WHO and UNEP in Rome in November 1979, in which one of the subjects for discussion was the development of interim microbiological criteria (WHO/UNEP, 1980).

4-36. On the basis of the above recommendations, and taking into account the current situation regarding national criteria for shellfish and shellfish-growing waters in Mediterranean countries, WHO and UNEP made formal proposals to the Contracting Parties on interim microbiological criteria for (a) shellfish-growing waters and (b) shellfish to be adopted on a common basis. As in the case of recreational waters, since they contained numerical limits, these were actually proposed standards. The proposals are reproduced in Table 4.3.1. As already stated earlier in this document, these proposals were not endorsed by Contracting Parties at their 1985 ordinary meeting. The whole matter was comprehensively reviewed by a consultation on environmental quality criteria for shellfish-growing waters and shellfish in the Mediterranean, convened by WHO and UNEP in Athens in March 1987 (WHO/UNEP, 1987). On taking every aspect of the situation into consideration, the meeting recommended that for the assessment of the microbiological quality of the waters, the shellfish themselves should be taken into account, and that for the determination of microbiological parameters, preference should be given to analysis of shellfish flesh and intervalvular fluid, rather than flesh alone. The faecal coliform criterion was retained, and the standard proposed was 300 per 100 ml in at least 75% of the samples. The question of shellfish standards for consumption was dropped. This proposal was adopted by the Contracting Parties in September 1987 (UNEP, 1987), the operative parts of the relevant resolution being reproduced in Table 4.3.2. In effect, the criteria and standards adopted are practically identical to the microbiological component of the 1979 EC Directive, the only difference being that the EC Directive specified analysis of shellfish flesh plus intervalvular fluid. The approved Mediterranean measure, while expressing a preference for this, also allows for analysis of the flesh alone.

European Community standards

4-37. Council Directive 79/923/EEC of 30 October 1979 (EC, 1979) was introduced to protect and improve the quality of shellfish waters within the Community, and is applicable to the four Mediterranean Member States (France, Greece, Italy and Spain). The aim of defining quality objectives for shellfish waters is to protect the development of shellfish populations from the principal sources of pollution. The Directive stresses that it cannot, by itself, ensure protection of consumers of shellfish products, and that it is therefore necessary to take other measures to this effect. With this in mind, the Council adopted Directive 91/492/EEC of 15 July 1991,

which lays down the health conditions for the production and the placing on the market of live bivalve molluscs. The microbiological and related components of the 1979 Directive are reproduced in Table 4.3.3.

4-38. Unlike the case with bathing waters, the two international agreements on shellfish waters covering the Mediterranean (the 1979 EC Directive, which applies directly to four countries and serves as a model for others, and the 1987 common Mediterranean measure, which applies to all) are practically identical insofar as the microbiological components are concerned.

Algal biotoxins in shellfish

4-39. To date, there appears to be no specific legislation in the Mediterranean relating to algal biotoxins in shellfish. The 1979 EC Directive contains saxitoxin as a parameter, but no values have been set. Control is exercised in a number of countries through general public health legislation, whereby contaminated shellfish are declared unfit for consumption. Both international and national legislation covering various aspects of marine pollution prevention and control contain the means to restrict discharges which actually or potentially contribute to the development of algal blooms.

TABLE 4.3.1

INTERIM QUALITY CRITERIA FOR SHELLFISH AND SHELLFISH-GROWING WATERS IN THE MEDITERRANEAN SEA PROPOSED BY WHO AND UNEP IN 1985

SHELLFISH-GROWING WATERS

Parameter	Concentrations per 100 ml not to be exceeded in 50% 100% of the time	Minimum sampling frequency	Analytical method	Interpretation method
Faecal coliforms	10 100	in winter: monthly in summer: fortnightly	Membrane filtration, m-FC broth or agar incubated at 44.5±0.2EC for 24h	Graphical or Analytical adjustment to a log-normal probability distribution

SHELLFISH FLESH

Parameter	Concentration per gram of flesh	Minimum sampling frequency	Analytical method	Interpretation method
Faecal coliforms	2 Sale permitted Between 3 and 10 temporary prohibition of sale Above 10 Sale prohibited	in winter: monthly in summer: fortnightly	Multiple tube fermentation and counting according to MPN (Most Probable Number) McConkey broth incubated at 35±0.5EC for 24h and then at 44.5±0.2EC for 24h	By individual results, histograms or graphical; adjustment of a log-normal probability distribution

TABLE 4.3.2

**CRITERIA FOR SHELLFISH WATERS PROPOSED BY WHO AND UNEP AND
ADOPTED BY THE CONTRACTING PARTIES IN 1987**

OPERATIVE SECTIONS

1. Adoption, as a minimum common requirement for the quality of shellfish waters, the proposed WHO/UNEP interim environmental quality criteria, as detailed in 2 and 3 below and in the accompanying table.
2. For the purpose of such criteria, consideration of the term "shellfish waters" to mean those coastal and brackish waters in which shellfish (bivalve and gastropod molluscs) live.
3. Utilization of the following in the application of such criteria:
 - for the assessment of the microbiological quality of shellfish waters, the shellfish themselves shall be taken into account;
 - for the determination of microbiological parameters, preference shall be given to analysis of shellfish flesh and intervalvular fluid, rather than flesh alone;
 - the results of analysis of microbiological quality shall be expressed by the number of faecal coliforms recorded in 100 ml (FC/100 ml);
 - the method of analysis utilized shall be incubation at $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ with fermentation on a liquid substrate for a period of 24 to 48 hours, followed by a confirmation test at $44\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ for 24 hours. Enumeration shall be effected according to the Most Probable Number (MPN) method:
 - the concentration of faecal coliforms should be less than 300 per 100 ml of shellfish flesh and intervalvular fluid, or of flesh alone, in at least 75% of the samples, based on a minimum sampling frequency of once every three months.

SUMMARY TABLE

Matrix	Shellfish
Parameter	Faecal coliforms
Concentration	Less than 300 per 100 ml flesh + inter-valvular fluid or flesh, in at least 75% of the samples
Minimum sampling frequency	Every 3 months (more frequently whenever local circumstances so demand)
Analytical method	Multiple tube fermentation and counting according to MPN (most probable number) method. Incubation period: $37\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ for 24 h or 48 h, followed by $44\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ for 24 h.
Interpretation method	By individual results, histograms, or graphical adjustment of a lognormal -probability distribution.

TABLE 4.3.3

EUROPEAN COMMUNITY MICROBIOLOGICAL AND RELATED QUALITY REQUIREMENTS FOR SHELLFISH WATERS
(From EC, 1979)

Parameter	Guide value (G)	Imperative value (I) (mandatory)	Reference methods of analysis	Minimum sampling and measuring frequency
Faecal coliforms per 100 ml	< 300 in shellfish flesh and intervalvular fluid		Method of dilution with fermentation in liquid substrates in at least 3 tubes in 3 dilutions. Subculturing of the positive tubes on a confirmation medium. Count according to MPN (Most Probable Number). Incubation temperature 44±0.5EC	Quarterly
Suspended solids mg per litre		% discharge affecting shellfish waters must not cause the suspended solid content of the waters to exceed by more than 30% the content of waters not so affected	<ul style="list-style-type: none"> - filtration through a 0.45µm membrane. drying at 105EC and weighing. - centrifuging (for at least 5 minutes with mean acceleration 2800 to 3200 g), drying at 105EC and weighing. 	Quarterly
Dissolved oxygen Saturation %	> 80%	<ul style="list-style-type: none"> -> 70% longer (average value) -should an individual measurement indicate a value lower than 70%, measurements shall be repeated. -an individual measurement may not indicate a value of less than 60% unless there are no harmful consequences for the development of shellfish colonies 	<ul style="list-style-type: none"> - Winkler's method - Electrochemical method 	Monthly, with a minimum of 1 sample representative of low oxygen conditions on the day of sampling. However, when major daily variations are suspected, a minimum of 2 samples in one day shall be taken

4.4 EXISTING NATIONAL PROVISIONS FOR SHELLFISH AREAS

4-40. The salient features of national legislation and related measures concerning the quality of shellfish waters and shellfish in the various Mediterranean countries are summarized in the following paragraphs. As in the case of recreational waters, the picture is not quite complete, as information from some countries was not made available by the time of finalisation of this document.

Albania

4-41. Standards for shellfish-growing water quality in Albania are established by a Ministerial Order of 1995, and are based on European Committee recommendations. The standard is based on *Escherichia coli*, which must not exceed 2 per 100 ml in 90% of the samples, and 7 per 100 ml in the remaining 10%.

Croatia

4-42. Shellfish water is classified as class 1 in the Water Classification Decree of 1981, where four classes of coastal sea water are established. There are both microbiological and physico-chemical parameters. With regard to the former, the acceptable concentration of total coliforms (MPN) per 100 ml should not exceed 100.

Cyprus

4-43. There are no standards established by law in Cyprus for shellfish water quality, as there are no shellfish-growing waters in the real sense in Cyprus.

Egypt

4-44. There are no specific statutory standards or criteria under Egyptian law regarding the microbiological quality of shellfish waters or shellfish. They are however examined at regular intervals and their quality evaluated according to prevailing international (global) standards. Enforcement is through internal administrative procedures.

France

4-45. French law is based on the 1979 EC Directive. In addition, an internal administrative standard (which has no statutory standing) classifies shellfish waters into four categories as follows:

A	Satisfactory	0 <i>Escherichia coli</i> per 100 ml seawater
B	Acceptable	1-60 <i>Escherichia coli</i> per 100 ml seawater
C	Doubtful	61-120 <i>Escherichia coli</i> per 100 ml seawater
D	Unsatisfactory	above 120 <i>Escherichia coli</i> per 100 ml seawater

4-46. Shellfish for consumption are subject to conformity with the following criteria, and there are detailed procedures for interpretation of results.

Aerobic microorganisms, 30EC	100,000 per gram
Faecal coliforms	300 per 100 ml
Faecal streptococci	2,500 per 100 ml
<i>Staphylococcus aureus</i>	100 per gram
Anaerobic sulphur-reducing bacteria, 46EC	10 per gram
<i>Salmonella</i>	absent in 25 grams

4-47. A recent edict (21 July 1995) reset the national criteria for the sanitary quality of waters used for the production of live shellfish. For each shellfish group, there is a ranking of zones according to their sanitary quality. The microbiological requirements are based on the provisions of EC Directive 91/492/EEC of 15 July 1991 (*vide* paragraph 4-37 above) which are as follows:

Class A	< 300 faecal coliforms or 230 <i>Escherichia coli</i> per 100 g flesh
Class B	< 6000 faecal coliforms or 4600 <i>Escherichia coli</i> per 100 g flesh
Class C	< 60000 faecal coliforms or 46000 <i>Escherichia coli</i> per 100 g flesh

Greece

4-48. Greek law originally classified shellfish-growing waters into three categories, (suitable, moderately infected and unsatisfactory), based on total coliform concentrations (up to 70, 71 to 700, and above 700 respectively).in 100 ml seawater Shellfish for consumption were classified into three categories (first, second and third class) based on concentrations of *Escherichia coli* (up to 500, 500 to 1500 and above 1500 respectively) per 100 ml of flesh.

4-49. Under legislation enacted in 1986, the quality of shellfish waters in Greece is based on the 1979 EC Directive. Apart from the guide standard of 300 per 100 ml flesh and intervalvular fluid for faecal coliforms, Greek law also sets a mandatory standard of 700 per 100 ml. Shellfish satisfying the guide value are acceptable for human consumption, those satisfying the mandatory value are subjected to depuration.

4-50. The microbiological quality of shellfish harvested from designated shellfish waters is determined by a Ministerial regulation issued in December 1994 in terms of the provisions of EC Directive 91/492/EEC of 15 July 1991. The zones and parameters are the same as those described for France)paragraph 4-47 above). Shellfish harvested from Class A zones are considered suitable for consumption, those harvested from Class B zones require depuration before consumption, and those harvested from Class C zones require depuration for at least two months before consumption. At present, there are only Class A zones in Greece. No procedures have been developed for the establishment of Class B and Class C zones.

4-51. The microbiological quality of shellfish produced in small quantities for the local market (up to 100 kg per day) is determined by health regulations which stipulate that shellfish sampled in the market should not exceed 5 faecal coliforms per ml of flesh to be considered suitable for consumption. Shellfish containing between 6 and 16 faecal coliforms per ml of flesh require depuration, while those containing more than 16 per ml are considered unsuitable for consumption.

Israel

4-52. There are no standards for shellfish growing, as shellfish are not grown or harvested in Israel.

Italy

4-53. Although Italy has not yet set values for the parameters listed in the 1979 EC Directive, the microbiological standards prescribed by Italian law for shellfish waters and shellfish are probably the most comprehensive. Shellfish waters are classified into approved zones and conditioned zones, with the following standards:

Approved zones: Sea water should not contain more than 2 *Escherichia coli* per 100 ml. Up to 7 per 100 ml seawater is tolerated in not more than 10% of the samples, provided that the shellfish themselves come up to the required standards.

Shellfish should not contain more than 4 *Escherichia coli* per ml of flesh plus intervalvular fluid, and *Salmonella* must be absent in 25 ml flesh plus intervalvular fluid.

Conditioned zones: Seawater should not contain more than 34 *Escherichia coli* per 100ml. Up to 49 per 100 ml are tolerated in not more than 10% of the samples.

Shellfish should not contain more than 39 *Escherichia coli* per ml of flesh plus intervalvular fluid.

4-54. Depurable species are only cleared for direct consumption if they originate from culture areas in an approved zone. Depurable species originating from (a) natural breeding grounds in approved zones and (b) culture areas in conditioned zones are subject to mandatory depuration prior to consumption. Those originating from natural breeding grounds in conditioned zones must be cooked prior to consumption. Non-depurable species are cleared for direct consumption if they originate from approved zones, or from culture areas in conditioned zones, otherwise they are subject to mandatory cooking.

4-55. An expert commission convened by the Italian Ministry of Health has produced regulations aimed at harmonization of existing legislation with the provisions of EC Directive 91/492/EEC of 1991. The zones and parameters are the same as for France and Greece, but under Italian Law, Class A zones also have a requirement for *Salmonella* (0 in 25 g flesh plus intervalvular fluid). Stabilization zones are also included, with the same standards as for Class A zones.

4-56. Italy also possesses standards for algal biotoxins in shellfish. For DSP, waters must contain less than 1000 *Dinophysis* per litre, and shellfish must conform to a Death time of more than five hours. The limit value for PSP is 40 µg per 100 g flesh.

Libya

4-57. There are no national standards for shellfish waters in force in Libya. Pending the development and adoption of new standards, which are currently being finalized, Libya is observing the standards adopted by the Contracting Parties in 1987.

Malta

4-58. There are no standards fixed by law in Malta for shellfish water quality. The quality of shellfish for consumption comes under general Public Health legislation, and the sale of shellfish consignments is prohibited unless the person concerned is in possession of a special permit from the Superintendent of Public Health. There are currently no valid permits for the sale of fresh (as distinct from imported) shellfish.

Morocco

4-59. Microbiological quality standards and criteria for shellfish waters are generally based on French legislation. For acceptability of shellfish waters, the concentration of faecal coliforms in the flesh of shellfish therein must not exceed 300 per 100 ml, in line with the 1979 EC Directive and the 1987 Mediterranean standards.

Slovenia

4-60. Water quality control instructions for shellfish breeding are contained in the 1988 Slovenian Decree of 1988 on Preventive Vaccination, Diagnostics and Research in the Relevant Field. The standard for acceptable shellfish waters is 10 faecal coliforms per 100 ml flesh, based on a fortnightly sampling frequency.

Spain

4-61. Under Spanish law, the limits regarding the acceptability of shellfish waters from the point of view of their microbiological quality were that concentrations of *Escherichia coli* should not exceed 15 per 100 ml of seawater in more than 50% of the samples and 50 per 100 ml of seawater in more than 10% of the samples. By Royal Decree 38/1989, Spain set values for the parameters listed in the annex to the 1979 EC Directive. The standards are the same as those in the Directive.

4-62. Shellfish areas are now also classified into three zones according to the terms of the 1991 EC Directive, the parameters and limit values being the same as described for France and Greece. Depurated shellfish destined for consumption must comply with the following microbiological standards:

Aerobic microorganisms:	up to 100,000 per gram
<i>Escherichia coli</i>	up to 500 per litre
<i>Salmonella</i>	absent in 25 ml
Streptococci (Group D)	up to 100 per gram
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	up to 100 per gram.

Tunisia

4-63. Shellfish-growing waters are classified into three categories:

Sanitary zones:	Shellfish flesh	up to 300 faecal coliforms per 100 ml Salmonella absent in 25 g
	Water	up to 2 faecal coliforms per 100 ml
Conditioned zones:	Shellfish flesh	up to 3900 faecal coliforms per 100 ml
	Water	up to 34 faecal coliforms per 100 m
Unsanitary zones:	Shellfish flesh	above 3900 faecal coliforms per 100 ml
	Water	above 34 faecal coliforms per 100 m

Turkey

4-64. The Aquatic Products Law, which came into force in 1971, contains general conditions and regulations for coastal protection and production of aquatic products. The Aquatic Products regulations entered into force in March 1995. This law regulates, *inter alia*, the discharges to fish and shellfish production areas and tolerable values in receiving waters. The Ministry of Health is responsible for the coordination of activities related to aquatic products at both national and international levels. The annex to the regulations defines limits on activities and substances. The microbiological limits for receiving waters are:

Total coliforms	not to exceed 70 per 100 ml
Faecal coliforms	not to exceed 10 per 100 ml
<i>Escherichia coli</i>	not to exceed 2 per 100 ml (extendable to 7 per 100 ml).

PART 5

THE STATE OF MICROBIOLOGICAL POLLUTION OF MEDITERRANEAN SENSITIVE COASTAL AREAS

5.1 THE STATE OF COASTAL RECREATIONAL AREAS

The MED VII Pilot Project (1976-1981)

5-1. During the first or pilot phase of the MED POL Programme, the recreational water component of the pilot project on Coastal Water Quality Control was executed by 30 collaborating national laboratories from 14 Mediterranean countries under the overall technical coordination of WHO. This was the first time that the microbiological quality of Mediterranean recreational waters was studied on such a large scale. Monitoring was performed between 1976 and 1981. During this period, a total of 12,500 water samples from a number of sampling stations varying in number from 25 (1981) to 288 (1979) were analyzed. The sampling areas were selected primarily by taking into account their importance as public recreational beaches. However, road access to the area, distance to the analytical laboratory, and local administrative requirements resulted in a considerable diversity of sampling locations and sampling strategies between the different laboratories and, occasionally, between different annual periods for the same laboratory (WHO/UNEP, 1981).

5-2. An analysis of MED VII data was carried out as the basis for the first assessment of microbial pollution of the Mediterranean Sea, carried out in 1983 (UNEP/WHO, 1985). Summary results for those stations which satisfied the frequency requirement of at least 10 samples per year in terms of the interim criteria for bathing waters adopted by the Contracting Parties to the Barcelona Convention and Protocols in 1985 (50% of the samples not exceeding 100 faecal coliforms per 100 ml, and 90% not exceeding 1000 faecal coliforms per 100 ml), ranging in number from 21 (1976) to 133 (1979), are given in Table 5.1.1 (A). In an effort to broaden the basis for evaluation of the microbiological quality of Mediterranean recreational waters, an additional analysis was carried out as part of the 1985 assessment, also taking into account the results from all the other stations in which sampling was undertaken at least six times per year (the average sampling frequency in MED VII). The results are summarized in Table 5.1.1 (B). (UNEP/WHO, 1985).

5-3. As can be seen from these results, there was no evident trend in quality change during the period in question. In analyzing the results of the MED VII pilot project, it was concluded (UNEP/WHO, 1985) that although the selection of sampling stations in recreational coastal waters was not fully random, and consequently the conclusions derived from the quality of such stations could not be considered as universally applicable, the number and spatial distribution of the sampling stations and water samples analyzed provided a reliable assessment of the microbiological quality of coastal recreational waters in the Mediterranean. It should also be considered, however, that the number of stations was small as compared to the overall number of bathing beaches in the Mediterranean, and that there was a geographical imbalance in the distribution of the stations, the eastern and southern parts of the region being rather poorly represented.

TABLE 5.1.1

FIRST SUMMARY ASSESSMENT OF THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF RECREATIONAL WATERS IN THE MEDITERRANEAN ACCORDING TO THE INTERIM CRITERIA ADOPTED BY THE CONTRACTING PARTIES IN 1985

(From UNEP/WHO. 1985)

A

MED POL VII SAMPLING STATIONS WITH AT LEAST 10 SAMPLES PER YEAR

Year	Number of stations			
	surveyed	in accordance with		satisfactory (both limits)
		50% limit	90% limit	
1976	21	16 (76%)	14 (67%)	14 (67%)
1977	40	38 (95%)	34 (85%)	34 (85%)
1978	33	30 (91%)	30 (91%)	28 (85%)
1979	133	124 (93%)	104 (78%)	104 (78%)
1980	86	79 (92%)	72 (84%)	69 (80%)

B

MED POL VII SAMPLING STATIONS WITH AT LEAST 6 SAMPLES PER YEAR

Year	Number of stations			
	surveyed	in accordance with		satisfactory (both limits)
		50% limit	90% limit	
1976	26	16 (62%)	15 (58%)	14 (54%)
1977	55	50 (91%)	46 (84%)	46 (84%)
1978	193	181 (94%)	164 (85%)	161 (83%)
1979	288	251 (87%)	201 (70%)	200 (69%)
1980	118	110 (93%)	100 (85%)	97 (82%)
1981	25	19 (76%)	20 (80%)	19 (76%)

Note: The stations in Table 5.1.1. (A) are also included in Table 5.1.1. (B).

National monitoring programmes - MED POL Phase II

5-4. The strategy adopted in implementation of the monitoring component of MED POL Phase II was radically different from the initial phase in that, instead of constituting an international programme in which institutions participated on an *ad hoc* basis independently of similar programmes at national level, the component now aimed at strengthening already-existing national monitoring programmes. and assisting in the establishment of such programmes where these did not yet exist. Such assistance was provided through overall agreements between UNEP as the coordinating body for MED POL on one side, and the relevant national authorities on the other, whereby the country concerned provided details of existing and planned monitoring programmes on an annual basis, and submitted the results to UNEP in the form of raw data. These agreements were not signed with the more developed countries, which were considered as not in need of such assistance, as a result of which no raw data was obtained.

5-5. This means that, in the case of Mediterranean countries submitting raw monitoring data to MED POL (Albania, Algeria, Croatia, Cyprus, Egypt, Israel, Lebanon, Malta, Morocco, Slovenia, Syria, Tunisia, Turkey and (up to 1990) Yugoslavia), assessment of the microbiological quality of coastal recreational waters is based on compliance or otherwise with the provisions of the interim criteria for bathing waters adopted by Contracting Parties to the Barcelona Convention and Protocols in 1985 (UNEP, 1095a). On the other hand, a similar assessment in the case of the four EC Mediterranean Member States (France, Greece, Italy and Spain) has to be made on the basis of reports submitted by these countries to the European Community in terms of the 1976 Directive on the quality of bathing waters (European Community, 1976), in which the standards are not the same. It is not possible, therefore, to make a direct comparison between the two sets of processed data.

Interim evaluation of MED POL data

5-6. A preliminary evaluation of the microbiological quality of recreational beaches in countries submitting data to MED POL (UNEP, 1989) was made on the basis of data obtained covering the years 1983 to 1987. These data totalled 9682 water samples obtained from 289 sampling stations in seven countries (Algeria, Cyprus, Israel, Lebanon, Malta, Morocco and Yugoslavia), the details being summarized in Table 5.1.2. It should be noted that for each country, the number of stations represent the maximum in any one year. There were annual fluctuations in most countries both in the number and location of stations, and in the number of water samples analyzed during the 5-year period under review. The results of the evaluation, again made on the basis of the 1985 interim criteria adopted by the Contracting Parties, are reproduced in Table 5.1.3. It should be noted that in this particular evaluation, all sampling stations with at least six samples per year were taken into consideration, *i.e.* a number of stations considered as satisfactory from the viewpoint of compliance with faecal coliform limits did not satisfy the minimum frequency requirement of ten samples per year.

TABLE 5.1.2

SUMMARY OF MONITORING DATA ON THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF COASTAL RECREATIONAL WATERS SUBMITTED BY SEVEN MEDITERRANEAN COUNTRIES WITHIN THE FRAMEWORK OF THE MONITORING COMPONENT OF MED POL PHASE ii, 1983-1987

(From UNEP, 1989)

Country	Period	Number of stations surveyed	Number of water samples analyzed
Algeria	1986 - 1987	19	60
Cyprus	1983 - 1987	125	3182
Israel	1983 - 1987	43	2667
Lebanon	1984 - 1987	8	243
Malta	1983 - 1987	11	241
Morocco	1983 - 1987	2	54
Yugoslavia	1983 - 1987	81	3235
Total		289	9682

TABLE 5.1.3

INTERIM EVALUATION OF THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF RECREATIONAL WATERS IN SEVEN MEDITERRANEAN COUNTRIES, 1983 - 1987, ACCORDING TO THE INTERIM CRITERIA ADOPTED BY THE CONTRACTING PARTIES IN 1985

SAMPLING STATIONS WITH AT LEAST 6 SAMPLES PER YEAR

(From UNEP, 1989)

Year	Stations monitored	Samples analyzed	Average sampling frequency	Stations complying with		Satisfactory stations FC50+FC90
				FC50	FC90	
1983	50	524	10	43 (86%)	39 (78%)	39 (78%)
1984	133	1755	13	120 (90%)	111 (83%)	108 (81%)
1985	128	2178	17	115 (90%)	104 (81%)	102 (80%)
1986	238	3048	13	216 (92%)	200 (84%)	200 (84%)
1987	150	1908	13	145 (97%)	145 (97%)	144 (96%)

5-7. In the 1989 interim evaluation of these results, it was concluded that the figures indicated that the proportion of sampling stations conforming to the interim criteria was slightly higher than the corresponding value for MED POL Phase I (Tables 5.1.1. A and B). It was also stated that, however, the uneven distribution of sampling stations considered in the interim evaluation and, particularly, the lack of information from Mediterranean states with large coastal water quality monitoring programmes, did not allow the reaching of definite conclusions on possible trends observed in coastal water quality over the two phases of MED POL.

5-8. In fact, the figure of 96% compliance recorded during 1987 should be viewed in the light of the fact that this value was based on a relatively limited number of sampling stations, most of which were located in a single Mediterranean state. If this figure is ignored, the general situation during the period 1983-1987 does not appear to differ significantly from that obtaining during 1976-1981. In any case, reliable comparisons cannot be made between the two groups of data, as both countries and station locations differed to a large extent.

Present assessment

5-9. The present assessment was made on the basis of MED POL monitoring data collected from the beginning of MED POL Phase II to date. This covers the period 1983 to 1992. Data for 1993 and 1994 were not included as, in each case, they were only available from two countries. Data were obtained from the same seven countries contributing to the 1989 interim evaluation, together with another four countries (Albania, Egypt, Syria and Tunisia) which started to send results after the interim evaluation. Monitoring results from Yugoslavia were partially replaced by corresponding ones from Croatia, specific station locations remaining practically the same. Details of country data submitted are given in (a) global and (b) country form in Table 5.1.4. The data were computerized and processed by the Coordinating Unit for the Mediterranean Action Plan in Athens. In evaluating the data, stations were classified as satisfactory (*i.e.* complying fully with the interim criteria) only if they satisfied the three requirements: frequency (at least 10 samples in one year), FC50 (50% of the samples not exceeding 100 faecal coliforms per 100 ml, and FC90 (90% of the samples not exceeding 1000 faecal coliforms per 100 ml. Data for 1993 and 1994 were not evaluated as, in each case, those available were limited to two countries.

5-10. Table 5.1.5 shows the results. The number of stations satisfying each individual parameter are shown in separate columns, followed by the number of stations satisfying the microbiological parameters only (irrespective of frequency) and, finally, the number of stations satisfying all parameters, classified as satisfactory. All percentages are in terms of all stations actually monitored. The major limiting factor in compliance is the frequency, which explains the difference between the last two columns in the table. On the basis of total compliance with all three parameters in the interim criteria, the percentage of satisfactory stations ranged between 28.8% in 1985 and 71.2% in 1991. Considering compliance with only the microbiological requirements, and omitting frequency, such compliance, as shown in the penultimate column of the table, varied between 84.4% in 1986 and 91.4% in 1983. This latter figure, however, must be viewed in the light of the fact that the bulk of data for 1983 were from two countries with relatively high-quality beaches.

TABLE 5.1.4

SUMMARY OF MONITORING DATA ON THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF COASTAL RECREATIONAL WATERS SUBMITTED BY THIRTEEN MEDITERRANEAN COUNTRIES WITHIN THE FRAMEWORK OF THE MONITORING COMPONENT OF MED POL PHASE II, 1983-1994

A GLOBAL DATA

Year	Number of countries	Countries submitting monitoring data	Number of sampling stations	Number of samples analyzed
1983	5	ISR, MAT, MOR, TUR, YUG	139	1358
1984	6	ISR, LEB, MAT, MOR, TUR, YUG	183	2035
1985	7	CYP, ISR, LEB, MAT, MOR, TUR, YUG	344	2717
1986	7	ALG, CYP, ISR, LEB, MAT, MOR, YUG	352	3903
1987	7	ALG, CYP, ISR, LEB, MAT, MOR, YUG	353	3908
1988	7	ALG, CYP, ISR, LEB, MAT, MOR, YUG	354	4326
1989	9	ALG, CYP, EGY, ISR, LEB, MAT, MOR, TUN, YUG	414	5041
1990	7	ALG, CYP, EGY, ISR, MAT, MOR, YUG	376	4725
1991	6	CYP, EGY, ISR, MAT, SYR, YUG	389	5112
1992	5	ALB, CRO, CYP, SYR, TUN	404	5006
1993	2	ALB, CYP	195	2786
1994	2	ALB, SYR	43	149
	13			41065

B. COUNTRY DATA

Country	Period	Number of stations surveyed	Number of water samples analyzed
Albania	1992 - 1994	44	718
Algeria	1986 - 1990	19	162
Croatia	1992	59	634
Cyprus	1983 - 1992	154	17816
Egypt	1989 - 1991	14	61
Israel	1983 - 1991	70	7849
Lebanon	1984 - 1989	8	309
Malta	1983 - 1991	12	656
Morocco	1983 - 1990	24	456
Syria	1992, 1994	32	388
Tunisia	1989, 1992	111	2100
Turkey	1983 - 1985	16	201
Yugoslavia	1983 - 1991	138	9715
Total		642 *	41065

* total does not include 59 Croatian stations, as already counted under Yugoslavia

TABLE 5.1.5

COMPARATIVE EVALUATION OF THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF RECREATIONAL WATERS IN THIRTEEN MEDITERRANEAN COUNTRIES, 1983 - 1992, ACCORDING TO THE INTERIM CRITERIA ADOPTED BY THE CONTRACTING PARTIES IN 1985, SHOWING COMPLIANCE WITH INDIVIDUAL PARAMETERS , EXPRESSED AS PERCENTAGES OF TOTAL NUMBER OF STATIONS MONITORED

Year	Number of countries submitting data	Number of Stations monitored	Number of stations complying with			Number of stations complying with FC50 + FC90 only	Number of satisfactory stations
			Frequency	FC50	FC90		
1983	5	139	56 (40.3%)	128 (92.1%)	128 (92.1%)	127 (91.4%)	50 (36.0%)
1984	6	183	97 (53.0%)	165 (90.2%)	165 (90.2%)	159 (86.9%)	85 (46.4%)
1985	7	344	118 (34.3%)	316 (92.0%)	311 (90.4%)	307 (89.2%)	99 (28.8%)
1986	7	352	220 (62.5%)	304 (86.4%)	304 (86.4%)	297 (84.4%)	191 (54.3%)
1987	7	353	241 (68.3%)	314 (89.0%)	318 (90.1%)	300 (85.0%)	221 (62.6%)
1988	7	354	256 (72.3%)	322 (91.0%)	315 (89.0%)	308 (87.0%)	227 (64.1%)
1989	9	414	275 (66.4%)	369 (89.1%)	362 (87.4%)	353 (85.3%)	248 (59.9%)
1990	7	376	286 (76.1%)	366 (97.3%)	367 (97.6%)	354 (94.1%)	263 (69.9%)
1991	6	389	285 (73.3%)	348 (89.5%)	342 (87.9%)	331 (85.1%)	277 (71.2%)
1992	5	404	269 (66.6%)	346 (85.6%)	289 (71.5%)	279 (69.1%)	208 (51.5%)

5-11. It is not possible to arrive at any accurate interpretation of results from the 1983-1992 MED POL data for a number of reasons. One major factor is the global evaluation method which has had to be adopted to preserve individual country confidentiality, as has been the case ever since the commencement of the MED POL programme in 1975. Interpretation of these global results are affected by the following:

A number of countries submitted data covering different periods between 1983 and 1992. The pooling of data has resulted in both the number of countries, and the individual countries concerned, differing from year to year;

The amount of data submitted by individual countries showed considerable variation;

The number and locality of stations sampled by a certain proportion of countries also differed from year to year:

There was a large variation in sampling frequency between individual stations, a considerable proportion of which were not sampled at the required frequency.

5-12. The number and percentage of satisfactory stations as shown in the last column of Table 5.1.5 can be considered to reflect the situation according to the strict requirements of the interim standards adopted by the Contracting Parties in 1985. As has already been observed, the major factor limiting complete compliance was monitoring frequency. It might be considered that if this particular requirement is not taken into account, the percentages shown in the penultimate column of Table 5.1.5 might be taken as a better indication of the overall microbiological quality of the coastal areas pertaining to the group of countries in question. However, the frequency requirement is of considerable importance, as the quality of stations cannot be assessed at all reasonably unless a certain number of samples are taken throughout the year, and particularly throughout the bathing season. The actual situation probably lies somewhere between the two sets of percentages. One other factor to be considered is that all percentages refer to officially-designated monitoring stations. The difference between the number of these and the total number of bathing areas, including those which are not monitored, is not known.

5-13. The percentages of bathing beaches complying fully with the terms of the 1985 interim criteria (shown in the last column of Table 5.1.5) appear to show a slightly upward trend when viewed over the whole of the 1983-1992 period. This, however, is difficult to confirm on the basis of the current data, as already explained in paragraph 5-11 above.

5-14. The conclusion that, from the overall point of view, a fairly large proportion of the beaches in the thirteen Mediterranean countries supplying their data to the Coordinating Unit for the Mediterranean Action Plan in Athens within the framework of MED POL agreements do not satisfy the 1985 interim quality criteria adopted by the Contracting Parties should be seen in the light of the fact that a significant number of such beaches evaluated as non-conforming have been so evaluated because they have not been monitored at the required frequency. Compliance with the frequency requirement varied between 34.3% in 1985 and 76.1% in 1990, with an average overall frequency of 61.1% over the whole 10-year period. This highlights the need for improvement in this aspect of monitoring in order to reach a proper evaluation.

Bathing water quality in EC Mediterranean Member States

5-15. The four Mediterranean EC Member States (France, Greece, Italy and Spain) submit annual reports on the microbiological quality of their coastal recreational waters to the Community in terms of the 1975 bathing water quality Directive. Information supplied covering the period 1983 to 1987 (which, in a number of instances was only partial and cannot be meaningfully tabulated) show that the number of monitoring stations in France with high to acceptable quality water (A, AB or B) rose from 76.4% in 1983 to 83% in 1987, with a corresponding reduction in lower water quality stations (23.5% in 1983 to 16.7% in 1987). In the case of 606 coastal marine stations sampled at least ten times annually, the ratio of acceptable (A, B) to lower quality (C, D) stations changed from 55.8% - 44.2% in 1980 to 81.0 - 19.0% in 1988 (France, 1989). Results from Greece during this period are only available for 1987 and are restricted to Attica, where 77.7% of stations with at least five samplings per year were found to be in conformity with requirements. In Italy, the number of stations conforming with Italian criteria (based on, but stricter than, the Directive) showed a steady increase from 68% in 1984 to 89.3% in 1989 (Italy, 1990). The only negative trend recorded was in Spain, where the number of stations with high quality water (A2) decreased from 65.2% in 1986 to 51.0% in 1987.

5-16 Records are more complete from 1988 onwards, and an evaluation of the compliance of bathing beaches in France, Greece, Italy and Spain with the mandatory values of the microbiological parameters of the 1976 Directive (95% of the samples not to exceed 10,000 total coliforms and 2000 faecal coliforms per 100 ml) for the period 1988 to 1994 shows that compliance with the limit values for both parameters, expressed as percentages of the total number of identified beaches) varied between 79% and 91% in France, between 88% and 97% in Greece (where the total amount of identified beaches was only provided from 1991 onwards and percentages for 1988 -1990 are based on stations actually monitored), between 70% and 92% in Italy, and between 80% and 96% in Spain. In general, a definite positive trend emerged over this seven-year period. The number of stations monitored also rose steadily between 1988 and 1994, from 1663 to 1853 in France, from 247 to 1259 in Greece, from 3115 to 4173 in Italy, and from 985 to 1479 in Spain. It is not possible to convert these individual country results into global figures, as during the first three years of the period, the total number of identified beaches is available for only three countries.

5-17. The EC standard which is the closest approach to the 1985 Mediterranean criteria is the guide standard for faecal coliforms (80% of the samples not to exceed 100 per 100 ml). Compliance with this standard also implies compliance with the mandatory standard (95% of the samples not to exceed 2000 per 100 ml). Records of compliance with this standard are available from 1991 onwards, and apart from results for individual years given in EC annual reports, those for the period 1991-1994 are also summarized in the report covering the 1994 season (EC, 1995). An evaluation for this period, showing compliance with the EC guide values for total and faecal coliforms, is given in Table 5.1.6. Stations complying are shown as percentages of the total number of identified beaches. Compliance varied between 58.4% and 69.4% in France, between 85.0% and 94.9% in Greece, between 81.0% and 85.4% in Italy, and between 68.3% and 83.4% in Spain. From the overall point of view, compliance with the guide values showed a slight but steady increase during the four-year period, rising from 78.1% in 1991 to 80.4% in 1994.

TABLE 5.1.6

COMPARATIVE EVALUATION OF THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF COASTAL RECREATIONAL WATERS IN EC MEDITERRANEAN MEMBER STATES, 1991 - 1994, ACCORDING TO THE GUIDE STANDARDS OF THE 1976 EC BATHING WATER DIRECTIVE FOR (A) COLIFORMS AND (B) FAECAL STREPTOCOCCI, EXPRESSED AS PERCENTAGES OF TOTAL NUMBERS OF IDENTIFIED BATHING AREAS

(Compiled from European Commission report, 1995a)

Country	Year	Identified bathing areas	Stations conforming with coliform guide standards TC80 + FC80	Stations conforming with streptococci guide standards FS90
France	1991	1556	1053 (67.7%)	1145 (73.6%)
	1992	1934	1129 (58.4%)	1184 (61.2%)
	1993	1856	1201 (64.7%)	1305 (70.3%)
	1994	1870	1298 (69.4%)	1285 (68.7%)
Greece	1991	1097	932 (85.0%)	-
	1992	1203	1142 (94.9%)	1166 (96.9%)
	1993	1250	1170 (93.6%)	1246 (99.7%)
	1994	1282	1167 (91.0%)	1258 (98.1%)
Italy	1991	3824	3205 (83.8%)	3425 (89.6%)
	1992	4033	3444 (85.4%)	3690 (91.5%)
	1993	4288	3516 (82.0%)	3964 (92.4%)
	1994	4543	3680 (81.0%)	4229 (93.1%)
Spain	1991	1303	890 (68.3%)	574 (44.1%)
	1992	1335	980 (73.4%)	743 (55.7%)
	1993	1405	1121 (79.8%)	1091 (77.7%)
	1994	1490	1243 (83.4%)	1153 (78.0%)

5-18. The EC guide parameters also include faecal streptococci (90% of the samples not to exceed 100 per 100 ml). In the new Proposal for a Council Directive concerning the quality of bathing water (EC, 1994b) which, in its final form, will eventually replace the 1976 Directive, the guide value of 100 faecal streptococci per 100 ml has been retained, but the limit of compliance is now 80% (instead of 90%). In addition, a new imperative value of 400 per 100 ml, with a compliance limit of 95% has been introduced. Tables 5.1.6 also includes percentages of

compliance with the guide value for this parameter. From the comparative point of view, there is no definite conclusion one can reach on the data, compliance recorded for faecal streptococci being better than for total and faecal coliforms in some cases, and the reverse in others.

5-19 An overall evaluation of comparative compliance with (a) coliform mandatory standards (TC95 + FC95), (b) coliform guide standards (TC80 + FC80, and (c) streptococci guide standards (FS90) for the period 1991 - 1994 is given in Table 5.1.7. Because of the difference in the number of stations monitored for the various parameters, compliance has again been worked out as a percentage of the total number of identified beaches, rather than for stations actually monitored for each parameter in question. Apart from compliance with the coliform mandatory value alone, which remained virtually static at just above the 89% level, compliance with the guide values for both coliforms and faecal streptococci showed a rise, which was more pronounced in the case of faecal streptococci, during the four-year period under review.

TABLE 5.1.7

OVERALL COMPARATIVE EVALUATION OF THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF COASTAL RECREATIONAL WATERS OF EC MEDITERRANEAN MEMBER STATES, 1991 - 1994, IN TERMS OF COMPLIANCE WITH EC 1976 BATHING WATER DIRECTIVE (A) MANDATORY STANDARDS FOR COLIFORMS, (B) GUIDE STANDARDS FOR COLIFORMS AND (C) GUIDE STANDARDS FOR FAECAL STREPTOCOCCI, EXPRESSED AS PERCENTAGES OF TOTAL NUMBER OF IDENTIFIED BATHING AREAS

(Compiled from European Commission report, 1995a)

Year	Identified bathing areas	Stations conforming with coliform mandatory standards TC95 + FC95	Stations conforming with coliform guide standards TC80 + FC80	Stations conforming with streptococci guide standards FS90
1991	7780	6938 (89.2%)	6080 (78.1%)	5144 (66.1%)*
1992	8505	7623 (89.6%)	6695 (78.7%)	6783 (79.8%)
1993	8799	7836 (89.1%)	7008 (79.6%)	7606 (86.4%)
1994	9185	8261 (89.9%)	7388 (80.4%)	7925 (86.3%)

* One country (Greece) did not submit results for faecal streptococci in 1991. The degree of compliance for the other three countries combined would be 5144 stations out of a total of 6683 identified bathing areas, *i.e.* 77.0%.

5-20. In all EC reports on the quality of bathing waters, data from France and Spain are not subdivided into Mediterranean and non-Mediterranean coasts, and the data presented in the relevant tables (5.1.6 and 5.1.7) reflect this. The total number of identified bathing areas and the stations monitored in respect of these two countries therefore include parts of the Atlantic and North Sea coastlines. In the case of France, the Mediterranean coastline contains approximately one third of the country's total number of bathing beaches, but the overall standard is very similar, so that the general state of all beaches in France is a fairly accurate representation of that of the Mediterranean beaches. It is not, therefore, considered that such inclusion of a proportion of non-Mediterranean data affects an appraisal of the bathing water quality in the part of the Mediterranean bounded by the coastlines of the four EC Member States to any significant extent.

5-21. Because of the differences in parameters, numerical standards and compliance limits prevailing between the 1985 Mediterranean interim criteria and the 1976 EC Directive, no direct comparisons can be drawn between the two groups of data. As has been already stated, the EC standard which provides the nearest approach to the 1985 joint Mediterranean interim standard (50% of the samples not to exceed 100 faecal coliforms per 100 ml, and 90% not to exceed 1000 per 100 ml) is the guide standard for faecal coliforms. This, however, specifies that a minimum of 80% of the samples should not exceed 100 colonies per 100 ml and, (as it also incorporates the mandatory value, 95% should not exceed 2000, so that the two standards are not directly comparable from the numerical viewpoint.. Comparability is rendered even more difficult by the fact that complying stations could be expressed as percentages of *either* stations actually sampled at the regulatory minimum frequency, *or* the overall number of identified bathing beaches. In the case of the four EC countries, stations monitored at or beyond minimum frequency requirements form the vast majority (approximately 95%) of the total number of identified beaches. In the case of the thirteen countries submitting their data to MED POL, there is no reference to identified bathing beaches. The only distinction which can be drawn is between the total number of officially-designated monitoring stations (which is not quite the same as identified bathing beaches), and those stations monitored at or beyond the minimum frequency. Between 1983 and 1992, the highest percentage of designated stations monitored at minimum frequency was 76.1% in 1990, and the general average works out at just over 61%. In addition, the frequency requirements are not quite the same, The EC Directive stipulates fortnightly sampling during the bathing season, while the Mediterranean 1985 standard stipulates a minimum of ten samplings per year. Any attempt, therefore, at collation of the two sets of faecal coliform data would not achieve any practical purpose, and could only lead to misinterpretation.

5-22. For this reason, evaluation of the microbiological quality of bathing water in the Mediterranean has to be performed on a dual basis. The area covered by the coastlines of the four EC Member States comprises the whole of the Northwestern region from the Straits of Gibraltar right up to the Gulf of Trieste in the Northeastern Adriatic, and the Greek coastline from the Ionian to the Aegean Sea, including the islands. The area covered by what can be termed the MED POL group covers the rest of the Mediterranean, including the Eastern Adriatic, the Eastern coastline of the Aegean, the Eastern and Southern coastlines, and the islands of Cyprus and Malta.

5-23. Nevertheless, a number of general conclusions can be drawn. As has already been stated earlier when referring to individual tables, it is evident that, in terms of compliance with set standards, the quality of bathing waters in the areas covered by the four EC Member States has shown a positive trend during recent years. This is particularly illustrated by the percentages of stations complying with the faecal coliform and faecal streptococci guide values (Tables 5.1.6 and 5.1.7). Furthermore, the number of beaches monitored at or beyond minimum

frequency, in relation to the total number of identified bathing areas, is very high, as is the absolute number of stations monitored (even allowing for the proportion French and Spanish non-Mediterranean beaches contribute to the overall total).

5-24. On the other hand, the picture appears to be somewhat different for the rest of the Mediterranean. While compliance with the 1985 standard might appear to be of a reasonably high proportion on microbiological grounds alone (*vide* the penultimate column of Table 5.1.5), the percentages in question are severely affected by the fact that a large proportion of the stations were not monitored at the minimum frequency, and on the basis of strict compliance with all requirements, the picture emerging is quite different (*vide* the last column of Table 5.1.5). In both cases, no general trends can be confirmed. Lack of observation of the minimum frequency requirement is therefore one of the major failings. Furthermore, the total number of officially-designated monitoring areas is small, as compared to the situation in the EC area.

5-25. It should be stressed that the remarks in the preceding paragraph apply solely to the total data pooled from thirteen countries. It does not in any way reflect the actual situation in any one of the countries concerned, some of which have high-quality bathing water in their beaches, most of which are sampled at or beyond minimum frequency. One other major consideration is that the data submitted by the various countries to MED POL, although submitted within the framework of agreements on what are termed national monitoring programmes, does not, in every case, necessarily constitute the official or legally-recognised national bathing water quality monitoring programme in the country in question. There is at least one country in which a comprehensive national bathing water quality programme has been operational since well before the commencement of the Mediterranean Action Plan. The only data submitted to MED POL, however, are from a much smaller *ad hoc* programme run by different national authorities. In another country, independent water quality programmes are implemented by the various municipal authorities, and data from these are not available to the central government and, in turn, to MED POL. These, and other instances, which are mainly due to lack of liaison between different national authorities in individual countries, confirm the impracticality of drawing any definite conclusions on bathing water quality in the parts of the Mediterranean coastline bordered by non-EC Member States solely on the basis of the data submitted and the way it has to be presented.

5.2 THE STATE OF SHELLFISH AREAS

The MED VII Pilot Project (1976-1981)

5-26 During the course of the Pilot Project on Coastal Water Quality Control (MED VII), six collaborating laboratories in four Mediterranean States monitored shellfish waters. Monitoring started in late 1976, simultaneously with monitoring of recreational waters, and ended in March 1981. A minimum programme was applied by all participating laboratories to enable comparability of results. In actual fact, monitoring programmes were generally above those required, by the inclusion of parameters other than those specified (WHO/UNEP, 1981). The selection of sampling areas, as well as the number of sampling stations, was mainly determined by the location and organization of already-existing shellfish-growing areas. As a result, the conclusions from the monitoring programme carried out on shellfish-growing areas in the Mediterranean could not be considered as of general application. However, considering the number and spatial distribution of the collaborating laboratories, the conclusions derived therefrom could be reasonably considered as a valuable indication of the current situation of shellfish-growing areas in the Mediterranean (UNEP/WHO, 1985).

5-27. During the course of the project, 2300 water and shellfish samples from fifty sampling stations were analyzed. The average number of water samples analyzed at each sampling station was estimated at 10 per year, although the sampling frequencies varied widely among sampling stations, both within the area monitored by a given laboratory and within areas of different laboratories. The basic parameters used in assessing the microbiological quality of shellfish-growing waters were four indicators of sewage pollution: total coliforms, faecal coliforms, faecal streptococci and total heterotrophic bacteria. In addition, other microbiological parameters, including qualitative and quantitative analysis of vibrios (including *Vibrio parahaemolyticus*), *Salmonella* and viruses were determined WHO/UNEP, 1981).

5-28. In the assessment of microbial pollution in the Mediterranean Sea (UNEP/WHO, 1985), the proposed UNEP/WHO interim criteria (*vide* Part 4 of this document) were used as a basis for evaluation of the microbiological quality of shellfish-growing waters and shellfish. The results of this assessment is summarized in Table 5.2.1 (A). Specifically, the 2 faecal coliform per gram of shellfish flesh was considered the limiting factor in the evaluation process. Consequently, any sampling stations complying with this standard, as well as with the corresponding one for the quality of shellfish-growing waters, was considered as satisfactory for direct sale of shellfish, without additional purification or depuration, during the yearly period considered. Only those stations with ten or more shellfish analyses per year were considered in this particular evaluation (UNEP/WHO, 1985).

5-29. An analysis of Table 5.2.1 (A) clearly shows the marked influence that the microbiological limitation on shellfish flesh had in the evaluation of a sampling station. While the percentage of sampling stations considered satisfactory from the point of view of the microbiological quality of their water varied between 47% and 76%, depending on the year, those satisfactory from the point of view of shellfish flesh ranged from 0% to 21% during the period in question. The stations satisfying both standards (water and shellfish) varied between 0% and 10%. (UNEP/WHO, 1985). An additional evaluation, based on the same microbiological criteria, considered all sampling stations with six or more samples of both water and shellfish per year (Table 5.2.1 (B)). This showed a similar pattern, between 52% and 86% complying with the water standard, and between 0% and 9% with the shellfish standard.

5-30. The data were also analyzed on the basis of conformity with the EC criteria (EC, 1979), which stipulates that, as a guide value, the number of faecal coliforms in 100 ml of shellfish flesh plus intervalvular fluid should not exceed 300 in 75% of the samples collected at quarterly intervals (*i.e.* a minimum of four times per year). The results of this evaluation (UNEP/WHO, 1985) are reproduced in Tables 5.2.2 (A) and 5.2.2 (B). Both tables show an almost identical pattern, the percentage of satisfactory stations from the point of view of water quality, both types (with at least ten and at least six samplings per year respectively) varying between 0% and 71%.

5-31. A comparison of the two standards (1985 Proposed Mediterranean and 1979 EC) for shellfish waters through compliance of 1976-1981 MED POL stations with each shows that the EC standard appears to be the stricter of the two. Of the MED POL stations with at least ten samplings per year, the rate of compliance with the proposed Mediterranean standards varied between 47% and 76% during the period under review, with an average compliance of 63%, while compliance of the same stations with the EC standards varied between 0% and 71% with an average of 40%. In the case of stations with at least six samplings per year, the rate of compliance with the Mediterranean standards varied between 52% and 86%, with an average of 64%, while compliance with the EC standards varied between 0% and 71%, with an average of 40%. The value of the averages should be viewed with some reservation, as the number (and in some cases, the locality) of the stations varied from year to year. The differences in compliance should be viewed in the light of the fact that the proposed Mediterranean standard stipulated analysis of shellfish flesh only, while the EC Directive stipulates analysis of the flesh and intervalvular fluid. In spite of this difference, however, the inference to be drawn is that analysis of the shellfish themselves constitutes a stricter standard for the acceptability of shellfish-growing waters than analysis of the water itself. One cannot compare compliance of the stations with the Mediterranean standards for shellfish on the one hand and with the EC standards on the other, as the former were intended to evaluate shellfish for human consumption, while the latter constituted an index of acceptability of the waters for shellfish growing.

MED POL Phase II data

5-32. While shellfish waters were included in the monitoring component of MED POL Phase II, none of the countries signing national monitoring agreements with UNEP included this matrix in their programme of activities during the period under review. No data on shellfish waters in the Mediterranean are therefore available from 1982 onwards. EC Member States do not submit reports on shellfish waters to the Commission, as they do in the case of bathing waters. The information in the preceding paragraphs and in Tables 5.2.1 and 5.2.2, while of historical interest, only provide at best a partial indication of the situation existing fifteen years ago, and can in no way be considered an indication of the present situation, which remains largely unknown until such time as data from regular monitoring is made available.

TABLE 5.2.1

SUMMARY ASSESSMENT OF THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF SHELLFISH WATERS AND SHELLFISH IN THE MEDITERRANEAN, 1976-1981, ACCORDING TO THE PROPOSED WHO/UNEP INTERIM CRITERIA, 1985

(Adapted from UNEP/WHO, 1985)

A

MED POL VII SAMPLING STATIONS WITH AT LEAST 10 SAMPLES PER YEAR

Year	Stations surveyed	Stations with satisfactory		Satisfactory stations
		water	shellfish	
1976	15	10 (67%)	0 (0%)	0 (0%)
1977	12	7 (58%)	0 (0%)	0 (0%)
1978	21	14 (67%)	2 (10%)	3 (10%)
1979	19	9 (47%)	4 (5%)	1 (5%)
1980	21	16 (76%)	0 (0%)	0 (0%)

B

MED POL VII SAMPLING STATIONS WITH AT LEAST 6 SAMPLES PER YEAR

Year	Stations surveyed	Stations with satisfactory		Satisfactory stations
		water	shellfish	
1976	18	12 (67%)	0 (0%)	0 (0%)
1977	13	8 (62%)	0 (0%)	0 (0%)
1978	24	17 (71%)	3 (13%)	2 (8%)
1979	33	17 (52%)	6 (18%)	3 (9%)
1980	21	14 (67%)	0 (0%)	0 (0%)
1981	7	6 (86%)	0 (0%)	0 (0%)

TABLE 5.2.2

SUMMARY ASSESSMENT OF THE MICROBIOLOGICAL QUALITY OF SHELLFISH WATERS IN THE MEDITERRANEAN, 1976-1981, ACCORDING TO THE STANDARDS IN THE 1979 EC DIRECTIVE

(Adapted from UNEP/WHO, 1985)

A

MED POL VII SAMPLING STATIONS WITH AT LEAST 10 SAMPLES PER YEAR

Year	Stations surveyed	Satisfactory stations
1976	15	4 (27%)
1977	12	0 (0%)
1978	21	11 (52%)
1979	20	6 (30%)
1980	21	15 (71%)

B

MED POL VII SAMPLING STATIONS WITH AT LEAST 6 SAMPLES PER YEAR

Year	Stations surveyed	Satisfactory stations
1976	18	4 (22%)
1977	13	0 (0%)
1978	24	14 (58%)
1979	34	11 (32%)
1980	21	15 (71%)
1981	7	4 (57%)

PART 6

HEALTH RISKS FROM POLLUTED RECREATIONAL AND SHELLFISH AREAS IN THE MEDITERRANEAN

6.1 GENERAL HEALTH RISKS

6-1. The main types of human exposure to pathogenic microorganisms in the marine environment are through direct contact with polluted seawater, sand or sediment, including ingestion of seawater, while engaging in swimming or other coastal marine recreational activities, and through consumption of contaminated seafood.

6-2. Concern about actual and potential health effects arising out of such exposure has been expressed worldwide, particularly during the last three decades. In the case of shellfish, this has led to the progressive development of various quality criteria and standards, not only for the shellfish themselves within the framework of public health and food quality legislation, but also for the growing and harvesting waters. Apart from the variation between statutory requirements for acceptability of shellfish for human consumption in different countries, doubts have also been expressed regarding the efficiency of shellfish depuration techniques in flushing out microbiological hazards and making the product safe for human consumption. (Geldreich, 1985). In the case of recreational waters, more fundamental problems have been encountered. Attempts at quantifying health hazards from polluted recreational waters have been made in several countries through the conduction of microbiological/epidemiological studies aimed at establishing a direct correlation between the microbiological quality of the water and health effects on exposed population groups. In general, these studies have produced different results, leading to a wide variation in recreational water quality criteria and standards applied, and to considerable controversy regarding their implementation (Jones and Kay, 1989).

6-3. Health hazards arising from the presence of pathogenic microorganisms in the Mediterranean marine environment can be considered as particularly significant as a result of a heterogeneous variety of factors. A WHO document on Microbiological quality control in coastal recreational and shellfish areas in the Mediterranean (WHO, 1989) included the following factors, the influence of which on increased health risks from marine pollution in the Mediterranean was confirmed by a WHO/UNEP consultation on microbiological pollution of the Mediterranean Sea, held in Valletta, Malta, in December 1989 (WHO/UNEP, 1990):

Apart from the 130 million inhabitants estimated to live permanently along the Mediterranean coastline, over 100 million tourists visit the area annually. During the summer months, the sea constitutes the main recreational amenity for local and tourist populations alike, as a result of which most beaches, especially those in the vicinity of cities and tourist resorts, are heavily overcrowded, particularly on week-ends. The heterogeneous nature of beach populations further facilitates the spread of infections;

Prevailing warm climatic conditions not only result in a relatively long bathing season, but are also responsible for longer periods of exposure to seawater and/or beach sand, as compared to the situation in other, more temperate, countries;

Considerable amounts of shellfish are grown or harvested in the Mediterranean area, and consumed by both local and tourist populations. The total consumption of shellfish has been estimated at over 12,000 metric tons annually. The larger part of this can be considered to be consumed in coastal areas;

Although the general situation is progressively improving through the establishment of sewage treatment facilities and the construction of submarine outfall structures, the bulk of municipal sewage in most parts of the region is still being discharged untreated into the immediate marine coastal zone, in many instances in the vicinity of recreational and shellfish areas;

Water and seafood quality control measures vary from country to country. In many cases, control measures in terms of quality criteria or standards are practically wholly based on "acceptable" concentrations of bacterial indicator organisms. While such organisms can provide a reasonable estimate of the degree of sewage pollution, and perhaps a relatively satisfactory correlation with concentrations of bacterial intestinal pathogens, they have not so far been accepted as providing any clear correlation with the presence and density of either viruses or non-gastrointestinal pathogens, as well as with algal biotoxins such as PSP and DSP. In general, there is very little control over the quality of beach sand, which has only recently commenced to be recognised as a factor to be considered in the transmission of a number of skin and other contact infections, including fungal ones.

6-4. The first three factors are climatic and socio-economic, and more or less permanent in nature. Their significance is increasing as a result of increases in tourist numbers and extension of the length of coastline utilized for marine recreation. The impact of the penultimate factor, regarding the general situation, still essentially hold good, although improvements in wastewater management, as evidenced by the growing number of sewage treatment plants and submarine outfall structures, particularly along the northern part of the coastline. The last factor is global in character, rather than specific to the Mediterranean. It does however constitute an accentuated risk factor in the region when considered in combination with the other specifically-Mediterranean factors.

6-5. In this context, quality criteria and standards are normally based on the results of epidemiological studies correlating water and shellfish quality with health effects on exposed population groups. In the case of bathing waters, such studies have been conducted in various countries of the region over the past two decades. Details of these studies are provided further on in this part of the present document. Although generally based on internationally-recognised protocols developed for studies outside the region, they varied as to specific scope and detail, and were all relatively small-scale. To a variable extent, all were limited, particularly in the interpretation of results, by a number of confounding factors over which satisfactory control has been found difficult to achieve. Control measures, therefore, apart from the degree of their inter-country variation, have not, in the main, been the end-result of health risk assessments based on hard epidemiological evidence.

6.2 DISEASES AND DISORDERS

6-6. On a very general level, diseases and disorders caused by pathogenic microorganisms in the various matrices of the marine environment can be broadly divided into two categories: those that affect the gastrointestinal tract, and those that affect other parts of the body. With regard to the former category, potentially, all the diseases which are spread by the faecal-oral route, and whose aetiological agents are shed in the faeces of diseased individuals or carriers, could be contracted by swimming in sewage-polluted waters (Cabelli, 1983). The same author has reported such diseases to include (a) bacterial diseases, such as salmonellosis (including typhoid and paratyphoid fevers), shigellosis (bacillary dysentery), cholera and gastroenteritis caused by enteropathogenic *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, etc., (b) viral diseases, such as infectious hepatitis, illnesses caused by enteroviruses (polioviruses, coxsackie viruses A and B, echoviruses, reoviruses and adenoviruses), and "non-specific" gastroenteritis caused by the human rotavirus and parvo-like viruses, and (c) diseases caused by a variety of protozoan and metazoan parasites, such as Amoebic dysentery, giardiasis, ascariasis, etc. The pathogenic microorganisms present in the Mediterranean which cause such diseases (which include the above) have been described in Part 3 of this document.

6-7. Insofar as the ingestion of water during swimming or bathing is necessarily limited, with the exception of pathogens having a relatively low infective dose, the diseases mentioned above can be contracted much more easily through the consumption of raw or partially-cooked shellfish. Other pathogens reported as causing human infections through this latter route include *Vibrio parahaemolyticus* and *Clostridium botulinum* (Type E), whose native habitat is the sea. There is, in fact, extensive evidence of the spread of diseases to man following the consumption of polluted shellfish. A wide range of diseases has been described (Shuval, 1986), with the main ones being typhoid and paratyphoid fevers, salmonellosis, *Vibrio parahaemolyticus* infections, viral hepatitis type A (infectious hepatitis), paralytic shellfish poisoning and cholera (UNEP/WHO, 1991).

6-8. Apart from diseases affecting the gastrointestinal tract, a number of diseases or disorders affecting the eye, ear, upper respiratory tract and other areas have been associated with bathing. This particular category of infective conditions may be caused by microorganisms such as *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium welchii* and *Candida albicans*, and infection may be caused as a result of the microorganisms being forced into breaks or tears in the skin, or into ruptures in delicate membranes in the ear or nose resulting from the trauma associated with diving into the water (Shuval, 1986). These microorganisms have been described (Mood and Moore, 1976) as often present in man, but giving rise to disease only when, for one reason or other, the resistance of the individual who harbours them is lowered. Although all the four species mentioned above may also be found in polluted waters, the same authors consider the suggestion that an individual suffering from infection has acquired it from polluted water as one to be treated with reserve, as the bather is very likely to have been carrying the microorganism beforehand, and the disease may be largely determined by the individual's susceptibility, rather than by exposure to the microorganisms in the marine environment.

6.3 CORRELATION BETWEEN RECREATIONAL WATER QUALITY AND HEALTH EFFECTS

6-9. The basic aim of investigations into the health effects of swimming or bathing have always been as originally designed by Stevenson (1953), *i.e.* to determine what difference in illness incidence might be expected from swimming in waters containing varying degrees of bacterial pollution. The establishment of a dose-response curve, based on epidemiological research, should be the ultimate goal of research in this area. This dose-response curve does not depend on indices of pollution based on pathogens themselves; indicators of sewage pollution are more appropriate, since they have more predictable distributions and are likely to be used as the basis for standards. Moreover, it is not necessary to define disease risk with reference to specific pathogens; symptoms or groups of symptoms are more appropriate where the risk is due to a variety of agents with unknown seasonal and spatial distribution (Wheeler, 1990). Since the first study by Stevenson in 1953, a number of studies have been carried out in an attempt to define the levels of risk following exposure to different concentrations of bacteria in bathing waters. Most studies have been of the prospective epidemiological type, now generally termed as "Cabelli-style" after the leader of the first large-scale study conducted by the U.S. Environmental Protection Agency between 1972 and 1979. A number of studies of this type have been conducted worldwide, including some in the Mediterranean.

6-10. The relevant literature, including details of the design and results of the studies performed, have been reviewed by Shuval (1986), Jones and Kay (1989), Lightfoot (1989), Saliba and Helmer (1990), Wheeler (1990) and Pike (1994). Most studies performed in the Mediterranean involved marine beaches, and the micro-organisms employed to assess water quality varied from one to a combination of total coliforms, faecal coliforms, faecal streptococci, enterococci, *Escherichia coli* and staphylococci. Practically all of them obtained results in the form of higher morbidity among bathers as compared to non-bathers, the best correlation with water quality being with one or other microorganism where different beaches were compared.

Mediterranean studies

6-11. A study in Alexandria in 1980 was sponsored by USEPA, who were interested in locating some more heavily polluted beaches than those available for study in the United States, so as to be able to determine the nature of the dose-response curve at the higher dose levels (Shuval, 1986). Some of the beaches included in the study were exposed to nearby sewage outfalls and heavily polluted, enterococci and *Escherichia coli* densities reaching 10^4 per 100 ml. Other beaches were acceptable according to USEPA guidelines. The study population included both Alexandria residents and summer visitors coming from Cairo. It was assumed that these latter had lower levels of immunity to the diseases endemic in Alexandria. The main findings showed a strong association of highly-credible gastrointestinal symptoms and enterococcus densities, as well as for *Escherichia coli* densities. A comparison with previous studies of a similar nature in New York showed that at equivalent enterococci densities, disease rates were lower in Egypt, and more markedly so, among the Alexandria local population. This was attributed to the endemic status of enteric diseases in the area, and the resultant relative immunity of older children and adults (Shuval, 1986). A report on certain aspects of the study (El-Sharkawi *et al*, 1982b) stated that there was a significant risk of contracting typhoid from bathing in polluted seawater, and that the young age group was found to be the most susceptible.

6-12. A 1983 Israeli epidemiological study was carried out at three bathing beaches in the Tel-Aviv area, having varying degrees of exposure to sewage pollution. The study encompassed 2,231 swimmers and non-swimmers (32% in the 0-4 age group, and the indicators used were faecal coliforms, enterococci, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. The main finding was a significant excess of enteric symptoms (gastrointestinal diseases) among swimmers in the 0-4 age group in water with higher concentrations of enterococci or *Escherichia coli*. Faecal coliforms and *Pseudomonas aeruginosa* did not appear to be of equivalent value as indicators of swimming-associated enteric disease (Fattal and Shuval, 1988).

6-13. A second prospective epidemiological study in Israel was conducted on four beaches in the Tel-Aviv area and to the South (Fattal and Shuval, 1991). Apart from the primary objective of studying the swimming-associated morbidity with regard to water quality in terms of bacterial indicator concentrations, a second objective was to determine the feasibility of extending the project to establish the aetiology of swimming-associated gastroenteritis. A total of 233 families, comprising 784 persons were interviewed for the study, 23% of the study population were in the 0-4 age group. A total of 42 seawater samples were tested for bacterial indicator concentrations (faecal coliforms and enterococci), the concentrations of both varied significantly between the cleanest and most polluted beach. No significant difference in the incidence of swimming-associated enteric symptoms were found between these two beaches, both for all ages and for the 0-4 age group, although the overall morbidity results were similar to those found in earlier studies. Forty individuals, including both swimmers and non-swimmers, donated blood samples, all of which were found to be positive for Rotavirus. No seroconversion was detected. It was also noted that swimming-associated rates for total and highly-credible enteric and respiratory symptoms were markedly higher during "high bather effect" days than during "low bather effect" days. Two of the conclusions drawn by the authors were (a) that the bathers themselves can be an important source of the agents responsible for swimming-associated illness at marine beaches under conditions of heavy beach usage and poor water exchange, and (b) that lower microbiological indicator standards should be applied in beaches with low water exchange (i.e. due to surf-breakers, etc.) than those applied in beaches with relatively high water exchange (open beaches).

6-14. Three studies were conducted in Spain. The first (Mujeriego *et al*, 1983) involved a large-scale cross-sectional study utilizing over 20,000 respondents on various beaches in Malaga and Tarragona, where interviews were carried out. The highest morbidity rates observed concerned skin infections (2%) followed by ear and eye infections (nearly 1.5%), the latter group being considered by the authors as significantly associated with immersion of the head in seawater. Concentrations of faecal streptococci gave better correlation with morbidity rates than faecal coliforms. The second study (MariZo *et al*, 1982), carried out on a number of Mediterranean and Atlantic beaches, was roughly similar in design, and again gave higher morbidity rates for ear, eye and skin infections. The best correlation with such morbidity was obtained with faecal coliforms, threshold concentrations for increases in morbidity being calculated in the range of 400 FC per 100 ml.

6-15. The third study was carried out on two beaches in Malaga, determining water quality in terms of total coliforms, faecal coliforms, faecal streptococci, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Aeromonas hydrophila*, *Vibrio* species and *Candida albicans*. During the study (Borrego *et al*, 1991), surveys of test population groups were performed by a modified Cabelli-type questionnaire. Preliminary conclusions so far have been that: (a) enteric symptomatology was higher among swimmers than non-swimmers on the more polluted beach; (b) there was a significant excess in dermatological and respiratory symptoms among swimmers as compared to non-swimmers, irrespective of recorded bacterial densities in sea

waters; (c) no statistical significance was evident between swimming-associated symptom rates and faecal indicators; and (d) fungal density in beach sand was the same for both the polluted and non-polluted beach, and no relation was found between sand-associated dermatitis symptoms and dermal pathogens. One other problem associated with this study was the fact that, out of 1,447 individuals surveyed, only 4.6% could be defined as non-swimmers, and the control group was therefore very small.

6-16. Studies carried out in France included one (Foulon, 1983) on five beaches, the water quality of which was tested for concentrations of total coliforms, faecal coliforms and faecal streptococci. Nearly 5,000 individuals were interviewed on the beach and just over 1,500 followed up on the basis of a completed answer-card questionnaire. The results indicated differences between the incidence of conjunctivitis and skin infections between bathers and non-bathers, as well as in the incidence of abdominal discomfort, nausea and pruritis between those immersing their head in the water and those refraining from doing so. There was, however, no correlation between morbidity and water quality.

6-17. A later study in France (CAREPS, 1987) carried out in the Bassin de l'Ardèche on freshwater beaches, concerned over 5,700 subjects in the summers of 1985 and 1986. The water-quality indicators selected, apart from total coliforms, faecal coliforms and faecal streptococci, were *Aeromonas* species and *Pseudomonas aeruginosa*. Subjects were kept under constant observation for periods of between 3 and 8 days and symptoms recorded. Higher morbidity rates were found among bathers, as opposed to non-bathers, for each type of disease observed (gastrointestinal, skin, eye and otorhinolaryngeal). Total coliform and faecal coliform concentrations gave the best correlation with overall morbidity. When taking each type of symptom separately, correlation varied with the different indicators, faecal streptococci providing the best correlation with gastrointestinal symptoms. Analysis of results produced the conclusion that a concentration of 100 faecal coliforms per 100 ml (the EEC "guide" standard) corresponded to an incidence of 15.3 cases of overall gastrointestinal morbidity per 1,000 person-days, and 2,000 per 100 ml (the EEC "mandatory" standard) to an incidence of 20.4 cases per 1,000 person-days. The guide standard for faecal streptococci (100 per 100 ml) was calculated as corresponding to 23 cases per 1,000 person-days. The calculation on expected incidence of gastrointestinal morbidity in non-bathers was not made but, on the basis of the authors' results, this would come to 8.5 cases per 1,000 person-days. The authors' conclusions include the statement that the results cannot be safely extrapolated to seawater.

6-18. Other studies performed in the Mediterranean included one on the relationship between coastal tourism, sea pollution and public health (Kocasoý, 1989). The study, on 15 beaches on the western coast of Turkey, involved only visitors, and the local population was excluded. The study aimed at correlating total coliform density in the various beaches with symptoms reported. 8399 questionnaires were distributed, of which 4068 were returned, and 3407 classified as valid. 3240 questionnaires (95% of the valid ones) were from swimmers. Morbidity rates for gastrointestinal diseases reported by swimmers ranged from 7.2% in the less polluted beaches to 9.5% in the more polluted, the corresponding figures for non-swimmers being 2.9% and 3.1%. Between 66% and 71% of affected subjects were children of under 12 years of age. Another study was carried out on three beaches near Palermo, Sicily (Torregrossa *et al*, 1994). Beaches were classified as polluted or non-polluted. Of the microbiological parameters determined at all beaches, levels of total coliforms, faecal coliforms, faecal streptococci, *Staphylococcus aureus* and other *Staphylococcus* species and *Candida albicans* were variably higher in the polluted beaches. Levels of *Pseudomonas aeruginosa* and other *Pseudomonas* species, as well as *Vibrio* species were approximately the same in both polluted and non-

polluted beaches. *Salmonella* was absent in all beaches. A total of 581 subjects were interviewed, of which 372 (64%) were swimmers. Morbidity for enteric symptoms were higher in polluted beaches. No significant differences for other symptoms (respiratory and general) were found between beaches. Levels of *Pseudomonas aeruginosa* and *Candida albicans* in beach sand were the same as those recorded for seawater.

Recent non-Mediterranean studies

6-19. Apart from the USEPA study, a number of studies aimed at the correlation between recreational water quality and health effects have been conducted in a number of countries. Two of the largest held outside the European region were in Hong Kong Cheung *et al*, 1991) and in Australia (Corbett *et al*, 1993). In the former study, nine bacterial indicators were tested, *Escherichia coli* and staphylococci being recorded as good indexes of different health effects due to swimming. The levels of *Escherichia coli* at a number of beaches was found to be influenced by tide, and those of staphylococci by bather numbers. In the latter study, carried out in twelve beaches in Sydney, 24% of participants reported experiencing symptoms in the ten days following initial interview. Almost two-thirds of these symptoms were respiratory. The two main bacterial indicators tested were faecal coliforms and faecal streptococci, the geometric mean density of which varied between 591.4 (morning) and 389.1 (afternoon) per 100 ml for the former, and between 65.9 (morning) and 42.7 (afternoon) per 100 ml for the latter. Swimmers were twice as likely to report symptoms than non-swimmers, and with the exception of gastrointestinal complaints, there was a linear relationship between water pollution and all reported symptoms.

6.20. During the last five years, comprehensive studies were held in the United Kingdom. In August 1989, the UK Department of the Environment commissioned two pilot studies on the health effects of sea bathing. One of the aims of these studies was to assess the feasibility of the methods tested on a large-scale basis (Pike, 1990). Two methods were tried - a prospective design adapted from the USEPA Cabelli-style study, and a "healthy volunteer design. These two complementary methods utilized followed the protocols for prospective cohort-type studies and for randomized controlled clinical studies as finalized by a WHO/UNEP meeting on microbiological quality of coastal recreational waters, held in Athens in June 1993 (WHO/UNEP., 1994). In the first study, the reports of illness varied by activity, and surfers had higher morbidity than waders. Ear and throat symptoms were most frequently reported (1 in 13 bathers vs. 1 in 32 non-bathers). The quality of the water met EC mandatory standards. In the second study, healthy volunteers were recruited and divided into bathing and non-bathing cohorts. Clinical tests were held both before and after exposure. While significantly higher rates of sore throat, ear and eye symptoms were reported by the bather cohort three days after the study, and diarrhoea three weeks after the study, there was no correlation between the results of the clinical tests and the perceived symptoms reported (Pike, 1990).

6-21. The second phase of the study was commissioned in 1990, again using both methods. In the first, involving over 2000 beach users, participants aged 15 to 24 years had the highest age-associated risk. Bathers were 47% more likely to develop gastrointestinal illness and had an 85% greater risk of suffering from diarrhoea as compared with non-bathers. Illness was associated with exposure, and surfers and divers were significantly more likely to suffer from respiratory and eye symptoms (Pike, 1991). In the second, involving over 800 adults, clinical results of throat and ear swabs were not significantly different between bathers and non-bathers, although there was some evidence to suggest that the concentration of faecal streptococci in

the bathing water was related to the isolation of *Escherichia coli* from throat swabs of bathers. While children were excluded from the study, 131 children under 18 years of age accompanied the adults to the beach, and 64 of them swam. These children suffered significantly more stomach upsets than those who had not bathed.

6-22. Studies in the United Kingdom continued on a larger scale after the two-year pilot phases. The prospective cohort studies ("beach surveys") continued at eight beaches varying widely in quality, from those regularly meeting the guide standards of the EC bathing water Directive to those regularly failing to meet the imperative standards (Pike, 1994). The results were combined with those of the previous studies at two beaches to give usable results from 16,596 subjects. Those entering the sea reported more of all symptoms than those who did not. The relative increases were related to the degree of water contact and age, being greatest in surfers and divers and in the 15-24 age group. Relative increases in eye, ear, nose, throat, skin and respiratory symptoms were not related to microbiological quality of the water. Relative increases in diarrhoea in those entering the water were related to geometric mean counts of coliform bacteria and enteroviruses. These findings have been described as preliminary, and data are being examined in greater detail. The results of a 4-year study in four different resorts involving 1216 adults were published in 1994 (Kay *et al*, 1994). This study was conducted along the lines of the randomized controlled exposure method. Detailed interviews were used to collect data on potential confounding factors, and intensive water quality monitoring was used to provide more precise indices of exposure. 548 individuals were randomized to bathing, exposure including total immersion of the head. Crude rates of gastroenteritis were significantly ($P=0.01$) higher in the exposed group 14.8 per 100) than in the unexposed group (9.7 per 100). Linear trend and multiple logistic regression techniques were used to establish relationships between gastroenteritis and microbiological water quality. Of a range of microbiological indicators assayed, only faecal streptococci concentrations, measured at chest level, showed a significant dose-response relation with gastroenteritis. Adverse health effects were identified when faecal streptococci concentrations exceeded 32 per 100 ml. This relation was independent of non-water-related predictors of gastroenteritis.

Harmonization of methodology

6-23. In their review of the literature on results of the main Cabelli-type prospective epidemiological studies, Jones and Kay (1989) reached the conclusion that there are no good epidemiological data on which to base the implementation of scientifically justified quality standards for recreational waters which would control for a high level of risk. In quoting such conclusions, attention has been drawn (Colley, 1990) to some general problems in the conducting of epidemiological studies carried out so far, including:

Difficulties in defining exposed and non-exposed population groups;

Uncertainty in the degree and duration of bathing exposure;

Availability of only limited information on pollutants present in the bathing water;

Inadequate identification of illnesses and their relationship to bathing;

Difficulties in the interpretation of any associations between illnesses and exposure to polluted water, and in ascribing a cause-effect relationship.

6-24. The same author has also pointed out that a number of issues remain to be addressed in future epidemiological studies, including subgroups that may need to be identified both in terms of estimating risk and in addressing of preventive measures, the adequate follow-up of exposed and non-exposed persons, the obtaining of some measure of the "dose" bathers receive in estimating risk of illness, and the differentiation between marine and non-marine bathing exposures. Similarly important are non-bathing exposures, particularly consumption of contaminated food, as illness which has no relation to bathing may be present in a population, and must be recognized in order to prevent confusion with bathing-acquired illness, as well as sufficient evidence that the pathogen or agent causing a disease is also present in the water.

6-25. It has been concluded (Saliba and Helmer, 1990) that on the basis of evidence available so far, it would be difficult to attempt to quantify the actual health risks arising from bathing in sewage-polluted coastal bathing waters, as well as to correlate such risks to specific levels of water pollution as expressed in terms of the more routinely-measured bacterial indicator organisms. From the qualitative viewpoint, however, the evidence clearly indicates that health risks do exist, and are most pronounced in areas directly exposed to pollution by untreated sewage. While this conclusion is valid from the global viewpoint, it applies specifically to the Mediterranean region. A similar conclusion was also reached as a result of a review of the results of a multi-year programme of microbiological/epidemiological studies conducted by USEPA (Calderon, 1990), which confirmed that for marine beaches, a good correlation with swimming-associated gastrointestinal symptoms was only obtained by concentrations of enterococci densities in the water. In these studies, the source of pollution was an identified non-point sewage pollution source. A USEPA study examined the relationship between faecal indicators from non-point sources and swimming-associated illness. The results of this study found no such illness associated with faecal water quality indicators.

6-26. Within the framework of the MED POL programme, active steps were taken by WHO to harmonize methodologies through development of appropriate study protocols which would serve not only to determine the degree of health risk, but also to identify the best possible microbiological indicators correlating water quality with adverse health effects. The WHO/UNEP Group of experts on health criteria and epidemiological studies relating to coastal water pollution agreed on an outline protocol, based on the USEPA Cabelli methodology, for microbiological/epidemiological studies in the region (WHO/UNEP, 1977b). This outline was expanded into a more detailed protocol by a WHO/UNEP consultation on correlation of coastal water quality with health effects, held in Follonica, Italy, in October 1985 (WHO/UNEP, 1986). Following the development outside the region of new methodologies to cover both bathers and other types of exposure groups, the whole matter was fully reviewed by a WHO/UNEP consultation on health risks from bathing in marine waters, held in Athens in May 1991 (WHO/UNEP, 1992), during which part of a comprehensive set of guidelines for prospective microbiological/epidemiological studies on the association between natural recreational water quality and health effects on exposed population groups was prepared. A further WHO/UNEP meeting on microbiological quality of coastal recreational waters, held in Athens in June 1993, finalized the complete guidelines, including parameters to be determined, cohort-type studies, studies on special bather groups, randomized controlled clinical studies, and small-scale studies on different water-exposure groups, which were published during the following year (WHO/UNEP, 1994).

6.4 CORRELATION BETWEEN SHELLFISH QUALITY AND HEALTH EFFECTS

6-27. The situation regarding shellfish has two distinct aspects: the quality of the waters in which the shellfish are grown or harvested (which can be measured either by analysis of the water, or by that of the shellfish themselves while still in this environment), and the quality of the shellfish when they reach the market. The microbiological content of shellfish taken from polluted waters can be considerably increased as a result of incorrect treatment or storage (UNEP/WHO, 1991).

Epidemiological studies on shellfish poisoning

6-28. Two approaches are commonly used in the epidemiological investigation of disease aetiology. In a retrospective (or case-control) study, individuals who have developed the disease are compared with a group of similar individuals who did not, with respect to exposure to the aetiological factor in question. In a prospective (or cohort) study, groups differing only in their exposure to a certain aetiological factor are followed up and disease incidence is compared in relation to such exposure. While most epidemiological studies on the correlation between bathing water quality and health effects have utilized the prospective approach, studies linking disease incidence with shellfish quality have invariably utilized the retrospective one. In a study of this nature, all the relevant events (causes and effects) have already occurred when the study is initiated, and fundamentally, such study constitutes an investigation of the past histories of affected persons, whether sporadic cases, or cases occurring during an outbreak or an epidemic of a disease. The distinction between outbreaks and sporadic cases is a real one in terms of the probability of obtaining an association between a given disease and some suspected cause (e.g. consumption of contaminated shellfish). This is especially true when other routes of transmission account for the large majority of cases of the disease concerned (WHO/UNEP, 1977).

6-29. Apart from the two studies on Typhoid fever in Egypt (El-Sharkawi *et al*, 1982a) and the 1973 Cholera outbreak in Italy (Baine *et al*, 1974), current review literature available contains very little information on epidemiological evidence in the form of retrospective studies on shellfish-induced illness, particularly as regards large outbreaks, in the Mediterranean. Two recent outbreaks are on record, both in France. The first, in 1992, involved 10,000 cases of gastroenteritis, the pathogen being Norwalk virus. Contaminated oysters were identified as the source. The second (much smaller) outbreak in 1994 involved 21 cases, also suffering from gastroenteritis, the pathogen in this case being Small round virus and the source identified as contaminated clams (WHO/UNEP, 1995). In Italy, the possible connection between Hepatitis A and consumption of raw seafood was demonstrated by a radical reduction of total incidence which dropped from 15 per 100,000 in 1984-85 to 5 per 100,000 in 1986 after a rigorous campaign on control of seafood gathering, storage and distribution. In the same period, evidence of a direct connection was also obtained during a Hepatitis A epidemic in Leghorn, where a case-control investigation demonstrated a highly significant relationship between the consumption of raw seafood (mussels and clams) and the disease, as compared to controls (Zampieri, 1989). The relatively high frequency of typhoid fever incidence in the region of Puglia during the months of January and February, in contrast to the traditional summer epidemic curve shown by other southern regions of Italy, has been related to the eating habits in this region, consisting in the indiscriminate consumption of raw seafood during Christmas and the New Year. This is a further confirmation of the direct correlation between infection and seafood consumption, independently of bathing (Zampieri, 1989).

6-30. The large number of sporadic cases, particularly among tourists, is evidenced by the estimate (Stille *et al*, 1972) that as many as 19% of Infectious Hepatitis occurring in Frankfurt were attributable to the consumption of contaminated mussels and oysters in the Mediterranean by German tourists. In addition, recent epidemiological evidence in a number of countries had provided clear evidence that a major contributing factor in the contraction of viral hepatitis was the consumption of raw shellfish harvested from sewage-contaminated coastal waters (WHO/UNEP, 1990), although no specific association with the Mediterranean was recorded in this case. Several other retrospective studies, the results of a selection of which are outlined later on in this chapter, were made on groups of tourists returning from the Mediterranean to their homes in Northern Europe, but in most cases, the source of infection was not identified.

6-31. The link between shellfish water quality and health effects on man as the final consumer is slightly more complex than that applying to bathing water quality. The extent of faecal contamination that can be tolerated in the growing waters is a complex problem because of a variety of factors. There is no constant level of pathogens in sewage, the ratio between indicators and most pathogens varying with every unit volume of waste flowing from the outfall, and a specific level of faeces in wastewater may be relatively free of pathogens at one moment and have a high potential for pathogen transmission through shellfish a moment or so later (Geldreich, 1985). To date, no satisfactory correlation has been established, either between bacterial indicator levels in shellfish and those in the growing waters, or between indicators and pathogens in the shellfish themselves.

6-32. The first problem has been overcome to some extent by assessing the acceptability of marine areas for shellfish cultivation or harvesting by microbiological quality of the shellfish themselves, as distinct from the surrounding water body. Such acceptability of the growing area, as has been stated earlier, does not automatically result in the shellfish themselves being acceptable for human consumption in the raw state, and other filtering mechanisms such as public health and food safety practices come into play. In addition, current epidemiological methods are still not sensitive enough to effectively detect virus disease transmission through the seawater-shellfish route, as clinically- observable illness only occurs in a small number of people who become infected and because of the widely-varying incubation periods before the onset of symptoms (Geldreich, 1985). Furthermore, virus methods are not currently available for all suspect aetiological agents of gastroenteritis. All this could partially explain the apparently sparse epidemiological evidence on shellfish-transmitted diseases, particularly those caused by viruses, in the Mediterranean.

6-33. One major confounding factor in the interpretation of morbidity data and its association with shellfish contamination which is significant in the Mediterranean is the concurrent exposure of populations to a combination of risk-factors such as contamination of food of non-marine origin and, in certain instances, contamination of drinking water. As a result of this, it can be difficult, in very general terms, to ascribe any particular illness of potential multi-source origin to any specific cause (WHO/UNEP, 1995).

The microbiological quality of shellfish

6-34. The situation regarding shellfish varies throughout the Mediterranean region. At general level, potential health risks arising from shellfish consumption are alleviated by the fact that the three main countries producing shellfish on a large commercial scale (France, Italy and Spain) have strict legislation regarding shellfish destined for human consumption in the raw state, which generally makes depuration mandatory prior to marketing. Artificial purification of mussels is

widely practiced in Europe. One method involves the use of chlorine to disinfect seawater (which must then be dechlorinated before it can be used to depurate contaminated shellfish). Although this method is relatively costly, it is still the method of choice in many depuration facilities in France and Spain (Shumway and Hurst, 1991). Disinfection by ozone is now the depuration method of choice in major shellfish-cleaning stations in France. On the other hand, however, a considerable amount of shellfish all over the Mediterranean are still not subject to strict depuration procedures or proper control of storage after harvest (WHO/UNEP, 1995).

6-35. Drawbacks associated with depuration include variable efficacy, unfeasibility in the case of very heavy bacterial loads, virtual uselessness in reducing heavy metal and hydrocarbon contaminants, lack of control over viral contaminants and, in some cases, economic unfeasibility (Canzonier, 1988). It has also been recorded that during depuration, the water in which shellfish are being decontaminated may show a progressive die-off of released faecal coliforms, but it does not necessarily follow that the rate of releases for all pathogens will follow the same uniform pattern (Geldreich, 1985). Little appears to be known of the depuration of viruses by mussels, and the relatively-sparse data available have (a) demonstrated that elimination of viruses from non-digestive tract tissues is slow, (b) indicated that conventional depuration practices are inappropriate for efficient elimination of viruses from mussels and (c) showed no significant correlation between viral and faecal coliform numbers, supporting the contention of many authors that faecal coliform numbers are unreliable indicators of the presence of human enteroviruses, i.e. the absence of faecal coliforms is not sufficient to ensure the safe consumption of shellfish (Shumway and Hurst, 1991).

6-36. These conclusions are particularly relevant to the Mediterranean situation, as the main bacterial indicator utilized for the acceptability of shellfish waters and, in a number of cases, acceptability of shellfish for consumption, is faecal coliforms. This accentuates the contention which has, in fact, been expressed in relevant meetings of Mediterranean experts both before and since the adoption of common quality criteria for shellfish waters in 1987, that viruses in shellfish represent a particular point of concern in the region (WHO/UNEP, 1995).

6.5 PUBLIC HEALTH IMPLICATIONS

6-37. It is clear from the record that many pathogenic microorganisms (bacterial, fungal and viral) which are the recognized causes of human disease are prevalent in the coastal marine areas of the Mediterranean, with a number of species endemic in various geographical zones. WHO 1985 estimates cite 12 million diarrhoeal cases in the Mediterranean countries of the European region out of a total population of approximately 300 million. In contrast to this, in other European countries, the total was about one million cases out of a total population of 500 million. In the same year, in the Eastern Mediterranean region of WHO, cases of typhoid and paratyphoid fever were estimated at 19.3 million out of a total population of nearly 99 million, comparative estimates for the rest of the region (the Middle East, Pakistan and Afghanistan) being just over 26 million cases out of a total population of 206.5 million (Cvjetanovic, 1989). It is stated that the main reservoir of typhoid infection is a large number of carriers, of some are food handlers in tourist establishments, and the prevalent mode of spread is by food and beverages. The percentages of these cases attributable to seawater ingestion and/or consumption of contaminated seafood is not known, but the potential mode of spread by sewage-polluted seawater and beaches should not be disregarded (Cvjetanovic, 1990).

6-38. As stated earlier in this document, the incidence of the various pathogens cited should not be taken as anything approaching a complete survey of the literature, less so as a comprehensive description of the situation as it actually exists, as much of this situation has still to be recorded. It is equally clear that the current situation is resulting in adverse health effects on both local and tourist populations. Regarding the latter, apart from the attribution of Infectious Hepatitis cases in Germany to consumption of contaminated Mediterranean shellfish (Stille *et al*, 1972), which was mentioned in Part 3 of this document, participants at a 1989 WHO/UNEP consultation on the microbiological pollution of the Mediterranean Sea (WHO/UNEP, 1990) reported a number of adverse health effects on European tourists traveling to the Mediterranean. A Swedish study had revealed that 63% of the *Salmonella* cases reported in that country were the result of infections contracted overseas, mainly in Mediterranean countries. Another Swedish report showed that 90 to 95% of giardiasis, 10% to 16% of viral hepatitis, 34% to 53% of shigellosis and 92% to 95% of Amoebic dysentery were imported cases. In addition, European tourist authorities had estimated that some 40% of tourists on vacation at Mediterranean coastal resorts became ill at some time during or immediately after their visit, one third of these reporting their having been bedridden as a result, and one fifth having been forced to cut their vacation short as a result of such illness.

6-39. It was considered by the meeting referred to above that while, undoubtedly, a portion of such tourist illness was associated with the consumption of unsanitary food or unsafe drinking water, as well as other types of exposure, there was ample evidence that a major source of illness in areas where the sea was polluted resulted from consumption of sewage-contaminated shellfish and/or bathing at sewage-contaminated beaches.

6-40. There are a number of other records linking gastrointestinal diseases contracted by Northern European tourists with travel to Mediterranean countries. The bulk of Swedish tourists go to the Northern shores of the Mediterranean. Since 1978, there has been a considerable increase in the number of salmonellosis and shigellosis cases recorded, 80% of which were infected abroad (Andersson and Böttiger, 1989). More than 75% of the reported cases of salmonellosis in Norway are positively stated to be contracted abroad (Aasen 1989). The whole increase in incidence since 1983 appears to be due to the increase in *Salmonella enteritidis* alone. Data in the Norwegian surveillance system for infectious diseases revealed an outbreak in tourists returning from Mediterranean countries during this period. The same problem has been reported from Finland, where *Salmonella enteritidis* is rarely found in domestic animals or food of animal origin. At least 80% of human infections caused by *Salmonella enteritidis* occur during or shortly after a trip abroad and, since 1883, when the current boom of tourism from Finland to the Mediterranean started, *Salmonella enteritidis* infections caused there have outnumbered infections caused by other serotypes (Jahkola, 1990). The total number of *Salmonella* cases imported into Finland from Mediterranean countries rose from 394 in 1980 to approximately 5000 in 1988. Of these, 97 and 3000 respectively were caused by *Salmonella enteritidis*.

6-41. The results of a 1986 survey for acute diarrhoea among over 19,000 European travellers returning to Switzerland and Germany showed incidence rates varying between 16.0% and 56.2% for those visiting a number of Mediterranean countries (Barua, 1990). A series of four time-independent studies was held between 1986 and 1988 on nearly 3700 Austrian travellers visiting various developing regions of the world. The incidence of travellers' diarrhoea in those visiting the Southern part of the Mediterranean, varying between nearly 25% in Winter to over 50% in summer, was on a par with most other developing regions (Kollaritsch and Wiedermann, 1990). The incidence of traveller's diarrhoea in British package holiday tourists has been monitored since 1983. An analysis of nearly 150,000 questionnaires from tourists visiting Mediterranean countries between April and October 1988 gave an average overall

incidence of 3% in April rising to 15% in August and September, then falling to 11% in October. The incidence varied by country and resort, peaks of 64%, 52% and 40% during particular months being recorded in one Northern and two Southern Mediterranean countries respectively.

6-42. While such records provide evidence of occurrence and indications of magnitude, the extent of overall damage to health on a Mediterranean-wide basis, and the proportion contributed by marine pollution to such damage, still have to be determined. The same conclusion can be applied to the situation regarding pathogen incidence and prevalence. In this regard, while the references cited in the present document can be considered as a fairly representative cross-section of relevant literature in the region, the fact that such records, many from different specific locations have a chronological span of one and a half decades, makes it difficult to arrive at any accurate assessment of the overall situation at the present time, although it is obvious that a health risk, the degree of which varies with the particular sub-region, is present. Furthermore, there are still large stretches of the Mediterranean coastal zone mainly in the Southern and Eastern parts, from which records are relatively sparse.

PART 7

CONCLUSIONS

7.1 ANALYSIS OF THE CURRENT MEDITERRANEAN SITUATION

7-1. It is evident that, however much the situation may have improved during the last decade, there are still public health problems regarding both coastal recreational and shellfish areas in the Mediterranean in general. These problems are not uniformly distributed within the region. In this context, while the amount of both microbiological data on seawater and shellfish quality and epidemiological data on health effects has increased considerably, much more data is required, particularly from the Eastern and Southern parts of the Mediterranean, to provide the basis for satisfactory prevention control measures at region-wide level.

Bacterial indicator organisms

7-2. One particular problem concerns the validity or otherwise of the bacterial indicator organisms in current use as an accurate index of water quality. The main aim of quality criteria and standards for recreational waters is to protect the health of the user. In the case of shellfish waters, the aim is to ensure a satisfactory first stage in a multi-stage quality control mechanism designed to protect the health of the consumer of the relative produce. Any index of water quality should therefore be directly health-related, rather than simply concerned with the degree of general pollution by sewage, *i.e.* water quality should be more directly linked to those components of sewage (pathogenic microorganisms), which are responsible for adverse health effects. In this context, bacterial and other indicators (often defined as health effects water quality indicators) are expected to meet certain requirements, which have been outlined by the WHO/UNEP Group of Experts on Health Criteria and Epidemiological studies relating to coastal water pollution (WHO/UNEP, 1977b). Satisfactory indicators must:

be consistently and exclusively associated with the sources of pathogens or noxious substances;

be present in sufficient numbers or quantities to provide an "accurate" density estimate whenever the level of each of the pathogens is such that the risk of illness is unacceptable;

approach the resistance to disinfectants and environmental stress, including that resulting from toxic materials deposited in the aquatic environment, of the most persistent pathogen potentially present at significant levels in the source; and

be quantifiable in recreational waters by reasonably easy and inexpensive methods, and with considerable accuracy, precision and specificity.

7-3. The technical and economic reasons whereby it is difficult to measure pathogenic microorganisms directly on a routine basis, thereby having to assess their presence indirectly through measurements of indicator concentrations, have been described in Part 4 of this document. It is, however, extremely doubtful, to say the least, whether faecal coliforms alone as indicators comply with all, or even most, of the requirements listed in the preceding

paragraph. In most epidemiological studies, both within and outside the Mediterranean, concentrations of faecal streptococci were more closely linked with observed health effects. It would also be relevant to view the conclusions of the two most extensive epidemiological studies, conducted in the USA and, more recently, in the United Kingdom. As a result of the first study, including the recommended health effects criterion therein (Cabelli, 1983), the proposed USEPA standard for marine bathing waters, based on an acceptable swimming-associated gastroenteritis rate of 19 per 1000 swimmers was a limit of 33 enterococci (which form part of the faecal streptococci group) per 100 ml on the geometric mean of not less than 5 samples equally spaced over a 30-day period (USEPA, 1986). On the basis of the criterion, one would expect to find 25-40 cases of gastrointestinal symptoms per 1,000 persons exposed to seawater containing a concentration of 100 enterococci per 100 ml. This figure is not very far removed from the percentages of European tourists with gastrointestinal ailments following visits to the Mediterranean area (as described in Part 6 of this document), although such tourists were also exposed to pollution of non-marine origin. The results of the second study showed that adverse health effects were identified when faecal streptococci concentrations exceeded 32 per 100 ml, this relation being independent of non-water-related predictors of gastroenteritis (Jones *et al*, 1994).

7-4. It has always been acknowledged that no individual indicator is ideal and no indicator system perfect. As has been described earlier in this document, extensive work has been performed in the Mediterranean (and elsewhere) in an attempt to correlate the presence (and density, wherever possible) of pathogenic microorganisms, particularly bacteria and, in some cases, fungi, with concentrations of one or more standard bacterial indicator organisms in the same sample. In practically all the references cited in this document with regard to records of the presence and density of bacterial and fungal pathogens in Mediterranean recreational and shellfish waters, such parallel determination on bacterial indicators were carried out. While a certain number of comparative results obtained have indicated some form of pathogen/indicator correlation, in many cases statistically significant within the framework of individual studies, there is a wide range of variation between the results of different studies, both regarding the question of which particular indicator corresponded best with one or more specific pathogens, and as to what particular concentration-range of the indicator in question represented a minimum level at which the presence of the pathogen was detected.

7-5. With regard to recreational waters, two major difficulties have been pointed out in assessing the risk to health (Pike, 1993). Firstly, apart from bacterial diseases, which are rare, those which are commonly reported by swimmers and appear to be related to faecal contamination are symptomatic and not related to an identifiable pathogen, although appearing to be viral in aetiology, and secondly, currently-used microbial indicators of faecal pollution only indicate that waterborne pathogens may be present and are therefore poorly correlated with the risk to the health of the swimmers. Individual risk will vary with innate and acquired immunity, as well as with pathogenicity. Therefore no constancy of risk can be expected for any given microbiological standard.

7-6. Viruses present a major problem. Apart from the fact that they may survive for considerable periods of time, particularly in association with sediments, it has been shown (Vas *et al*, 1981) that they can travel substantial distances in the marine environment. The comparative survival of viruses and indicator bacteria in the marine environment has been summarized (Wheeler, 1990) at the request of the United Kingdom House of Commons Environment Committee Inquiry into Pollution of Beaches. The principal conclusion of this summary was that whereas bacteria discharged from a typical long sea outfall might be 'undetectable' in the environment within a few days of their release, enteric viruses might present

in an infective state at detectable levels for several months. While this conclusion was based primarily on conditions prevailing in Northern European waters, it has been confirmed by a number of workers that it also holds good under Mediterranean conditions (*vide* Part 2 of this document), and accentuates the inadequacy of current bacterial indicators as a monitoring tool for pollution by viruses.

7-7. It should be noted that in the recent EC proposal for a new Council Directive on the quality of bathing waters (EEC, 1994b), faecal streptococci have been "upgraded" from a guide to a mandatory parameter. While enteroviruses have been retained, bacteriophages, which are being increasingly considered as a good indicator of the presence of viruses, have been introduced as a new parameter, although numerical standards have still to be decided upon.

Recreational water quality monitoring programmes

7-8. The purpose of monitoring programmes is to provide data for use as a tool in management and decision-making; More specifically, in the case of recreational waters, their results indicate whether beaches are safe for swimming through compliance with established criteria and standards, and, in the case of polluted beaches, contribute towards the identification of actual and potential pollution sources, thus enabling appropriate rehabilitation measures to be implemented. As shown in Part 5 of this document, monitoring results show that the quality of bathing beaches in the four EC Mediterranean Member States has shown a positive trend over the last few years. On the other hand, the pooled monitoring data from thirteen other Mediterranean States submitting their monitoring results to MED POL fail to show any definite trend when taken as a whole. The progress shown in the former group of countries is accentuated by the fact that results are based on three indicator organisms, including both faecal coliforms and faecal streptococci. In addition, although not included in the assessment, determination of the presence of *Salmonella* and enteroviruses is also performed, though to not quite the same degree. Regarding the latter group, a country-by-country assessment, which was precluded in the present document, would have provided a more accurate picture. It is nevertheless evident that bathing water quality in a number of countries has not improved significantly over the last decade, mainly due to lack of control measures at source. In order to safeguard human health, and prevent bathing in unsatisfactory areas until such time as the necessary measures have been implemented, monitoring programmes require a varying degree of upgrading in a substantial part of the Mediterranean.

7-9. In the case of recreational areas, apart from being normally limited to the water body itself, monitoring is generally confined to what can be termed the bathing area proper. This matter now has to be re-considered. Technological developments in the exploitation of the aquatic environment for recreational purposes has also expanded available use options from the traditional bathing and swimming activities to include others such as scuba diving, underwater fishing and wind-surfing, which have both increased the quality coverage necessary in terms of area and depth, and added new dimensions to risk assessment procedures to cope with different exposure patterns among the various recreational groups (Saliba, 1993). Several microbiological hazards have been associated with recreational water sports, although so far, there is only limited evidence of any substantial health risks (Philipp, 1991b). Comparatively little work, however has been done on this subject, and the increasing popularity of water sports along the Mediterranean littoral provides sufficient justification for investigation.

Data quality assurance

7-10. Data quality assurance forms an integral part of any monitoring programme, as decisions have to be taken on the basis of accurate data. This aspect has received particular attention during the course of MED POL Phase II. Because of logistic problems caused by the instability of bacterial samples over extended time-frames, it was not possible to carry out intercalibration exercises in the way normally practiced with chemical samples: *i.e.* to distribute standard samples to Mediterranean laboratories, and then evaluate analytical quality in terms of results obtained. Instead, WHO organized a series of intercalibration exercises in microbiological methods between 1982 and 1993. Each exercise was held in a selected host laboratory, with a number of participants (normally averaging twenty) from different Mediterranean laboratories engaged in seawater and shellfish analysis. Participants determined bacterial concentrations in the same sample under the same laboratory conditions, and interpreted results according to specific instructions. Results obtained were generally variable, much of this variation being attributed to differences in individual experience. The need for training was recognized, and apart from arrangements for such training at individual level, the intercalibration exercises were combined with training courses from 1988 onwards. Guidelines for microbiological monitoring were issued by WHO as early as 1977, and recommended methods for determination of concentrations of individual microbiological parameters in seawater, shellfish and sewage were prepared and issued from 1982 onwards. All this material was recently updated and expanded, and re-issued in the form of comprehensive guidelines for health-related monitoring of coastal recreational and shellfish areas, comprising general guidelines, recommended methods for determination of bacterial indicator organisms and selected bacterial pathogens, statistical methods for interpretation of results, and guidelines for laboratory quality control (WHO/UNEP, 1994c). Widespread use of this publication throughout the region would contribute significantly towards the production of better monitoring results. Although the general quality of Mediterranean laboratories has improved significantly during the past two decades, personnel still require training, and the general efficiency of a number of laboratories calls for improvement, in order to achieve the necessary high quality in results.

Beach quality

7-11. Examination of the water alone, which is the system practiced both in the Mediterranean and elsewhere, is not sufficient to assess actual or potential health hazards. In Mediterranean resorts and bathing beaches, a considerable amount of time is spent on the sand - this is particularly the case with young children. The presence of pathogens in beach sand has been extensively demonstrated (*vide* Part 3 of this document), and a number of non-gastrointestinal infections can be contracted through contact with this particular medium which, so far, is not monitored. In shallow waters, where children normally play, any bacteria contained in bottom sand or sediments will be transferred to the water column immediately above by normal human activity. Apart from this, the whole beach area should be viewed as an integral complex, as quality deficiencies in beach amenities, including catering facilities, showers and toilets may contribute to the overall health hazards to the same degree as poor quality water.

7.12. The aesthetic quality of recreational water and the surrounding environment is extremely important for the psychology and well-being of users. Poor aesthetic quality of recreational waters may also imply poor microbiological/chemical quality. Visible and aesthetically displeasing pollutants include discarded food and its wrappings, domestic garbage, dead fish,

birds or other animals, algal scums, chemicals, oil, grease, detergents, floating objects made of wood or plastic, polythene film, plastic bags, foam products, rubber, glass, and medical and sanitary waste. For this reason, the aesthetic value of recreational waters has been defined as freedom from (a) visible materials that will settle to form objectionable deposits, (b) floating debris, oil, scum and other matter, (c) substances producing objectionable colour, odour, taste or turbidity, and (d) substances and conditions, or combinations thereof, which produce undesirable aquatic life (WHO/UNEP, 1995).

Criteria and standards

7-13. As shown in Part 4 of this document, microbiological standards for both bathing and shellfish waters, apart from being based mainly on concentrations of one or more bacterial indicator organisms, vary to a considerable degree in the different countries. While some can easily be seen as stricter than others, a number are not so comparable. Apart from the standards themselves, as already stated, analytical methods also differ to varying extents, both between the two main methods (Membrane filtration and Most Probable Number) employed, and between the various culture media used. There is also the all-important question of quality control, which also varies between individual laboratories.

7-14. There is, therefore, an obvious need not only to update current monitoring parameters, but also to pursue a more positive trend towards minimizing the present differences in microbiological quality criteria and standards existing between the various countries. Such Harmonization should also be extended to the way the standards are applied and enforced. Complete harmonization would naturally not be possible for a variety of reasons, nor would it be absolutely necessary from the viewpoint of health protection, since two or more different systems may be equally satisfactory. However, a minimization of differences combined with the maximum degree of upgrading possible wherever appropriate would go a long way towards the prevention of undesirable intra-regional and inter-regional comparisons, particularly by tourist organizations.

Shellfish waters and shellfish

7-15. Shellfish waters deserve particular attention, and it is unfortunate that lack of monitoring data on them precludes an assessment both of the current situation and of any progress effected since the 1985 assessment, which apart from only reflecting the position between 1976 and 1981, was based on an insufficient number of areas to justify regional generalization. Although the divergence in standards here is not as pronounced as is the case with recreational waters, reliance on one single bacterial indicator on the basis of only four samplings per year, as is the practice in a number of countries, would not appear to be sufficient for acceptability of a marine area for shellfish-growing, and certainly not for acceptability of shellfish for consumption. This deficiency is offset in many countries by the strict quality standards imposed on shellfish destined for human consumption through public health and related legislation. The general situation should be viewed in the light of the incidence of gastrointestinal diseases and disorders, both among local coastal populations and tourists, which provides cause for concern. Admittedly, overall morbidity statistics in themselves are insufficient, as practically all diseases caused by pathogens are capable of being contracted through media other than the marine environment, and most, in fact, are probably so caused. As an example, during the 14-year period between 1973 and 1986, 3144 *Salmonella* isolates from food were examined by the

National Centre for Enterobacteria in Rome and the three Inter-regional Centres in Milan, Palermo and Pisa (Fantasia *et al*, 1989). Foods most frequently contaminated were fresh and processed meat, accounting for 51.3% and 20.4% of the samples respectively. The report does not state what type of food the remainder of the samples represented. Most statistical reports on morbidity are of this overall nature, making it difficult to establish at clear cause-effect relationships. There are, however, a number of cases on record, as described earlier in this document, where positive links between disease outbreaks and incidence on the one hand, and contaminated shellfish on the other, were conclusively established.

7-16. The problem of algal biotoxins in shellfish is a relatively recent one in the Mediterranean, and apart from the records mentioned earlier in this document, the general situation still appears to be largely unknown. In this context, more information is required, particularly from areas known to be subject to regular or sporadic eutrophication phenomena. The draft of a comprehensive document on the state of eutrophication of the Mediterranean Sea (UNEP/FAO/WHO, 1995), which has been recently prepared, contains an abundance of material on toxic algae, parts of which have been cited in this document. This, however, only serves to demonstrate the need for further comprehensive field studies in the appropriate areas.

Internal country legislation and administrative organization

7-17. The 1976-1977 survey of Pollutants from land-based sources in the Mediterranean (UNEP/ECE/UNIDO/FAO/UNESCO/WHO/IAEA, 1984) included a review of legislative practices within the region. It was concluded that legal enactments controlling various aspects of marine pollution tended to be dispersed among laws and regulations intended primarily for other purposes, and sometimes the only effective and enforceable control was that available under planning laws. Where, as in some countries, comprehensive water legislation existed, provision for the protection of coastal waters was usually included, the method of control varying largely according to the degree of decentralization practiced. In some countries, the central government laid down fairly detailed standards which were applicable at national level. Alternatively, there could be detailed classification of receiving waters with corresponding effluent standards permitting a restricted measure of local decision. Among the countries with a long history of water resources management, there was a movement away from national standards and a delegation of authority to local agencies, with legislation tending to become more of an enabling nature, leaving the detailed execution as a local responsibility.

7-18. Since that time, a significant degree of consolidation has occurred in environmental pollution prevention and control legislation in most countries, both Mediterranean and otherwise. In the case of recreational and shellfish water quality, this has generally, but not always, resulted in a transfer of responsibility from ministries of health to newly-created ministries of environment, and to recreational and shellfish water quality control becoming an integral part of overall environmental legislation, instead of, as was generally the case previously, public health legislation. This dichotomy, whereby one ministry assumed responsibility for enforcement of such standards, while another obviously had to retain that part of its former responsibility concerning the public health considerations of such enforcement, has resulted, at least in some countries, in a number of inter-ministerial misunderstandings (Saliba, 1993). The fact that control of sewage pollution at source, which is the only effective measure to protect coastal recreational and shellfish waters from microbiological pollution, necessitates the establishment of sewage treatment plants and the construction of submarine outfall structures, which normally

fall within the purview of ministries other than those connected with environment or health, only adds to the organizational problem. At the same time, the trend towards harmonization of standards at international level (as is occurring within the European Community and, independently, in the Mediterranean and other regional seas) has brought about a re-centralization of standards establishment at national level, limiting the role of local bodies to execution.

7-19. One of the consequences of what can be termed organizational misunderstandings in a number of Mediterranean countries is the relative lack of information and data obtained by the Coordinating Unit of the Mediterranean Plan on a number of aspects of marine pollution control organization and programmes which, in turn, is leading to an incomplete, and possibly inaccurate, regional base for both overall and country assessments of coastal recreational and shellfish water quality in the region, and the measures being implemented to protect and enhance it.

7.2 RECOMMENDED ACTION

7-20. A number of immediate measures should be taken by the countries of the region. These actions concern (a) the adoption of more realistic microbiological criteria and standards for coastal recreational water quality, (b) a review of the current criteria and standards for shellfish water quality, with the aim of approving and adopting a revised version more concomitant with health requirements, (c) continuation of the studies necessary to fill gaps in existing essential information, and (d) acceleration of implementation of that part of the 1985 Genoa Declaration concerning sewage treatment plants and outfall structures for cities and towns, to enable the control of sewage pollution at source.

Criteria and standards for coastal recreational areas

7-21. The 1991 assessment on the state of pollution of the Mediterranean Sea by pathogenic microorganisms (UNEP/WHO, 1991), which was adopted by the Contracting Parties (UNEP, 1991) specified in its conclusions that the interim environmental quality criteria for bathing waters jointly adopted by Contracting Parties in 1985 should be clearly recognized as what it actually constituted - a temporary minimum palliative measure based on the immediate capabilities of the lowest common denominator - and that it was important that long-term planning, particularly in the design of treatment and disposal facilities, should not be performed solely on the basis of such criteria. The assessment similarly specified that the eventual requirement would be the development of modified criteria and standards, based on more reliable indicators. It was not recommended that any formal action be taken to amend the current criteria at that particular stage in time, even on a further interim basis, as the global situation regarding the validity of the several bacterial indicators currently in use was in a state of flux, although it did recommend that attempts should be made wherever possible to measure faecal streptococci as well as faecal coliforms, on the basis of either the criteria originally proposed by WHO/UNEP in 1985, or the Guide concentrations in the EEC 1975 bathing water quality Directive, if this could be done without major legislative modifications.

7-22. The current situation is not quite the same. There is now sufficient evidence that the solitary bacterial indicator in use is not satisfactory for the assessment of recreational water quality with a view to avoiding health risks. New quality standards should therefore be considered, based on concentrations of both faecal coliforms *and* faecal streptococci. Both standards should be set at values corresponding either to the present one used for faecal

coliforms, or to the EC guide (*not only* the mandatory) values. Selection of the former would mean that in the case of each parameter, 50% of the samples should not exceed 100 colony forming units (CFU) per 100 ml, and 90% should not exceed 1000 CFU per 100 ml. This would be identical to the original WHO/UNEP proposal in 1985. Selection of the latter as a basis, and translating the lists of non-conformable samples per total number analyzed into a common percentage, would mean that, again in each case, 80% of the samples should not exceed 100 CFU per 100 ml, and 95% should not exceed 2000 CFU (faecal coliforms) and 400 CFU (faecal streptococci) per 100 ml. There is no overall effective difference between the two alternatives, although specific local circumstances could make either the one or the other more stringent for particular beaches. Considering the fact that two major epidemiological studies conducted in different areas and time-periods, both resulted in adverse health effects being observed when the concentration of faecal streptococci rose slightly above 30 CFU per 100 ml, neither alternative could in any way be described as unnecessarily strict. The frequency should be more fully specified, and set at a fortnightly minimum throughout the bathing season, possibly coupled with an annual minimum of ten samplings.

7-23. Enteroviruses should really be introduced as a parameter on the lines of the EC Directive (zero in 10 litres, sampled at monthly intervals). This could raise problems of a technical nature in a number of countries whose laboratories are not equipped for such work. Viruses, however, represent the major current risk in bathing waters due to their persistence and low infective dose, and their presence does not correlate with that of bacterial indicators.. Their importance in other matrices (*i.e.* outside the marine environment) warrants the presence of at least one fully-equipped laboratory, per country, and monthly samples throughout the bathing season would entail four to five samples per year per sampling point. Initial difficulties could be overcome either by specifying a later entry into force of the enterovirus component of the new standards, or by limiting enterovirus analysis to those circumstances when and where their presence is suspected. Monitoring would therefore be at the discretion of national or local health authorities.

7-24. The status of *Salmonella* in the Mediterranean region as a whole is more than sufficient to justify its introduction as a mandatory monitoring parameter, possibly on the lines of the 1975 EC Directive (zero in 1 litre when there are indications that it may be present). It would be up to national authorities to decide on the specific times such analysis should be carried out. This should not present any major technical difficulties, as *Salmonella* is the pathogen most routinely monitored in other media, such as food and drinking water, in all Mediterranean countries. Alternatively, the procedure proposed for adoption in the new EC Directive could be considered as a base. This obliges national competent authorities to identify all discharges which might lead to *Salmonella* reaching bathing areas, and to take appropriate action to avoid pollution from such sources. In this context, It should be pointed out that the EC decision to change the status of *Salmonella* was based on arguments that, in common with enteroviruses, it can enter bathing waters by a number of routes, not all of which are controllable by Member States, and the ubiquitous nature of the parameter precluded any action which could guarantee compliance. It is considered that the status of *Salmonella* in the Mediterranean is not quite the same as that prevailing in Europe (talking each region globally), and it is therefore doubtful whether the latter alternative would solve the problem, even if the general proviso on prohibition of bathing when there is a threat to public health (which is contained in Article 7 (1) of the EC Directive) is adopted for the Mediterranean. The main method of identifying threats to public health is, after all, through monitoring of the appropriate media. Perhaps the same procedure as for enteroviruses, *i.e.* monitoring at the discretion of national or local health authorities when the presence of *Salmonella* is suspected, could be initially adopted.

Data quality assurance

7-25. Since 1994, training courses and intercalibration exercises in microbiological methods are being organized at national level, with financial and related assistance from MED POL. While these courses should continue, arrangements will have to be made to cater for those countries where the number of laboratories and personnel is so small as to preclude the organization of national courses at a sufficiently high level of participation. This could be achieved by combining participants from two to three countries in one course. The traditional "international" exercises should not be stopped altogether. These exercises were the only events which not only enabled comparison between different laboratories, but also brought participants from different countries together in a working environment particularly favourable for the discussion of common problems.

7-26. The financial resources available to MED POL only allow relatively short-term training at both individual and group level. The only training possible is therefore of the familiarization type, i.e. designed for participants already having a knowledge of the relevant procedures and requiring mainly updating. The necessary long-term training in microbiological methods will have to continue to be borne by countries out of their own resources. The cost of such training, as well as the costs of equipping and maintaining laboratories, would be very much reduced if, wherever possible, the relevant work is allocated to already-existing microbiological laboratories within the countries, such as those engaged in the analysis of drinking water, even if such laboratories belong to Ministries or other national or local bodies different from those responsible for bathing and shellfish water quality.

Bathing areas and beach quality

7-27. The 1985 Mediterranean resolution incorporating the interim environmental quality criteria for bathing waters does not include a definition of bathing areas. This should be done, and the definition in Article 1 of the EC Directive could possibly be adopted. Mediterranean States should similarly be asked to identify bathing areas within their territories in line with such definition, and provide lists of such areas to the Mediterranean Action Plan Secretariat.

7-28. As has been described, there are a number of non-gastrointestinal diseases associated with bathing which appear to be independent of the degree of sewage pollution of recreational waters. The evidence available from a number of studies shows that incidence of such cases may be due to already-infected individuals contaminating the water, coupled with the overcrowded nature of a number of beaches. There is obviously no measure regarding the former, but the feasibility of controlling overcrowding on beaches, possibly by extension of beach area availability, could be studied in the various countries having this problem. The matter of general beach hygiene, as described in paragraphs 7-10 and 7-11, should be studied with a view to possible remedial action.

Criteria and standards for shellfish waters

7-29. The 1987 criteria and standards for shellfish waters are, as already stated, based on the monitoring of one bacterial indicator (faecal coliforms) at quarterly intervals. On the one hand, it could be argued that this represents only a preliminary screening phase solely aimed at acceptability of the particular water body as a growing medium, and that there is a much stricter control procedure, including both depuration as necessary and further analysis on a wider range

of microbiological parameters, during the period between harvest and sale for consumption. On the other hand, as has already been stated earlier in this document, reliance on one bacterial parameter at infrequent intervals cannot be viewed as sufficient, even for area acceptability, and there is at least one Mediterranean country in which compliance with these standards also constitutes acceptability of the shellfish for consumption without further control procedures. Moreover, while the bulk of commercially produced shellfish pass through sanitary control procedures after harvesting, very little information is available as to what quantity of shellfish are harvested from naturally-growing areas, and what proportion of this by-passes the normal control procedure between gathering and consumption.

7-30. It is not considered that any specific immediate action in the form of revised standards for shellfish waters is indicated at this particular stage in time, but there is the immediate need for this matter to be studied further to determine whether the monitoring parameters should be increased and, if so, what additional parameters should be introduced, and to look into the matter of sampling frequency. A specific resolution by the Contracting Parties on such a study should be developed and adopted at the earliest opportunity. In the same resolution, Contracting Parties should, as interim measures pending the results of such a study, pledge (a) to monitor for any additional parameters whenever this is considered necessary on public health grounds, (b) to identify natural areas in which shellfish grow and are harvested, and to ensure that such areas are monitored in accordance with the provisions of the currently-existing quality criteria, and (c) as is already the practice in some countries, to prohibit the sale of shellfish from non-approved areas, and to warn the public of the risks involved in the consumption of raw shellfish collected at individual, as opposed to commercial, level from such areas.

Microbiological and epidemiological research

7-31. Countries should encourage the following lines of research, both within the framework of MED POL and otherwise:

Microbiological surveys to satisfy the requirement for a more comprehensive catalogue of the presence and (where feasible) density of pathogenic microorganisms in sewage effluents and in those marine areas (recreational and shellfish-growing) known to be affected by such effluents. This would provide essential data for the design of new sewage treatment facilities and outfall structures in such localities, and for any possible modifications required in the case of existing ones.

Surveys on the aesthetic and hygienic quality of beaches to determine what improvements are required on a case-by-case basis. Within this framework, analysis of sand samples from major beaches for bacteria and fungi should be performed as a baseline study. The results of such a study would determine whether health risks from polluted sand and sediments are such as to require criteria and standards for these media at a future date.

Epidemiological studies on the correlation between recreational water quality and observed health effects on exposed population groups, covering the main water sport activity areas (including bathing). This will provide a useful index as to the effectiveness or otherwise of prevailing quality standards.

Epidemiological studies correlating the incidence of specified diseases and disorders with beach overcrowding.

Epidemiological studies and surveys aimed at identifying the extent to which contaminated seafood (as opposed to other sources) is responsible for the incidence of gastrointestinal diseases and disorders in both local populations and tourists.

Microbiological studies correlating the density of bacterial indicator organisms with the presence and density of pathogens such as *Salmonella*. As this correlation will vary in each locality according to the proportion of diseased individuals and carriers in the community, studies will have to be performed in a number of localities. The results will provide a useful indication as to when the determination of additional parameters in any particular locality would be necessary for a more accurate determination of health risks.

Microbiological studies that will try to interpret the real pathogenic significance of pathogens such as *Salmonella* and enteroviruses in seawater samples.

Investigations on the presence and density of pathogenic microorganisms, particularly viruses, in specimens collected from shellfish waters considered as acceptable in terms of current criteria and standards, and in samples of shellfish following depuration, with the objectives of reviewing the efficacy of depuration techniques in use, and the eventual establishment of criteria for viruses.

Studies aimed at enhancing current microbiological methods for the determination of concentrations of pathogens and indicator organisms under Mediterranean conditions, including the development of less expensive techniques for determination of viruses.

Studies on the survival and adaptation of pathogenic and indicator microorganisms released into the Mediterranean marine environment, including the mechanisms responsible for change.

Studies to extend the present data base on toxic algal blooms in those areas in the Mediterranean subject to regular or sporadic eutrophication.

Control of sewage pollution at source

7-32. In view of the fact that, in several parts of the Mediterranean, municipal sewage is still being discharged to sea in a raw or partially-treated state, countries should accelerate, to the fullest degree possible, the establishment of sewage treatment plants and the construction of submarine outfall structures in accordance with the terms of the 1985 Genoa Declaration. This is essential for the rehabilitation of bathing and shellfish areas currently affected by sewage pollution.

Internal country organization and provision of information

7-33. Mediterranean countries should enhance, as necessary, their relevant marine pollution prevention and control mechanisms (including the improvement of internal organization and

inter-ministerial liaison where there is divided responsibility), in order to prevent duplication of effort, reconcile divergent interests, and enable enforcement of standards adopted as effectively as possible. Countries should also ensure that all relevant details of their legislation, programmes, and measures taken in accordance with the provisions of the Barcelona Convention and Protocols, as well as any Resolution adopted in terms of such Convention and Protocols, are submitted to the Mediterranean Action Plan Secretariat, as provided by the terms of the said Convention and Protocols.

REFERENCES

- Aasen, S. (1989). *Salmonella enteritidis* infection in Norwegian tourists. In Pasini, W. (Ed.): *Tourist Health: A New Branch of Public Health, Vol. II.* pp. 59-61. WHO Collaborating Centre for Tourist Health and Tourist Medicine, Rimini, Italy.
- Abdussalam, M. (1990) Salmonellosis in tourists and other travellers. In: Pasini, W. (Ed.): *Proceedings of the Second International Conference on Tourist Health, March 15-18, 1989, Rimini (Italy)*, pp. 48-55. WHO Collaborating Centre for Tourist Health and Tourist Medicine, Rimini, Italy.
- Akin, E.W., Hill, F.W.Jr. and Clark, N.A. (1975) Mortality of enteric viruses in marine and other waters. In Gameson, A.L.H. (Ed): *Discharge of sewage from long sea outfalls.* pp. 202-235. Pergamon Press, London.
- Alonso Molina, J.L., Peris Aguirre, I. and Amoros Munoz, I. (1984) Occurrence of *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella* in Valencia coastal waters. *Proceedings of the VIIth ICSEM/UNEP Workshop on Pollution of the Mediterranean, Lucerne, Switzerland, 11-13 October 1984.* pp 587-595. International Council for the Scientific Exploration of the Mediterranean (ICSEM), Monaco.
- Alonso Molina, J.L., Amoros Munoz, I. and Botella, M.S. (1993) *Control of intestinal pathogens (Campylobacter and Aeromonas) in marine coastal recreational areas in Valencia, Spain.* MAP Technical Reports Series, No. 75. United Nations Environment Programme, Athens.
- Andersson, Y. and Böttinger, M. (1989). Two communicable diseases as measures of diarrhoeal illness among Swedish travellers. In Pasini, W. (Ed.): *Tourist Health: A New Branch of Public Health, Vol. II.* pp. 25-34. WHO Collaborating Centre for Tourist Health and Tourist Medicine, Rimini, Italy.
- APHA/AWWA/WPCF (1985) *Standard methods for the examination of water and wastewater, 18th Edition.* American Public Health Association, Washington D.C.
- Araujo, R.M., Arribas, R.M., Lucena, F. and Pares, R. (1988) Distribution of mesophilic aeromonads in temperate aquatic habitats: relationship with faecal indicator parameters. *IAWPRC Newsletter*, **13**: 37.
- Aubert, M. (1988) *Théorie générale de l'eutrophisation.* In Stirn, J. (Ed.) UNESCO Reports in Marine Sciences, No. 49. UNESCO, Paris.
- Aubert, M. and Aubert, J. (1969). *Océanographie Médicale.* Gauthier Villars, Paris.
- Baine, W.B. Zampieri, A. and Mazzotti, M. (1974) Epidemiology of Cholera in Italy in 1973. *Lancet*, **1974**: 1370-1381.
- Barer, M.R., Millership, S.E. and Tabaqchli, S. (1986) Relationship of toxin production to species in the genus *Aeromonas*. *Journal of Medical Microbiology*, **22**: 303-309.

- Barua, D. (1990) Acute diarrhoeas (other than cholera, salmonellosis and shigellosis) as a health problem of tourists. In: Pasini, W. (Ed.): *Proceedings of the Second International Conference on Tourist Health, March 15-18, 1989, Rimini (Italy)*, pp. 56-65. WHO Collaborating Centre for Tourist Health and Tourist Medicine, Rimini, Italy.
- Belin, C., Berthomé, J.P. and Lassus, P. (1989) Dinoflagelles toxiques et phénomènes d'eaux colorées sur les côtes françaises: évolution et tendances entre 1975 et 1988. *Hydroécologie*, **1/2**: 3-17.
- Benjamin, J., Leaper, S.M., Owen, R.J. and Skirrow, M.B. (1983) A new species of thermophilic *Campylobacter*. *Current Microbiology*, **8**: 231-238.
- Berland, B. and Bellan, G. (1990). *Identification of algae and related biotoxins*. Paper presented at WHO Working Group on health impact from human exposure to recreational waters, Rimini, 27 February - 2 March 1990.
- Bernard, P. (1985) *Utilisation de la méthode de filtrations par membranes filtrantes pour la recherche de divers Candida dans les sables des zones marines à vocation balnéaire*. MED POL Research Project Final Report.
- Bernard, P., Gueho, E. and Pesando, D. (1988). *Recherche de dermatophytes et de moisissures pathogènes dans le sable des plages, 1986-1987*. MED POL Research Project Final Report.
- Blaser, M.J., Taylor, D.N. and Feldman, R.A. (1983) Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections. *Epidemiological Review*, **5**: 157-176.
- Boccia, A., Montanaro, D., Annino, I. and Schiappa, F. (1978). Isolamento di vibrioni alofili riferibili a *Vibrio parahaemolyticus* e *Vibrio alginolyticus* da molluschi bivalvi e da campioni di acqua della zona costiera della città di Napoli. *Igiene Moderna*, **71**: 893-904.
- Boni, L., Mancini, L., Milandri, A., Poletti, R., Pompei, M. and Viviani, R. (1992). First cases of DSP in the Northern Adriatic Sea. In Vollenweider, R.A., Marchetti, R. and Viviani, R (Eds.): *Marine Coastal Eutrophication: Proceedings of the International Conference, Bologna, 21-24 March, 1990*. *Journal of Science of the Total Environment*, Supplement 1992, pp 419-426.
- Borrego, J.J. (1982) *Estudio de los bacteriofagos de Escherichia coli en el agua de mar. Su relacion con la polución de dicho medio*. Doctoral thesis, University of Malaga.
- Borrego, J.J., Romero, P. and Mariño, F.(1991). *Epidemiological study on bathers from selected beaches in Malaga*. MAP Technical Reports Series, No. 53. United Nations Environment Programme, Athens.
- Borrego, J.J. and Moriño, M.A. (1994). *Comparison of methods for the isolation of Salmonella from natural waters*. MAP Technical Reports Series, No. 87, pp 1-54.. United Nations Environment Programme, Athens.

- Bosch, A., Gray, M., Diaz, J.M., Gajardo, R., Abad, F.X., Pinto, R.M. and Sobsey, M.D. (1993) *The survival of human enteric viruses in seawater*. MAP Technical Reports Series, No. 76, pp 1-8. United Nations Environment Programme, Athens.
- Bravo, I., Reguera, B., Martinez, A. and Fraga, S. (1990). First Report of *Gymnodinium catenatum* Graham in the Mediterranean coast. In Granéli, E., Sundström, B., Edler, L. and Anderson, D.M. (Eds.): *Toxic Marine Phytoplankton*. pp. 449-452. Elsevier Science Publishing Co., New York.
- Brisou, J. (1976) *An environmental sanitation plan for the Mediterranean seaboard; Pollution and human health*. Public Health Papers, No. 62. World Health Organization, Geneva.
- Brisou, J., Tysset, C., Mallioux, M. and Espinasse, S. (1962) Recherches sur les vibrions marins. A propos de 44 souches isolées de moules (*Mytilus galloprovincialis*) du littoral algérois. *Bulletin de la Société de pathologie exotique*, **55**: 260-275.
- Burke, V., Robinson, J., Bearnan, J., Gracey, M., Lesmana, M., Rockhill, R., Echevarria, P. and Janda, M. (1983) Correlation of enterotoxicity with biotype in *Aeromonas* spp. *Journal of Clinical Microbiology*, **18**: 1196-1200.
- Burke, V., Robinson, J., Gracey, M., Peterson, D. and Partridge, K. (1984) Isolation of *Aeromonas hydrophila* from a metropolitan water supply; seasonal correlation with clinical isolates. *Applied and Environmental Microbiology*, **48**: 361-366.
- Burke, V., Cooper, M. and Robinson, J. (1986) Haemagglutination patterns of *Aeromonas* spp. related to species and source of strains. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science*, **64**: 563-570.
- Cabelli, V.J. (1982) Swimming-associated gastro-enteritis and water quality. *American Journal of Epidemiology*, **115(4)**: 606-616.
- Cabelli, V.J. (1983) *Health effects for marine recreational waters*. R & D Report No. EPA-600/1-80-031, U.S. Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, North Carolina.
- Calderon, R. (1990). *Exposure to point and non-point sources of pollution in bathing beach water (fresh and marine)*. Paper presented at III International Conference on Tourist Health, Venice, November 1990.
- Canzonier, W.J. (1988). Public health component of bivalve shellfish production and marketing. *Journal of Shellfish Research*, **7**: 261-266.
- Carrada, G.C. Casotti, R. and Saggiomo, V. (1988) Occurrence of a bloom of *Gymnodinium catenatum* in a Tyrrhenian coastal lagoon. *Rapports et Communications Internationaux sur la Mer Méditerranée*, **31(2)**: 61.
- Cartwright, R.Y. (1990) Travellers' diarrhoea in British package holiday tourists to Mediterranean countries during the Summer season 1988. In: Pasini, W. (Ed.): *Proceedings of the Second International Conference on Tourist Health, March 15-18, 1989, Rimini (Italy)*, pp. 66-73. WHO Collaborating Centre for Tourist Health and Tourist Medicine, Rimini, Italy.

- Centre Alpin de Recherche Epidemiologique et de Prévention Sanitaire (CAREPS) (1987). *Etude épidémiologique des effets sur la santé de la contamination bactériologique des eaux de baignade: cas des eaux de rivière du Bassin de l'Ardèche - Rapport de synthèse*. CAREPS, Grenoble.
- Cheung, W.H.S., Chamg, K.C.K. and Hung, R.P.S. (1991) Variations in microbial indicator densities in beach waters and health-related assessment of bathing water quality. *Epidemiological Infections*, **106**: 329-344.
- Codd, G.A., Bell, S.G. and Brooks, WP. (1989) Cyanobacterial toxins in water. *Water Science and Technology*, **21(3)**: 1-13.
- Codex Alimentarius Commission (1978) *Proposed draft code of hygienic practice for molluscan shellfish*. In Report of the 11th session. Rome, 17-18 April 1978. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Colwell, R.R., Brayton, R.P., Rimes, D.J., Roszak, D.B., Huq, S.A. and Palmer, L.M. (1985) Viable but non-culturable *Vibrio cholerae* and related pathogens in the environment: implications for the release of genetically-engineered microorganisms. *Bio/Technology*, (3): 817-820.
- Cook, D.W. (1994) Effect of time and temperature on multiplication of *Vibrio vulnificus* in post harvest gulf coast shellstock oysters. *Applied and Environmental Microbiology*, **60**: 3483-3484.
- Corbett, S.J., Rubin, G.L., Curry, G.K., Kleinbaum, D.G. and THE SYDNEY BEACH USERS STUDY ADVISORY GROUP (1993) The health effects of swimming at Sydney beaches. *American Journal of Public Health*, **83(12)**: 1701-1706.
- Crovati, P., De Flora, S., Vannucci, A. and Badolati, G. (1974) The virological monitoring of water. II - Seawater *Bollettino dell'Istituto Sieroter Milanese*, **53**: 525-532.
- Cvjetanovic, B. (1989) Diarrhoeal diseases in the Mediterranean area. In Pasini, W. (Ed.): *Tourist Health: A New Branch of Public Health, Vol. I*. pp. 67-78. WHO Collaborating Centre for Tourist Health and Tourist Medicine, Rimini, Italy.
- Cvjetanovic, B. (1990) Typhoid and its control in the Mediterranean. In: Pasini, W. (Ed.): *Proceedings of the Second International Conference on Tourist Health, March 15-18, 1989, Rimini (Italy)*, pp. 33-39. WHO Collaborating Centre for Tourist Health and Tourist Medicine, Rimini, Italy.
- Daily, O.P., Joseph, S.W., Coolbaughm, J.C., Walker, R.I., Merrel, B.R., Rollins, D.M., Seidler, R.J., Colwell, R.R. and Lissner, C.R. (1981) Association of *Aeromonas sobria* with human infection. *Journal of Clinical Microbiology*, **13**: 769-777.
- Dardanoni, I. and Nastasi, A. (1990) Enteric infections: Shigellosis and Amoebiasis. In: Pasini, W. (Ed.): *Proceedings of the Second International Conference on Tourist Health, March 15-18, 1989, Rimini (Italy)*, pp. 41-47. WHO Collaborating Centre for Tourist Health and Tourist Medicine, Rimini, Italy.

- Degobbis, D. (1990). Eutrophication-related phenomena in the Adriatic Sea and Yugoslav coastal region. *Proceedings of the Workshop on Eutrophication-related phenomena in the Adriatic Sea and in other Mediterranean Coastal Zones. Rome, 28-30 May 1990. Water Pollution Research reports*, **16**: 83-95.
- Delgado, M., Estrada, M., Camp, J., Fernandez, J.V., Santmarti, A. and Lleti, C. (1990). Development of a toxic *Alexandrium minutum* Halim (Dinophyceae) bloom in the harbour of San Carlos de la Rapita (Ebro Delta, Northwestern Mediterranean). *Scientia Marina*, **54(1)**: 1-7.
- De Vicente, A., Codina, J.C. and Romero, P. (1991) Relationship between *Pseudomonas aeruginosa* and bacterial indicators in polluted natural waters. *Water science and Technology*, **24(2)**: 121-124.
- Diaz, A. and Velasco, A.C. (1987) Enteropatogenicidad de *Aeromonas* spp. *Revista Española de Microbiología Clínica*, **2**: 11-16.
- De Flora, S., De Renzi, G.P. and Badolati, G. (1975) Detection of animal viruses in bottom seawaters and in marine sediments. *Applied Microbiology*, **30**: 472-475.
- EC (1976) Council Directive of 8 December 1975 concerning the quality of bathing waters (76/160/EEC). *Official Journal of the European Communities*, No. **L31**: 1-4.
- EC (1979) Council Directive of 30 October 1979 on the quality required of shellfish waters (79/923/EEC) (79/923/EEC). *Official Journal of the European Communities*, No. **L281**: 47-52.
- EC (1988). *Quality of bathing water, 1983-1986: Fifth Report*. Document EUR 11588, Commission of the European Communities, Luxembourg.
- EC (1989). *Quality of bathing water, 1987: Sixth Report*. Document EUR 11921, Commission of the European Communities, Luxembourg.
- EC (1991) *Quality of bathing water, 1989-1990*. Document EUR 13333, European Commission, Brussels.
- EC (1992) *Quality of bathing water, 1991*. Document EUR 14210, European Commission, Brussels.
- EC (1993) *Quality of bathing water, 1992*. Document EUR 15031, European Commission, Brussels.
- EC (1994a) *Quality of bathing water, 1993*. Document EUR 15399, European Commission, Brussels.
- EC (1994b) *Proposal for a Council Directive concerning the quality of bathing water*. Document COM(94) 36 final, Commission of the European Communities, Brussels.
- EC (1995a) *Quality of bathing water, 1994*. Document EUR 15976, European Commission, Brussels.

- EC (1995b) *Quality of fresh water for fish and of shellfish water*. Document EUR 14118, European Commission, Brussels.
- El-Sahn, M.A., El-Banna, A.A. and Shahata, A.M.E.T. (1982) Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* in selected marine invertebrates, sediment and seawater around Alexandria, Egypt. *Canadian Journal of Microbiology*, **28(11)**: 1261-1264.
- El-Sharkawi, F.M., El-Derea, H.B. and Akel, M.M. (1982a) The effect of marine pollution on the hygienic quality of shellfish caught in Alexandria beaches. *Bulletin of the High Institute of Public Health, Alexandria*, **12**: 47-57.
- El-Sharkawi, F.M. and Hassan, M.N.E.R. (1982b) The relation between the state of pollution in Alexandria swimming beaches and the occurrence of typhoid among bathers. *Bulletin of the High Institute of Public Health, Alexandria*, **12**: 337-351.
- El-Sharkawi, F.M., El-Attar, A., Abdel Gawad, A. and Molazem, S. (1991) *Some environmental factors affecting survival of faecal pathogens and indicator organisms in seawater*. MAP Technical Reports Series, No. 49, pp 21-32. United Nations Environment Programme, Athens.
- Fantasia, M., Filetici, E. and Arena, S. (1989) Trend in *Salmonella* isolations from food and man in Italy, 1973-1986. In Pasini, W. (Ed.): *Tourist Health: A New Branch of Public Health, Vol. II*. pp. 131-133. WHO Collaborating Centre for Tourist Health and Tourist Medicine, Rimini, Italy.
- FAO/UNESCO/IOC/WHO/WMO/IAEA/UNEP (1983) *Coordinated Mediterranean Pollution Monitoring and research programme (MED POL Phase I) - Programme Description*. UNEP Regional Seas Reports and Studies No. 23. United Nations Environment Programme, Geneva.
- Fattal, B. and Shuval, H.I. (1988). *Epidemiological research on the relationship between the microbial quality of coastal seawater and morbidity among bathers on Israeli Mediterranean beaches*. M.A.P. Technical Report series No. 20, United Nations Environment Programme, Athens.
- Fattal, B. and Shuval, H.I. (1991) *The relationship between microbial quality of coastal seawater and rotavirus-induced gastroenteritis among bathers in Mediterranean Israeli beaches*. MAP Technical Reports Series, No. 49. United Nations Environment Programme, Athens.
- Fonda Umani, S. (1985). Hydrology and "red tides" in the Gulf of Trieste (North Adriatic Sea). *Oebalia*, **XI (N.S.)**: 141-147.
- Foulon, G., Maurin, J., Quoi, N.N. and Martin-Bouyer, G. (1983). Etude de la morbidité humaine en relation avec la pollution bactériologique des eaux de baignade en mer. *Revue française des Sciences de l'Eau*, **2(2)**: 127-143.
- FRANCE, GOVERNMENT OF (1989). *Qualité des eaux de baignade. Saison 1988 - Dossier de Presse*. Ministère de la Solidarité, de la Santé et de la Protection Sociale/Secrétariat d'Etat auprès du Premier Ministre Chargé de l'Environnement, Paris.

- Fricker, C.R. (1987) The isolation of salmonellas and campylobacters: A review. **63**:99-117.
- Fuks, D. (1991) *Survival of some intestinal pathogens in the marine environment*. MAP Technical Reports Series, No. 49, pp 1-20. United Nations Environment Programme, Athens.
- Gameson, A.H.L. and Gould, D.J. (1975) Effects of solar radiation on the mortality of some terrestrial bacteria in seawater. In Gameson, A.L.H. (Ed): *Discharge of sewage from long sea outfalls*. pp. 209-219. Pergamon Press, London.
- Gauthier, M.J. (1980) Polución en el medio marino. In Péres, J.M. (Ed): *La Polución de las aguas marinas*. pp. 127-141. Omega S.A.. Barcelona.
- Gauthier, M.J. (1992a) Influence des systèmes d'osmorégulation sur la survie et l'adaptation des bactéries entériques dans l'environnement marin MAP Technical Reports Series, No. 63, pp 1-16. United Nations Environment Programme, Athens.
- Gauthier, M.J. (1992b) *Influence des mécanismes d'osmorégulation sur la survie et l'adaptation des bactéries entériques dans l'environnement marin*. MAP Technical Reports Series, No. 63, pp 17-28. United Nations Environment Programme, Athens.
- Gauthier, M.J. (1992c) *Etude expérimentale du transfert de gènes plasmidiques entre les entérobactéries dans l'environnement marin*. MAP Technical Reports Series, No. 63, pp 61-76. United Nations Environment Programme, Athens.
- Gauthier, M.J., Flatau, G.N. and Breittmayer, V.A. (1991) Protective effect of Glycine Betaine on survival of *Escherichia coli* cells in marine environments. *Water science and Technology*, **24(2)**:129-132.
- Gauthier, M.J., Munro, P.M. and Breittmayer, V.A. (1991) *Evolution phénotypique et génétique des entérobactéries pathogènes dans les milieux marins (sédiments, biomasse)* MAP Technical Reports Series, No. 49, pp 43-63. United Nations Environment Programme, Athens.
- Gauthier, M.J., Martin, Y. and Torregrossa, M.V. (1992) *Etude expérimentale du transfert de gènes plasmidiques entre entérobactéries dans l'eau de mer, les sédiments et le tractus digestif des invertébrés marins*. MAP Technical Reports Series, No. 63, pp 20-60. United Nations Environment Programme, Athens.
- Gauthier, M.J., Breittmayer, V.A., and Braux, A.S. (1993) *Expression génique chez les bactéries entériques dans les conditions marines*. MAP Technical Reports Series, No. 76, pp 9-38. United Nations Environment Programme, Athens.
- Geldreich, E.E. (1978) Bacterial populations and indicator concepts in faeces, sewage, stormwater and solid waste. In Berg, G. (Ed): *Indicators of viruses in water and food*. pp. 51-97. Ann Arbor Science, Michigan.

- Geldreich, E. E. (1985) *A review of epidemiological evidence, criteria and standards correlating health effects with shellfish and marine bathing water quality*. Working document presented at WHO/UNEP Consultation meeting on the correlation between coastal water quality and health effects. Follonica, Italy, 21-25 October 1985.
- Gerba, C.P. and Goyal, S.M. (1978) Detection and occurrence of enteric viruses in shellfish; A review. *Journal of Food Protection*, **41**: 743-754.
- Ghinsberg, R.C., Bar-Dov, L., Rogol, M. and Vitkin, M. (1990). *Prevalence of pathogenic microorganisms in beach sand*. MED POL Research Project Progress Report.
- Ghinsberg, R.C., Leibowitz, P., Witkin, H., Mates, A., Seinberg, Y., Bar-Dov, L., Nitzan, Y. and Rogol, M. (1994) *Monitoring of selected bacteria and fungi in sand and seawater along the Tel Aviv coast*. MAP Technical Reports Series, No. 87, pp 65-82. United Nations Environment Programme, Athens.
- Giacobbe, M. and Maimone, G. (1991) *Dinophysis sacculus* outbreaks in a brackish area of Sicily. *Red Tide Newsletter*, **4**: 1.
- Gotsis-Skretas, O. and Friligos, N. (1988). Eutrophication and phytoplankton ecology in the Thermaikos Gulf. *Rapports et Communications Internationaux sur la Mer Méditerranée*, **31(2)**: 297.
- Grauer, F.H. (1959), Dermatitis escharotica caused by a marine alga. *Hawaii Medical Journal*, **19**: 32-34.
- Halim, Y. (1989). *Eutrophication in Egyptian Mediterranean waters*. Report of the meeting of experts on the implications and control of undesirable plankton blooms, Athens, 4-6 April 1989, Annex III, p1. Document UNEP(OCA)MED WG.4/2., United Nations Environment Programme, Athens.
- Hoadley, A.W. (1981) Effect of injury on the recovery of bacteria on membrane filters. In Dutka, B.J. (Ed.) : *Membrane filtration: Applications, techniques and problems*. pp. 413-450. Marcel Dekker Inc., New York.
- Hugues, B. (1994) *Recovery of viruses from seawater*. Personal communication recorded in Table 2.2.2. in WHO/UNEP - Health risks from marine pollution in the Mediterranean. Part II - Review of hazards and health risks. Document EUR/ICP/EHAZ 94 01/MT01(2). WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- Hugues, B., Andre, M., Plantat, J.L. and Champsaur, H. (1993) Comparison of glass wool and glass powder methods for concentration of viruses from treated wastewaters. *Zbl. Hyg.*, **193**: 440-449.
- Innamorati, M., Nuccio, C., Lenzi-Grillini, C., De Pol, M. and Mannucci, M. (1989a). *Biomassa, produzione e specie fitoplanctoniche nel mare antistante lo scarico termico della centrale elettrica di Torre del Sale (Golfo di Follonica)*, Resoconti dei rilevamenti in mare, No. 5. Firenze.

- Innamorati, M., Lazzara, L., Nuccio, C., De Pol, M., Mannucci, M. and Mori, G. (1989b). *Popolamenti fitoplanctonici e condizioni idrologiche nell' Arcipelago Toscano*. Resoconti dei rilevamenti in mare, No. 5. Firenze.
- ITALY, GOVERNMENT OF (1990). *Rapporto sulla qualità delle acque di balneazione (D.P.R. 8 Giugno 1982 N. 470), Anno 1989*. Ministry of Health, Rome.
- Izquierdo, J., Piera, G., Aledany, M.C. and Lucena, F. (1986). *Estudio de la flora fungica de la arena de la playa de Badalona (España)*. MED POL Research Project Progress Report.
- Jahkola, M. (1990) *Salmonella enteritidis* is becoming a health problem for Finnish tourists visiting the Mediterranean area. In: Pasini, W. (Ed.): *Proceedings of the Second International Conference on Tourist Health, March 15-18, 1989, Rimini (Italy)*, pp. 83-87. WHO Collaborating Centre for Tourist Health and Tourist Medicine, Rimini, Italy.
- Janda, J.M. and Duffey, P.S. (1988) Mesophilic aeromonads in human disease: current taxonomy, laboratory identification and infectious disease spectrum. *Review of Infectious Diseases*, **10**: 980-997.
- Jofre, J. (1987) *Bacteriophage of Bacteroides as an indicator of pathogenic viruses in coastal seawater*. Unpublished report.
- Jofre, J., Blasi, M., Bosch, A. and Lucena, F. (1989) Occurrence of bacteriophages infecting *Bacteroides fragilis* and other viruses in polluted marine sediments. *Water Science and Technology*, **21(3)**: 15-19.
- Jofre, J., Lasobres, J., McIntosh, D. and Lucena, F. (1994) *Evaluation of virus contamination of shellfish through enumeration of phages infecting Bacteroides fragilis*. MAP Technical Reports Series, No. 87, pp 99-121. United Nations Environment Programme, Athens.
- Jones, D.M., Abbott, J.D., Painter, M.J. and Sutcliffe, E.M. (1984) A comparison of biotypes and serotypes of *Campylobacter* species isolated from patients with enteritis and from animal and environmental sources. *Journal of Infections*, **9**: 51-58.
- Jones, F. and Kay, D. (1989) Bathing waters and health studies. *Water Services*, **93(1117)**: 87-89.
- Jones, G.E. (1971) The fate of freshwater bacteria in the sea. *Developments in Industrial Microbiology*, **12**: 141-151.
- Jones, G.E. and Cobet, A.B. (1975) Heavy metal ions as the principal bactericidal agent in Caribbean seawater. In Gameson, A.L.H. (Ed): *Discharge of sewage from long sea outfalls*. pp. 199-208. Pergamon Press, London.
- Joseph, S.W., Daily, O.P., Hunt, W.S., Seidler, R.J., Allen, D.A. and Colwell, R.R. (1979) *Aeromonas* primary wound infection of a diver in polluted waters. *Journal of Clinical Microbiology*, **10**: 46-49.

- Kaltenböck, E. and Hemdl, G.J. (1992). Ecology of amorphous aggregations (marine snow) in the Northern Adriatic Sea. IV. Dissolved nutrients and the autotrophic component associated with marine snow. *Marine Ecology Progress Series*, **10**: 17-26.
- Kaper, J.B., Lockman, H. and Colwell, R.R. (1981) *Aeromonas hydrophila*: ecology and toxigenicity of isolates from an estuary. *Journal of Applied Bacteriology*, **50**: 359-377.
- Kapuschinski, R.B. and Mitchell, R. (1981) Solar radiation induces sublethal injury in *Escherichia coli* in seawater. *Applied and Environmental Microbiology*, **41(3)**: 670-674.
- Kaspar, C.W. and Tamplin, M.L. (1993) Effects of temperature and salinity on the survival of *Vibrio vulnificus* in seawater and shellfish. *Applied and Environmental Microbiology*, **59**: 2425-2429.
- Katzenelson, E. (1977) Concentration and identification of viruses from seawater. *Revue Internationale d'Océanographie Médicale*, **68**: 9-16.
- Kay, D., Fleisher, J.M., Salmon, R.L., Jones, F., Godfree, A.F., Zelenauch-Jacquotte, Z. and Shore, R. (1994) Predicting the likelihood of gastro-enteritis from sea bathing: results from randomized exposure. *The Lancet*, **344**: 905-909.
- Kelly, M. and Naguib, M. (1984) Other examples from the Mediterranean region. In *Eutrophication of coastal marine areas and lagoons: A case study of "Lac de Tunis"*, p 22. UNESCO Reports in Marine Science, No. 29. UNESCO, Paris.
- Kelly, M.T. and Stroh, D. (1988) Occurrence of *Vibrionaceae* in natural and cultivated oyster populations in the Pacific Northwest. *Digest of Microbiology and Infectious Diseases*, **9**: 1-5.
- Kocasoy, G. (1989) The relationship between coastal tourism, sea pollution and public health: A case study from Turkey. *The Environmentalist*, **9(4)**: 245-251.
- Kollaritsch, H. and Wiedermann, G. (1990). Travellers' diarrhoea among Austrian tourists: Epidemiology, clinical features and attempts at nonantibiotic drug prophylaxis. In: Pasini, W. (Ed.): *Proceedings of the Second International Conference on Tourist Health, March 15-18, 1989, Rimini (Italy)*, pp. 74-82. WHO Collaborating Centre for Tourist Health and Tourist Medicine, Rimini, Italy.
- Koray, T. (1990) Planktonic Protista associated with "color-tides" in Izmir Bay (Aegean Sea). *Rapports et Communications Internationaux sur la Mer Méditerranée*, **32(1)**: 212.
- Koray, T. and Buyukisik, B. (1988) Toxic dinoflagellate blooms in the harbour region of Izmir Bay (Aegean Sea). *Revue Internationale d'Océanographie Médicale*, **91-92**: 25-42.
- Koray, T., Buyukisik, B., Benli, A. and Gokpinar, S. (1992) Phytoplankton blooming and Zooplankton swarming in eutrophied zones of Aegean Sea (Izmir Bay). *Rapports et Communications Internationaux sur la Mer Méditerranée*, **33**: 257.
- Krikelis, V. (1987) *Research on enteroviruses in aquatic environments*. Unpublished report.

- Krikelis, V., Spyrou, N., Markoulatos, P. and Serie, Ch. (1985a) Seasonal distribution of enteroviruses and adenoviruses in domestic sewage. *Canadian journal of Microbiology*, **31**: 24-25.
- Krikelis, V., Markoulatos, P., Spyrou, N. and Serie, Ch. (1985b) Detection of endogenous enteric viruses in raw sewage effluents of the city of Athens, Greece, during a two-year survey. *Water Science and Technology*, **17** (Bilthoven): 159-164.
- Krikelis, V., Markoulatos, P. and Spyrou, N. (1986) Viral pollution of coastal waters resulting from the disposal of untreated sewage effluents. *Water Science and Technology*, **18** (Split): 43-48.
- Lakkis, S. (1991). Les Dinoflagelles des côtes libanaises: aspects écologiques. *Revue Internationale d'Océanographie Médicale*, **101-102-103-104**: 115-123.
- Lariviere, L.A., Gaudreau, Ch.L. and Turgeon, F.F. (1986) Susceptibility of clinical isolates of *Campylobacter jejuni* to twenty five antimicrobial agents. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **18**: 681-685.
- Lassus, P., Herbland, A. and Lebaut, C. (1991) *Dinophysis* blooms and toxic effects along the French coast. *World Aquaculture*, **22(4)**: 49-54.
- Legovic, T., Petricioli, D. and Zutic, V. (1991a) Hypoxia in a pristine stratified estuary (Krka, Adriatic Sea). *Marine Chemistry*, **32**: 347-360.
- Legovic, T., Vilicic, D., Petricioli, D. and Zutic, V. (1991b) Subsurface *Gonyaulax polyhedra* bloom in a stratified estuary. *Marine Chemistry*, **32**: 361-374.
- Leveau, M., Maestrini, S., Nival, P. and Romana, A. (1989) *State of the eutrophication problem in France*. Report of the meeting of experts on the implications and control of undesirable plankton blooms, Athens, 4-6 April 1989, Annex III, pp 2-22. Document UNEP(OCA)MED WG.4/2., United Nations Environment Programme, Athens.
- Lightfoot, N.E. (1989). *A prospective study of swimming-related illness at six freshwater beaches in Southern Ontario*. Unpublished Ph.D. Thesis.
- Macowiak, P.A., Caraway, C.T. and Portnoy, B.L. (1976) Oyster Associated Hepatitis: Lessons from the Louisiana experience. *American Journal of Epidemiology*, **103**: 181-191.
- Magazzù, G.A. (1982) La crescita fitoplanctonica in alcuni ambienti lagunari del mare Mediterraneo. *Naturalista Siciliano*, **S.IV, 6(2)**: 337-259.
- Magazzù, G.A., Caristi, C., Decembrini, F., Cimino, G. and Pulicano, G. (1991) Pollution chimique et eutrophisation de la Lagune Saumatre de Ganzirri (Messina). *Revue Internationale d'Océanographie Médicale*, **101-102-103-104**: 53-61.

- Maini, P., Buci, G., Riva, A., Tuffanelli, A. and Verniani, M.R. (1990). *Microbiological monitoring of the Emilia-Romagna region (Italy) in 1989*. Paper presented at Third International Conference on Tourist Health, Venice, 14-17 November 1990.
- Mallory, L.M., Yuk, C.S., Liang, L.N. and Alexander, M. (1983) Alternative prey: A mechanism for elimination of bacterial species by protozoa. *Applied and Environmental Microbiology*, **46**: 1073-1079.
- Mancini, L., Milandri, A., Nizzoli, C., Pirini, M., Poletti, R., Pompei, M. and Viviani, R. (1986). L'eutrofizzazione in rapporto ad alcuni aspetti igienico-sanitari delle acque costiere e dei prodotti della pesca. *Nova Thalassia*, **8**, **Suppl. 3**: 325-330.
- Marasovic, I. (1986) Occurrence of *Prorocentrum minimum* in Adriatic Sea. *Rapports et Communications Internationaux sur la Mer Méditerranée*, **30(2)**: 186.
- Marasovic, I. (1990) Summer phytoplankton blooms in the Kastela Bay (Adriatic Sea) from 1980 to 1990. *Red Tide Newsletter*, **3**: 3.
- Mariño, M.G., Hernandez, M. and Fernandez, M. (1982). *Relaciones entre calidad microbiologica de las aguas de baño y efectos sanitarios y aceptacion estetica de los bañistas*. Unpublished report.
- Martin, Y.P. and Bonnefont, J.-L. (1990) Variations annuelles et identification des Vibrions cultivant à 37EC dans un effluent urbain, dans les moules et dans l'eau de mer en rade en Toulon (Méditerranée, France). *Canadian Journal of Microbiology*, **36**: 47-52.
- Mascher, F., Reinthaler, F.F., Sixi, W., Schuhmann, G. and Enayat, U. (1989) *Aeromonas* spp aus Trinkwasser und stuhlproben in Südindien: Isolierung, Charakterisierung und Toxinnachweis. *Mitt. österr. Ges. Tropenmed. Parasitol.*, **11**: 189-196.
- McCambridge, J. and McMeekin, T.A.. (1980) Relative effects of bacterial predators on survival of *Escherichia coli* in estuarine water samples. *Applied and Environmental Microbiology*, **40**: 907-911.
- McCambridge, J. and McMeekin, T.A.. (1981) Effect of solar radiation and predacious microorganisms on survival of faecal and other bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, **41**: 1083-1079.
- Metcalf, T.G. (1982) Viruses in shellfish-growing waters. *Environment International*, **7**: 21-27.
- Metcalf, T.G. and Stiles, W.C. (1965) Survival of enteric viruses in estuary waters and shellfish. In Berg, G. (Ed.) *Transmission of viruses by the water route*. pp. 439-447. Interscience Publishers, New York.
- Mitchell, R. (1971) Destruction of bacteria and viruses in seawater. *Journal of Sanitary Engineering*, **97**: 425-432.

- Mitchell, R. and Chamberlin, C. (1975) Factors influencing the survival of enteric microorganisms in the sea: An overview. In Gameson, A.L.H. (Ed): *Discharge of sewage from long sea outfalls*. pp. 237-251. Pergamon Press, London.
- Mood, E.W. and Moore, B. (1976) *Health criteria for the quality of coastal bathing waters*. Periodical publication, Yale University School of Medicine, New Haven, Connecticut, USA.
- Moore, R.E. (1984) Public health and toxins from marine blue-green algae. In Ragelis, E.P. (Ed.): *Seafood Toxins*, pp 369-376. ACS Symposium Series, No, 262, American Chemical Society, Washington, D.C.
- Mori, I. and Andreoli, C. (1991). Presenza e distribuzione di microalghe tossiche in Adriatico. *Giornale di Botanica Italiano*, **125(3)**: 309.
- Mujeriego, R., Bravo, J.M., Canovas, F., De Vicente, A., Piñas, M., Grane, S., Hernandez, A. and Feliu, M.T. (1980). *Calidad de las aguas costeras y vertido de aguas residuales en el mar. Sus aspectos sobre la salud pública*. Subdirectorato-General of Environmental Health, Ministry of Health and Social Security, Madrid.
- Mujeriego, R., Bravo, J.M. and Feliu, M.T. (1983). Recreation in coastal waters - Public Health implications. *Proceedings of the VIth ICSEM/UNEP Workshop on Pollution of the Mediterranean, Cannes, France, 2-4 December 1982*. pp 585-594, International Council for the Scientific Exploration of the Mediterranean (ICSEM), Monaco.
- O'Neil, K.R., Jones, S.H. and Grimes, D.J. (1992) Seasonal incidence of *Vibrio vulnificus* in the Great Bay estuary of New Hampshire and Maine. *Applied and Environmental Microbiology*, **58**: 3257-3262.
- Pagou, K. (1990) Eutrophication problems in Greece. *Proceedings of the Workshop on Eutrophication-related phenomena in the Adriatic Sea and in other Mediterranean Coastal Zones. Rome, 28-30 May 1990. Water Pollution Research reports*, **16**: 97-114.
- Pagou, K. and Ignatiades (1990). The periodicity of *Gymnodinium breve* (Davis) in Saronicos Gulf, Aegean Sea. In Granéli, E., Sundström, B., Edler, L. and Anderson, D.M. (Eds): *Toxic Marine Phytoplankton*. pp 206-208. Elsevier Publishing Co., New York.
- Panagiotides, P., Gotsis, O. and Friligos, N. (1989) Observations on the occurrence of a bloom of the species *Gonyaulax tamarensis* in Kavala Gulf during August 1986. *Proceedings of the Second Hellenic Symposium of Oceanography and Fisheries, Athens, 1987*, pp 417-425.
- Papadakis, J.A., (1987) *Relation between densities of indicator organisms and microbial pathogens in seawater*. MED POL Research Project Progress Report.
- Papadakis, J.A., (1991) *Investigation on neurotoxins in shellfish*. MAP Technical Reports Series, No. 60, pp 31-42. United Nations Environment Programme, Athens.

- Papadakis, J.A., (1994) *Comparative distribution of microbial and yeast populations in sand and seawater*. MAP Technical Reports Series, No. 87, pp 87-97. United Nations Environment Programme, Athens.
- Papadakis, J.A. Marcellou-Kinti, U., Mavridou, A. and Tsakris, A. (1990). *A study on the comparative distribution of microbial and yeast populations in sand and seawater*. MED POL Research Project Final Report.
- Papadakis, J.A., Mavridou, A. and Lambiri, M. (1992) *Investigations on microorganisms of human origin in seawater and sand in relation to the number of bathers*. Paper submitted for Athens Academy Award.
- Papaevangelou, G.J., Biziagos, E., Stathopoulos, G.A., Crance, J.M., Vayona, T. and Deloince, R. (1991). *Detection of Hepatitis A virus in sewage, seawater and shellfish*. MAP Technical Reports Series, No. 54, pp 11-22. United Nations Environment Programme, Athens.
- Papapetropoulou, M., Zoumbou, K. and Nicolopoulou, A. (1993). *Metabolic and structural changes in E. coli cells starved in seawater*. MAP Technical Reports Series, No. 76, pp 39-56. United Nations Environment Programme, Athens.
- Papapetropoulou, M. and Rodopoulou, G. (1994). *Occurrence of enteric and non-enteric indicators in Southern Greece coastal waters*. MAP Technical Reports Series, No. 87, pp 55-64. United Nations Environment Programme, Athens.
- Papapetropoulou, M. and Sotiracopoulou, S. (1995). Effect of bathing on human skin flora. MAP Technical Reports Series, No. 93, pp 23-31. United Nations Environment Programme, Athens.
- Patti, A.M., De Filippis, P., Gabrieli, R., Aulicino, F. and Volterra, L. (1990) *Unicellular algae as a vehicle of virus diseases*. Paper presented at Third International Conference on Tourist Health, Venice, 14-17 November 1990.
- Philipp, R. (1991a). Risk assessment of exposure to cyanobacteria. *Environmental Health*, **97**: 80-83.
- Philipp, R. (1991b). Risk assessment and microbiological hazards associated with recreational water sports. *Reviews in Medical Microbiology*, **2**: 208-214.
- Pike, E.B. (1990) *Health effects of sea bathing (ET 9511): Phase I - Pilot studies at Langland Bay 1989*. WRc Report No. DoE 2518-M, Water Research Centre, Marlow.
- Pike, E.B. (1991) *Health effects of sea bathing (ET 9511): Phase II - Pilot studies at Ramsgate and Moreton 1990*. WRc Report No. DoE 2736-M, Water Research Centre, Marlow.
- Pike, E.B. (1993) Recreational use of coastal waters: Development of health-related standards. *Journal of the Institute of Water and Environmental Management*, **7**: 162-169.

- Pike, E.B. (1994) *Health effects of sea bathing (WMI 9021): Phase III - Final Report to the Department of the Environment*. WRC Report No. DoE 3412 (P), Water Research Centre, Marlow.
- Portnoy, B.L., Macowiak, P.A., Caraway, C.T., Walker, J.A., McKentley, T.W. and Klein Jr, C.A. (1975) Oyster-associated Hepatitis: Failure of shellfish certification program to prevent outbreaks. *Journal of the American Medical Association*, **233**: 1065-1068.
- Presnell, M.W. and Brown, B.W. (1977) Sanitary significance of *Klebsiella pneumoniae* and non-*Escherichia coli* Fecal coliform organisms in the water of Mobile Bay. In D.S. Wilt (Ed.) *Proceedings of the Tenth National Shellfish Sanitation Workshop*. U.S. Food and Drug Administration, Washington, D.C.
- Rao, V.C., Metcalf, T.G. and Melnick, J.L. (1986) Human viruses in sediments, sludges and soils. *Bulletin of the World Health Organization*, **64(1)**: 1-14.
- Rhame, F.S. (1979) The ecology and epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa*. In Sabbath, L.D. (Ed.): *Pseudomonas aeruginosa, diseases it causes, and their treatment*. Hans Huber Publishers, Berne.
- Robinton, E.D. and Mood, E.W. (1966) A quantitative and qualitative appraisal of microbial pollution by swimmers. *Journal of Hygiene, Cambridge*, **64**: 489-491.
- Romero, P. and Borrego, J.J. (1991) Survival of pathogenic microorganisms in seawater. MAP Technical Reports Series, No. 55, pp 1-85. United Nations Environment Programme, Athens.
- Saliba, L.J. (1993). Legal and economic implications in developing criteria and standards. Chapter 5 (pp 57-74) in Kay, D. and Hanbury, R. (Eds.): *Recreational Water Quality Management. Volume 2: Fresh Waters*. Ellis Horwood, Chichester, United Kingdom.
- Saliba, L.J. and Helmer, R. (1990). Health risks associated with pollution of coastal bathing waters. *World Health Statistics Quarterly*, **43**: 177-187.
- Samson-Kechacha, F.L. and Touahria, T. (1992). Populations phytoplanktoniques et successions écologiques dans une Lagune saumâtre le Lac El-Mellah (Algérie). *Rapports et Communications Internationaux sur la Mer Méditerranée*, **33**: 103.
- Sandstedt, K., and Ursing, J. (1986) *Campylobacter upsaliensis*, a new species, formerly the CNW group. *Abstracts of the XIV International Congress of Microbiology*, p. 61. IUMS, Manchester.
- Savage, H.P. and Hanes, N.B. (1971) Toxicity of seawater to coliform bacteria. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, **43**: 854-861.
- Schwartzbrod, L. (1991) *Virologie des milieux hydriques*. Tec. et Doc. Lavoisier edit., Paris.
- Schwartzbrod, L. and Deloince, R. (1995) *Human viruses that may be present in polluted water*. Table 2.2.1 in WHO/UNEP - Health risks from marine pollution in the Mediterranean. Part II - Review of hazards and health risks. Document EUR/ICP/EHAZ 94 01/MT01(2). WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.

- Sellwood, J., Dadswell, J. and Slade, J. (1981) Viruses in sewage as an indicator of their presence in the community. *Journal of Hygiene*, **86**: 217-225.
- Shumway, S.E. (1990) A review of the effects of algal blooms on shellfish and aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society*, **21(2)**: 65-104.
- Shumway, S.E. and Hurst, J.W.Jr (1991) Mussels and public health. In Gosling, E.M. (Ed.) *The Mussel (Mytilus)*. Elsevier Science Publishers, New York.
- Shuval, H.I. (1986) *Thalassogenic diseases*. UNEP Regional Seas Reports and Studies No. 79. United Nations Environment Programme, Geneva.
- Sinclair, J.L. and Alexander, M. (1984) Role of resistance to starvation in bacterial survival in sewage and lake water. *Applied and Environmental Microbiology*, **48**: 410-415.
- Skirrow, M.B. (1987) A demographic survey of *Campylobacter*, *Salmonella*, and *Shigella* infections in England. *Epidemiology and Infection*, **99**: 647-657.
- Starr, M.P. and Seidler, R.S. (1971) The bdellovibrios. *Annual Review of Microbiology*, **25**: 649-678.
- Steidinger, K.A. (1983). A re-evaluation of toxic dinoflagellate biology and ecology, *Progress in Phycological Research*, **2**; 148-188.
- Stelma, G.N, Johnson, C.H. and Spaulding, P. (1986) Evidence for the direct involvement of B hemolysin in *Aeromonas hydrophila* enteropathogenicity. *Current Microbiology*, **14**: 71-77.
- Stevenson, A.E., (1953). Studies of bathing water quality and health. *American Journal of Public Health*, **43**: 529.
- Stille, W., Kunkel, D. and Nerger, K. (1972) Austem-hepatitis. *Dt. Med. Zeitschr.* **97**: 145.
- Svedhem, A. and Kaijser, B. (1980) *Campylobacter foetus* spp. *jejuni*: a common cause of diarrhoea in Sweden. *Journal of Infectious Diseases*, **142**: 353-359.
- Torregrossa, M.V., Valentino, L. and Saliba, L.J. (1994). Coastal recreational water quality and human health. *Travel Medicine International*, **12(6)**: 225-229.
- Turnbull, P.C.B., Lee, J.V., Miliotis, M.D., Van Der Walle, S., Koornhoff, H.J., Jeffrey, L. and Bryant, T.N. (1984) Enterotoxin production in relation to taxonomic grouping and source of isolation of *Aeromonas* species. *Journal of Clinical Microbiology*, **19**: 175-180.
- Turner, P.C., Gammie, A.J., Hollinrake, K. and Codd, G.A. (1990). Pneumonia associated with contact with cyanobacteria. *British Medical Journal*, **300**: 1440-1441.
- UNEP (1975) *Report of the Intergovernmental Meeting on the Protection of the Mediterranean. Barcelona, 28 January - 4 February 1975*, Document UNEP/WG.2/5, United Nations Environment Programme, Geneva.

- UNEP (1978) *Mediterranean Action Plan and the Final Act of the Conference of Plenipotentiaries of the Coastal States of the Mediterranean Region for the Protection of the Mediterranean Sea.* United Nations, New York.
- UNEP (1979) *Report of the Intergovernmental Review Meeting of Mediterranean Coastal States and First Meeting of the Contracting Parties to the Convention for the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution and its related Protocols.* Geneva, 5-10 February 1979, Document UNEP/IG.14/9, United Nations Environment Programme, Geneva.
- UNEP (1980) *Conference of Plenipotentiaries of the Coastal States of the Mediterranean Region for the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution from Land-based Sources, May 1980. Final Act and Protocol.* United Nations, New York.
- UNEP (1981) *Report of the Second Meeting of the Contracting Parties to the Convention for the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution and its related Protocols.* Cannes, 2-7 March 1981, Document UNEP/IG.23/11, United Nations Environment Programme, Geneva.
- UNEP (1983) Long-term Programme of Pollution Monitoring and Research in the Mediterranean. UNEP Regional Seas Reports and Studies No. 28. United Nations Environment Programme, Geneva.
- UNEP (1985a) *Report of the Fourth Ordinary Meeting of the Contracting Parties to the Convention for the protection of the Mediterranean Sea against Pollution and its related protocols.* Genoa, 9-13 September 1985. Document UNEP/IG.56/5. United Nations Environment Programme, Athens.
- UNEP (1985b) *Report of the meeting of experts on the technical implementation of the Protocol for the protection of the Mediterranean Sea against Pollution from Land-based Sources, Athens, 9-13 December 1985.* Document UNEP/WG.125/10, United Nations Environment Programme, Athens.
- UNEP (1987) *Report of the Fifth Ordinary Meeting of the Contracting Parties to the Convention for the protection of the Mediterranean Sea against Pollution and its related protocols.* Athens, 8-11 September 1987. Document UNEP/IG.74/5. United Nations Environment Programme, Athens.
- UNEP (1989) *Evaluation of MED POL Phase II monitoring data: Part II - Microorganisms in coastal areas.* Document UNEP(OCA) MED WG.5/Inf.4. United Nations Environment Programme, Athens.
- UNEP (1991) *Report of the Seventh Ordinary Meeting of the Contracting Parties to the Convention for the protection of the Mediterranean Sea against Pollution and its related protocols.* Cairo, 8-11 October 1991. Document UNEP(OCA)/MED IG.2/4. United Nations Environment Programme, Athens.
- UNEP (1995a) *Report of the Meeting of Legal and Technical experts to examine amendments to the Protocol for the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution from Land-based Sources.* Document UNEP (OCA) MED WG. 92/4. United Nations Environment Programme, Athens.

- UNEP (1995b) *Report of the Ninth Ordinary Meeting of the Contracting Parties to the Convention for the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution and its Related Protocols, Barcelona, 5 - 8 June 1995.* Document UNEP (OCA) MED IG.5/16. United Nations Environment Programme, Athens.
- UNEP (1995c) *Final Act of the Conference of Plenipotentiaries on the Convention for the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution and its Protocols, Barcelona, 9 - 10 June 1995.* Document UNEP(OCA)/MED IG.6/7, United Nations Environment Programme, Athens.
- UNEP (1996a) *Report of the Second Meeting of Legal and Technical experts to examine amendments to the Protocol for the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution from Land-based Sources, Syracuse, 3-4 March 1996.* Document UNEP (OCA) MED WG. 107/4. United Nations Environment Programme, Athens.
- UNEP (1996b) *Final Act of the Conference of Plenipotentiaries on the Amendment of the Protocol for the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution from Land-based Sources, Syracuse, 6-7 March 1996.* Document UNEP(OCA)/MED IG.7/4, United Nations Environment Programme, Athens.
- UNEP/ECE/UNIDO/FAO/UNESCO/WHO/IAEA (1984) *Pollutants from land-based sources in the Mediterranean.* UNEP Regional Seas Reports and Studies No. 32. United Nations Environment Programme, Geneva.
- UNEP/WHO (1985) *Assessment of the present state of microbial pollution in the Mediterranean Sea and proposed control measures.* Document UNEP/WG.118/6. United Nations Environment Programme, Athens.
- UNEP/WHO (1987) *Assessment of the state of microbial pollution of shellfish waters in the Mediterranean Sea and proposed measures.* Document UNEP/WG.160/10. United Nations Environment Programme, Athens.
- UNEP/WHO (1991) *Assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by pathogenic microorganisms.* Document UNEP(OCA)/MED WG.25/Inf.7. United Nations Environment Programme, Athens.
- UNEP/FAO/WHO (1995) *Assessment of the state of Eutrophication in the Mediterranean Sea: First Draft.* Document UNEP(OCA)/MED WG.89/Inf.5. United Nations Environment Programme, Athens.
- UNEP/WHO/IAEA (1988) *Guidelines for monitoring the quality of coastal recreational and shellfish areas.* Reference Methods for Marine Pollution Studies, No. 1, Rev.1. United Nations Environment Programme, Nairobi.
- US ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (1986). *Ambient water quality criteria for bacteria - 1986.* Report No. EPA 440/5-84-002, Office of Water Regulations and Standards Division. Washington, D.C.
- Vasconcelos, G.I. and Swartz, R. G. (1976) Survival of bacteria in seawater using a diffusion chamber apparatus *in situ.* *Applied and Environmental Microbiology*, **31**: 913-920.

- Vasl, R., Fattal, B., Katzenelson, E. and Shuval, H.I. (1981). Survival of enteroviruses and bacterial indicator organisms in the sea. In: Goddard, M. and Butler, M. (Eds). *Viruses and Waste Water Treatment*, pp 113-116. Pergamon Press, Oxford.
- Vassiliadis, P., Mavromati Ch., Trichopoulos, D., Kalapothaki, V. and Papadakis, J.A. (1987) Comparison of procedures based on Rappaport-Vassiliadis medium with those using Muller-Kauffmann medium containing Teepol for the isolation of *Salmonella* species. *Epidemiological Information*, **99**: 143-147.
- Velescu, S. (1983) Indicateurs de pollution fécale dans les sédiments marins soumis aux influences anthropogènes. *Proceedings of the VIth ICSEM/UNEP Workshop on Pollution of the Mediterranean, Cannes, France, 2-4 December 1982.* pp 631-634, International Council for the Scientific Exploration of the Mediterranean (ICSEM), Monaco.
- Verstraete, W and Voets, J.P. (1976) Comparative study of *Escherichia coli* survival in two aquatic ecosystems. *Water Research*, **10**: 129-136.
- Viviani, R., Boni, L., Cattani, O., Milandri, A., Poletti, R., Pompei, M. and Sansoni, G. (1992). ASP, DSP, NSP, PSP monitoring in "mucilaginous aggregates" and in mussels in a coastal area of the Northern Adriatic Sea facing Emilia-Romagna in 1988, 1989 and 1991. *Proceedings of the Workshop on the Mucilage Phenomenon of the Adriatic Sea and Similar Problems.* Elsevier, Cesenatico, Italy.
- Vollenweider, R.A. (1968) *Scientific fundamentals of eutrophication of lakes and flowing waters, with particular reference to nitrogen and phosphorus as factors in eutrophication.* Technical Report DAS/CSI/68.27, OECD, Paris.
- Vollenweider, R.A. (1981) Eutrophication - a global problem. *WHO Water Quality Bulletin*, **6**:12-17.
- Volterra, L. (1989) Enteroviruses indicators in marine coastal environments. Unpublished report.
- Volterra, L. (1991) *Development of analytical techniques for monitoring the hygienic quality of shellfish.* MAP Technical Reports Series, No. 60, pp 22-30. United Nations Environment Programme, Athens.
- Volterra, L. and Aulicino, F.A. (1981) Indicators of faecal pollution in sediments. *Proceedings of the Vth ICSEM/UNEP Workshop on Pollution of the Mediterranean, Cagliari, Italy, 9-13 October 1980.* pp 307-312. International Council for the Scientific Exploration of the Mediterranean (ICSEM), Monaco.
- Watson, I.M., Robinson, J.O., Burke, V. and Gracey, M. (1985) invasiveness of *Aeromonas* spp. in relation to biotype, virulence factors and clinical features. *Journal of Clinical Microbiology*, **22**: 48-51.
- West, P.A. (1989) The human pathogenic vibrios - A public health update with environmental perspectives. Special article, *Epidemiology and Infection*, **103**: 1-34.

- Wheeler, D. (1990). The real risks of bathing in water contaminated by sewage. *Environmental Health*, **98(10)**: 285-287.
- WHO (1975) *Guides and criteria for recreational quality of beaches and coastal waters. Report on a working group, Bilthoven, 28 October - 1 November 1974.* Document IEURO 3125(1). WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- WHO (1982) *Examination of Water for Pollution Control: A Reference Handbook. Vol. 3. Biological, Bacteriological and Virological Examination.* Pergamon Press, Oxford.
- WHO (1984) *Aquatic (marine and freshwater) biotoxins.* Environmental Health Criteria No. 37. World Health Organization, Geneva.
- WHO (1989) *Microbiological quality control in coastal recreational and shellfish areas in the Mediterranean.* Document ICP/CEH 083/6. WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- WHO (1991) *Health impact of human exposure to fresh and saline recreational waters. Report on a WHO Working Group, Rimini, 27 February - 2 March 1990.* Document ICP/RUD 153. WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- WHO/UNEP (1977a). *Guidelines for health-related monitoring of coastal water quality. Report of a Group of Experts jointly convened by WHO and UNEP, Rovinj, 23-25 February 1977* Document ICP/RCE 206(4), WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- WHO/UNEP (1977b). *Health Criteria and Epidemiological studies relating to coastal water pollution: Report of a Group of Experts jointly convened by WHO and UNEP, Athens, 1-4 March 1977.* Document ICP/RCE 206(5), WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- WHO/UNEP (1978) *First report on coastal quality monitoring of recreational and shellfish area (MED VII). Report of a seminar jointly convened by WHO and UNEP, Rome, 4-7 April, 1978.* Document ICP/RCE 206(8), WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- WHO/UNEP (1980) *Third report on coastal quality monitoring of recreational and shellfish area (MED VII). Report of a meeting of principal investigators jointly convened by WHO and UNEP, Rome, 20-23 November, 1979.* Document ICP/RCE 206(10), WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- WHO/UNEP (1981) *Coastal water quality control in the Mediterranean. Final report on the Joint WHO/UNEP Coordinated Pilot Project (MED VII), (1976-1980).* Document ICP/RCE 206, WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- WHO/UNEP (1986) *Correlation between coastal water quality and health effects. Report n a joint WHO/UNEP Meeting, Follonica, 21-25 October 1985.* Document ICP/CEH 001/m06, WHO regional Office for Europe, Copenhagen, 1986.

- WHO/UNEP (1987) *Environmental quality criteria for shellfish and shellfish-growing waters in the Mediterranean region. Report on a joint WHO/UNEP Meeting, Athens, 26-27 March 1987.* Document EUR/ICP/CEH 051, WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- WHO/UNEP (1990) *Microbiological pollution of the Mediterranean Sea. Report on a Joint WHO/UNEP Meeting, Valletta, 13-16 December 1989.* Document EUR/ICP/CEH 083, WHO Regional Office for Europe, Copenhagen, 1990.
- WHO/UNEP (1992) *Health risks from bathing in marine waters. Report of a joint WHO/UNEP meeting, Athens, 15-18 May 1991.* Document EUR/ICP/CEH 103, WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- WHO/UNEP (1994a) *Guidelines for submarine outfall structures for Mediterranean small and medium-sized communities.* Document EUR/ICP/CEH 047, WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- WHO/UNEP (1994b) *Microbiological quality of coastal recreational waters. Report of a joint WHO/UNEP meeting, Athens, Greece, 9-12 June 1993.* Document EUR/ICP/CEH 039(1), WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- WHO/UNEP (1994c) *Guidelines for health-related monitoring of coastal recreational and shellfish areas. Parts I to V.* Document EUR/ICP/CEH 041(3). WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- WHO/UNEP (1995) *Health risks from marine pollution in the Mediterranean. Part II - Review of hazards and health risks.* Document EUR/ICP/EHAZ 94 01/MT01(2). WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- Yoshpe-Purer, Y. and Golderman, S. (1991) *Studies on the occurrence of Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa in coastal waters in Israel.* MAP Technical Reports Series, No. 60, pp 1-16. United Nations Environment Programme, Athens.
- Zaghloul, F.A. and Halim, Y (1992). Long-term eutrophication in a semi-enclosed bay: The Eastern harbour of Alexandria. In Vollenweider, R.A., Marchetti, R. and Viviani, R (Eds.): *Marine Coastal Eutrophication: Proceedings of the International Conference, Bologna, 21-24 March, 1990.* *Journal of Science of the Total Environment*, Supplement 1992, pp 705-717.
- Zampieri, A. (1989). Epidemiology of infections in tourists. In Pasini, W. (Ed.): *Tourist Health: A New Branch of Public Health, Vol. I.* pp. 33-43. WHO Collaborating Centre for Tourist Health and Tourist Medicine, Rimini, Italy.

**EVALUATION DE L'ETAT DE LA POLLUTION
MICROBIOLOGIQUE DE LA MER MEDITERRANEE**

TABLE DES MATIERES

	Page
1. INTRODUCTION ET RAPPEL DES FAITS	127
2. L'ORIGINE DE LA POLLUTION MICROBIOLOGIQUE DE LA MER MEDITERRANEE	133
2.1 Sources de pollution	133
2.2 Dispersion et devenir des microorganismes dans le milieu marin de la Méditerranée	135
3. LES MICROORGANISMES PATHOGENES DANS LE MILIEU MARIN DE LA MEDITERRANEE	145
3.1 Considérations générales	145
3.2 Bactéries	146
3.3 Virus	154
3.4 Autres microparasites	158
3.5 Champignons	159
3.6 Algues toxiques	160
4. CRITERES ET NORMES MICROBIOLOGIQUES S'APPLIQUANT AUX ZONES COTIERES DE LA MEDITERRANEE	164
4.1 Dispositions internationales s'appliquant aux zones côtières à usage récréatif	166
4.2 Dispositions nationales s'appliquant aux zones côtières à usage récréatif	173
4.3 Dispositions internationales s'appliquant aux zones conchyliques	177
4.4 Dispositions nationales s'appliquant aux zones conchyliques	179
5. L'ETAT DE LA POLLUTION MICROBIOLOGIQUE DES ZONES COTIERES SENSIBLES DE LA MEDITERRANEE	188
5.1 L'état des zones côtières à usage récréatif	188
5.2 L'état des zones conchyliques	201

	Page
6. RISQUES SANITAIRES IMPUTABLES AUX ZONES A USAGE RECREATIF ET AUX ZONES CONCHYLICOLES POLLUEES EN MEDITERRANEE	205
6.1 Risques sanitaires généraux	205
6.2 Maladies et troubles	207
6.3 Corrélation entre la qualité des eaux à usage récréatif et les effets sanitaires	208
6.4 Corrélation entre la qualité des coquillages et les effets sanitaires	214
6.5 Incidences sur la santé publique	217
7. CONCLUSIONS	220
7.1 Analyse de la situation actuelle en Méditerranée	220
7.2 Mesures recommandées	227
REFERENCES	233

SECTION 1

INTRODUCTION ET RAPPEL DES FAITS

1-1. Le processus ininterrompu de dégradation de l'état de la mer Méditerranée imputable à la poursuite de la pollution, notamment dans les zones côtières, a commencé à attirer l'attention et à susciter des préoccupations à la fin des années 1960. Parmi les grandes causes attribuées à ce processus figurait la quantité considérable de rejets le plus souvent incontrôlés se composant de déchets municipaux et industriels non traités ou insuffisamment traités. Bien que des premiers rapports, émanant principalement de croisières et expéditions océanographiques, aient alors alerté sur l'appauvrissement de la faune et de la flore marines et sur la destruction des habitats et écosystèmes naturels, il est devenu de plus en plus patent que la situation entraînait un risque tout aussi important, sinon plus, pour la santé publique en raison de la baignade dans des eaux marines polluées ou de la consommation de produits de la mer contaminés au plan microbiologique ou chimique.

1-2. Au début des années 1970, on avait déjà recueilli une masse énorme de données sur divers aspects de la pollution en Méditerranée. Les premières études sur les aspects de la pollution ayant un rapport direct ou indirect avec la santé publique consistaient, pour l'essentiel, à mesurer les concentrations de diverses bactéries (avant tout des indicateurs classiques de la pollution par les eaux usées) dans les zones de baignade et de conchyliculture du littoral, et d'un certain nombre de produits chimiques organiques et inorganiques dans divers produits de la mer. Certaines de ces études étaient réalisées dans le cadre de programmes internationaux, d'autres par des institutions ou des particuliers. Mais dans l'ensemble, ces études n'étaient guère coordonnées et étaient, au plan géographique, fort inégalement réparties dans la région. Cette situation a retenu l'attention des grandes organisations des Nations Unies qui ont très vite admis la nécessité d'un programme bien équilibré à l'échelle de la région qui permettrait de dresser une évaluation assez précise de l'état réel de la pollution de la mer Méditerranée, d'identifier et quantifier ainsi les menaces effectives et potentielles pesant sur la vie humaine et sur la vie marine et, grâce aux données recueillies, de fournir aux autorités nationales une base pour l'élaboration et la mise en oeuvre des mesures qui s'imposeraient à titre préventif et correctif.

Le cadre de l'évaluation et de la maîtrise de la pollution

1-3. A la fin 1974, un programme de ce type - ou "Programme coordonné conjoint de surveillance continue et de recherche en matière de pollution de la Méditerranée (MED POL)" - a été mis au point de concert par le Programme des Nations Unies pour l'environnement (PNUE), l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), l'Organisation mondiale de la santé (OMS), l'Organisation des Nations Unies pour l'éducation, la science et la culture (UNESCO), la Commission océanographique intergouvernementale (COI), l'Organisation météorologique mondiale (OMM) et l'Agence internationale de l'énergie atomique (AIEA). Lors de la première réunion intergouvernementale sur la protection de la Méditerranée (Barcelone, 28 janvier - 4 février 1975), ce programme a été officiellement approuvé par les gouvernements de la région dans le cadre d'une entreprise commune plus vaste - le Plan d'action pour la Méditerranée - qui comportait deux autres grands volets: un ensemble d'instruments juridiques régionaux liant les Etats méditerranéens en vue d'une action individuelle ou conjointe concernant divers aspects de prévention et de maîtrise de la pollution,

et un programme socio-économique destiné à associer le processus de développement à la sauvegarde de l'environnement (PNUE, 1975).

1-4. En février 1976, toujours à Barcelone, les Etats méditerranéens adoptaient et signaient la Convention pour la protection de la mer Méditerranée contre la pollution, ainsi que deux Protocoles consacrés respectivement à la pollution résultant des opérations d'immersion effectuées par les navires et aéronefs et à la coopération en cas de situation critique (PNUE, 1978). L'article 8 de la Convention stipule que les Parties prennent toutes mesures appropriées pour prévenir, réduire et combattre la pollution de la zone de la mer Méditerranée due aux déversements par les fleuves, les établissements côtiers ou les émissaires, ou émanant de toute autre source située sur leur territoire. Conformément aux termes de cet article, les préparatifs déjà en cours se sont poursuivis en vue de l'élaboration d'un nouveau protocole relatif à la pollution d'origine tellurique - tenue pour le problème le plus grave - dans le cadre duquel des mesures pourraient être prises afin de lutter contre la pollution microbiologique et chimique.

1-5. Le Protocole relatif à la protection de la mer Méditerranée contre la pollution d'origine tellurique a été adopté et signé à Athènes le 17 mai 1980. Aux termes de l'article 7.1 de ce Protocole (PNUE, 1980), les Parties contractantes se sont engagées à élaborer et à adopter progressivement, en coopération avec les organisations internationales compétentes, des lignes directrices et, le cas échéant, des normes ou critères communs concernant notamment plusieurs aspects comme la qualité des eaux de mer utilisées à des fins particulières, nécessaire pour la protection de la santé humaine, des ressources biologiques et des écosystèmes. Le Protocole est entré en vigueur le 17 juin 1983 et, ainsi qu'il avait été adopté à l'origine, contenait trois annexes, la première énumérant les substances polluantes qui devaient être progressivement éliminées, la deuxième énumérant les substances et les sources de pollution qui devaient être réduites et la troisième énumérant les facteurs à prendre en compte dans la délivrance des autorisations de rejet. Les microorganismes pathogènes constituaient l'une des rubriques de l'annexe II.

1-6. La Convention de 1976, le Protocole relatif aux opérations d'immersions de 1976 de même que le Protocole relatif aux aires spécialement protégées qui a été adopté et signé en 1982, ont été modifiés par la Neuvième réunion ordinaire des Parties contractantes, qui s'est tenue à Barcelone du 5 au 8 juin 1995 (PNUE, 1995b), et leur nouvelle version a été officiellement adoptée par une conférence spéciale de plénipotentiaires convoquée, également à Barcelone, les 9 et 10 juin 1995 (PNUE, 1995c). Pour répondre au souhait général d'une actualisation de la Convention et des Protocoles, deux réunions d'experts juridiques et techniques chargés d'examiner les amendements au Protocole relatif à la protection de la mer Méditerranée contre la pollution d'origine tellurique ont été organisées par le PNUE à Syracuse les 4-6 mai 1995 et les 3-4 mars 1996, respectivement, afin d'examiner les amendements proposés au Protocole d'Athènes de 1980 (PNUE, 1995a, 1996a). Un accord s'est dégagé à ce niveau sur un certain nombre de questions et notamment sur la fusion des annexes I et II en une seule annexe comportant en outre une liste des secteurs d'activité à terre entraînant une pollution marine. Les amendements au Protocole "tellurique" de 1980 ont été officiellement adoptés et signés lors d'une conférence de plénipotentiaires convoquée par le PNUE à Syracuse les 6 et 7 mars 1996, le nouvel intitulé du Protocole étant "Protocole relatif à la protection de la mer Méditerranée contre la pollution provenant de sources et activités situées à terre" (PNUE, 1996b). Il est prévu que les versions révisées de ces instruments juridiques entreront prochainement en vigueur.

1-7. Une réunion d'experts sur l'application technique du Protocole relatif à la protection de la mer Méditerranée contre la pollution d'origine tellurique a été organisée à Athènes par le PNUE du 9 au 13 décembre 1985 (PNUE, 1985b). La réunion a approuvé un plan de travail, assorti d'un échéancier, pour l'application progressive du Protocole, qui comportait l'établissement par étapes d'évaluations de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les substances énumérées aux annexes I et II du Protocole, avec les mesures antipollution proposées sur la base de ces évaluations. Il a été convenu que les documents d'évaluation comprendraient notamment des chapitres sur:

- a) les sources, points d'entrée et quantités de polluants provenant des rejets industriels, municipaux et autres en mer Méditerranée;
- b) les niveaux de pollution;
- c) les effets de la pollution;
- d) les mesures juridiques, administratives et techniques en vigueur aux niveaux national et international.

Pollution microbiologique de la mer Méditerranée

1-8. En adoptant leur programme MED POL en 1975, les Etats méditerranéens reconnaissent la spécificité du problème de la pollution microbiologique dans le milieu marin de la région. Au sein de ce volet du Plan d'action (FAO/UNESCO/COI/OMS/OMM/ AIEA/PNUE), un projet particulier intitulé "Contrôle de la qualité des eaux côtières" (MED POL VII) comportait la surveillance régulière, par les institutions nationales méditerranéennes désignées, des eaux côtières à usage récréatif, des eaux conchylicoles et de la chair des mollusques/crustacés, les principaux paramètres retenus étant microbiologiques. Trente institutions de quatorze pays méditerranéens prirent part au projet pilote qui était coordonné par l'Organisation mondiale de la santé. Au cours de l'exécution du projet, des critères de qualité du milieu souhaitables pour les eaux à usage récréatif et les eaux conchylicoles ont été élaborés par les participants en vue de les proposer ensuite aux gouvernements méditerranéens pour adoption.

1-9. La réunion intergouvernementale des Etats côtiers méditerranéens et Première réunion des Parties contractantes à la Convention de 1976 (Genève, 5-10 février 1979) a recommandé que (PNUE, 1979):

"les travaux soient poursuivis sur l'élaboration de la justification scientifique de critères applicables à la qualité des eaux à usage récréatif, des zones conchylicoles et des eaux servant à l'aquaculture et aux produits de la mer. Sur la base de cette justification et compte tenu des dispositions nationales et des arrangements et accords internationaux existants, les critères seront formulés sur une base scientifique et soumis pour examen aux gouvernements et à la CEE".

1-10. La première phase - ou phase pilote - du programme MED POL s'est achevée en 1981. La Deuxième réunion des Parties contractantes à la Convention pour la protection de la mer Méditerranée contre la pollution et aux Protocoles y relatifs, tenue à Cannes du 2 au 7 mars 1981 (PNUE, 1981), a approuvé la deuxième phase du programme désormais appelé "Programme à long terme de surveillance continue et de recherche en matière de pollution de

la mer Méditerranée (MED POL - Phase II)". Destiné initialement à couvrir la période 1981-1990, le programme a été ensuite prorogé jusqu'à la fin 1995. Le volet "surveillance continue" du programme (PNUE, 1983) comportait la surveillance microbiologique de zones à usage récréatif et de zones conchylicoles dans le cadre de programmes nationaux de surveillance de la pollution marine à actualiser ou à mettre en place. Le volet "recherche" comportait trois activités entièrement ou partiellement consacrées à la pollution marine. La première de ces activités, intitulée "Mise au point et essai de techniques d'échantillonnage et d'analyse pour la surveillance de la pollution marine", a permis de revaloriser les méthodes microbiologiques alors en usage et d'établir des méthodes normalisées pour la détermination de paramètres microbiologiques (agents pathogènes notamment) pour lesquels on ne disposait pas à l'époque de méthodes appropriées aux conditions méditerranéennes. Un nombre considérable de ces méthodes ont été, de fait, mises au point au cours de MED POL - Phase II. La deuxième activité, intitulée "Cycles biogéochimiques des polluants", comportait un projet sectoriel sur la survie des agents pathogènes avec plusieurs études réalisées lors de la même période. La troisième activité était intitulée "Etudes épidémiologiques portant sur la confirmation ou la révision éventuelle des critères de qualité du milieu proposés (normes d'usage) pour les eaux de baignade, les eaux conchylicoles et les organismes marins comestibles". Un certain nombre d'études réalisées dans le cadre de cette activité visaient à établir une corrélation entre la qualité microbiologique des eaux côtières à usage récréatif et les effets sanitaires relevés parmi des groupes de population exposés. La première étude a été amorcée en 1982 et achevée en 1986, et elle a été suivie par d'autres tout au long du programme. Cependant, faute des crédits nécessaires, toutes ces études sont restées d'une portée réduite.

Evaluations précédentes de la pollution microbiologique de la mer Méditerranée

1-11. Etant donné que des critères microbiologiques provisoires pour les eaux à usage récréatif et les eaux conchylicoles avaient déjà été mis au point lors de la première phase du programme MED POL, ils ont été proposés aux gouvernements de la région dans le cadre d'une évaluation de l'état de la pollution microbienne de la mer Méditerranée (PNUE/OMS, 1985) qui a été établie par l'OMS avant tout sur la base des données de la surveillance tirées du projet pilote MED POL VII. La Quatrième réunion ordinaire des Parties contractantes à la Convention et aux Protocoles, tenue à Gênes du 9 au 13 septembre 1985 (PNUE, 1985a), a décidé de reporter à plus tard la question des eaux conchylicoles et des mollusques/crustacés. S'agissant des recommandations concernant les eaux à usage récréatif, elles n'ont été approuvées qu'en partie, les Parties contractantes ayant adopté des critères communs provisoires pour les eaux de baignade sur la base de concentrations maximales admissibles d'un seul organisme indicateur (coliformes fécaux) au lieu des deux organismes qui étaient proposés (coliformes fécaux et streptocoques fécaux). Les détails des propositions et les critères provisoires adoptés pour les eaux à usage récréatif figurent à la section 4 du présent document.

1-12. A leur Cinquième réunion ordinaire, tenue à Athènes du 8 au 11 septembre 1987 (PNUE, 1987), les Parties contractantes ont adopté des critères de qualité du milieu pour les eaux conchylicoles, proposés sur la base d'une évaluation révisée (PNUE/OMS, 1987) établie par l'OMS sur recommandation d'une réunion d'experts convoquée par cette Organisation à une date antérieure de la même année (OMS/PNUE, 1987) et qui avait pour tâche de préparer des propositions pour remplacer celles soumises en 1985. Les critères recommandés, et finalement adoptés, se limitaient aux eaux conchylicoles et ils étaient identiques à ceux de la directive CE correspondante (CE, 1979). Dans ces conditions, on a considéré que le champ d'application

de la résolution en question, dont les dispositions en vigueur sont données à la section 4 du présent document, ne visait que l'acceptabilité des mollusques/crustacés pour la consommation humaine, cet aspect devant continuer à être régi, dans les divers pays, par la législation pertinente ou connexe en matière de santé publique (WHO, 1989).

1-13. La première évaluation spécifique de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les microorganismes pathogènes a été établie par l'OMS en 1991 (PNUE/OMS, 1991) et elle a été soumise à la Septième réunion ordinaire des Parties contractantes à la Convention de Barcelone et aux Protocoles y relatifs (PNUE, 1991). Hormis un bref examen de la situation concernant les tendances temporelles des concentrations d'organismes indicateurs bactériens dans les eaux côtières (principalement à usage récréatif) sur la base d'un examen intérimaire des données de la surveillance MED POL - Phase II (PNUE, 1989) et de données d'Etats méditerranéens figurant dans les rapports annuels de la CEE sur les eaux de baignade, le document s'attachait avant tout aux microorganismes pathogènes relevés en Méditerranée, à leurs sources, leur dispersion et leur devenir, et aux études microbiologiques/épidémiologiques menées jusqu'alors sur la corrélation entre la qualité des eaux côtières et les effets sanitaires parmi des groupes de population exposés. Un certain nombre de recommandations sur l'acquisition de données dans le cadre de la surveillance continue et de la recherche étaient aussi formulées. Mais il n'était cependant pas recommandé que, à un stade ultérieur, des mesures soient prises officiellement pour modifier le critère microbiologique d'acceptabilité des eaux de baignade en vigueur, même à titre encore provisoire, du fait que, dans l'ensemble, la validité de plusieurs indicateurs bactériens était encore loin de faire l'unanimité.

Portée du présent document

1-14. En approuvant et adoptant le plan de travail et l'échéancier de l'application progressive du Protocole relatif à la protection de la mer Méditerranée contre la pollution d'origine tellurique, les Parties contractantes convenaient que tous les points concrets demandaient à être convenablement mis à jour. Vu l'importance relative de la pollution microbiologique des zones côtières et le fait a) que les critères provisoires pour les eaux de baignade et les critères de qualité du milieu pour les eaux conchylicoles dataient désormais de dix et huit ans respectivement, b) qu'une masse considérable de données MED POL ou connexes, concernant avant tout les eaux à usage récréatif, étaient disponibles pour être évaluées et interprétées, c) que des progrès venaient d'être accomplis dans le domaine des études épidémiologiques en permettant d'établir une corrélation entre la qualité des eaux à usage récréatif et les effets sur la santé et d) qu'enfin un certain nombre de normes de qualité des eaux de baignade, y compris des normes internationales, étaient en cours de révision, on a estimé qu'il s'imposait de procéder à un réexamen approfondi de la situation en vue d'améliorer les mesures de prévention et de lutte antipollution.

1-15. Les modifications récemment apportées à la Convention de Barcelone de 1976 sur la protection de la mer Méditerranée contre la pollution (PNUE, 1995b, 1995c) et au Protocole d'Athènes de 1980 relatif à la protection de la mer Méditerranée contre la pollution d'origine tellurique (PNUE, 1996b), ne sauraient en aucun cas réduire l'importance accordée à la prévention et à la maîtrise de la pollution microbiologique de la mer Méditerranée. D'une manière générale, l'article 8 de la version révisée de la Convention accentue encore l'importance dévolue à la pollution d'origine tellurique, alors que, dans la nouvelle version du Protocole, l'article 7.1 demeure inchangé et que les microorganismes pathogènes gardent leur place dans la nouvelle annexe I. De même, les révisions n'affectent pas les procédures générales de

préparation, élaboration et adoption de toutes les mesures individuelles ou conjointes prises à cet effet.

1-16. Le présent document a été établi par un consultant (M. Louis Saliba, Malte) pour l'Organisation mondiale de la santé et le Programme des Nations Unies pour l'environnement, et il a été revu par une réunion consultative OMS/PNUE sur la surveillance microbiologique des eaux à usage récréatif et des eaux conchylicoles qui s'est tenue à Athènes, Grèce, du 29 novembre au 2 décembre 1995, dans le cadre du programme MED POL - Phase II. La présente version du document intègre ou prend en compte, selon le cas, les observations de cette réunion d'experts. Elle suit, pour son contenu et sa présentation, les grandes lignes convenues pour les évaluations MED POL et s'efforce de récapituler et d'actualiser toutes les informations antérieures sur l'état de la pollution microbiologique de la mer Méditerranée en s'attachant notamment aux zones côtières à usage récréatif et aux zones conchylicoles grâce à l'inclusion des données de la surveillance et de la recherche tirées des programmes nationaux de surveillance MED POL, des projets de recherche MED POL, des rapports annuels de la CEE sur les eaux de baignade et d'autres sources nationales et internationales. Chaque fois qu'on l'a jugé opportun, des données pertinentes de documents antérieurs ont été reprises sous leur forme originelle ou sous une forme abrégée afin que le document constitue à lui seul une bonne synthèse sur le sujet et fournisse une meilleure vue des tendances temporelles. On y a également inséré une vue d'ensemble de la situation actuelle, avec des recommandations de mesures éventuelles.

SECTION 2

L'ORIGINE DE LA POLLUTION MICROBIOLOGIQUE DE LA MER MEDITERRANEE

2.1 SOURCES DE POLLUTION

2-1. Les microorganismes pathogènes et autres pénètrent dans le milieu marin avant tout par les rejets d'eaux usées municipales. Comme il en va pour d'autres régions, la pollution microbiologique de la mer Méditerranée résulte en premier lieu et directement du rejet d'eaux usées brutes ou partiellement traitées dans la zone côtière immédiate. A cet égard, selon les résultats d'un projet pilote sur les polluants d'origine tellurique en Méditerranée réalisé en 1976-77 dans le cadre du programme MED POL - Phase I, on a estimé que, jusqu'à la fin des années 1970 du moins, plus de 80% des déchets municipaux liquides étaient habituellement rejetés dans la mer à l'état brut (PNUE/CEE(ONU)/ONUDI/FAO/UNESCO/OMS/AIEA, 1983). Le même projet a permis d'obtenir une estimation d'environ 2×10^9 m³/an pour le volume total de rejets d'eaux usées par les collectivités littorales de la région. Ce chiffre a été tenu pour négligeable par rapport à la quantité estimative de 420×10^9 m³/an d'eau douce rejetée par les cours d'eau. Cependant, bien que les cours d'eau puissent ajouter une quantité considérable de pollution microbiologique, principalement par les rejets d'eaux usées en amont, leur contribution respective réelle à la pollution de la mer Méditerranée par les microorganismes (pathogènes et autres) n'a pas été évaluée, et l'on a admis que les fortes concentrations de microorganismes dans les rejets d'eaux usées opérés directement dans les eaux côtières faisaient de ces rejets la source majeure de pollution microbiologique atteignant la mer Méditerranée (PNUE/OMS, 1985).

2-2. Lors de la Quatrième réunion ordinaire des Parties contractantes à la Convention de Barcelone et aux Protocoles y relatifs tenue à Gênes en septembre 1985, les Etats méditerranéens ont adopté une déclaration officielle (connue ensuite comme "Déclaration de Gênes") par laquelle ils se sont engagés à réaliser un certain nombre d'objectifs environnementaux au cours de la deuxième décennie (1986-1995) du Plan d'action pour la Méditerranée. Ces objectifs comprenaient la mise en place, en priorité, de stations d'épuration d'eaux usées dans toutes les villes du pourtour de la Méditerranée de plus de 100.000 habitants, et des émissaires et/ou stations d'épuration appropriés pour toutes les villes de plus de 10.000 habitants (PNUE, 1985a).

2-3. Cet objectif n'a été atteint qu'en partie, mais la situation s'est considérablement améliorée dans l'ensemble. Une enquête actualisée sur les polluants d'origine tellurique en Méditerranée a été lancée en 1989. En raison des difficultés rencontrées pour obtenir les données voulues dans plusieurs pays, cette étude n'est pas encore achevée. Les résultats préliminaires (non publiés) dont on dispose montrent que, bien qu'il apparaisse que le volume total des rejets d'eaux usées ait généralement augmenté en raison des nouveaux projets de développement du littoral exécutés au cours des deux dernières décennies, une quantité importante d'eaux usées municipales, dans certaines zones du moins, est soumise désormais avant rejet à un traitement plus ou moins poussé. Les données tirées de l'enquête indiquent pour la France que, au moment de la soumission des questionnaires, 87% d'un volume total d'eaux usées municipales de 361×10^6 mètres cubes par an subissaient un traitement avant rejet. Pour la Slovénie, les chiffres sont de 82% d'un total de $6,13 \times 10^6$ m³ par an, pour l'Espagne de 69%

d'un total de $589,29 \times 10^6 \text{ m}^3$ par an, pour la Croatie de 14% d'un total de $71,44 \times 10^6 \text{ m}^3$ par an, et pour Chypre de 12% d'un total de $16,66 \times 10^6 \text{ m}^3$ par an. Le chiffre communiqué pour Chypre sera considérablement accru lorsqu'une nouvelle station d'épuration entrera en service. Pour les autres pays, on ne dispose pas de renseignements ou les renseignements disponibles indiquent qu'on a affaire à un degré très faible, voire nul, de traitement.

2-4. Ces données, s'ajoutant au fait qu'un bon nombre de nouveaux émissaires sous-marins ont été construits au cours de la dernière décennie en diverses parties de la Méditerranée, signifient qu'une certaine proportion d'eaux usées n'est plus rejetée dans la zone côtière immédiate - soit en pratique à l'interface terre/mer -, et qu'on obtient ainsi une meilleure dilution et une meilleure dispersion. Des lignes directrices concernant les émissaires sous-marins destinés aux petites et moyennes collectivités de la Méditerranée ont été rédigées et distribuées (OMS/PNU, 1994a). Cependant, des eaux usées non traitées ou insuffisamment traitées, et leur élimination à même le littoral, restent toujours le principal motif de préoccupation dans beaucoup de zones de la Méditerranée, et elles le resteront jusqu'à ce que les objectifs fixés par la Déclaration de Gênes de 1985 soient pleinement atteints.

2-5. L'atmosphère peut également servir de voie d'entrée aux microorganismes pathogènes et autres dans le milieu marin côtier. On a établi (Brisou, 1976) que le vent soufflant du continent vers la mer véhiculait des bactéries, des virus et des parasites, et que la pluie facilitait le dépôt de ces contaminants dans les cours d'eau et les océans. Une autre source possible qui affecte principalement les zones côtières à usage récréatif est constituée par les baigneurs eux-mêmes. Des eaux récréatives qui ne reçoivent aucun rejet d'effluent peuvent être contaminées par des entérovirus, et le sérotype trouvé dans l'eau peut être celui qui caractérise des affections survenant de manière concomitante chez l'homme (Shuval 1986). Par conséquent, les eaux de baignade contaminées par les baigneurs peuvent parfois servir de voie de transmission à certaines maladies virales. Cela est également vrai pour d'autres infections bactériennes et fongiques (Papadakis *et al.*, 1992) et on a signalé que les numérations de certaines bactéries ou certains virus au niveau cutané pouvaient augmenter après la baignade, même si l'eau n'est pas polluée (Papapetropoulou et Sotiracopoulou, 1995). On dispose actuellement de données de plus en plus probantes établissant une corrélation entre des effets nocifs sur la santé et la baignade sur des plages très fréquentées, et la contribution des baigneurs eux-mêmes à la pollution des eaux à usage récréatif par la transmission de microorganismes pathogènes est une question qui appelle un examen approfondi (WHO/UNEP, 1995).

2-6. En dehors des microorganismes pathogènes (bactéries, virus et champignons principalement) rejetés dans le milieu marin par les eaux usées municipales ou d'autres sources situées à terre, un autre groupe de microorganismes marins d'apparition naturelle que l'on peut considérer comme pathogènes en raison de leur faculté de produire diverses toxines et auxquels l'homme est exposé avant tout par la consommation de fruits de mer contaminés, peut poser un problème similaire de santé publique lorsqu'ils sont présents en nombre important. Ces microorganismes, avant tout des dinoflagellés, constituent un phénomène connu sous le nom de proliférations anormales d'algues ou "eaux rouges" quand leur concentration dans l'eau de mer atteint des niveaux de 10^4 à 10^6 cellules par litre. Si les conditions environnementales sous lesquelles ces microorganismes sont capables de se reproduire selon un mode asexué à un rythme élevé ne semblent pas encore pleinement élucidées, le fait que les "eaux rouges" soient un phénomène essentiellement côtier indique que des facteurs terrestres en sont responsables, du moins en partie. On a estimé que le drainage des terres joue un rôle dans son déclenchement (WHO, 1984). On a également considéré que l'ampleur des proliférations d'algues - dites encore efflorescences algales - était fonction de la quantité d'éléments nutritifs

apportée par les cours d'eau (WHO, 1991). Dans une synthèse sur cette question, Shumway (1990) avance que plusieurs facteurs favoriseraient les efflorescences algales, et notamment: l'enrichissement en éléments nutritifs (eutrophisation), une pression moindre du pâturage, des modifications hydrométéorologique de grande ampleur, la remontée d'eaux du fond (upwelling) riches en éléments nutritifs, des précipitations et un ruissellement marqués, et même la présence de proliférations antérieures d'autres espèces phytoplanctoniques.

2-7. L'eutrophisation peut être définie comme un processus d'enrichissement des eaux par des éléments nutritifs végétaux - azote et phosphore principalement - qui stimule la production primaire aquatique. En dehors des efflorescences algales (ou "eaux rouges"), ses manifestations les plus graves sont l'"écume algale", une multiplication des algues benthiques aboutissant parfois à un développement massif de macrophytes submergés et flottants (Vollenweider, 1968, 1981). Il arrive que ces manifestations s'accompagnent ou alternent avec des cycles de proliférations bactériennes visibles (Aubert, 1988) et de proliférations fongiques. L'eutrophisation, considérée comme un problème de qualité de l'eau, diffère des problèmes liés à la pollution en ce qu'il est difficile de distinguer le processus d'eutrophisation d'origine anthropique des processus et phénomènes d'origine naturelle. Bien qu'elles n'en soient pas la cause principale, les eaux usées et d'autres formes de pollution des eaux peuvent favoriser ou entraver directement ou indirectement l'eutrophisation (Vollenweider *et al.*, 1993). A cet égard, on a nettement établi (Shumway, 1990) l'existence d'une corrélation directe entre le nombre d'épisodes d'eaux rouges et l'étendue de la pollution côtière, due notamment aux eaux usées et à certaines formes de déchets industriels.

2-8. L'eutrophisation marine est avant tout un problème littoral qui affecte les lagunes, les ports, les estuaires et les zones côtières adjacentes aux embouchures des cours d'eau. On a très largement fait écho aux problèmes rencontrés en Adriatique Nord mais, en Méditerranée, il existe pratiquement dans chaque pays riverain des zones marines côtières et des lagunes qui sont sujettes à des épisodes d'eutrophisation (PNUE/FAO/OMS, 1995). Il ne semble pas qu'on ait pu établir une estimation valable de la charge totale d'éléments nutritifs atteignant l'ensemble de la mer Méditerranée, et il s'agit là d'une lacune difficile à combler en raison du manque d'informations complètes et fiables de la part de tous les pays riverains. Une estimation provisoire de 590.000 à 1.070.000 tonnes d'azote et de 104.000 à 120.000 tonnes de phosphore par an a été récemment communiquée (PNUE/FAO/OMS, 1995). Bien que, dans sa majeure partie, la mer Méditerranée ne soit pas encore sérieusement menacée par l'eutrophisation, il existe des problèmes localisés qui peuvent être graves par leurs incidences socio-économiques et sanitaires réelles ou potentielles sur le tourisme, l'aquaculture, les pêches et d'autres usages de l'eau et qui, à la lumière des projections de croissance démographique, s'aggraveront dans les années à venir si l'on ne prend pas les mesures correctives et préventives qui s'imposent (PNUE/FAO/OMS, 1995).

2.2 DISPERSION ET DEVENIR DES MICROORGANISMES DANS LE MILIEU MARIN DE LA MEDITERRANEE

Dispersion

2-9. L'eau de mer ne constitue pas le milieu naturel pour la plupart des microorganismes rejetés dans des effluents d'eaux usées, notamment pour ceux qui proviennent du tube digestif de l'homme ou d'autres animaux à sang chaud. La première évaluation de l'état de la pollution

microbienne de la mer Méditerranée (PNUE/OMS, 1985) exposait que les concentrations des trois grands groupes de bactéries indicatrices servant habituellement à déterminer l'état de la pollution de la mer par les eaux usées (coliformes totaux, coliformes fécaux et streptocoques fécaux) ne restaient pas stables dans les eaux réceptrices mais disparaissaient progressivement. Le document relevait également que la question de savoir si tous les microorganismes rejetés dans les effluents d'eaux usées étaient ou non en permanence inactivés au cours des heures suivant leur brassage avec l'eau de mer réceptrice faisait l'objet d'une importante controverse et de recherches incessantes. Au cours des cent dernières années, de nombreuses études ont été réalisées pour estimer le devenir des microorganismes pathogènes (virus, bactéries, champignons et protozoaires) et des organismes indicateurs bactériens dans les estuaires et l'eau de mer, et ce dans le cadre d'observations et d'expériences menées en laboratoire et *in situ* (WHO/UNEP, 1991).

2-10. Les microorganismes présents dans les eaux usées sont dispersés par la turbulence de la diffusion au point de leur rejet dans la mer. Au moment de ce rejet, ils sont rapidement adsorbés sur les particules de toute sorte qui flottent sur l'eau (plancton, particules minérales, débris organiques divers) et lorsqu'on pratique des dénombrements de routine, cette adsorption se traduit par une diminution manifeste du nombre des microorganismes par unité de volume d'eau de mer (Brisou, 1976). Ces adsorbants sont dilués, dispersés, floculés, sédimentés ou restitués à la côte. Les matières particulaires grossières contenues dans les eaux usées ont tendance à déposer rapidement dans l'eau de mer en fixant les microorganismes. Bien que ce processus de sédimentation joue un rôle important au voisinage des points de rejet de déchets (Mitchell et Chamberlin, 1975; Geldreich, 1978), il ne semble pas être un facteur essentiel de la disparition microbienne, compte tenu des fortes concentrations microbiennes décelées dans ces eaux. D'autre part, les fines particules subissent un processus de diffusion par lequel elles véhiculent avec elles une quantité importante de microorganismes (Gauthier, 1980; Mujeriego *et al.*, 1982; Borrego, 1982).

2-11. Les processus physico-chimiques de floculation des cellules microbiennes et de leur sédimentation ultérieure au fond de la mer ont également été considérés comme le mécanisme responsable de l'enrichissement microbien des sédiments dans les zones environnant les points de rejet d'eaux usées (Mitchell et Chamberlin, 1975). On peut logiquement admettre que la turbulence naturelle et les courants marins constituent un mécanisme par lequel les sédiments contaminés sont remis en suspension, avec une altération consécutive de la qualité microbiologique de l'eau de mer sus-jacente (Volterra et Aulicino, 1981; Velescu, 1983).

Adaptation et survie

2-12. La survie des entérobactéries dans le milieu marin a d'abord été considérée comme brève, ces bactéries étant censées être détruites assez rapidement par une conjonction de facteurs défavorables, physiques comme la température et le rayonnement solaire, chimiques comme la salinité, les métaux lourds et les agents xénobiotiques, et biologiques comme les macroprédateurs, les substances lytiques ou les antibiotiques produits par les bactéries, algues ou champignons marins. Les effets de chacun de ces facteurs seront succinctement examinés plus loin. Au cours des vingt dernières années, on en est venu progressivement à admettre que ces bactéries, au lieu d'être détruites, peuvent être soumises à de violentes agressions de certains facteurs liés aux conditions régnant dans le milieu marin (température faible, salinité élevée et insuffisance de nourriture). Il a été démontré que ces bactéries sont susceptibles

d'évoluer vers un état viable mais non cultivable qui pourrait être irréversible. Au cours de cette évolution vers l'inactivité, les cellules sont soumises à de très profondes modifications structurales et métaboliques qui les rendent progressivement inertes et qui sont essentiellement attribuées à la pénurie de nourriture. En effet, on relève une similitude frappante entre cette évolution et celles des bactéries marines autochtones dans les eaux oligotrophes (Gauthier, 1992b).

2-13. La faculté d'adaptation d'une cellule microbienne peut être compromise par son contact avec l'eau de mer qui constitue un milieu hostile, un tel contact aboutissant à un dommage physiologique qui peut être subléthal ou être si intense qu'il provoque la mort de la cellule. Le dommage ou stress physiologique exercé par le milieu marin sur le microorganisme allochtone peut être étudié en observant le degré de désorganisation structurale au sein du microorganisme ou son incapacité à assumer une fonction métabolique définie quand il est cultivé sur un milieu sélectif. Cependant, ces cellules stressées peuvent se développer sur des milieux de culture qui ne contiennent pas de substances inhibitrices (Romero et Borrego, 1991). L'importance de l'étude du dommage physiologique occasionné aux cellules pathogènes repose sur la non détection de ces cellules lors de la réalisation d'épreuves microbiologiques standard, lesquelles reposent à leur tour sur l'examen de milieux de culture sélectifs (Hoadley, 1981).

2-14. D'importantes variations des valeurs de T_{90} (soit le temps nécessaire à une réduction de 90% des dénombrements de bactéries) s'observent dans différentes zones marines. Ces différences sont imputables à la diversité des conditions ambiantes (WHO, 1991). La salinité, la lumière solaire, la température, les substances dissoutes et les prédateurs naturels figurent parmi les facteurs connus pour retentir sur la survie de ces microorganismes dans l'eau de mer. La teneur saline de l'eau de mer varie de 3,3 à 3,8%, tandis que l'habitat le plus favorable à des microorganismes allochtones nécessite un taux de salinité proche de 0,9%. Cette différence notable dans la teneur en sel laisse augurer de la capacité de l'eau de mer à inactiver ces microorganismes. Cette inactivation peut résulter du choc osmotique ou de la toxicité spécifique des ions (Carlucci et Pramer, 1960). Il est aussi généralement admis que l'accroissement du métabolisme cellulaire est fonction de la température. L'accélération de l'activité des microorganismes occasionnée par cet accroissement thermique peut neutraliser davantage les facteurs toxiques de l'eau (Aubert et Aubert, 1969; Vasconcelos et Swartz, 1976). Les effets de la température dépendent étroitement de l'organisme testé. Certains virus ou certaines bactéries (comme *Salmonella typhi* et plusieurs coliphages) sont plus sensibles que d'autres (les shigelles par ex.) à des températures élevées. Les espèces vibrioniques (*Vibrio cholerae*, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahaemolyticus*, etc.) sont très sensibles aux faibles températures; elles deviennent généralement indécélables dans les milieux marins à des températures inférieures à 15-18° C (WHO, 1991).

2-15. En raison de leur toxicité spécifique pour de nombreux organismes, certains ions métalliques peuvent exercer un effet négatif sur la flore des eaux usées, même à des concentrations très faibles (Jones, 1971; Jones et Cobet, 1975). Du fait de leur capacité à inactiver des systèmes enzymatiques, il apparaît que ces ions, ou complexes de métaux lourds, font partie du processus d'épuration de la mer. Un autre facteur qui intervient est la quantité d'éléments nutritifs disponibles. L'eau de mer est un substrat oligotrophe offrant une faible teneur d'éléments nutritifs, la matière organique étant un facteur limitant de la prolifération des microorganismes polluants (Savage et Haines, 1971; Sinclair et Alexander, 1984). Par contre, la présence dans l'eau de substances organiques provenant des eaux usées stimule la prolifération bactérienne, jouant ainsi un rôle de compensation partielle des effets bactéricides d'autres facteurs. Cette explication n'est naturellement pas valable pour des parasites stricts comme les virus.

2-16. Plus concrètement, on a constaté que le rayonnement solaire constituait le facteur le plus important responsable de l'inactivation microbienne et que cet effet inactivant de la lumière était proportionnel à l'intensité du rayonnement et au délai d'exposition (Gameson et Gould, 1975), ses effets étant déterminés par la transparence et la concentration de la matière organique dissoute dans l'eau (Fujioka *et al.*, 1981). L'effet létal de la lumière croît avec son intensité; les valeurs de T_{90} pour les bactéries sont généralement de 90 à 100 fois plus faibles à la lumière qu'à l'obscurité (WHO, 1991). Il a été signalé que les dommages sublétaux induits par le rayonnement solaire dans le système enzymatique catalasique d'*Escherichia coli* rendaient les cellules sensibles à des concentrations de peroxyde qui sont normalement inoffensives (Kapuschinski et Mitchell, 1981). Dans les expériences effectuées par ces auteurs, bien que les techniques de culture courantes n'aient pas permis de restaurer toutes les cellules microbiennes atteintes, l'adjonction de neutralisants du peroxyde, et notamment de l'enzyme catalase elle-même, a permis de restaurer une fraction considérable des cellules d'*E. coli* lésées. De plus, la lumière agit en synergie avec la salinité et, dans une certaine mesure, avec la température. Une action létale maximale s'observe donc dans une eau présentant un fort rayonnement solaire, une salinité élevée et une température élevée (WHO, 1991).

2-17. Or, ces facteurs physico-chimiques, en raison de leur importante influence écologique, peuvent avoir un effet direct ou indirect sur les agents pathogènes microbiens en favorisant leur prolifération. De plus, une activité antagoniste ou protectrice d'autres organismes marins (bactéries, végétaux ou animaux) est possible. L'extrapolation aux milieux naturels des résultats de laboratoire est assez hasardeuse; les divergences relevées entre les études *in situ* et *in vitro* sont dues à l'extrême complexité des conditions naturelles.

2-18. De plus, les expérimentations *in situ* et les études de laboratoire ont fait ressortir l'action antagoniste des organismes marins sur les agents pathogènes. Les eaux usées contiennent des bactériophages (virus bactériens) de divers microorganismes qui sont également décelés dans l'eau de mer où sont rejetés des déchets. Les phages sont des parasites stricts et ils tuent habituellement les cellules bactériennes en produisant des plaques de lyse quand les conditions optimales nécessaires à la croissance de ces bactéries sont réunies. Cela étant, il est difficile de préciser le degré d'influence que ces phages exercent sur le processus d'épuration de l'eau de mer (Borrego, 1982). Un autre prédateur de bactéries, *Bdellovibrio bacteriovorus*, est largement répandu dans le sol, l'eau douce, l'eau de mer et les eaux usées. Cependant, il est difficile de déterminer son véritable rôle écologique (Starr et Seidler, 1971). Les myxobactéries ont la faculté d'hydrolyser des molécules insolubles ou de lyser des cellules bactériennes et de s'en servir comme substrat. L'action épuratrice de ces bactéries, qui agissent avant tout sur les cellules bactériennes mortes, est bien établie (Verstraeae et Voets, 1976). Les protozoaires jouent un rôle efficace, directement ou indirectement, dans le processus d'épuration en éliminant la matière organique, et il en va de même pour les bactéries dans l'environnement (Mitchell, 1971; McCambridge et McMeekin, 1980, 1981; Mallory *et al.*, 1983). Les bactéries marines d'apparition naturelle sont généralement mieux adaptées que les microorganismes autochtones aux concentrations d'éléments nutritifs relevées dans leur environnement (Sinclair et Alexander, 1984). Ainsi, il peut se produire un phénomène de compétition nutritive dans les zones où la présence de flore autochtone est importante.

2-19. Plusieurs auteurs ont souligné l'importance qu'ont dans le milieu marin les substances antibiotiques en raison de leur rôle d'inactivation des microorganismes contaminant ce milieu (Aubert et Aubert, 1969; Paoletti, 1970). Différents microorganismes, tels que les espèces

Actinomyces, *Streptomyces*, *Bacillus* et d'autres algues présentent la faculté de synthétiser des substances antibiotiques. Un effet négatif de ces substances sur la flore des eaux usées a été observé dans des expériences de laboratoire, mais son rôle *in situ* n'est guère important car la production d'antibiotiques est fonction de la prolifération des microorganismes dans des milieux très riches, conditions qui sont difficilement réunies dans la mer (Mitchell, 1971).

2-20. Les mécanismes responsables de l'évolution et de la disparition des agents pathogènes microbiens allochtones paraissent également être différents dans d'autres composantes du milieu marin comme les sédiments ou les appareils digestifs animaux. Toutes les expériences réalisées dans les sédiments marins ont permis de conclure que les bactéries terrestres peuvent y survivre plus longtemps (des semaines, voire des mois) que dans la colonne d'eau. Cet important accroissement de la capacité de survie a été d'abord attribué à l'absence de lumière et à la présence d'éléments nutritifs organiques, bien que les sédiments contiennent de nombreux micro et macroprédateurs ainsi que des microorganismes produisant des antibiotiques. Des constatations récentes ont conduit à souligner le fait que les sédiments marins contiennent des osmolytes qui permettent aux entérobactéries de réguler leur pression de turgescence et de restaurer un métabolisme normal dans les conditions marines (WHO, 1991).

2-21. Cette activité régulatrice peut être considérée comme un processus d'adaptation qui aiderait les agents pathogènes de l'homme à survivre dans le milieu marin. On a décelé des osmolytes organiques dans les sédiments marins, et parfois à des concentrations assez élevées. De plus, les entérobactéries sont capables de fixer et d'utiliser ces osmolytes dans les conditions marines. Par conséquent, les sédiments marins pourraient favoriser le maintien (et probablement la prolifération) à l'état virulent des agents bactériens entéropathogènes et servir ainsi de réservoir à ces contaminants allochtones. Par ailleurs, certaines eaux eutrophisées pourraient agir de la même façon, la capacité globale de survie des agents pathogènes dépendant alors, du moins en partie, de l'équilibre entre l'action antagoniste (antibiotiques) et l'action protectrice (osmolytes) de la population algale. Plus concrètement, on estime que certains sédiments et certaines eaux marines eutrophes pourraient constituer des "zones à haut risque" car ils agiraient comme des réservoirs de cellules entéropathogènes résistantes et "adaptées" gardant toute leur virulence. On admet que, dans ces zones, la "survie" résulterait de l'équilibre entre l'activité antagoniste de plusieurs facteurs inhibiteurs (comme la lumière, les toxines et les antibiotiques) et l'effet protecteur de la matière organique (nutrition et osmorégulation) qui dépendraient largement de la composition des populations d'algues et d'invertébrés (WHO, 1991). L'influence protectrice des sédiments marins devrait donc être soulignée puisqu'ils arrêtent le rayonnement solaire, qu'ils contiennent des éléments nutritifs organiques favorisant la prolifération bactérienne et qu'ils contiennent aussi de nombreuses amines quaternaires qui pourraient être transportées par des systèmes spécifiques et accroître l'osmoprotection (Gauthier *et al.*, 1991). De fait, on a démontré qu'*Escherichia coli* et les salmonelles avaient une survie plus longue dans les sédiments du fond (Geldreich, 1985).

2-22. Le comportement des agents pathogènes dans les appareils et tissus intestinaux des animaux aquatiques est moins bien connu. Une fois qu'ils sont fixés chez le poisson et les mollusques, ces agents pourraient avoir un comportement différent de celui qu'ils ont dans l'eau. Cependant, des données complémentaires sont nécessaires pour confirmer ces différences et élucider les processus responsables d'une adaptation spéciale *in vivo* des bactéries terrestres (WHO, 1991).

2-23. En dehors de ces considérations "classiques", il convient de tenir compte des études métaboliques et moléculaires des réactions des bactéries à l'inanition et à d'autres agressions environnementales. La composante ultraviolette (longueurs d'onde de 300-400 nm) de la lumière solaire intense est fortement létale pour les cellules bactériennes à l'état végétatif et elle agit en endommageant (dimérisation de la thymine) l'acide désoxyribonucléique (ADN). Si ces dommages ne sont pas réparables, la cellule est incapable de procéder à la réplication. Si des bactéries Gram négatives sont stockées en suspension dans l'eau, elle perdent progressivement leur capacité d'être cultivées. L'un des premiers stades d'inanition consiste en une réorganisation interne aboutissant à une dégradation rapide des protéines cellulaires, suivie d'une synthèse de nouvelles protéines médiatée par des gènes induits par la privation de carbone et par d'autres gènes conférant une résistance aux agressions. Des mutations se produisent à un rythme accéléré pour tenter de conférer un avantage sélectif. Si la concentration bactérienne est élevée, les produits métaboliques peuvent alors être suffisants pour maintenir une petite population cultivable. En recourant à des études normalisées sur la survie, Colwell et coll., de l'université du Maryland, ont suggéré que les agents pathogènes bactériens pourraient évoluer vers un état viable (autrement dit réagissant au plan métabolique) mais non cultivable dans l'eau de mer au cours duquel ils pourraient garder leur pouvoir infectieux et leur virulence (Colwell *et al.*, 1985). Cette observation résulte d'expérimentations dans lesquelles d'importantes quantités de cellules non cultivables mais viables ont été injectées dans un iléum de lapin ligaturé, entraînant une réaction entérotogène et une production de cellules isolables. D'autres essais visant à démontrer le maintien d'une virulence dans des agents pathogènes Gram négatifs non cultivables ont été moins probants. Il est vraisemblable que l'état non cultivable est une phase transitoire du déclin bactérien dans l'environnement. Cette remarque ne s'applique pas aux virus, lesquels ne peuvent se multiplier que chez leurs hôtes.

2-24. A part cela, toute modification des conditions de l'environnement pourrait notablement modifier la survie et l'évolution des pathogènes microbiens dans la mer. La prolifération d'algues mucilagineuses en mer Adriatique en 1988 et 1989 a laissé supposer que, dans ces conditions nouvelles, des pathogènes opportunistes pourraient résister ou se multiplier de manière exceptionnelle. Des études récentes sur la présence et l'évolution des indicateurs ou pathogènes bactériens au cours des "épisodes de mucilages" ont montré que les eaux colorées observées le long du littoral Adriatique s'accompagnaient d'une réduction généralisée des titres entéromicrobiens de ces eaux au cours des épisodes en question. Cependant, des échantillons contenant des mucilages se sont avérés extrêmement riches en organismes halophiles marins comme les espèces *Vibrio*, *Aeromonas* et *Pseudomonas*, ce qui indique que des pathogènes autochtones opportunistes peuvent être présents dans l'eau de mer et proliférer à l'excès dans de telles conditions (WHO, 1991).

Survie comparative

2-25. Les résultats d'études sur le terrain menées lors du Projet pilote MED VII de contrôle de la qualité de l'eau dans le cadre de MED POL - Phase I et lors d'autres projets ont mis en lumière les modalités de survie différentes de trois organismes indicateurs bactériens servant à l'évaluation de la qualité microbiologique de l'eau de mer. Si les coliformes totaux et les coliformes fécaux paraissent être assez rapidement et progressivement inactivés dans l'eau de mer dans les conditions naturelles, les streptocoques fécaux présentent un rythme d'inactivation plus faible ainsi qu'un taux de réduction plus réduit à long terme (WHO/UNEP, 1981).

2-26. Volterra et Aulicino (1981) ainsi que Velescu (1983) ont également constaté que, comme c'est le cas dans l'eau en circulation, les streptocoques fécaux sont capables, dans les sédiments, de survivre plus longtemps que les coliformes fécaux, au point que les premiers l'emportent parfois en nombre sur les seconds. Cependant, le fond de la mer n'étant pas le milieu naturel pour la plupart des microorganismes rejetés dans les effluents d'eaux usées, on peut s'attendre à ce que, après l'arrêt du rejet ou l'amélioration de sa qualité, avec un appauvrissement consécutif en substrats organiques, la survie de ces microorganismes soit fortement compromise.

2-27. Des travaux considérables sur la survie comparative des bactéries pathogènes et indicatrices dans les conditions méditerranéennes ont été réalisés dans le cadre du volet "recherche" de MED POL - Phase I. Les effets de la matière organique, de la température et de l'intensité de la lumière sur la survie de trois souches de salmonelles (*Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium* et *Salmonella flexner*), de *Shigella sonnei* et d'*Escherichia coli* ont été étudiés (Fuks, 1991) à la fois dans le milieu marin et en laboratoire avec de l'eau de mer naturelle. La survie de toutes les souches de salmonelles et de shigelles testées ainsi que des coliformes fécaux était plus longue que celle d'*Escherichia coli*. Les résultats indiquent également que la température de la mer peut fortement conditionner l'ampleur des taux de décomposition de tous les organismes étudiés. Cependant, des expériences *in situ* ont révélé qu'une quantité importante de matière organique peut contrecarrer les effets bactéricides de la température de la mer et de la lumière. On en a aussi conclu que, bien que le taux de disparition d'*Escherichia coli* ne diffère pas notablement de celui de *Salmonella typhimurium* dans certaines expériences, leurs tolérances différentes à la lumière et à la température devraient être prises en compte, notamment lorsqu'on a recours à *Escherichia coli* comme indicateur de la présence de *Salmonella typhimurium* dans l'eau de mer.

2-28. Une étude similaire a été réalisée pour déterminer les effets comparatifs de la température, de la salinité et de la lumière sur le taux de disparition de *Salmonella typhi*, *Salmonella wien*, *Shigella flexneri* et *Escherichia coli* (El-Sharkawi et al., 1991) qui étaient étudiés dans de l'eau de mer naturelle, dans de l'eau stérilisée, dans de l'eau du robinet et dans une solution physiologique. On n'a pas relevé de gros écarts entre les délais de survie des organismes étudiés à 25-35°C, et tous ont disparu plus rapidement à 40°C. La salinité de l'eau de mer ne paraît pas retentir sur le délai de survie des deux espèces de salmonelle et de *Shigella flexneri*, mais *Escherichia coli* a survécu plus longtemps dans de l'eau douce que dans de l'eau de mer à des températures comprises entre 30 et 35°C. La lumière solaire a eu un effet létal sur tous les organismes étudiés. Les salmonelles et les shigelles ne pouvaient être isolées que du panache d'eaux usées et ne pouvaient être décelés à plus de 100 mètres du panache durant le jour. Pendant la nuit, les salmonelles ne pouvaient être isolées que dans un rayon de 400 mètres, et les shigelles que dans un rayon de 200 mètres autour du panache.

2-29. Une étude détaillée sur la survie comparative de diverses souches de *Salmonella paratyphi*, *Salmonella thompson*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus faecium*, *Candida albicans* et *Escherichia coli* utilisant des souches isolées de l'eau de mer et des souches de référence a été réalisée à Malaga, Espagne (Romero et Borrego, 1991) et comportait des épreuves *in situ* et des épreuves en laboratoire. Dans l'une des séries d'épreuves, les résultats, obtenus sous la forme d'un graphique de la cinétique d'inactivation, ont indiqué qu'*Escherichia coli* présentait le taux de survie le plus long, suivi par ordre décroissant des espèces *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, des streptocoques fécaux, des staphylocoques dorés et de *Candida albicans*. Dans d'autres épreuves, les valeurs de T₉₀ observées pour *Candida albicans* et le staphylocoque doré

étaient supérieures à celles des indicateurs, ce qui donnait à penser que ces agents pathogènes pourraient présenter un risque potentiel pour la santé publique dans les eaux où les concentrations d'organismes indicateurs se situent dans des valeurs admissibles normales. Un processus de lésions cellulaires progressives a été observé chez tous les organismes étudiés. Ce processus s'aggravait en fonction du délai d'exposition à la mer. Les troubles métaboliques étaient très importants dans le cas des entérocoques et des staphylocoques dorés. *Escherichia coli*, *Candida albicans* et les espèces *Salmonella* présentaient une importante restauration de cellules lésées par rapport aux taux enregistrés avant. D'une manière générale, on a relevé un délai de survie des microorganismes plus long dans les expériences de laboratoire que dans les épreuves *in situ*, ce que l'on a interprété comme étant dû essentiellement à des facteurs environnementaux, physiques surtout, qui réduisent les concentrations dans la mer bien que sans avoir d'effets inactivateurs.

Mécanismes de la survie

2-30. Les diverses souches d'*Escherichia coli* ont fait l'objet d'un certain nombre d'études de survie et d'adaptation visant à analyser les modifications somatiques, métaboliques et génétiques d'entérobactéries placées dans des conditions marines naturelles. On a décrit les changements structurels et métaboliques observés chez treize souches d'*Escherichia coli* au cours d'une inanition de durée variable dans l'eau de mer (Papapetropoulou *et al.*, 1993), les auteurs concluant que les souches d'*Escherichia coli* soumises à cette inanition dans l'eau de mer connaissent une situation d'altération physiologique qui entraîne diverses modifications cellulaires. Celles-ci concernent l'activité enzymatique (modifications du biotype), la synthèse des protéines, la perte de certains facteurs contribuant à la virulence, et des modifications des modes de sensibilité. Plusieurs études ont démontré que certaines souches d'*Escherichia coli* peuvent s'adapter plus ou moins aux conditions marines, y prolongeant ainsi leur survie. Il a été conclu d'une étude comparative de souches isolées à partir d'eaux usées terrestres et de souches provenant de prélèvements de mérimos que les premières étaient plus résistantes à trois antibiotiques (novobiocine, tétracycline et érythromycine) alors que les secondes présentaient une plus grande résistance à la salinité de leur milieu de culture, une plus grande résistance à certains antibiotiques (céphaloridine, aminosides, acide nalixidique) et, dans certains cas, une plus grande résistance globale aux antibiotiques et une propension moindre à l'hémolyse et à l'hémoagglutination. Dans le cas d'espèces isolées de sédiments marins, on a relevé une sensibilité accrue aux températures élevées (Gauthier *et al.*, 1991). Les résultats donnaient à penser que le séjour des germes *Escherichia coli* dans le milieu marin pouvait, sur une période encore mal définie, entraîner une augmentation de leur capacité à se développer dans des milieux salés. Dans d'autres études, il a été conclu, entre autres, que la survie des germes *Escherichia coli* (ainsi que d'autres entérobactéries comme *Salmonella paratyphi B*, *Shigella dysenteriae* et *Klebsiella pneumoniae*) dans la mer dépend, en partie du moins, des événements précédant leur introduction dans l'eau de mer, que cette survie est étroitement liée à la faculté que les germes ont de compenser le choc osmotique qu'ils subissent en pénétrant dans la mer par suite des mécanismes osmoprotecteurs dont ils disposent, que les germes provenant de sédiments acquièrent une résistance considérable à l'eau de mer et que, lorsqu'ils sont remis en suspension dans de l'eau oligotrophe, ils peuvent survivre sur une période comparativement longue (Gauthier, 1992a; 1992b).

2-31. La dernière des études précitées, portant sur l'influence des mécanismes osmorégulateurs sur la survie et l'adaptation d'entérobactéries comme *Escherichia coli* dans le milieu marin (Gauthier, 1992b), décrit les gènes responsables de la synthèse intracellulaire ou de l'acquisition, à partir du milieu extérieur, d'osmolytes organiques tels que les bêtaïnes. Cette acquisition ou ce transfert de certaines bêtaïnes par *Escherichia coli* est très efficace dans les sédiments marins qui contiennent une quantité considérable de matières organiques assimilables. Cette constatation confère une importance sanitaire à certains sédiments marins, en ce sens que, comme on l'a déjà évoqué plus haut, ils pourraient jouer, pour des entérobactéries et éventuellement pour d'autres agents pathogènes, un rôle de réservoir où ces microorganismes développeraient une résistance acquise aux conditions marines. On en conclut que, manifestement, les entérobactéries peuvent survivre dans le milieu marin en fonction de leur degré de possession ou de possibilité d'expression d'un certain nombre de gènes qui interviennent directement dans le maintien de l'homéostasie dans des conditions fortement osmotiques. A cet égard, la présence de substrats organiques nutritifs paraît jouer un rôle déterminant et il a été rendu compte des résultats d'études expérimentales sur le mécanisme de transfert de gènes plasmidiques entre entérobactéries (*Escherichia coli*) dans l'eau de mer, les sédiments et le tractus digestif (Gauthier, 1992c; Gauthier *et al.*, 1992).

Survie des virus

2-32. Indépendamment de l'origine des processus antagonistes se produisant dans le milieu marin et que l'on vient de d'évoquer, les virus pathogènes (entérovirus, poliovirus, virus de l'hépatite A) et les champignons (*Candida albicans*) survivent plus longtemps que les bactéries dans l'eau de mer (PNUE/OMS, 1991). Les virus sont capables de survivre sur de longues périodes en dehors d'un hôte animal (Akin *et al.*, 1975) et peuvent garder leur pouvoir infectieux pendant plusieurs semaines ou davantage après rejet dans les eaux réceptrices. Les entérovirus peuvent survivre de quelques jours à plus de 130 jours dans l'eau de mer, cette survie étant fonction de la température, de la salinité, du type du virus, de l'antagonisme bactérien, des matières solides en suspension et de la pollution. Les facteurs conditionnant la survie des virus ont été examinés par Gerba et Goyal (1978). La température paraît être le premier facteur conditionnant la survie des virus dans l'eau de mer, avec une inactivation accrue dans les eaux chaudes. On a observé une faible inactivation du poliovirus 1 et du virus de l'hépatite A à 5°C au bout de 30 jours, et à 25°C le virus de l'hépatite A avait une survie notablement plus longue que le poliovirus (Bosch *et al.*, 1993). Dans la même étude, le poliovirus 1, le virus coxsackie B5, l'échovirus 1 et le virus de l'hépatite A se sont avérés survivre plus longtemps dans de l'eau de mer autoclavée que dans de l'eau de mer naturelle.

2-33. Plusieurs auteurs ont suggéré que l'association à des particules accroît notablement la capacité de survie des virus et leur potentiel d'interaction avec les organismes marins locaux (Shumway et Hurst, 1991). Les résultats d'une étude comparative ont montré que la présence de sédiments marins ont favorisé la survie de virus dans de l'eau de mer à 25°C et que l'action protectrice de matières solides était particulièrement marquée pour le poliovirus au bout de 30 jours dans des eaux marines (Bosch *et al.*, 1993). La rétention des virus par les appareils branchiaux est favorisée par leur adsorption sur de fines matières particulaires, et cela pourrait revêtir une importance particulière pour les moules, sachant que celles-ci se nourrissent abondamment de matières organiques remises en suspension. Les virus associés à des matières solides transportées jusqu'aux plages de baignade et aux eaux conchylicoles peuvent de ce fait donner lieu à une transmission à l'homme (Rao *et al.*, 1986). Dans une étude de l'US Environmental Protection Agency réalisée en 1972-78 sur la qualité de l'eau et les symptômes

gastro-intestinaux, la relation entre les troubles relevés et la présence de quelques rares bactéries indicatrices (10 *Escherichia coli* par 100 ml) donnait à penser que les agents responsables de l'affection étaient fortement infectieux, qu'ils étaient présents en grand nombre dans les eaux usées et qu'ils survivaient plus longtemps qu' *Escherichia coli* dans le milieu marin. Ces caractéristiques, conjointement aux aspects cliniques de l'affection, évoquaient une étiologie virale (Cabelli *et al.*, 1982). Des expérimentations récentes réalisées en mer Adriatique indiquent que certaines espèces d'algues fixent les virus et réduisent leur pouvoir infectieux décelable (Patti *et al.*, 1990). Les virus adsorbés peuvent toutefois être infectieux comme des virus libres, et l'on estime que les algues unicellulaires, notamment lors des épisodes de prolifération anormale, peuvent servir de vecteurs au transfert des virus jusqu'aux zones à usage récréatif et conchylicole.

2-34. La fixation de virus par les coquillages a été clairement démontrée (Metcalf et Stiles, 1965) et de nombreuses études ont, de la même façon, permis d'établir que les coquillages peuvent concentrer des virus dans leurs tissus à des concentrations qui sont bien supérieures à celles qui sont relevées dans les eaux sus-jacentes (Geldreich, 1985). A l'instar des bactéries, la majorité des virus sont concentrés dans l'appareil digestif de l'hôte et, une fois à l'intérieur d'un mollusque, leur survie paraît se prolonger (Metcalf et Stiles, 1965). Le séjour des virus dans les coquillages paraît même être plus long que celui des pathogènes bactériens (Geldreich, 1985). Par exemple, on a signalé que le séjour de virus de l'hépatite A dans des huîtres variait de six à huit semaines (Portnoy *et al.*, 1975; Macowiak *et al.*, 1976). On a constaté que des entérovirus pouvaient séjourner cinq mois dans des huîtres avec une faible réduction de leur nombre et aucune perte de leur pouvoir infectieux, au cours des mois d'hiver quand le métabolisme des coquillages diminuait à un niveau minimal (Metcalf, 1982).

SECTION 3

LES MICROORGANISMES PATHOGENES DANS LE MILIEU MARIN DE LA MEDITERRANEE

3.1 CONSIDERATIONS GENERALES

3-1. A quelques rares exceptions près, comme dans d'autres régions, les programmes de surveillance menés en Méditerranée pour évaluer l'état de la pollution des eaux à usage récréatif et des eaux conchylicole continuent à reposer en grande partie sur les concentrations d'un ou plusieurs organismes bactériens indicateurs retenus comme indice d'acceptabilité sanitaire ou autre, alors que les principaux risques pour la santé humaine résultant de la baignade ou de la consommation de produits de la mer dépendent de la présence et de la concentration des microorganismes qui sont les véritables agents de la maladie. Parmi les exceptions, on citera les Etats méditerranéens qui sont membres de l'UE et qui appliquent la directive CEE de 1975 concernant la qualité des eaux de baignade (CE, 1976). Cette directive prescrit de ne tolérer en aucun cas les salmonelles et les entérovirus mais laisse la fréquence d'échantillonnage à la discrétion des autorités nationales en stipulant que ces dernières devraient vérifier les concentrations quand l'inspection d'une zone de baignade indique que le germe peut être présent ou que la qualité de l'eau s'est dégradée. La proposition récente d'une nouvelle directive du Conseil concernant les eaux de baignade (CE, 1994) maintient l'interdiction des entérovirus à des conditions exposées à la section 4 du présent document, mais elle ne mentionne plus les salmonelles comme paramètre de surveillance.

3-2. Comme les concentrations d'indicateurs bactériens fournissent une mesure du degré de pollution fécale basée sur les chiffres de la population totale, si la présence et la concentration d'agents pathogènes dans les eaux usées dépendent de l'incidence et de la quantité de cas cliniques et infra-cliniques d'excrétion des organismes spécifiques en question, les concentrations prévues d'agents pathogènes dans l'eau de mer ou dans les fruits de mer devraient être beaucoup plus faibles que celles des indicateurs. L'examen de routine des eaux usées ou de l'eau de mer pour y rechercher des microorganismes pathogènes est rendu impraticable dans la plupart des pays pour les motifs suivants:

- a) les procédures d'isolement et d'identification varient selon les divers agents pathogènes;
- b) même dans le cas de l'organisme qui est vraisemblablement le plus ubiquiste, à savoir *Salmonella*, les techniques d'isolement comportent des procédures assez compliquées qui excèdent les capacités habituelles de bon nombre de laboratoires;
- c) des résultats négatifs ne peuvent être considérés que comme provisoires, car les méthodes les plus récentes ne sont pas suffisamment sensibles pour détecter une concentration d'agent pathogène dans les volumes d'eau de mer (100 ml) normalement utilisés pour les indicateurs, bien que cette difficulté puisse être en partie surmontée par le recours à des échantillons plus importants;

- d) dans le cas des virus, les procédures de détection ne peuvent être mises en oeuvre que dans des laboratoires spécialement équipés à cet effet et, le plus souvent, elles le sont dans le cadre de projets de recherche spécifiques et autres études connexes.

3-3. Il s'ensuit que les données sur la présence et la concentration des microorganismes pathogènes dans l'eau de mer et les mollusques/crustacés sont rares par rapport à celles dont on dispose pour les indicateurs ordinaires de la pollution fécale de la mer par les eaux usées. Les affections diarrhéiques sont courantes dans l'ensemble de la région méditerranéenne, et les agents concernés, habituellement toute une série de microorganismes entéropathogènes, sont rejetés dans le milieu marin côtier par des eaux usées contenant les matières fécales de sujets malades ou porteurs de la maladie. L'incidence de ces affections et l'isolement des germes responsables dans une collectivité du littoral fournira donc une indication qualitative de l'état microbiologique des eaux usées rejetées dans la mer par la collectivité en question, et la concentration potentielle de tout microorganisme particulier dans les eaux usées dépendra de sa prévalence à chaque localité donnée.

3-4. La corrélation entre les concentrations des indicateurs bactériens les plus courants (que l'on trouve normalement dans les matières fécales chez l'homme) d'une part et les agents pathogènes d'autre part ne peut être établie sur une grande échelle, car les premiers sont déterminés par la densité de la population alors que les seconds le sont par l'expression pathologique de l'agent en cause. Des études sur cette corrélation ont été menées en Méditerranée (WHO/UNEP, 1995) mais, comme on pouvait le prévoir, les résultats ont varié considérablement en fonction de la localité dans laquelle elles étaient réalisées.

3-5. Les microorganismes pathogènes rencontrés dans le milieu marin de la Méditerranée comprennent des bactéries, des virus, des champignons, d'autres microparasites (principalement des protozoaires) et des algues toxiques. Les espèces les plus importantes sont classées et décrites ci-dessous. Les données sur l'incidence des divers microorganismes dans des zones spécifiques ne devraient être retenues qu'à titre indicatif, car il ne serait pas possible de rendre compte de l'ensemble de la vaste bibliographie disponible. Mais, dans l'ensemble, les renseignements disponibles témoignent d'une répartition géographique inégale et une proportion importante des relevés concernent la rive Nord de la région. Les renseignements provenant des rives Sud et Est, où l'on devrait s'attendre à trouver davantage d'agents pathogènes dans les eaux marines côtières, sont relativement rares.

3.2 BACTERIES

Salmonelles

3-6. Les espèces du genre *Salmonella*, qui sont les agents des fièvres typhoïde et paratyphoïdes, d'intoxications alimentaires et de gastroentérite, se rencontrent dans le monde entier et abondent en Méditerranée. On les trouve dans des eaux usées non traitées et traitées et il a été établi (Abdussalam, 1990) que le traitement des eaux usées, fût-il le plus efficace, n'entraîne que leur réduction et non leur élimination. Plus de 2.200 sérotypes sont connus bien que, à tout moment donné, seul un petit nombre d'entre eux (de 10 à 12 environ) soient

répandus dans une zone ou un pays donné (Abdussalam, 1990). On considère (Brisou, 1976) que tous les pays du pourtour de la Méditerranée sont, dans l'ensemble, des réservoirs de salmonelles. Si l'on a prêté une vive attention à *Salmonella typhi*, *Salmonella paratyphi A* et *Salmonella paratyphi B*, un grand nombre d'autres sérotypes ont été isolés dans la région. Ce sont au total 29 sérotypes qui ont été isolés en Grèce au cours d'une étude (Vassiliadis *et al.*, 1987), dont 24 provenaient d'eaux fluviales polluées par des eaux usées. Plusieurs sérotypes différents ont également été isolés en France, Israël, Italie, Espagne et ex-Yougoslavie (Grisou, 1976). Dans une étude d'une durée de trois ans concernant la pollution par les salmonelles des eaux côtières du golfe de Trieste (Majori *et al.*, 1978), 401 échantillons sur 1059 (soit 37,8%) ont été positifs pour des souches de salmonelles qui se répartissaient en une vaste gamme de sérotypes. Ce sont au total 220 souches de salmonelles qui ont été isolées d'effluents d'eaux usées à Alexandrie (El-Sharkawi *et al.*, 1982b). Seize sérotypes ont été isolés d'échantillons d'eaux marines côtières à des sites proches d'une embouchure de cours d'eau au voisinage de Malaga, Espagne, en recourant à différents milieux d'enrichissement (Borrego et Morinigo, 1994).

3-7. Les espèces *Salmonella* ne survivent pas longtemps dans l'eau de mer et l'infection directe par suite de baignade ou d'une autre activité récréative a peu de chances de se produire du fait de la dose infectante relativement élevée qui est nécessaire pour la plupart des sérotypes. En revanche, pour *S. typhi* et *S. paratyphi A* et *B*, la dose infectante est considérablement plus faible. La consommation de produits de la mer pose un problème différent, car les bactéries sont concentrées par les coquillages filtreurs ou par les branchies de poisson. Dans les coquillages, la concentration bactérienne peut être 50 fois celle de l'eau environnante (UNEP/WHO/IAEA, 1988).

Vibrions

3-8. Le choléra est l'une des principales maladies associées à la consommation de coquillages contaminés par des eaux usées, et l'agent responsable, *Vibrio cholerae*, a été découvert par Koch en Egypte au cours de l'épidémie de 1883-1884. La septième pandémie de choléra, due à *Vibrio El Tor*, qui a pris naissance en 1961 en Indonésie et sévit encore, a atteint la région méditerranéenne au début des années 1970. Des cas ont été signalés en diverses parties de la région, et notamment en Algérie, en France, au Maroc et en Espagne (Brisou, 1976), tandis qu'une importante poussée épidémique dont des moules ont été identifiées comme vecteurs s'est déclarée en Italie en 1973 en y entraînant 277 cas et 24 décès (Baine *et al.*, 1974). Brisou et coll. (1962) ont isolé 44 souches de *Vibrio* du littoral algérien. Bien que quelques-unes seulement de ces souches puissent être tenues pour pathogènes, on dispose de preuves selon lesquelles certaines souches de bactéries aquatiques qui sont des résidents naturels sont capables de provoquer chez l'homme de la gastroentérite, des infections générales et des intoxications (Shumway et Hurst, 1991). Des investigations menées au Maroc sur le procédé et l'efficacité du traitement des eaux usées par les bassins de stabilisation sous un climat méditerranéen aride ont montré que ce procédé paraissait impropre à éliminer *Vibrio cholerae* non 01, aucune réduction bactérienne ne se produisant durant la saison chaude et aucune réduction notable durant la saison froide.

3-9. Les vibrions NAG (non agglutinables), responsables de gastroentérite, sont aussi fréquemment décelés dans les coquillages de la région. Comme pour *Vibrio cholerae*, les vibrions NAG sont rejetés par les effluents urbains et l'infection a le plus de chances de se produire par suite de la consommation de coquillages contaminés. Un total de 214 sérotypes

de *Vibrio* ont été analysés et identifiés au cours d'une étude assez récente réalisée à Toulon (Martin et Bonnefont, 1990) portant sur des effluents, des échantillons d'eau de mer et de moule. La population de vibrions de l'effluent était la plus variée et comprenait notamment plusieurs espèces importantes pour la santé publique comme *Vibrio fluvialis*, *Vibrio cholerae* (non 01) et *Vibrio Metschnikovii*. Mais ces trois espèces n'ont pas été retrouvées dans l'eau de mer ou les moules.

3-10. Deux autres espèces de vibron répandues en Méditerranée sont naturelles au milieu marin et il n'existe aucune corrélation entre leur présence et la pollution de la mer par les effluents urbains. Dans le cas de *Vibrio parahaemolyticus*, la principale cause d'infection est là encore les coquillages (UNEP/WHO/IAEA, 1988), bien que le contact des plaies avec l'eau de mer soit une autre voie de transmission (WHO, 1982). *Vibrio alginolyticus* a été signalé dans un certain nombre de pays méditerranéens (Boccia *et al.*, 1978), les échantillons examinés comprenant de l'eau de mer, des moules, des mollusques benthiques et des sédiments. Dans une étude de divers bancs de mollusques situés le long du littoral de la mer Tyrrhénienne, les concentrations de *Vibrio parahaemolyticus* qui y ont été relevés s'établissaient à 10^3 chez la moule (*Mytilus galloprovincialis*), à 10^4 chez *Ensis siliqua minore* et à 10^5 chez *Chamelea gallina*, contre 10^1 dans l'eau de mer (Volterra, 1991).

3-11. Sur un total de 165 échantillons prélevés au voisinage d'Alexandrie en 1979-1980, les dénombrements de *Vibrio parahaemolyticus* par 100 ml ou 100 g se sont montés en moyenne à 36 pour l'eau de mer, 345 pour l'oursin de mer *Echinus*, 436 pour les sédiments, et 534 et 1872 pour les mollusques *Tapes* et *Donax trunculus* respectivement. Les échantillons collectés pendant l'été contenaient des teneurs plus élevées que ceux collectés pendant l'hiver (El-Sahn *et al.*, 1982). En 1989, *Vibrio parahaemolyticus* et *Vibrio alginolyticus* ont été isolés d'échantillons d'eau de mer provenant de zones de baignade de l'Adriatique Nord (Maini *et al.*, 1990), et, lors d'une enquête effectuée à Toulon, on a constaté que la seconde espèce était celle qui la plus répandue dans l'eau de mer et les moules (Martin et Bonnefont, 1990). Les niveaux des espèces de *Vibrio* relevés dans l'eau de mer lors d'une étude épidémiologique réalisée sur deux plages d'Espagne entre 1988 et 1989 variaient de 100 à 2800 par 100 ml à la plage la moins polluée et de 250 à 12000 à la plage la plus polluée (Borrego *et al.*, 1991). Les auteurs n'ont pas fourni de détails sur la répartition en espèces.

3-12. Des études récentes indiquent qu'il convient de revoir totalement le concept selon lequel *Vibrio cholerae* serait un microorganisme pathogène qui sévirait avant tout dans les pays manquant d'installations sanitaires et que la survie de ce type de vibron en dehors de l'intestin humain serait limitée. *Vibrio cholerae* et plusieurs autres espèces de vibrions sont couramment retrouvés comme résidents naturels de milieux aquatiques dans des zones dénuées de choléra, et leur présence n'est pas nécessairement associée à une contamination fécale (West, 1989).

3-13. Au cours des 2 dernières années, à mesure que les observations épidémiologiques et écologiques se multiplient dans de nombreux pays, il apparaît que de nombreuses souches d'espèces vibrioniques présentes dans l'environnement sont pathogènes pour l'homme. Sur 11 espèces de vibron tenues pour avoir des effets pathologiques chez l'homme (West, 1989), *Vibrio cholerae* 01, *Vibrio cholerae* non 01, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio vulnificus*, *Vibriou mimicae* (classé précédemment comme *Vibrio cholerae*) et *Vibrio alginolyticus* ont été retrouvées de plus en plus souvent associées à une affection humaine, que celle-ci ait résulté de la consommation de produits de la mer ou du contact d'excoriations avec l'eau. On s'attache notamment à *Vibrio vulnificus*, susceptible de provoquer une septicémie et une gastroentérite

fatales, ainsi qu'une infection des plaies. Cependant, la présence dans l'eau de mer d'organismes vibrioniques, *Vibrio vulnificus* en particulier, dépend de la température et de la salinité, et les comptes rendus signalent leur manifestation saisonnière (Kelly et Stroh, 1988; O'Neill *et al.*, 1992; Kaspar et Tamplin, 1993; Cook, 1994).

Shigelles

3-14. Les espèces du genre *Shigella*, qui sont les agents de la dysenterie bacillaire, sont également, comme les salmonelles, largement distribuées dans le monde, et elles pénètrent dans le milieu marin par le biais des effluents d'égouts. La proportion de cas de diarrhée dus aux shigelles varie selon les régions du monde, mais ce genre figure, dans de nombreuses études, parmi les cinq premiers agents responsables. Les shigelles ne peuvent être considérées comme une seule et même entité étant donné que les quatre grandes espèces connues, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, *Shigella boydii* et *Shigella sonnei* diffèrent par leur pouvoir pathogène, leurs moyens de propagation et leur résistance au milieu. Les données épidémiologiques disponibles indiquent que l'incidence des shigelloses n'a guère diminué au cours des quelque dix dernières années dans les pays développés où sont répandus *Shigella sonnei* et, dans une certaine mesure, *Shigella flexneri*. Dans les pays en développement, les deux autres espèces, *Shigella dysenteriae* et *Shigella boydii*, sont également fréquentes (Dardanoni et Nastasi, 1990). Les infections à *Shigella dysenteriae* et *Shigella flexneri* multirésistants présentent un taux de mortalité élevé du fait que la réhydratation par voie orale et le traitement antibiotique peuvent être inopérants. L'importation de souches *Shigella* multirésistantes porteuses de plasmides transmissibles peut être à l'origine d'une dissémination à d'autres entérobactéries et souches *Shigella* indigènes (Dardanoni et Nastasi, 1990).

3-15. Les shigelles sont endémiques sur les rives Est et Sud de la Méditerranée (Brisou, 1976). Les quatre espèces ont toutes été relevées en France et (à l'exception de *Shigella dysenteriae*) en Italie (Dardanoni et Nastasi, 1990). On a également isolé le germe en Egypte (El-Sharkawi *et al.*, 1991) et le long de la côte Est de l'Adriatique (Fuks, 1991). Dans l'évaluation 1991 de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les microorganismes pathogènes (PNUE/OMS, 1991), il était également noté que les cas de dysenterie signalés dans la région appelaient une évaluation plus approfondie de la situation que celle entreprise jusque là et qu'il convenait dans un premier temps d'obtenir des statistiques sur la présence des espèces *Shigella* pour établir la corrélation de celle-ci avec les cas de dysenterie. Cette remarque reste toujours valable.

Staphylocoques

3-16. Le staphylocoque doré (*Staphylococcus aureus*) et les espèces apparentées, *Staphylococcus epidermis* notamment, sont des agents pathogènes potentiels associés à la peau, aux glandes cutanées et aux muqueuses chez les animaux à sang chaud, dont l'homme. On les trouve dans les piscines et les eaux de baignade naturelles, et les souches coagulase-positives occasionnent toute une série d'infections et d'intoxications comprenant: furoncles et furunculose, abcès, méningite, pyohémie, ostéomyélite, otite, suppuration des plaies et intoxications alimentaires. Le staphylocoque doré est également tolérant au sel et il peut donc survivre dans le milieu marin (UNEP/WHO/IAEA, 1988). On soupçonne certaines infections otologiques dues au staphylocoque doré, de même que d'autres infections de la peau et du

rhinopharynx, d'être transmises par les eaux de baignade (WHO, 1982). L'origine de ce germe dans l'eau de mer est attribuée aux activités humaines car on a constaté que toutes les souches se retrouvaient chez l'ensemble des sujets se baignant dans diverses conditions (Robinton et Mood, 1966).

3-17. Sur 628 échantillons d'eau de mer prélevés en Israël, 60,7% contenaient *S. aureus*, dont 33 (5,3%) présentaient 1 germe par 100 ml, soit un pourcentage variant de 49,5% dans les plages moins fréquentées à 91% dans les plages échantillonnées au cours de la pointe estivale (Yoshpe-Purer et Golderman, 1991). Dans une étude plus récente réalisée dans la même zone, des dénombrements variables de staphylocoques dorés ont été relevés dans l'eau de mer et le sable (Ghinsberg *et al.*, 1994). Une comparaison des concentrations de *S. aureus* dans l'eau de mer et le sable de plages très fréquentées et peu fréquentées de Grèce (Papadakis *et al.*, 1992) a donné des résultats positifs dans tous les échantillons. Si les concentrations de *S. aureus* dans l'eau de mer n'étaient pas notablement différentes entre les diverses plages, on relevait par contre dans le sable des concentrations beaucoup plus élevées pour les plages très fréquentées. *S. aureus* n'a pas été isolé de l'eau de mer et du sable lors de l'étude menée à Malaga en 1988-1989 (Borrego *et al.*, 1991), mais les auteurs confirment sa présence lors d'études antérieures. Sur 265 échantillons d'eau de mer prélevés à des plages de baignade en Grèce, 6,8% se sont avérés contenir *S. aureus*, trois des 18 échantillons positifs présentant de 101 à 500 CFU par 100 ml, et les quinze autres de 11 à 100 CFU par 100 ml (Papapetropoulou et Rodopoulou, 1994). Dans une autre étude menée en Grèce, *S. aureus* a été relevé à diverses concentrations dans des échantillons d'eau de mer et de sable, et l'on a pu établir une corrélation significative entre les dénombrements de germes dans l'un et l'autre milieux et le nombre de baigneurs fréquentant la plage, cette corrélation étant plus nette à une plage très fréquentée (Papadakis, 1994).

3-18. Bien que *S. aureus* soit rattaché en général à des intoxications alimentaires, des cas de transmission par les coquillages ont été rarement communiqués. En Egypte, les coquillages récoltés dans des eaux fortement polluées ont été considérés d'une qualité inacceptable en raison de la présence de microorganismes pathogènes, et notamment de *S. aureus* (El-Sharkawi *et al.*, 1982a).

Pseudomonas

3-19. *Pseudomonas aeruginosa* est responsable d'infections des oreilles, des yeux, des plaies, des brûlures et des voies urinaires, ainsi que d'entérite. On considérait précédemment que sa transmission à l'homme s'effectuait par les piscines contaminées (WHO, 1982), mais ce germe est de plus en plus incriminé dans des infections des oreilles, du pharynx et de la peau survenant à la suite de baignade dans de l'eau de mer contaminée (UNEP/WHO/IAEA, 1988). De nombreux cas de folliculite, d'eczéma, d'infection ophtalmologique et urinaire dues à *Pseudomonas aeruginosa* et acquises par baignade dans de l'eau contaminée (piscine avant tout, mais aussi eau de mer) ont été signalés (Yoshpe-Purer et Golderman, 1991).

3-20. *Pseudomonas aeruginosa* peut être décelé dans environ 10% des selles humaines normales, et il est par conséquent fréquemment retrouvé dans les eaux usées où ses concentrations peuvent atteindre 10⁶ par 100 ml (Rhame, 1979). Des dénombrements dépassant 1600 par 100 ml ont été obtenus en Espagne dans un cours d'eau à proximité de son déversement en mer (Alonso Molina *et al.*, 1984), et des dénombrements inférieurs, variant de 0 à 210 dans de l'eau de mer, également en Espagne (Borrego *et al.*, 1991). En Israël, sur 652

échantillons d'eau de mer provenant de diverses plages recueillis en 1983 et 1984, environ 50% contenaient *Pseudomonas aeruginosa*. Dans un petit nombre de ces échantillons, les indicateurs habituels de pollution fécale (coliformes fécaux et *Escherichia coli*) étaient présents à une faible concentration, voire absents (Yoshpe-Purer et Golderman, 1991). Dans une étude plus récente menée dans la même zone, l'eau de mer et le sable de plusieurs plages renfermaient divers niveaux de *Pseudomonas aeruginosa* (Ghinsberg *et al.*, 1994). Sur 265 échantillons d'eau de mer littorale provenant de plages de baignade en Grèce, on a constaté que 12,4% contenaient *P. aeruginosa*, les numérations variant de moins de 2 à 101 et 500 CFR par 100 ml (Papapetropoulou et Rodopoulou, 1994). Dans des échantillons d'eau prélevés de plusieurs milieux aquatiques à Malaga, Espagne, les dénombrements et fréquences d'isolement de *P. aeruginosa* étaient nettement en rapport avec le degré de pollution fécale, les résultats confirmant que les eaux usées, dont le germe était isolé à des concentrations de 10⁵ CFU par 100 ml, en étaient la principale source (de Vicente *et al.*, 1991).

3-21. Des concentrations élevées de *Pseudomonas* ont été relevées dans des coquillages. Des concentrations atteignant 110.000 par 100 ml chez *Mytilus galloprovincialis*, 460.000 chez *Donas trunculus*, 420.000 chez *Ensis siliqua* et 34.000 chez *Chamelea gallina* ont été communiquées, ces diverses concentrations étant d'une valeur supérieure de un à quatre ordres de grandeur à celle des eaux environnantes (Volterra, 1991).

Campylobacter

3-22. Voici une dizaine d'années que *Campylobacter* (*Helicobacter*) a été reconnu comme un important agent pathogène bactérien (Geldreich, 1985). La présence de *Campylobacter* dans les eaux naturelles est extrêmement variable, et l'on ne sait toujours pas exactement combien des organismes isolés sont pathogènes pour l'homme (APHA, 1985). Les espèces thermophiles de *Campylobacter* ont été très étudiées ces dernières années comme cause majeure d'entérite bactérienne chez l'homme (Jones *et al.*, 1984; Fricker, 1987; Skirrow, 1987). Deux espèces, *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli* provoquent de la diarrhée et de la fièvre et peuvent être l'une comme l'autre transmise par consommation alimentaire ou ingestion d'eau. *Campylobacter jejuni* est décelé dans le monde entier et, dans les pays développés, on le reconnaît aujourd'hui comme l'une des causes les plus courantes de diarrhée bactérienne (Skirrow, 1987). Dans une moindre mesure, de l'entérite est également associée à *Campylobacter coli*. Une entérite est également provoquée par le germe *Campylobacter* thermophile résistant à l'acide nalixidique (NARTC), officiellement décrit comme une nouvelle espèce dont la désignation proposée est *Campylobacter laridis* (Benjamin *et al.*, 1983), et par une quatrième espèce thermophile, *Campylobacter upsaliensis* (Sandstedt et Ursing, 1986). Les espèces de *Campylobacter* thermophiles sont des pathogènes gastro-intestinaux et ils peuvent causer davantage d'entérite que les salmonelles (Svedhem et Kaijser, 1980; Blaser *et al.*, 1983). L'entérite causée par *Campylobacter* est habituellement une affection de forme bénigne à modérée guérissant spontanément; cependant, les sujets présentant une entérite grave, prolongée ou récidivante doivent être soumis à un traitement (Larivière *et al.*, 1986).

3-23. *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* et *Campylobacter faecalis* ont été isolés d'émissaires d'eaux usées et d'eau de mer polluée en diverses parties de la Méditerranée (PNUE/OMS, 1991). En Grèce, on a signalé que l'isolement dans ces matrices de *Campylobacter jejuni* et, dans une moindre mesure, de *Campylobacter faecalis*, avait lieu assez régulièrement, en particulier en juillet et août (Papadakis, 1987). Ce sont au total 21 souches de *Campylobacter* dont on a établi le sérotype lors d'une étude réalisée en Espagne (Alonso Molina

et al., 1993). Elles comprennent des souches de *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* et un certain nombre d'espèces non identifiées. On a relevé de faibles concentrations de *Campylobacter jejuni* dans les eaux marines et surtout dans le sable de plusieurs plages israéliennes. Sa présence dans le sable indiquait qu'on pouvait le considérer comme un facteur de risque possible d'entérite chez la population fréquentant les sites en question (Ghinsberg *et al.*, 1994).

Aeromonas

3-24. Un des pathogènes bactériens qui ne sont que partiellement intestinaux en Méditerranée est *Aeromonas hydrophila*, responsable, chez des hôtes atteints d'immunosuppression, de septicémie, de diarrhée, de pneumonie, d'abcès et d'infections des plaies (PNUE/OMS, 1991). Il peut être transmis par contact, ou par ingestion d'eau, ou par consommation de produits de la mer contaminés. Les espèces du genre *Aeromonas* sont connues pour leur pouvoir pathogène chez le poisson, les reptiles et les animaux à sang chaud (Janda et Duffey, 1988). Depuis une dizaine d'années, le pouvoir pathogène de ces espèces chez l'homme a suscité une attention croissante (Burke *et al.*, 1983, 1984). On considère qu'elles ont des incidences sur la santé publique lorsqu'on les trouve en grand nombre dans l'environnement (Kapers *et al.*, 1981), le milieu aquatique constituant la principale source d'infection (Joseph *et al.*, 1979; Burke *et al.*, 1984). Des rapports provenant de nombreuses régions du monde autorisent à penser que les espèces *Aeromonias* peuvent causer chez l'homme une maladie diarrhéique évoluant spontanément vers la guérison (Barer *et al.*, 1986; Mascher *et al.*, 1989). *Aeromonas hydrophila* et *Aeromonas sobria* ont été plus fréquemment reliées à des infections chez l'homme (Daily *et al.*, 1981; Diaz et Velasco, 1987), tandis qu'*Aeromonas caviae* se propage moins (Watson *et al.*, 1985). Les espèces *Aeromonas* peuvent posséder des facteurs de virulence tels que protéases, entérotoxines, hémolysines, endotoxines et cytotoxines (Tumbull *et al.*, 1984; Watson *et al.*, 1985; Burke *et al.*, 1986; Steima *et al.*, 1986; Barer *et al.*, 1986).

3-25. La Méditerranée paraît être un milieu propice à la prolifération des germes *Aeromonas* puisque le climat y est tempéré tout au long de l'année, que les cours d'eau y présentent un débit faible et une charge polluante élevée et que de nombreuses plages affectées par ces cours d'eau sont des zones de baignade très fréquentées (Araujo *et al.*, 1988). Les concentrations d'*Aeromonas hydrophila* relevées dans l'eau de mer au cours d'une étude épidémiologique menée à Malaga, Espagne, variaient de 0 à 50 par 100 ml dans les eaux de plages non polluées et de 80 à 11.800 dans celles de plages polluées (Borrego *et al.*, 1991). Des dénombrements globaux élevés de germes *Aeromonas* mobiles ont été obtenus dans l'eau de mer de diverses plages de Valence, Espagne, avec des concentrations extrêmement variables mais dépassant fréquemment 10⁶ CFU par 100 ml. L'analyse du biotype a permis de distinguer trois espèces, avec par ordre de fréquence décroissant, *Aeromonas caviae* (79,8%), *Aeromonas hydrophila* (14,9%) et *Aeromonas sobria* (5,3%) (Alonso Molina *et al.*, 1993). Sur 265 échantillons d'eau de mer littorale provenant de plages de baignade grecques, on en a trouvé 5,6% qui présentaient des dénombrements d'*Aeromonas hydrophila* variant de 2-10 à 101-500 CFU par 100 ml (Papapetropoulou et Rodopoulou, 1994). Les concentrations relevées dans les coquillages étaient de 36.000 par 100 ml chez *Mytilus galloprovincialis*, 740.000 par 100 ml chez *Donax trunculus* et 22.000 par 100 ml chez *Ensis siliqua* (Volterra, 1991).

Escherichia coli

3-26. *Escherichia coli*, qui fait partie du groupe des coliformes fécaux, est un hôte habituel du tube digestif chez l'homme. Certaines souches provoquent de la diarrhée et elles peuvent se classer en cinq catégories: *Escherichia coli* entérotoxigène (ETC) responsable de la "diarrhée du voyageur" chez l'adulte et de diarrhée chez l'enfant dans les pays en développement, *Escherichia coli* entéroinvasif (EEIC) qui occasionne une affection dysentérique plus couramment signalée dans les pays en développement, *Escherichia coli* entérotoxigène (EPEC) qui provoque de la diarrhée sous une forme épidémique et sporadique chez les enfants de moins de deux ans, *Escherichia coli* entérohémorragique (EHEC) qui entraîne une colite hémorragique et un syndrome d'urémie hémolytique, et *Escherichia coli* entéroadhérent (EAEC) responsable de diarrhée chez les voyageurs et éventuellement chez d'autres sujets (Barua, 1990).

Autres indicateurs et agents pathogènes bactériens

3-27. Les membres du groupe D de Lancefield des streptocoques (*Streptococcus faecalis*, *Streptococcus faecium*, *Streptococcus bovis* et *Streptococcus equinum*) ont été incriminés dans un certain nombre de poussées épidémiques d'affections d'origine alimentaire (aliments non marins le plus souvent). Les cas mettant en jeu des coquillages sont moins documentés (WHO/UNEP, 1995). Le streptocoque hémolytique (groupes A et C de Lancefield) a été décelé dans des eaux de baignade (WHO, 1992) et on l'on soupçonne qu'il se transmettrait à l'homme par cette voie.

3-28. *Clostridium perfringens* est rejeté à des concentrations significatives dans les eaux usées où il est le plus souvent d'origine humaine. Il est plus résistant que d'autres indicateurs, mais sa détection dans l'eau de mer est malaisée. Il ne se multiplie pas dans les sédiments mais survit plus longtemps qu'*Escherichia coli* dans le milieu marin, et ces deux germes peuvent donc être considérés comme complémentaires. Dans une étude portant sur la région de Barcelone, Espagne, les concentrations de *Clostridium perfringens* étaient plus élevées dans des moules sauvages que celles des coliformes fécaux et streptocoques fécaux (Jofre *et al.*, 1994). Comme on relève des différences importantes entre les dénombrements de *Clostridium perfringens* selon que les prélèvements sont effectués à proximité ou à distance des points de rejet d'eaux usées, il paraît possible d'interpréter les dénombrements. Mais le recours à cette espèce comme paramètre de surveillance suscite encore des controverses.

3-29. *Yersinia* a été reconnu comme un type important de bactérie au plan épidémiologique et à celui des zoonoses (WHO/UNEP, 1995). Sa présence a été démontrée dans l'eau de mer ainsi que dans d'autres milieux, et l'on estime que le porc et les rongeurs en sont les principaux réservoirs naturels. Son statut peut être jugé analogue à celui des shigelles dans la mesure où il nécessite des études plus poussées, l'examen des eaux usées constituant la première étape qui s'impose.

3-30. L'importance sanitaire de *Klebsiella pneumoniae* et de souches autres qu'*Escherichia coli* au sein du groupe des coliformes dans les eaux conchylicoles a fait l'objet d'une controverse (Geldreich, 1985). Le problème paraît se circonscrire aux eaux estuariennes recevant une surcharge d'effluents d'usines de papier et pâte à papier, de déchets de traitement de la canne à sucre et de déchets de l'industrie textile. Dans ces rejets, les souches ambiantes de *Klebsiella pneumoniae* sont le coliforme dominant, représentant 50 à 90% de l'ensemble de la population

de coliformes, et elles subissent souvent une multiplication au sein des eaux chaudes résiduelles de fabrication. Les concentrations de coliformes peuvent varier de 10^4 à 10^6 par 100 ml au moment du rejet dans les eaux réceptrices. Si ces souches de *Klebsiella* n'ont pas d'importance sanitaire, leur présence indique qu'il existe des déchets organiques qui pourraient sérieusement réduire ou annihiler la productivité en coquillages dans le milieu estuarien concerné (Presnell et Brown, 1977). D'autres manifestations de *Klebsiella* ont une importance sanitaire du fait que 30 à 40% des êtres humains sont porteurs de ce coliforme au niveau de leur appareil digestif et que les concentrations du germe peuvent varier de 10^6 à 10^8 par gramme de matières fécales (Geldreich, 1985).

3.3 VIRUS

3-31. On connaît plus de 140 types de virus différents qui sont excrétés dans les fèces de sujets infectés, que la maladie soit apparente ou non (Rao *et al.*, 1986). Ces virus appartiennent à diverses familles telles que les entérovirus (polio virus, virus coxsackie, échovirus), le genre récemment découvert *Hépatovirus* de la famille des picornaviridés (virus de l'hépatite A), les réovirus, adénovirus, parvovirus (virus adéno-associés), et la famille des calciviridés (virus de Norwalk) (Schwartzbrod et Deloince, 1995). Ces groupes, avec le nombre de sérotypes et les maladies provoquées, sont récapitulés sur le tableau 3.3.1.

3-32. La fréquence d'isolement et la quantité de virus récupérée des eaux usées dépendent non seulement des infections provoquées par des virus d'apparition naturelle et ceux induits par le vaccin antipolio oral mais aussi de l'efficacité des méthodes de récupération. Selon Selwood et coll. (1981), les sérotypes que l'on peut déceler à tout moment dans des eaux usées, hormis les poliovirus, sont plus ou moins le reflet des virus qui circulent avec la plus grande fréquence au sein de la collectivité concernée. Cependant, dans les pays utilisant le vaccin de Sabin pour immuniser contre la poliomyélite, on peut s'attendre à ce que les trois souches de poliovirus soient présentes dans les eaux usées urbaines. Dans plusieurs pays méditerranéens, les poliovirus sont détectés dans tous les échantillons d'eaux usées analysés (Krikelis *et al.*, 1985a).

Les virus dans la mer Méditerranée

3-33. Des entérovirus ont été relevés dans des effluents d'eaux usées et diverses matrices (eau de mer, sédiments et/ou moules) du milieu marin de la Méditerranée. On note un déséquilibre géographique dans ces relevés, tous ceux qui sont disponibles paraissant provenir uniquement de quatre pays: France, Grèce, Italie et Espagne. Selon la bibliographie disponible, les isolats comprennent les trois sérotypes du poliovirus, treize sérotypes (1, 2, 3, 4, 5, 6, 11, 15, 19, 20, 21, 23, 30) de l'échovirus, quatre sérotypes (7, 16, 18, 21) du virus coxsackie A, six sérotypes (1, 2, 3, 4, 5, 6) du virus coxsackie B, le virus de l'hépatite A et un grand nombre de sérotypes non précisés (Crovari *et al.*, 1974; De Flora *et al.*, 197; Hugues, 1994; Hugues *et al.*, 1993; Krikelis, 1987; Krikelis *et al.*, 1985a, 1985b, 1986; Maini *et al.*, 1990). On trouvera sur le tableau 3.3.2 un état récapitulatif de ces relevés.

3-34. Comme une dose de quelques unités PFU ("plaque-forming units" ou unités formatrices de plaque de lyse cellulaire) ou, selon une autre terminologie employée, CFU ("cytopathogenic units" ou unités cytopathogènes) de virus est suffisante pour provoquer une infection chez l'homme quand elle est ingérée, pourvu qu'elle atteigne les cellules cibles de l'organisme, il faut

prendre au sérieux la présence de virus humains dans l'eau de mer et le danger d'infection lors d'une baignade en eaux polluées n'est donc pas imaginaire (Katzenelson, 1977). Bien que les études épidémiologiques n'aient pas permis jusqu'ici d'établir nettement une corrélation entre la baignade dans des eaux polluées et les épidémies virales, on ne peut écarter la possibilité de cas sporadiques d'infection. Fattal et Shuval (1991) ont essayé de déterminer l'étiologie de la gastroentérite associée à la baignade observée dans des études épidémiologiques antérieures qui reliaient la qualité de l'eau de baignade aux effets sanitaires observés parmi des groupes de population exposés. La réponse de la population étudiée à la demande de prélèvement sanguin a été médiocre, quarante sujets (4,9%) donnant au moins un échantillon de sang, dont seulement 24 (2,4%) présentaient la phase aiguë ou convalescente de la maladie. Tous les sérums sanguins étaient positifs pour les rotavirus dans les deux types d'échantillons, et aucune séroréaction n'a été décelée.

3-35. La plupart des travaux de recherche menés en Méditerranée sur les virus dans les effluents d'eaux usées ou dans l'eau de mer ont été soit qualitatifs soit quantitatifs, et ce de manière bien tranchée. Parmi les résultats obtenus dans cette dernière catégorie, les concentrations de virus relevées dans les effluents d'eaux usées en Méditerranée orientale variaient de 10 à 90 PFU par litre, et celles d'adénovirus de 70 à 3200 PFU par litre. Dans des eaux côtières, on a enregistré un intervalle de variation de 5 à 145 PFU par litre (Krikelis *et al.*, 1985a, 1987). En mer Tyrrhénienne, les concentrations d'entérovirus dans les eaux côtières variaient de 2 à 160 TCD₅₀ par litre (Crovari *et al.*, 1974). Dans les eaux peu profondes du littoral (0 à 12 m de profondeur), on a constaté que les entérovirus s'accumulaient dans les sédiments clastiques à des concentrations variant de 0,8 à 40,2 TCD₅₀ par 100 ml d'éluat sédimentaire. Les virus étaient facilement libérés dans l'eau au moyen d'agitation mécanique et de simulation des vagues et des courants de fond (De Flora *et al.*, 1975). Parmi d'autres relevés effectués en Méditerranée occidentale, les valeurs moyennes des entérovirus totaux s'établissaient à 258 PFU par 10 litre d'eaux usées brutes, et de 1,3 à 2,1 PFU par kg de sédiments marins (Jofre, 1987). Dans une autre série d'expériences, les valeurs moyennes de récupération dans 24 échantillons de sédiments ont varié pour les entérovirus de 130 à 200 PFU par kg et pour les rotavirus de 57 à 140 FF par kg, selon le procédé spécifique d'éluat utilisé (Jofre *et al.*, 1989). Au cours des années 1990 et 1991, en Méditerranée centrale (littoral français), dans des effluents d'eaux usées soumis à un traitement biologique, la quantité de virus variait de <1 à 250 MPNCU par litre (Hugues *et al.*, 1993).

Les virus dans les coquillages de Méditerranée

3-36. Le rôle des fruits de mer comme vecteurs de maladies entérovirales chez l'homme est bien documenté. Des études épidémiologiques ont montré que les virus des hépatites A et E (cette dernière n'étant toutefois pas endémique dans la région méditerranéenne), le virus de Norwalk, l'agent de Snow Mount, les astrovirus, les virus coxsackie et les petits virus ronds sont transmis par les mollusques/crustacés. Parmi ces virus, ce sont ceux de l'hépatite A et de Norwalk qui préoccupent le plus les responsables de la santé publique (Shumway et Hurst, 1991). Il existe dans le monde des rapports faisant état d'affections gastro-intestinales dues à la consommation de fruits de mer et pour lesquelles aucun agent responsable n'a été identifié, et l'on pense qu'un grand nombre de ces cas seraient provoqués par un agent viral non identifiable et non par un agent pathogène bactérien.

TABLEAU 3.3.1

VIRUS HUMAINS SUSCEPTIBLES D'ETRE PRESENTS DANS L'EAU POLLUEE
(d'après Schwartzbrod et Deloince, 1995)

Famille	Genre	Virus	Sérotypes	Maladie provoquée
Picornaviridés	<i>Enterovirus</i>	Poliovirus	3	Paralyse, méningite, fièvre, poliomyélite
		Virus coxsackie A	23	Herpangine, affection respiratoire, méningite, fièvre
		Virus coxsackie B	8	Myocardite, anomalies cardiaques congénitales, éruptions, fièvre, méningite, affection respiratoire, pleurodynie
		Echovirus	32	Méningite, affection respiratoire, éruption, diarrhée, fièvre
	<i>Hepatovirus</i>	Entérovirus 68 à 71	4	Méningite, encéphalite, affection respiratoire, conjonctivite hémorragique aiguë, fièvre
		Virus de l'hépatite A	1	Hépatite virale A
Réoviridés	<i>Reovirus</i>	Réovirus humain	3	Pas clairement établie
	<i>Rotavirus</i>	Rotavirus humain	6	Gastroentérite
Calciviridés	<i>Calcivirus</i>	Calcivirus humain	3(5)	Gastroentérite
		Virus Norwalk	1	Gastroentérite
		Petit virus rond	13	Gastroentérite
	<i>Astrovirus</i>	Virus de l'hépatite E	1	Hépatite infectieuse
		Astrovirus humain	5	Gastroentérite
		Virus parvovirus-like (HLPLV)	1	Gastroentérite
Coronaviridés	<i>Coronavirus</i>	Coronavirus humain	1	Entérocolite
Toroviridés		Virus coronavirus-like		Entérocolite
Adénoviridés	<i>Mastadenovirus</i>	Adénovirus humain	41	Affection respiratoire, infections oculaires, gastroentérite

TABLEAU 3.3.2

VIRUS ISOLEES DU MILIEU MARIN DE LA MEDITERRANEE

(d'après OMS/PNUE, 1995)

Virus	Type	Localisation	Matrice
Entérovirus			
Poliovirus	2 (vacciniforme) 1,2,3(vacciniforme) 1,2,3	Italie Italie Grèce	sédiments eau de mer eaux usées, eau de mer
Echovirus	9,11 1,3,7,15,19,21,23,30 5,7,23 6,non spécifié, 5,11,20 4,6,11,12,19	Italie,France Grèce Grèce France France France	eau de mer eaux usées eau de mer eau de mer eau de mer eaux usées
Virus coxsackie A	7 7,16,21	France France	eau de mer eaux usées
Virus coxsackie B	1,2,3,5 1,2,3,4,5,6 1,5,6 4,5 2,4,5,6 1,6	Italie,France Grèce France France Grèce France	eau de mer eaux usées eaux usées eau de mer eau de mer eau de mer
Virus hépatite A		Espagne	eaux usées
non spécifié, non polio		France Italie	eau de mer sédiments
non spécifié		Grèce Italie	eaux usées, eau de mer eaux usées, eau de mer
Autres virus			
Adénovirus	1,2,3,4,5,7,15 1, non spécifié non spécifié non spécifié	Grèce France France Italie	eaux usées eaux usées eaux usées eau de mer
Rotavirus	non spécifié	Espagne	eaux usées

3-37. Au cours des trente dernières années, un certain nombre d'épidémies d'hépatite A sont apparues en Europe et dans le reste du monde, en plus de du fond endémique de cas sporadiques qui se montent à plusieurs centaines par an (Shuval, 1986). Stille et coll.(1972) ont estimé que la consommation de coquillages contaminés représentait 19% des cas d'hépatite A à Francfort et que les cas relevés en Allemagne étaient avant tout imputables à la consommation d'huîtres et de moules lors d'un séjour effectué sur le littoral méditerranéen. Le poliovirus, le virus coxsackie A 18 et les échovirus 3,5,6,8,9,12 et 13 ont été diversement incriminés en France et en Italie, tandis qu'en Grèce c'est le virus et l'antigène de l'hépatite A qui ont été décelés dans des coquillages provenant d'eaux polluées (Crovani *et al.*, 1974; Hugues, 1994; Hugues *et al.*, 1993; Maini *et al.*, 1990; Papaevangelou *et al.*, 1990). Ces relevés sont résumés sur le tableau 3.3.3.

TABLEAU 3.3.3

VIRUS ISOLES DE COQUILLAGES MEDITERRANEENS

(d'après OMS/PNUE, 1995)

Virus	Type	Localisation	Matrice
Entérovirus			
Poliovirus	3	Italie	moules
Echovirus	3,5,6,8,9,12,13	Italie, France	moules
Virus coxsackie A	18 18	Italie France	moules moules
Virus de l'hépatite A		Grèce France	moules moules

3-38. Il convient de noter que le diagnostic clinique des maladies virales dépend de l'isolement du virus et/ou d'une séroration positive. Comme, dans de nombreux pays méditerranéens, on ne dispose guère en pratique courante des moyens diagnostiques voulus, il s'ensuit que l'ampleur des affections virales, notamment en nombre de cas individuels, reste très mal connue (WHO/UNEP, 1995).

3.4 AUTRES MICROPARASITES

3-39. On ne possède guère de renseignements sur les risques que fait peser sur la santé humaine la présence de parasites animaux dans le milieu marin. Les oeufs des nématodes *Ascaris*, *Toxoplasma*, *Oxyure* et *Trichuris* sont capables de survivre des mois dans le milieu marin, et l'ingestion d'un seul oeuf suffit à provoquer l'infection (PNUE/OMS/AIEA, 1988). Les quatre espèces de nématode précitées prédominent dans la région méditerranéenne. Les oeufs

sont éliminés dans les selles des sujets atteints, et l'on pense qu'ils peuvent être transmis par la baignade dans une eau polluée (WHO, 1982).

3-40. Les parasites protozoaires présents dans le monde ou dans la région méditerranéenne comprennent les espèces *Entamoeba histolytica*, *Giardia Lamblia*, *Balantidium coli* et *Naegleria*; ils font aussi partie de ceux qui sont présents dans les eaux usées et représentent un risque sanitaire potentiel. Il a été recommandé de prêter une attention toute particulière à ces espèces ainsi qu'aux oeufs de nématodes lors du contrôle des coquillage récoltés au voisinage d'émissaires d'eaux usées (WHO/UNEP, 1995).

3-41. On s'est de plus en plus intéressé à *Giardia lamblia* ces dernières années, en partie du fait de la reconnaissance de son pouvoir entéropathogène et en partie à cause de la communication de nombreux cas de giardase parmi les populations autochtones et parmi les sujets voyageant beaucoup. On sait désormais que c'est le parasite intestinal le plus courant dans les pays développés et qu'il touche tous les âges et toutes les classes socio-économiques (Barua, 1990). La transmission de *Giardia lamblia* s'effectue principalement par l'eau contaminée car les kystes survivent environ deux mois dans l'eau froide. En ce qui concerne l'eau de boisson, la dose habituellement utilisée pour la chloration ne permet pas de tuer le kyste du protozoaire.

3.5 CHAMPIGNONS

3-42. Un certain nombre d'espèces de champignons sont pathogènes pour l'homme, occasionnant des mycoses superficielles, sous-cutanées ou profondes selon la localisation de l'agent responsable chez l'hôte après l'infection. *Candida albicans*, une levure incriminée dans un certain nombre de mycoses superficielles et profondes, est le champignon le plus courant associé à l'infection par contact avec le sable de plage et, dans une moindre mesure, avec l'eau de mer. Plusieurs autres genres sont également considérés comme importants, là aussi parce qu'ils provoquent une infection par le sable de plage.

3-43. On a isolé *Candida albicans* ainsi que d'autres espèces *Candida* d'un certain nombre de plages de sable de la Méditerranée, notamment dans le sud de la France (Bernard, 1985), en Grèce (Papadakis, 1987; Papapetropoulou et Sotiracopoulou, 1995) et en Israël (Ghinsberg *et al.*, 1990, 1994). En Grèce, sa présence dans l'eau de mer a été associée à la pollution par les eaux usées, comme le montrent les dénombrements d'indicateurs bactériens (Papadakis, 1987). De faibles dénombrements de *Candida albicans* dans l'eau de mer ont été relevés sur certaines plages d'Israël (Ghinsberg *et al.*, 1994).

3-44. Les travaux menés dans la région sur l'identification d'autres champignons ont comporté deux études très poussées. La première, réalisée le long du littoral nord de l'Espagne entre 1983 et 1985, a permis d'isoler plus de 16 espèces de champignons dans le sable de plage et dans l'eau de mer (Izquierdo *et al.*, 1986). 80% du total de ces agents isolés se composaient de *Penicillium*, *Aspergillus* et *Cladosporium*, les deux derniers genres comprenant des espèces pathogènes. La deuxième étude, réalisée sur des plages jalonnant le littoral français en 1986 et 1987, n'a pas permis d'isoler d'espèces pathogènes. Huit espèces kératinophiles et onze espèces non kératinophiles, qui présentaient toutes un faible pouvoir pathogène, ont été isolées (Bernard *et al.*, 1988). Une autre étude menée en Israël sur la teneur microbiologique du sable de plage et de l'eau de mer a jusqu'à présent révélé une flore fongique considérable qui reste encore à identifier (Ghinsberg *et al.*, 1994). Les relevés effectués en Grèce (Papadakis *et al.*,

1990) comprennent l'isolement d'*Aspergillus niger*, d'autres espèces *Aspergillus* et d'espèces *Mucor*, *Fusarium* et *Rhizopus* dans l'eau de mer. Tous ces champignons sont des agents pathogènes opportunistes, mais l'attention est attirée sur *Fusarium* qui est toxigène et constitue l'une des principales causes d'infection oculaire.

3.6 ALGUES TOXIQUES

3-45. Les proliférations anormales d'algues toxiques sont des manifestations courantes dans les zones conchylicoles du monde. Les espèces algales incriminées produisant de puissantes toxines appartiennent surtout au groupe des dinoflagellés. Les coquillages accumulent les cellules toxiques en se nourrissant par filtration et ils deviennent les vecteurs de diverses formes d'intoxication par les fruits de mer (Shumway et Hurst, 1991). De tous les coquillages consommés, ce sont les moules qui posent la plus grande menace d'intoxication. Les maladies (WHO, 1994; PNUE/FAO/OMS, 1995) comprennent:

L'intoxication paralytique par coquillages (IPC), qui est causée par un certain nombre de constituants toxiques rentrant dans trois groupes chimiques dont les toxines carbamatées - saxitoxine, néosaxitoxine et gonyautoxine - sont les plus courants dans les coquillages, la saxitoxine ayant été la première à avoir été identifiée. Ces toxines sont produites par un groupe bien défini de dinoflagellés, principalement les espèces *Gonyaulax* (également connue sous l'appellation *Alexandrium*) et *Gymnodinium* qui sont présentes dans les mers tropicales et tempérées. Les toxines ont généralement peu d'effets sur les coquillages mais elles sont de puissantes neurotoxines pour les vertébrés, dont l'homme, en provoquant une paralysie respiratoire et la mort par asphyxie.

L'intoxication neurotoxique par coquillages (INC), qui est provoquée par *Gymnodinium breve*, se traduit par des symptômes similaires, mais moins prononcés, que ceux de l'IPC. La forme mobile du dinoflagellé produit plusieurs neurotoxines désignées sous l'appellation collective de brevéttoxines.

L'intoxication diarrhéique par coquillages (IDC) est causée par un certain nombre de constituants toxiques isolés dans les coquillages et associés chez l'homme à des diarrhées, nausées, vomissements et douleurs abdominales. On pense que les algues responsables sont *Dinophysis*, *Prorocentrum* et les espèces apparentées.

L'intoxication par la vénéropine provoque chez l'homme une intoxication non paralytique après consommation d'huîtres et de clams se nourrissant de dinoflagellés toxiques du genre *Prorocentrum*, notamment *Prorocentrum minimum*. Les toxines produites, qui sont thermostables, entraînent l'apparition rapide de nausées, vomissements, diarrhées, céphalées et nervosité. Dans l'intoxication à issue fatale, il se produit une atrophie jaune aiguë du foie s'accompagnant d'un état d'excitation extrême, de délire et de coma.

L'intoxication amnésique par coquillages (IAC) est due à une toxine (acide domoïque) produite par la diatomée *Nitzschia pungens*. Cette toxine est un poison neurotoxique faible comparé avec les toxines INC et elle est responsable de troubles gastro-intestinaux à type de crampes abdominales, nausées, vomissements et diarrhées, ainsi que de symptômes neurologiques avec perte de mémoire et désorientation qui peuvent persister dans les cas sévères.

3-46. En plus des dinoflagellés, un certain nombre de chlorophytes (algues vertes) et de rhodophytes (algues rouges) peuvent aussi être responsables d'intoxications chez l'homme, les phénomènes pathologiques se produisant au niveau de l'appareil respiratoire en association à une intoxication neurologique par coquillages. D'autres biotoxines produites par les cyanophytes (algues bleu-vert), également appelées cyanobactéries, occasionnent un eczéma de contact, et l'on a également signalé une irritation respiratoire. Des synthèses très complètes sur les biotoxines aquatiques ont été compilées (WHO, 1984; PNUE/FAO/OMS, 1995). Un tableau récapitulatif des proliférations algales toxiques et nocives et de leurs effets sur les coquillages a également été établi (Shumway, 1990).

Algues responsables de l'IPC

3-47. Les proliférations anormales de dinoflagellés produisant des toxines du groupe IPC ont été signalées en diverses parties de la Méditerranée. Vingt-six cas de proliférations algales le long du littoral méditerranéen de la France et qui comprenaient notamment les espèces *Gonyaulax* et *Gymnodinium* ont été rapportés (Belin *et al.*, 1989). *Gymnodinium catenatum* était présent le long du littoral andalou de l'Espagne à des concentrations dépassant 3×10^3 cellules par litre au début 1989 (Bravo *et al.*, 1990) et se traduisant par la présence de toxines dans les bivalves marins *Venus verrucosa* et *Cytherea*. Il s'agit là du premier relevé effectué sur le littoral méditerranéen de l'Espagne. La même espèce a été consignée à des concentrations atteignant 11×10^6 cellules par litre dans la baie de Volos, Grèce, en juillet 1987 (Gotsis-Skretas, 1988) et 6×10^6 cellules par litre dans la lagune de Fusaro, près de Naples, en 1988 (Carrada *et al.*, 1988). Des espèces *Gymnodinium* ont également été relevées au nord-ouest de l'Adriatique pratiquement chaque année entre 1976 et 1985 à des concentrations maximales de 230×10^6 cellules par litre (Mancini *et al.*, 1986), dans la baie de Pula (Degobbis, 1990) et dans le lac d'El-Mellah à l'est de l'Algérie (Samson Kachacha et Touahria, 1992).

3-48. Des proliférations de *Gonyaulax polyhedra* ont été relevées à plusieurs reprises entre 1977 et 1985 au nord-ouest de l'Adriatique (Mancini *et al.*, 1986) et dans le golfe de Trieste depuis 1977 (Fonda Umani, 1985). On a constaté que les algues responsables d'eaux rouges au large du littoral de l'Emilie-Romagne, en Adriatique en 1984, étaient *Gonyaulax polyhedra*, mais l'analyse des algues et des coquillages n'a pas permis de déceler des quantités mesurables de saxitoxine comparables à celles contenues dans des cultures de *Gonyaulax tamarensis* effectuées en laboratoire au Canada (Fortuna *et al.*, 1985). Les observations de proliférations de la même espèce à l'est de l'Adriatique concernaient la baie de Pula (Degobbis, 1990), la baie de Sibénik (Legovic *et al.*, 1991a, 1991b) et la baie de Kastela près de Split où les premières proliférations constatées remontent à vingt ans (Marasovic, 1990). Les observations de proliférations de *Gonyaulax polyhedra* dans d'autres zones de la Méditerranée portent sur le golfe de Kavala, Grèce, en août 1986, à des concentrations atteignant 10×10^6 cellules par litre, et régulièrement d'avril à juin le long de la côte ouest de la Turquie à des concentrations atteignant 50×10^3 cellules par litre, les proliférations survenant en mai et juin contenant aussi *Gonyaulax spinifera* jusqu'à 20×10^3 cellules par litre (Koray, 1990; Koray *et al.*, 1992). *Gonyaulax polyhedra* a également été observé le long du littoral du Liban, mais à des concentrations faibles et ne posant pas de problèmes sanitaires (Lakkis, 1991). Des proliférations contenant des espèces *Gonyaulax* ont été signalées au lac d'El-Mellah, à l'est de l'Algérie (Samson Kachacha et Touahria, 1992). Des toxines du groupe IPC produites par *Gonyaulax tamarensis* dans des moules ont aussi été relevées en Espagne (Shumway, 1990). Sur un total de 128 échantillons d'eau de mer dans des zones conchylicoles de Grèce, on n'a

décélé les espèces *Gonyaulax* et *Gymnodinium* que dans 12 et 18 échantillons respectivement, la première en nombre faible et la deuxième en nombre relativement élevé. Les concentrations de saxitoxine dans ces échantillons et dans les coquillages prélevés sur le marché se situaient en dessous du seuil de détection (Papadakis, 1991).

3-49. On a fait état, pour *Alexandrium minutum* dans des moules, du premier cas enregistré d'IPC en France en 1989 (Shumway, 1990). La même espèce a été observée à l'occasion d'une importante prolifération (28×10^6 cellules/litre) dans le port de San Carlos de la Rapita, au sud du delta de l'Ebre en Espagne, en mai 1989, des cas d'IPC dus à des moules étant signalés dans ce port et dans les ports voisins (Delgado *et al.*, 1990). *Alexandrium minutum* a été observé dans des eaux rouges au port est d'Alexandrie, Egypte (Zaghloud et Halim, 1992) et le long de la côte ouest de la Turquie en mai 1983 (Koray et Buyukisik, 1988). Pour cette dernière zone, on a constaté que des proliférations récurrentes contenaient l'espèce entre mars et juin (Koray, 1990; Koray *et al.*, 1992). *Alexandrium minutum* a également été signalé le long du littoral libanais mais ses concentrations y sont faibles et ne posent pas de problèmes de santé publique (Lakkis, 1991).

Algues responsables de l'INC

3-50. A part les proliférations de *Gymnodinium* dans lesquelles on n'a pu identifier d'espèces (voir par. 3-47 ci-dessus), on a signalé que des proliférations contenant l'espèce responsable de l'INC, *Gymnodinium breve*, s'étaient produites au nord de l'Espagne et en Méditerranée orientale (Steidinger, 1983; Berland et Bellan, 1990; Pagou et Ignatiades, 1990). Des observations de proliférations contenant *Gymnodinium breve* ont lieu en certains lieux précis de la Méditerranée comme le golfe Saronique, en Grèce, où l'espèce était présente à une concentration de 10×10^6 cellules par litre en novembre 1977, et à la plage d'Alimos, au même site près de l'émissaire d'eaux usées, où la concentration variait de 12 à 27×10^6 cellules par litre (Pagou, 1990).

Algues responsables de l'IDC et de l'intoxication par la vénéropine

3-51. La présence de toxines de *Dinophysis sacculus* (responsables de l'IDC) dans des coquillages ont entraîné en France, entre 1987 et 1989, l'interdiction de la commercialisation des produits contaminés (Shumway, 1990). La présence de cette espèce est signalée le long du littoral sud de la France depuis 1987 (Leveau *et al.*, 1989; Lassus *et al.*, 1991). La même espèce a également été relevée à une concentration de 40×10^3 cellules par litre dans des lac salés près de Messine, en Sicile (Maggazù, 1982; Maggazù *et al.*, 1991) et répandue à plus de 2×10^3 cellules par litre au large de Syracuse, également en Sicile (Giacobbe et Maimone, 1991). On a fait état de nombreux cas d'IDC en Adriatique (Shumway, 1990) et des espèces *Dinophysis* ont été relevées dans la partie nord et centrale de cette mer, des cas d'IDC étant signalés dans la première de ces deux sous-régions (Boni *et al.*, 1992). Une certain nombre d'espèces *Dinophysis* sont présentes en mer Tyrrhénienne, mais les toxines de l'IDC n'ont jamais été décelées dans les coquillages locaux (Innamorati *et al.*, 1989b).

3-52. *Prorocentrum lima*, l'espèce du genre *Prorocentrum* responsable de l'IDC, a été observée au nord-ouest de l'Adriatique (Moro et Andreoli, 1991), dans le golfe de Trieste (Boni *et al.*, 1992) et en mer Tyrrhénienne (Innamorati *et al.*, 1989a; 1989b). On rapporte que

Prorocentrum minimum, responsable de l'intoxication par la vénérupine, est observée ces derniers temps de plus en plus fréquemment à l'est de l'Adriatique (Marasovic, 1986). Il existe de nombreux relevés de cette espèce dans d'autres parties de l'Adriatique (PNUE/FAO/OMS, 1995). On a également constaté sa présence dans des lagunes de la façade méditerranéenne de la France (Leveau *et al.*, 1989).

Algues responsables de l'IAC

3-53. Les espèces *Nitzschia*, notamment *Nitzschia pungens*, responsables de l'IAC, se manifestent sous forme d'agrégats mucilagineux de diatomées (Viviani *et al.*, 1992). Ce phénomène mucilagineux a suscité en Adriatique de vives inquiétudes d'ordre sanitaire sur les deux rives de cette mer. Cependant, la présence d'acide domoïque n'a pas été constatée au cours des programmes de surveillance (Viviani *et al.*, 1992).

Cyanophytes (cyanobactéries)

3-54. Quelque 25 espèces de cyanophytes (algues bleu-vert), également appelées cyanobactéries, ont été incriminées dans des épisodes d'intoxication à travers le monde, et environ 75 des proliférations étudiées se sont avérées produire des toxines (Philipp, 1991). L'ingestion de cyanophytes ou l'immersion du corps dans une eau contenant de l'écume ont été associées à des vertiges, maux de tête, crampes musculaires, nausées, vomissements, gastroentérite, lésions hépatiques et pneumonie (Codd *et al.*, 1989; Turner *et al.*, 1990). La plupart des espèces sont dulçaquicoles. Parmi les espèces marines, une espèce filamenteuse, *Lyngbya majuscula*, a été identifiée comme l'agent responsable d'un grave eczéma de contact touchant les baigneurs dans le Pacifique et les Caraïbes (Grauer, 199; Moore, 1984). Sept espèces de *Lyngbya* ont été observées en Méditerranée, et bien que celles-ci ne comprennent pas *Lyngbya majuscula*, une autre espèce filamenteuse, *Lyngbya confervoides*, a été identifiée (PNUE/FAO/OMS, 1995). Des efflorescences de cyanophytes ont été observées dans le lac de Tunis (Kelly et Naguib, 1984), dans l'estuaire du Nil (Halim, 1989) et au nord de l'Adriatique (Kaltenböck et Hemdl, 1992). Cependant, il n'a pas été signalé d'effets sanitaires chez l'homme.

SECTION 4

CRITERES ET NORMES MICROBIOLOGIQUES S'APPLIQUANT AUX ZONES COTIERES DE LA MEDITERRANEE

4-1. Conformément à une pratique internationale, les normes de qualité des eaux à usage récréatif et des eaux conchylicoles en Méditerranée sont fondées sur des concentrations acceptables d'organismes indicateurs bactériens (principalement les coliformes fécaux, et dans une moindre mesure les streptocoques fécaux) et, dans certains cas, d'agents pathogènes tels que les salmonelles et les entérovirus. Le recours aux indicateurs fécaux pour indexer les risques sanitaires dans l'eau et les produits de la mer exposés à une pollution par les eaux usées remonte à la fin des années 1980 et au début des années 1990, peu de temps après que ces microorganismes aient été isolés pour la première fois et associés aux matières fécales des animaux à sang chaud. Compte tenu de certaines limitations basées sur le taux de morbidité des populations responsables des rejets, il a été reconnu (WHO/UNEP, 1977b) que:

un grand nombre de virus et bactéries pathogènes peuvent être présents dans les eaux usées municipales, chacun présentant sa probabilité propre de morbidité associée à une dose donnée;

la surveillance de routine de chacun de ces agents pathogènes serait une tâche colossale;

des méthodes de dénombrement ne sont pas disponibles pour plusieurs des agents pathogènes les plus importants et sont difficiles à appliquer pour d'autres;

les données sur les concentrations d'agents pathogènes sont difficiles à interpréter car les méthodes concernées exigent beaucoup de temps et d'argent et elles ne sont pas toujours qualitatives, et aussi parce que les données sur les relations dose-effet sont parfois insuffisantes, voire absentes; et

d'un point de vue théorique, l'objectif véritable ne consiste pas à indexer la présence des agents pathogènes mais plutôt la probabilité de leur présence en nombre suffisant pour constituer un risque sanitaire inacceptable.

4-2. Depuis la publication en 1977 des conclusions précitées du Groupe d'experts OMS/PNUE, la situation s'est modifiée dans la mesure où les méthodes disponibles d'identification et de dénombrement des microorganismes pathogènes, et notamment des virus, se sont multipliées. Néanmoins, le plus souvent, ces méthodes restent inaccessibles à la plupart des laboratoires méditerranéens, et notamment à ceux qui effectuent la surveillance de routine de la pollution marine.

4-3. Lorsqu'ils ont accepté les termes du Protocole d'Athènes de 1970 relatif à la protection de la mer Méditerranée contre la pollution d'origine tellurique, les Etats méditerranéens, en tant que Parties contractantes audit Protocole, se sont engagés à élaborer et adopter progressivement, en collaboration avec les organisations internationales compétentes, des lignes directrices et, le cas échéant, des normes ou critères communs concernant un certain nombre d'aspects comme la qualité des eaux de mer utilisées à des fins particulières,

nécessaire pour la protection de la santé humaine, des ressources biologiques et des écosystèmes, ce qui a abouti à l'adoption de deux mesures communes - les critères provisoires de qualité du milieu pour les eaux de baignade en 1985 (PNUE, 1985a) et les critères de qualité du milieu pour les eaux conchylicoles en 1987 (PNUE, 1987). En fait, les uns et les autres critères incluent des normes et, dans les deux cas, le paramètre biologique retenu (coliformes fécaux) pour évaluer la qualité de la matrice environnementale en question constitue le critère; les limites de concentration maximale stipulées pour l'acceptation constituent des normes. Dans les deux cas encore, comme il est d'usage dans des accords internationaux de cette nature, les normes adoptées ont été reconnues comme une base minimale, chaque pays étant libre d'adopter des mesures plus sévères s'il le juge nécessaire en fonction des conditions nationales ou locales. La situation est assez différente dans le cas des critères provisoires communs pour les eaux de baignade, car la décision correspondante prévoyait que les pays possédant déjà des normes et/ou critères nationaux devraient continuer à les utiliser jusqu'à ce qu'une exercice de comparaison approprié ait été effectué (PNUE, 1985).

4-4. Les quatre pays méditerranéens (Espagne, France, Grèce et Italie), qui sont membres de la Communauté européenne, sont également liés par les directives CEE pertinentes: directive du Conseil (CEE) 76/160 du 8 décembre 1975 concernant la qualité des eaux de baignade (CE, 1976) qui comporte cinq paramètres microbiologiques et des valeurs types de coliformes fécaux différentes de celles adoptées par les pays méditerranéens en 1985; et la directive du Conseil (CEE) 79/923 du 30 octobre 1979 concernant la qualité des eaux conchylicoles (CE, 1979) qui comporte des paramètres microbiologiques identiques à ceux adoptés en commun par les pays méditerranéens. Les deux directives comprennent un certain nombre de paramètres physico-chimiques, en plus des paramètres microbiologiques. Dans chaque cas, les Etats membres sont tenus de fixer des valeurs qui ne soient pas inférieures à celles stipulées comme normes impératives, mais ils sont évidemment libres d'en fixer de plus rigoureuses. Dans leurs législations nationales respectives, les quatre pays ont fixé pour les eaux de baignade des normes microbiologiques qui sont plus rigoureuses que les valeurs impératives de la CE. Pour les eaux conchylicoles, la Grèce et l'Espagne ont adopté les valeurs CE pour leurs normes microbiologiques, et la France et l'Italie ont fait de même (CE, 1995b), mais ces deux pays ont aussi un système de classement des eaux conchylicoles avec des normes plus sévères (WHO/UNEP, 1987).

4-5. Des normes et critères concernant les eaux à usage récréatif et les eaux conchylicoles sont pratiquement en vigueur dans tous les pays de la région bien que, notamment en ce qui concerne les eaux conchylicoles, ils diffèrent dans une large mesure quant au(x) microorganisme(s) surveillé(s) et aux concentrations admissibles pour chacun (WHO, 1989). Cela dit, même si des normes identiques étaient en vigueur dans l'ensemble de la Méditerranée, il serait pourtant difficile de procéder à une comparaison en raison des différences dans les techniques d'échantillonnage, les méthodes d'analyse et l'interprétation des résultats (Saliba et Helmer, 1990). En ce qui concerne les méthodes d'analyse, la moitié des pays de la région environ utilisent la méthode du nombre le plus probable (NPP) pour la détermination des principaux organismes indicateurs bactériens dans l'eau de mer, et l'autre moitié la méthode de filtration sur membrane (FM). Les deux méthodes ne sont pas tout à fait comparables, et les avis divergent quant aux avantages et inconvénients respectifs de chacune dans des conditions différentes. Sans parler de la technique proprement dite, les milieux de culture recommandés peuvent donner des résultats inattendus. Les méthodes utilisées pour l'analyse de l'eau de mer ont été tirées de celles que l'on utilisait pour l'eau potable, laquelle, à l'état salubre, est bactériologiquement pure. Les constituants de la flore bactérienne marine naturelle faussent

souvent les valeurs relevées et comme au sein de la Méditerranée elle-même les espèces bactériennes marines naturelles varient selon telle ou telle zone, il s'est avéré difficile de mettre au point des méthodes standard garanties pour donner en toute occasion les mêmes résultats. La comparaison de l'état de la pollution microbiologique des eaux côtières à usage récréatif et des eaux conchylicoles en des zones différentes de la région peut donc induire en erreur si elle se borne uniquement aux dénombrements relevés sans tenir compte des méthodes d'échantillonnage et d'analyse, sans parler du contrôle qualité (Saliba et Helmer, 1990).

4.1 DISPOSITIONS INTERNATIONALES S'APPLIQUANT AUX ZONES COTIERES A USAGE RECREATIF

4-6. Les toutes premières lignes directrices internationales applicables à la Méditerranée pour la qualité des eaux à usage récréatif ont été les recommandations de la réunion du Groupe de travail OMS sur les orientations et critères pour la qualité des plages et eaux côtières à usage récréatif qui s'est tenue à Bilthoven, Pays-Bas, en octobre/novembre 1974 (WHO, 1975). Ces recommandations sont généralement considérées comme la première prise de position officielle de l'Organisation sur cette question. Les lignes directrices et critères recommandés par ce Groupe portaient sur les caractéristiques microbiologiques, chimiques et esthétiques. En ce qui concerne les premières nommées, et en retenant comme postulat de base que, pour les concentrations bactériennes, leur variabilité au sein du milieu marin appelait un classement par ordres de grandeur plutôt que par chiffres détaillés, le Groupe de travail en était venu à l'idée de proposer des lignes directrices précises sur la base de la présence d'organismes indicateurs bactériens dans les eaux de baignade côtières: à savoir une valeur régulièrement obtenue de moins de 100 *Escherichia coli* par 100 ml pour les zones de baignade très satisfaisantes, et une valeur irrégulièrement obtenue de plus de 1000 *Escherichia coli* par 100 ml pour les eaux de baignade considérées comme acceptables. Ces propositions de lignes directrices furent généralement adoptées ensuite par un certain nombre de pays européens et méditerranéens, dont plusieurs ont intégré les normes recommandées dans leur législation et, tout aussi généralement, elles ont été appelées "Lignes directrices OMS" ou "Normes OMS" bien qu'elles n'eussent pas à proprement parler de caractère officiel (Saliba, 1993).

Normes et critères communs à la Méditerranée

4-7. Au cours de MED POL - Phase I, en 1977, l'OMS et le PNUE ont convoqué à Athènes un Groupe d'experts dans le cadre du projet pilote MED VII relatif au contrôle de la qualité des eaux côtières, afin d'amorcer une étude scientifique concernant les critères sanitaires et des études épidémiologiques portant sur la pollution des eaux côtières. La réunion avait notamment pour objet d'examiner les facteurs épidémiologiques sur lesquels fonder des normes de qualité pour les eaux côtières à usage récréatif et autre. Après avoir examiné les données disponibles, le Groupe a conclu qu'on ne disposait pas encore d'éléments épidémiologiques suffisants pour justifier des recommandations visant à modifier les lignes directrices proposées en 1974 par le Groupe de travail OMS de Bilthoven. Le Groupe d'experts a néanmoins considéré que s'il pouvait paraître justifié, pour le contrôle de la qualité de l'eau, de continuer à se fonder sur la norme moins stricte de 1000 *Escherichia coli* par 100 ml, la norme plus stricte de 100 *Escherichia coli* par 100 ml devant être retenue pour les nouvelles installations récréatives ainsi que pour les décisions à long terme sur la qualité de l'eau mettant en jeu de gros investissements. Le Groupe d'experts estimait également que la limite précitée de 1000

Escherichia coli par 100 ml devait être mieux définie au plan statistique et il recommandait que "pas plus de 10% au moins de dix échantillons consécutifs prélevés durant la saison de baignade devaient dépasser 1000 *Escherichia coli* par 100 ml" (WHO/UNEP, 1977).

4-8. A la suite de nouvelles réunions d'experts organisées dans le cadre du projet pilote MED VII, on a estimé que, dans les conditions climatiques et autres de la baignade en Méditerranée, la valeur plus rigoureuse de Bilthoven serait une norme plus raisonnable. On a pareillement estimé qu'il fallait plus d'un indicateur bactérien. Après examen soigneux de toutes les données scientifiques et des normes en vigueur dans les divers pays, il a été conclu que les eaux de baignade côtières de la Méditerranée pourraient être considérées comme satisfaisantes et d'un usage sûr pour le grand public si les concentrations de coliformes fécaux (CF) et de streptocoques fécaux (SF) dans au moins 10 échantillons d'eau représentatifs prélevés durant la saison de baignade à des intervalles ne dépassant pas 14 jours n'étaient pas supérieurs à 100 coliformes fécaux ou à 100 streptocoques fécaux par 100 ml dans 50% des échantillons et à 1000 coliformes fécaux ou à 1000 streptocoques fécaux dans 90% des échantillons. Il était en outre conclu que les concentrations de coliformes fécaux et de streptocoques fécaux devaient être déterminées au moyen de méthodes de référence agréées, ou par des méthodes donnant des résultats comparables sur la base d'exercices d'interétalonnage avec les méthodes de référence correspondantes.

4-9. Compte tenu de ce qui précède, l'OMS et le PNUE ont officiellement proposé aux Parties contractantes, pour adoption sur une base conjointe, des critères provisoires de qualité du milieu pour les eaux récréatives. Les propositions devaient avoir un caractère provisoire en attendant l'acquisition de données épidémiologiques suffisamment solides sur la corrélation entre la qualité de l'eau et les effets sur la santé qui permettraient alors de proposer des normes "permanentes". Les propositions de normes provisoires figurent sur le tableau 4.1.1. Les Parties contractantes n'ont retenu comme critère qu'un seul organisme indicateur bactérien, les coliformes fécaux. La méthode d'analyse a été également modifiée de manière à intégrer à la fois les méthodes de filtration sur membrane (FM) et du nombre le plus probable (NPP). Les critères provisoires adoptés par les Parties contractantes figurent sur le tableau 4.1.2. La décision correspondant à la mesure adoptée s'y référait comme à une mesure prise pour une période transitoire qui garantirait, au titre de prescription minimale commune, que la qualité des eaux de baignade satisferait aux critères OMS/PNUE de qualité du milieu concernant les coliformes fécaux. En fait, les critères adoptés ne pouvaient plus être appelés "critères OMS/PNUE" puisque ces derniers reposaient sur deux paramètres et non sur un. La décision énonçait aussi que, pendant la période de transition, les Parties contractantes qui avaient déjà des normes continueraient à les appliquer sans modifier leur législation et qu'elles procéderaient à des études comparatives entre leurs propres normes et les critères OMS/PNUE. On ne dispose jusqu'ici d'aucun renseignement selon lesquels tel ou tel pays aurait réalisé des études de cette nature.

Normes de la Communauté européenne

4-10. La directive de la Communauté européenne concernant la qualité des eaux de baignade (CE, 1976), qui s'applique donc notamment à ses quatre pays membres méditerranéens, contient à la fois des paramètres microbiologiques et physico-chimiques. Les premiers sont reproduits sur le tableau 4.1.3. Il y a deux ensembles de normes: valeurs

TABLEAU 4.1.1

**CRITERES PROVISOIRES DE QUALITE DU MILIEU POUR LES EAUX
A USAGE RECREATIF PROPOSES PAR L'OMS ET LE PNUE EN 1985**

Paramètre	Concentrations par 100 ml à ne pas dépasser 50% 90% des échantillons		Nombre minimal d'échantillons	Méthode analytique	Méthode d'interprétation
Coliformes fécaux	100	1000	10	Filtration sur membrane, bouillon ou gélose m-FC incubation à 44,5±0,2°C pendant 24h	Ajustement graphique ou analytique à une distribution de probabilité log-normale
Streptocoques fécaux	100	1000	10	Filtration sur membrane, gélose M- <i>Enterococcus</i> incubation à 35±0,5°C pendant 48 h	

TABLEAU 4.1.2

**CRITERES PROVISOIRES DE QUALITE DU MILIEU POUR LES EAUX
A USAGE RECREATIF ADOPTES PAR LES PARTIES CONTRACTANTES EN 1985**

Paramètre	Concentrations par 100 ml à ne pas dépasser 50% 90% des échantillons		Nombre minimal d'échantillons	Méthode analytique	Méthode d'interprétation
Coliformes fécaux	100	1000	10	OMS/PNUE, Méthode de Référence No. 3. "Détermination des coliformes fécaux dans l'eau de mer par la méthode de culture de filtration sur membrane" ou OMS/PNUE, Méthode de référence No. 22. "Détermination des coliformes fécaux dans l'eau de mer par la méthode des tubes à essai multiples".	Ajustement graphique ou analytique à une distribution de probabilité log-normale

TABLEAU 4.1.3

**QUALITE REQUISE DES EAUX DE BAINADE EN VERTU DE LA DIRECTIVE
DU CONSEIL CEE/76/16 DU 8 DECEMBRE 1975**

(d'après CE, 1976)

Paramètres	Valeur guide	Valeur obligatoire	Fréquence d'échantillonnage minimale	Méthode d'analyse ou d'inspection
Coliformes fécaux par 100 ml	500	10 000	bimensuelle (1)	Fermentation en tubes multiples. Repiquages des tubes positifs sur milieu de confirmation. Dénombrement selon NPP (nombre le plus probable) ou filtration sur membrane et culture sur milieu approprié tel que gélose lactosé au tergitol, gélose d'endo, bouillon au teepol 0,4%, repiquage et identification des colonies suspectes.
Coliformes fécaux par 100 ml	100	2 000	Bimensuelle (1)	Dans le cas des coliformes, température d'incubation variable, selon que l'on recherche les coliformes totaux ou les coliformes fécaux.
Streptocoques fécaux par 100 ml	100	--	(2)	Méthode de Litsky. Dénombrement selon NPP (nombre le plus probable) ou filtration sur membrane. Culture sur milieu approprié.
Salmonelles par litre	--	0	(2)	Concentration par filtration sur membrane. Inoculation sur milieu type. Enrichissement, repiquage sur gélose d'isolement, identification.
Entérovirus PFU par 10 litres	--	0	(2)	Concentration par filtration, floculation ou centrifugation et confirmation.

- (1) Lorsqu'un échantillonnage effectué au cours des années précédentes a donné des résultats sensiblement plus favorables que ceux prévus à la présente annexe et lorsqu'aucune condition susceptible d'avoir diminué la qualité des eaux n'est intervenue, la fréquence d'échantillonnage peut être réduite d'un facteur 2 par les autorités compétentes.
- (2) Ces paramètres doivent être vérifiés par les autorités compétentes lorsqu'il y a tendance à l'eutrophisation des eaux.

obligatoires ou impératives (I), représentant la base minimale que peuvent utiliser les Etats membres quand ils fixent leurs normes nationales, et les valeurs guides (G) plus sévères que les Etats membres s'engagent à observer comme lignes directrices. L'article 7 de la directive comporte une disposition qui interdit de ramener des normes plus strictes déjà en vigueur aux normes impératives. Le paragraphe 1 de l'article stipule que l'application des dispositions prises en vertu de la directive ne peut en aucun cas avoir pour effet de permettre d'accroître directement ou indirectement la dégradation de la qualité actuelle des eaux de baignade. Dans le cas des paramètres obligatoires, les eaux de baignade sont réputées conformes à chaque paramètre pertinent si 90% des échantillons sont conformes à la valeur requise. Dans le cas des paramètres guides, le degré de conformité à ces normes plus sévères requises est de 80% pour les coliformes totaux et les coliformes fécaux - en plus d'une conformité de 90% aux valeurs impératives - et de 90% pour les streptocoques fécaux.

4.11. Une proposition de directive du Conseil concernant la qualité des eaux de baignade visant à remplacer la directive de 1975 a été récemment publiée (CE, 1994b). Les nouveaux paramètres microbiologiques figurent sur le tableau 4.1.4. Ils font partie du tableau 1 de l'annexe à la proposition de directive. Les principaux points à noter sont les suivants: a) le paramètre des coliformes totaux a été supprimé, ce qui est compréhensible puisque sa valeur est sujette à caution; b) les coliformes fécaux ont été remplacés par *Escherichia coli*, les normes guides et impératives étant maintenues à 100 et 2000 respectivement par 100 ml, comme pour les coliformes fécaux. Mais en fait, comme *Escherichia coli* fait partie du groupe des coliformes fécaux, le maintien des mêmes chiffres représente en quelque sorte un assouplissement, les limites supérieures s'appliquant désormais à une seule espèce et non plus à l'ensemble du groupe; c) la valeur guide pour les streptocoques fécaux reste la même, mais une norme impérative de 400 par 100 ml a été introduite; d) le paramètre des salmonelles a également été supprimé de l'annexe technique; et e) un nouveau paramètre est introduit, les bactériophages, mais avec des valeurs qui restent à fixer. Il est prévu que ces normes pour les bactériophages seront introduites dès que l'on disposera des données scientifiques nécessaires.

4-12. Les tableaux 2 et 3 de l'annexe de la proposition de nouvelle directive indiquent le nombre d'échantillons qui peuvent ne pas satisfaire aux normes impératives et guides respectivement, autrement dit le degré de conformité requis. En fait, la conformité requise pour les valeurs impératives n'a été maintenue à 90% que si plus de 59 échantillons sont prélevés. Sinon, la tolérance est de 0 échantillon jusqu'à 19 échantillons, de 1 pour 20 à 39 échantillons, et de 2 pour 40 à 50 échantillons. Par conséquent, en pratique, comme il est rare que les stations balnéaires soient échantillonnées plus de 19 fois dans l'année, c'est une conformité de 100% qui est requise pour les normes impératives. Dans le cas des normes guides, le nombre d'échantillons que l'on autorise à dépasser la norme augmente de 1 chaque fois que l'on prélève cinq échantillons supplémentaires. La tolérance est de 0 jusqu'à 4 échantillons prélevés en un an à une station, elle est de 1 pour 5 à 9 échantillons, de 2 pour 10 à 14 échantillons et ainsi de suite jusqu'à 11 pour 50 à 59 échantillons. Au delà, la tolérance est de 20% (ou une conformité de 80%). En pratique, la conformité est maintenue à 80% pour les stations où les échantillonnages sont pratiqués à une fréquence multiple de 5, autrement elle est plus stricte. Dans le cas des streptocoques fécaux, qui rentrent également dans cette catégorie, la conformité requise à la valeur guide a été abaissée par rapport au taux de 90% prescrit dans la directive de 1976, bien que cela soit compensé par la conformité requise de 95% à la nouvelle valeur impérative. Les deux tableaux indiquant la conformité requise sont repris sur le tableau 4.1.5.

TABLEAU 4.1.4

**QUALITE REQUISE DES EAUX DE BAINNADE
D'APRES LA PROPOSITION DE DIRECTIVE DU CONSEIL CEE DE 1994
(d'après CE, 1994a)**

Paramètre	Valeur guide	Valeur impérative	Fréquence d'échantillonnage minimale	Méthode d'analyse ou d'inspection
<i>Escherichia coli</i> par 100 ml	100	2 000	bimensuelle	Incubation à 44°C. Fermentation en tubes multiples. Repiquages des tubes positifs sur milieu de confirmation. Dénombrement selon le NPP (nombre le plus probable) ou filtration sur membrane et culture sur milieu approprié tel que gélose lactosée au tergitol, gélose d'endo, bouillon au teepol 0,4%, repiquage et identification des colonies suspectes.
Streptocoques fécaux par 100 ml	100	400 (1)	bimensuelle	Méthode de Litsky avec incubation à 37°C. Dénombrement selon le NPP (nombre le plus probable) ou filtration sur membrane. Culture sur milieu approprié.
Entérovirus PFU par 10 litres (2)	--	0	mensuelle	Concentration par filtration, par floculation ou par centrifugation, et confirmation
Bactériophages nbre par 100 ml				

- (1) Dans le cas de valeurs maximales anormales, les Etats membres peuvent, dans un délai de 2 jours ouvrables, vérifier à nouveau ce paramètre. Si ce nouvel examen donne une valeur normale, la valeur maximale peut être écartée. La Commission sera informée du nombre de valeurs maximales écartées pour chaque zone de baignade.
- (2) Ce paramètre doit être vérifié tous les quinze jours avant l'ouverture de la saison de baignade. Si, au cours des deux saisons de baignade précédentes, l'eau de baignade a satisfait à la valeur G pour *Escherichia coli* et à la valeur I pour les streptocoques fécaux, sur la base des tableaux 3 et 2 respectivement, et si l'eau de baignade ne reçoit pas de rejets d'eaux usées ayant subi un traitement chimique, le paramètre doit alors être vérifié une nouvelle fois. Cette mesure doit être effectuée au milieu de la saison de baignade.

4-13. On a donc affaire à deux normes internationales différentes pour les eaux à usage récréatif en Méditerranée: les mesures communes adoptées en 1985 qui s'appliquent à l'ensemble de la région, et la directive CEE de 1976 qui s'applique à quatre pays représentant à eux seuls une partie considérable de la rive Nord de la Méditerranée. La disposition des mesures communes prévoyant que les pays qui possèdent déjà leurs propres normes ne sont pas tenus de modifier leur législation conduit à distinguer trois situations différentes selon les pays: a) ceux qui observent les normes CEE tout en mettant en vigueur, dans leur législation nationale, diverses mesures qui sont plus rigoureuses; b) ceux qui observent les normes communes méditerranéennes de 1985; et c) ceux qui ont une législation indépendante reposant sur l'une ou l'autre des deux types de mesures ou, dans un cas au moins, sur les recommandations OMS de Bilthoven de 1975.

TABLEAU 4.1.5

CONFORMITE REQUISE DE LA QUALITE MICROBIOLOGIQUE DES EAUX DE BAINNADE D'APRES LA PROPOSITION DE DIRECTIVE DU CONSEIL CEE DE 1994

(d'après CE, 1994b)

Nombre d'échantillons prélevés et analysés	Nombre maximal ne nécessitant pas d'être conformes à la valeur I
jusqu'à 19 inclus	0
20 à 39 inclus	1
40 à 59 inclus	2
plus de 59	5% du nombre d'échantillons

Nombre d'échantillons prélevés et analysés	Nombre maximal ne nécessitant pas d'être conformes à la valeur G
jusqu'à 4 inclus	0
5 à 9 inclus	1
10 à 14 inclus	2
15 à 19 inclus	3
20 à 24 inclus	4
25 à 29 inclus	5
30 à 34 inclus	6
35 à 39 inclus	7
40 à 44 inclus	8
45 à 49 inclus	9
50 à 54 inclus	10
55 à 59 inclus	11
Plus de 59	20% du nombre d'échantillons

4.2 DISPOSITIONS NATIONALES S'APPLIQUANT AUX ZONES COTIERES A USAGE RECREATIF

4-14. Bien que tous les pays méditerranéens aient depuis longtemps des mécanismes de réglementation visant à assurer un contrôle rigoureux de la qualité de l'eau de boisson, dans le cas des eaux à usage récréatif la situation n'a pas encore atteint ce niveau d'organisation, du moins en ce qui concerne l'application effective. De plus, en dehors de la diversité des normes de qualité adoptées, on constate une variabilité similaire dans la position que ces normes occupent au sein des cadres législatifs nationaux, en d'autres termes selon qu'elles sont intégrées dans une législation principale ou subsidiaire, ou bien qu'elles sont fixées et mises en vigueur par des procédures administratives prescrites dans une législation du type loi-cadre. Cette dernière pratique, qui a désormais disparu par suite de l'adhésion à des instruments juridiques internationaux exigeant normalement que les normes soient fixées par une loi, ménageait incontestablement une plus grande souplesse d'adaptation aux évolutions. Cela mis à part, tout ce qui devient norme dans les législations nationales - non seulement les normes proprement dites mais tous les aspects qui s'y rattachent comme la fréquence d'échantillonnage, les méthodes d'analyse et d'interprétation des résultats, etc. - est prescrit par la loi elle-même. Si cette solution est souhaitable pour diverses raisons, elle soulève des problèmes quand la législation demande à être actualisée ou modifiée, notamment quand la procédure nationale qui est à suivre pour introduire des modifications est (comme c'est souvent le cas) plus ou moins astreignante (Saliba, 1993).

4-15. Les traits saillants des législations nationales et des mesures connexes concernant la qualité des eaux à usage récréatif dans les divers pays méditerranéens sont récapitulés aux paragraphes suivants. Ce panorama n'est pas tout à fait complet, les renseignements relatifs à certains pays n'étant toujours pas disponibles au moment où a été achevé le présent document.

Albanie

4-16. Jusqu'en 1988, l'Albanie utilisait les recommandations OMS de Bilthoven de 1974 comme base d'évaluation de la qualité des eaux à usage récréatif dans le cadre de la législation de la santé publique. Des normes plus précises concernant la qualité des eaux de baignade ont été instituées par un règlement ministériel en 1989. Selon ce règlement:

on ne devrait pas déceler la présence de microorganismes pathogènes;

Escherichia coli ne devrait généralement pas être présent à des concentrations supérieures à 200-400 par 100 ml d'eau.

Croatie

4-17. En Croatie, la qualité des eaux côtières est régie par l'ordonnance sur les eaux de mer servant à la baignade et aux usages récréatifs (Journal officiel croate 48/86) qui réglemente les modalités du contrôle de l'eau de mer pour la baignade et les loisirs, tandis que les autorités locales sont tenues de spécifier les zones marines destinées à ces usages ainsi que de fournir tous les détails sur les sites et sur les points d'échantillonnage. L'ordonnance prescrit d'effectuer des échantillonnages tout au long de la saison de baignade (de mai à octobre) à raison de deux par mois.

4-18. Les normes, qui sont identiques aux valeurs guides de la directive CEE de 1975 concernant les eaux de baignade, sauf la tolérance de 0 pour les coliformes fécaux, sont les suivantes:

- 100% des échantillons analysés ne doivent pas dépasser 500 coliformes totaux par 100 ml;
- 80% des échantillons analysés ne doivent pas dépasser 100 coliformes fécaux par 100 ml;
- 80% des échantillons analysés ne doivent pas dépasser 100 streptocoques fécaux par 100 ml.

Chypre

4-19. Il n'existe pas de normes prescrites par la législation en ce qui concerne la qualité des eaux de baignade. Les normes adoptées par les Parties contractantes en 1985 sont appliquées. Depuis janvier 1995, Chypre participe à un projet pilote du programme européen "Pavillon Bleu". Les normes de la directive CEE 1975 servent à l'évaluation des eaux de baignade dans le cas des plages candidates au Pavillon Bleu.

France

4-20. La législation française repose sur la directive CEE de 1975 concernant les eaux de baignade. Sur la base des valeurs limites qui y figurent, les autorités françaises assignent quatre catégories aux eaux de baignade:

- A. eau de bonne qualité
- B. eau de qualité moyenne
- C. eau pouvant être momentanément polluée
- D. eau de mauvaise qualité.

4-21. La catégorie A est attribuée aux stations surveillées à la fréquence requise et satisfaisant aux valeurs guides CEE pour les trois paramètres indicateurs (coliformes totaux, coliformes fécaux et streptocoques fécaux). La catégorie B est attribuée aux stations qui satisfont à la fréquence requise et aux valeurs CEE impératives pour les coliformes totaux et les coliformes fécaux. La catégorie C est attribuée aux stations qui dépassent les valeurs CEE impératives sur 5 à 33% du temps. La catégorie D est attribuée aux stations où une au moins des valeurs impératives des paramètres est dépassée sur 33% du temps. Toute zone classée dans la catégorie D pendant deux années consécutives doit être interdite à la baignade.

Grèce

4-22. La législation grecque prescrit des normes basées sur la directive CEE de 1975, mais les échantillons doivent être conformes à la fois aux valeurs guides et aux valeurs impératives, qui sont identiques à celles de la directive, sauf pour les coliformes fécaux dont la valeur impérative est fixée en Grèce à 500 par 100 ml (contre 2000 dans la directive). Pour les streptocoques fécaux, la valeur guide de 100 CFU par 100 ml est la valeur impérative aux termes de la législation grecque.

Israël

4-23. Selon la législation israélienne, la qualité de l'eau de mer aux plages de baignade doit, entre autres, être conforme aux dispositions ci-après:

La moyenne géométrique des tests sur l'eau de mer prélevée au cours de la saison à la plage de baignade ne doit pas dépasser 200 coliformes fécaux par 100 ml, et la valeur de 400 coliformes fécaux ne doit pas être dépassée dans plus de 20% de tous les échantillons.

Si l'on dénombre plus de 400 coliformes fécaux dans un échantillon, un test complémentaire doit être pratiqué 24 à 48 h après que sont connus les résultats de l'échantillon en cause. Le test complémentaire porte sur trois échantillons d'eau de mer prélevés en trois points différents le long de la plage concernée.

Si un ou plusieurs des échantillons du test complémentaire donnent un résultat dépassant 400 coliformes fécaux, une inspection sanitaire a lieu pour localiser la source de contamination.

Si les résultats du test complémentaire font ressortir un danger pour la santé publique, le ministère de la Santé interdit la baignade à la plage concernée jusqu'à ce que l'inspection sanitaire ait eu lieu et que la source de contamination ait été supprimée. L'inspection sanitaire peut comporter des tests, si le ministère de la Santé l'exige.

4-24. La législation définit également les conditions dans lesquelles la baignade publique est interdite. Ces conditions comprennent la non conformité de l'eau de mer aux normes de qualité stipulées.

Italie

4-25. La législation italienne repose sur la directive CEE de 1975 concernant les eaux de baignade, mais elle est plus sévère dans la mesure où les normes nationales sont fixées à 2000 coliformes totaux (au lieu de la valeur impérative de 10.000) par ml et sont équivalentes aux valeurs guides CEE pour les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux (100 par 100 ml dans l'un et l'autre cas).

Libye

4-26. Des normes nationales pour les eaux à usage récréatif sont en vigueur en Libye depuis 1977 et elles reposent sur les valeurs limites de 100 coliformes totaux par 100 ml et de 100 coliformes fécaux par 100 ml, la conformité requise étant de 100% dans les deux cas. Ces normes sont présentement en cours de révision et, en attendant la mise au point des nouvelles normes nationales, la Libye observe les normes adoptées par les Parties contractantes en 1985.

Malte

4-27. Il n'existe pas à Malte de normes spécifiquement prescrites pour la qualité des eaux de baignade. Le contrôle est exercé par le Département de la santé en vertu de la législation générale sur la santé publique, et aux termes de celle-ci la baignade est interdite dans toute zone dont le Surintendant de santé publique juge qu'elle constitue un danger pour la santé publique. Pour l'évaluation de la qualité des eaux de baignade, ce sont les normes adoptées par les Parties contractantes qui servent de base. Les stations balnéaires sont également classées comme suit:

première classe:	stations présentant un dénombrement de coliformes fécaux inférieur à 100 par 100 ml dans 95% ou plus des échantillons;
deuxième classe:	stations satisfaisant aux normes de 1985 (50% des échantillons ayant moins de 100 coliformes fécaux par 100 ml, et 90% moins de 1000 par 100 ml) sur l'ensemble de la période de baignade;
troisième classe:	stations satisfaisant aux normes de 1985 sur une base saisonnière et non mensuelle;
quatrième classe:	stations ne pouvant satisfaire aux normes sur l'ensemble de la période de baignade de quatre mois.

La baignade est momentanément interdite à toute plage où le dénombrement des coliformes fécaux dépasse 1000 par 100 ml sur n'importe quelle période.

Maroc

4-28. Les normes nationales en vigueur sont celles adoptées par les gouvernements méditerranéens en 1985 (50% des échantillons ne doivent pas dépasser 100 coliformes fécaux par 100 ml, et 90% 1000 par 100 ml). Les plages sont classées en cinq catégories en fonction des concentrations de coliformes totaux et de coliformes fécaux par 100 ml:

classe I:	bonne qualité	< 500 CT	+	< 100 CF
classe II:	qualité moyenne	500 < 2500 CT	+	100 < 500 CF
classe III:	qualité médiocre	2500 < 5000 CT	+	500 < 1000 CF
classe IV:	mauvaise qualité	5000 < 10000 CT	+	1000 < 2000 CF
classe V:	impropre	> 10000 CT	+	> 2000 CF

Slovénie

4-29. En Slovénie, le contrôle de la qualité des eaux de baignade est effectué aux termes de l'ordonnance de 1988 concernant les eaux de baignade. Les normes reposent généralement sur la directive CEE de 1975.

Espagne

4-30. La législation espagnole se fonde sur la directive CEE de 1975 et classe les eaux de baignade en trois catégories de qualité:

- A. stations satisfaisant à la fois aux valeurs impératives et aux valeurs guides pour chaque paramètre mesuré ou évalué;
- B. stations satisfaisant aux valeurs impératives pour chaque paramètre mesuré ou évalué;
- C. stations ne satisfaisant pas aux valeurs guides pour un ou plusieurs des paramètres mesurés ou évalués.

Tunisie

4-31. La législation tunisienne sur la qualité des eaux de baignade intègre des normes basées sur les valeurs de la directive CEE de 1975, et les limites impératives sont de 500 coliformes totaux par 100 ml, de 100 coliformes fécaux par 100 ml et de 100 streptocoques fécaux par 100 ml. Le classement adopté est le suivant: stations de bonne qualité si, sur la base d'au moins 10 échantillonnages par an, 80% des échantillons répondent aux limites fixées pour les coliformes totaux et les coliformes fécaux, et 90% à la limite fixée pour les streptocoques fécaux.

Turquie

4-32. Aux termes de la législation turque, les normes pour l'eau de mer servant à des fins récréatives sont généralement fixées d'après la directive CEE de 1975 et comportent des paramètres microbiologiques et physico-chimiques. Les paramètres microbiologiques sont:

coliformes totaux (NPP/100 ml)	1000
coliformes fécaux (NPP/100 ml)	200

La Turquie applique aussi les critères de qualité de l'opération "Pavillon Bleu" dont les paramètres microbiologiques ont pour normes les valeurs guides de la directive CEE de 1975 (500 coliformes fécaux par 100 ml, 100 coliformes fécaux par 100 ml et 100 streptocoques fécaux par 100 ml).

4.3 DISPOSITIONS INTERNATIONALES S'APPLIQUANT AUX ZONES CONCHYLICOLES

4-33. Au début de la Phase I du programme MED POL, il n'existait aucun accord sur la qualité des eaux conchylicoles dans la zone de la mer Méditerranée (PNUE/OMS, 1985). Une proposition de projet de code d'hygiène pour les coquillages a été élaborée par la Commission du Codex alimentarius (1978). L'appendice III du projet de code énonçait des recommandations générales sur les conditions de salubrité de l'environnement, et notamment le classement, le contrôle et le reclassement des zones conchylicoles. Dans le même appendice, une liste des normes et méthodes microbiologiques employées alors dans plusieurs pays développés ne comprenait que deux pays méditerranéens: la France et l'Italie. Selon la situation qui régnait à l'époque, des programmes efficaces de contrôle des coquillages étaient appliqués depuis de nombreuses années dans un certain nombre de pays en recourant à une vaste gamme de

normes et de méthodes bactériologiques, mais dans le même temps il était pratiquement impossible de parvenir à un accord sur un ensemble donné de normes et de méthodes (PNUE/OMS, 1985).

Normes méditerranéennes communes

4-34. Au cours du projet pilote sur le contrôle de la qualité des eaux côtières (MED VII), on s'est employé à harmoniser la méthodologie en mettant au point des méthodes microbiologiques dont l'usage convenait au milieu marin de la Méditerranée. Plusieurs de ces méthodes étaient au point à la fin du projet pilote, dont celles portant sur la détermination des concentrations des principaux indicateurs bactériens dans l'eau de mer et les coquillages (WHO/UNEP, 1981).

4-35. Dans le cadre du même projet pilote, un séminaire sur la surveillance de la qualité des eaux côtières à usage récréatif et des zones conchylicoles a été organisé à Rome, en avril 1978, par l'OMS et le PNUE (WHO/UNEP, 1978). S'agissant de la surveillance des mollusques et des eaux conchylicoles, les participants au séminaire estimèrent que les deux premières phases de l'évaluation de la qualité des coquillages (la zone d'élevage et le coquillage dans son environnement naturel) devaient être conformes à des limites microbiologiques appropriées, étant entendu que, pour une évaluation complète de la qualité du coquillage comme produit alimentaire, il fallait également les examiner aux phases du traitement ultérieur (transport, transformation et commercialisation). Les participants approuvèrent également les recommandations formulées antérieurement la même année par un groupe de travail OMS/PNUE, et selon lesquelles, pour les coquillages, seule la chair - et non pas la chair plus le liquide intervalvaire - devait servir à l'analyse microbiologique. Le séminaire recommandait des normes provisoires pour les eaux conchylicoles sur la base de concentrations de coliformes fécaux dans l'eau proprement dite et, pour les coquillages, sur la base de concentrations de coliformes fécaux dans la chair. Ces recommandations furent reconduites par une réunion des chercheurs responsables du projet pilote MED VI convoquée Rome, en novembre 1979, par l'OMS et le PNUE, et au cours de laquelle l'un des sujets débattus fut l'élaboration de critères microbiologiques provisoires (WHO/UNEP, 1980).

4-36. Sur la base des recommandations précitées et compte tenu de la situation concernant les critères nationaux pour les mollusques et les eaux conchylicoles qui avait cours à l'époque dans les pays méditerranéens, l'OMS et le PNUE soumirent officiellement aux Parties contractantes des propositions concernant des critères microbiologiques à adopter en commun en Méditerranée: a) pour les eaux conchylicoles, et b) pour les coquillages. Comme dans le cas des eaux à usage récréatif, du fait que des limites numériques y étaient incluses, il s'agissait en fait de propositions de normes. Ces propositions sont reproduites sur le tableau 4.3.1. Comme on l'a déjà indiqué précédemment, ces propositions n'ont pas été approuvées par les Parties contractantes à leur réunion ordinaire de 1985. L'ensemble de la question a été revu en détail lors d'une consultation sur les critères de qualité du milieu pour les eaux conchylicoles et les coquillages en Méditerranée que l'OMS et le PNUE ont tenue à Athènes en mars 1987 (WHO/UNEP, 1987). Après avoir examiné la situation sous tous ses angles, la réunion a recommandé que, pour l'évaluation de la qualité microbiologique des eaux, les mollusques eux-mêmes soient pris en compte, et que, pour la détermination des paramètres microbiologiques, on accorde la préférence à l'analyse de l'ensemble "chair plus liquide intervalvaire" plutôt que de la chair seule. Le critère des coliformes fécaux était maintenu, et la norme proposée était de 300 par 100 ml dans au moins 75% des échantillons. La question des normes pour les

coquillages destinés à la consommation était laissée de côté. Cette proposition a été adoptée par les Parties contractantes à leur réunion de 1987 (PNUE, 1987), et les dispositions pertinentes en vigueur de la résolution afférente sont reproduites sur le tableau 4.3.2. En fait, les critères et normes adoptés sont pratiquement identiques au volet microbiologique de la directive CEE de 1979, à la seule différence près que cette dernière prescrivait l'analyse de la chair et du liquide intervalvaire alors que la mesure méditerranéenne approuvée, tout en privilégiant cette même analyse, permettait également l'analyse de la chair seule.

Normes de la Communauté européenne

4-37. Le directive du Conseil (CEE) 79/9237 du 30 octobre 1979 (CE, 1979) a été émise afin de protéger et d'améliorer la qualité des eaux conchylicoles au sein de la Communauté, et elle est applicable aux quatre Etats membres méditerranéens (Espagne, France, Grèce, Italie). La définition d'objectifs de qualité pour les eaux conchylicoles vise à protéger le développement des peuplements de coquillages contre les principales sources de pollution. La directive souligne qu'elle ne peut à elle seule assurer la protection des consommateurs de produits conchylicoles et qu'il est donc nécessaire de prendre d'autres mesures à cet effet. C'est dans cet esprit que le Conseil a adopté la directive (CEE) 91/492 du 15 juillet 1991 qui énonce les conditions de salubrité pour la production et commercialisation des mollusques bivalves vivants. Les éléments microbiologiques et connexes de la directive de 1979 figurent sur le tableau 4.3.3.

4-38. Contrairement au cas des eaux de baignade, les deux accords internationaux portant sur les eaux conchylicoles en Méditerranée (la directive CEE de 1979, qui s'applique directement aux quatre pays membres et sert de modèle aux autres, et les mesures méditerranéennes communes de 1987 qui s'appliquent à tous les pays) sont pratiquement identiques quant à leurs prescriptions microbiologiques.

Biotoxines algales dans les coquillages

4-39. Il n'existe pas à ce jour en Méditerranée de législation concernant spécifiquement les biotoxines algales dans les coquillages. La directive CEE de 1979 mentionne la saxitoxine parmi les paramètres mais sans lui assigner de valeurs. Dans plusieurs pays, le contrôle s'effectue dans le cadre de la législation générale en matière de santé publique qui stipule que les mollusques/crustacés contaminés sont impropres à la consommation. Les législations internationale et nationales portant sur divers aspects de la prévention et de la lutte contre la pollution marine énoncent les moyens de réduire les rejets contribuant ou susceptibles de contribuer à l'apparition des proliférations d'algues.

4.4 DISPOSITIONS NATIONALES S'APPLIQUANT AUX ZONES CONCHYLICOLES

4-40. Les traits saillants des législations nationales et des mesures connexes concernant la qualité des eaux conchylicoles et des coquillages dans les divers pays méditerranéens sont récapitulés aux paragraphes suivants. De même que pour les eaux à usage récréatif, ce panorama n'est pas tout à fait complet, les renseignements relatifs à certains pays n'étant toujours pas disponibles au moment où a été achevé le présent document.

TABLEAU 4.3.1

**CRITERES DE QUALITE PROVISOIRES PROPOSES PAR L'OMS ET LE PNUE
EN 1985 POUR LES COQUILLAGES ET LES EAUX CONCHYLICOLES
EN MER MEDITERRANEE**

EAUX CONCHYLICOLES

Paramètre	Concentration par 100 ml à ne pas dépasser sur 50% 100% du temps	Fréquence minimale d'échantillonnage	Méthode d'analyse	Méthode d'interprétation
Coliformes fécaux	10 100	en hiver: mensuelle en été: bimensuelle	Filtration sur membrane, avec bouillon m-CF ou gélose, incubation à 44,5±0,2EC pendant 24 h	Ajustement graphique ou analytique à une distribution de probabilité log-normale

CHAIR DES COQUILLAGES

Paramètre	Concentrations par gramme de chair	Fréquence minimale d'échantillonnage	Méthode d'analyse	Méthode d'interprétation
Coliformes fécaux	2: vente autorisée entre 3 et 10: vente provisoirement interdite au-delà de 10: vente interdite	en hiver: mensuelle en été: bimensuelle	Fermentation sur tubes multiples et dénombrement selon NPP. Bouillon de MacConkey incubé à 36±0,5EC pendant 24h puis à 44,5±0,2EC pendant 24h.	Par résultats individuels ou ajustement graphique à une distribution de probabilité log-normale

TABLEAU 4.3.2

CRITERES POUR LES EAUX CONCHYLICOLES PROPOSES PAR L'OMS ET LE PNUE ET ADOPTES PAR LES PARTIES CONTRACTANTES EN 1987

DISPOSITIONS EN VIGUEUR

1. Adoption, au titre de prescription commune minimale pour la qualité des eaux conchylicoles, des critères provisoires de qualité du milieu proposés par l'OMS et le PNUE, ainsi qu'ils sont précisés aux points 2 et 3 ci-dessous.
2. Aux fins de ces critères, on entend par "eaux conchylicoles" les eaux côtières et saumâtres dans lesquelles vivent des coquillages (mollusques bivalves et gastropodes).
3. Recours à ce qui suit dans l'application de ces critères:
 - pour l'évaluation de la qualité microbiologique des eaux côtières, les coquillages eux-mêmes sont pris en compte;
 - pour la détermination des paramètres microbiologiques, la préférence est donnée à l'analyse de la chair et du liquide intervalvaire des coquillages plutôt qu'à celle de la chair seule;
 - les résultats de l'analyse de la qualité microbiologique sont exprimés en nombre de coliformes fécaux relevés par 100 ml (CF/100 ml);
 - la méthode d'analyse utilisée est l'incubation à $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ avec fermentation sur substrat liquide pendant 24 à 48 heures, suivie d'un test de confirmation à $44\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ pendant 24 heures. Le dénombrement est effectué selon la méthode du nombre le plus probable (NPP);
 - la concentration de coliformes fécaux doit être inférieure à 300 par 100 ml de chair et liquide intervalvaire ou de chair seule de coquillages dans au moins 75% des échantillons, sur la base d'une fréquence minimale trimestrielle d'échantillonnage.

TABLEAU RECAPITULATIF

Matrice	Coquillages
Paramètre	Coliformes fécaux
Concentration	Moins de 300 par ml de chair + liquide intervalvaire ou de chair seule dans au moins 75% des échantillons
Fréquence minimale d'échantillonnage	Tous les trois mois (et plus fréquemment si les circonstances l'exigent)
Méthode d'analyse	Fermentation sur tubes multiples et dénombrement selon la méthode du NPP (nombre le plus probable). Durée d'incubation: $37\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ pendant 24 à 48 h, suivi de $44\pm 0,2^{\circ}\text{C}$ pendant 24 h.
Méthode d'interprétation	Par résultats individuels, histogrammes ou ajustement graphique d'une distribution de probabilité log-normale.

TABLEAU 4.3.3
PRESCRIPTIONS DE LA COMMUNAUTE EUROPEENNE CONCERNANT LA QUALITE MICROBIOLOGIQUE
ET CONNEXE DES EAUX CONCHYLICOLES
(d'après CE, 1979)

Paramètre	Valeur guide (G)	Valeur impérative (I) (obligatoire)	Méthodes d'analyse de référence	Fréquence minimale d'échantillonnage et de mesure
Coliformes fécaux par 100 ml	< 300 dans la chair + liquide intervalvaire des mollusques		Méthode de dilution avec fermentation dans substrats liquides dans au moins 3 tubes dans 3 dilutions. Repiquage des tubes positifs sur milieu de confirmation. Dénombrement selon le NPP (nombre le plus probable). Température d'incubation 44±0,5 C	Trimestrielle
Matières en suspension mg par litre		L'accroissement de la teneur en matières en suspension provoqué par un rejet ne doit pas, dans les eaux conchylicoles influencées par ce rejet, excéder de plus de 30% celle mesurée dans les eaux non influencées	<ul style="list-style-type: none"> - Filtration sur membrane de 0,45µm, séchage à 105 C et pesée - centrifugation temps minimal 5 minutes, accélération moyenne 2800 à 3200g), séchage à 105 C et pesée. 	Trimestrielle
Oxygène dissous % de saturation	> 80%	<ul style="list-style-type: none"> - > 70% (valeur moyenne) - Si une mesure individuelle indique une valeur inférieure à 70%, les mesures sont répétées. - Une mesure individuelle ne peut indiquer une valeur inférieure à 60% que lorsqu'il n'y a pas de conséquences néfastes pour le développement des peuplements de coquillages. 	<ul style="list-style-type: none"> - Méthode de Winckler - Méthode électrochimique 	Mensuelle, avec au moins 1 échantillon représentatif de conditions de faible oxygénation le jour du prélèvement. Néanmoins, quand on soupçonne l'existence d'importantes fluctuations dans la journée, il faut prélever au moins 2 échantillons.

Albanie

4-41. En Albanie, des normes de qualité concernant les eaux conchylicoles ont été instituées par un décret ministériel de 1995 et elles reposent sur les recommandations de la Commission européenne. La norme se réfère à *Escherichia coli* qui ne doit pas dépasser 2 par 100 ml dans 90% des échantillons, et 7 par 100 ml dans les 10% d'échantillons restants.

Croatie

4-42. Les eaux conchylicoles rentrent dans la classe 1 du décret de 1981 portant classement des eaux en quatre catégories d'eaux côtières. Les paramètres sont microbiologiques et physico-chimiques. En ce qui concerne les premiers, la concentration acceptable de coliformes fécaux (NPP) par 100 ml ne doit pas dépasser 100.

Chypre

4-43. A Chypre, la législation ne comprend pas de normes applicables à la qualité des eaux conchylicoles car il n'y existe pas d'eaux conchylicoles au sens propre de ce terme.

Egypte

4-44. Il n'existe pas, aux termes de la législation égyptienne, de normes ou critères réglementaires spécifiques concernant la qualité microbiologique des eaux conchylicoles ou des coquillages. Les eaux conchylicoles et les coquillages font toutefois l'objet d'un examen à intervalles réguliers selon les normes ayant cours au plan international. L'application effective de ces normes a lieu dans le cadre de procédures administratives.

France

4-45. La législation française transpose la directive CEE de 1979. En outre, une norme administrative interne (qui n'a pas de valeur réglementaire) classe les eaux conchylicoles en quatre catégories, à savoir:

A satisfaisantes	0 <i>Escherichia coli</i> par 100 ml d'eau de mer
B acceptables	1-60 <i>Escherichia coli</i> par 100 ml d'eau de mer
C douteuses	61-120 <i>Escherichia coli</i> par 100 ml d'eau de mer
D peu satisfaisantes	> 120 <i>Escherichia coli</i> par 100 ml d'eau de mer

4-46. Les coquillages destinés à la consommation doivent être conformes aux critères ci-après, et il existe des procédures détaillées pour l'interprétation des résultats:

microorganismes aérobies, 30EC	100.000 par gramme
coliformes fécaux	300 par 100 ml
streptocoques fécaux	2.500 par 100 ml
staphylocoques dorés	100 par gramme
bactéries sulfo-réductrices anaérobies	10 par gramme
salmonelles	absentes dans 25 grammes

4-47. Un décret récent (21 juillet 1995) fixe de nouveaux critères nationaux de qualité sanitaire des eaux servant à la production de coquillages vivants. Pour chaque groupe de coquillages, il existe un classement des zones en fonction de leur qualité sanitaire. Les prescriptions microbiologiques se fondent sur les dispositions de la directive 91/492/CEE du 15 juillet 1991 (voir par. 4-37 ci-dessus), à savoir:

classe A	< 300 coliformes fécaux ou 230 <i>Escherichia coli</i> par 100 g de chair
classe B	< 6000 coliformes fécaux ou 4600 <i>Escherichia coli</i> par 100 g de chair
classe C	< 60000 coliformes fécaux ou 46000 <i>Escherichia coli</i> par 100 g de chair

Grèce

4-48. La législation grecque classait à l'origine les eaux conchylicoles en trois catégories (convenables, modérément contaminées, médiocres) sur la base des concentrations de coliformes fécaux (jusqu'à 70, de 71 à 700, et au-delà de 700, respectivement) dans 100 ml d'eau de mer. Les coquillages destinés à la consommation étaient classés en trois catégories (première, deuxième, troisième classe) sur la base des concentrations d'*Escherichia coli* (jusqu'à 500, de 500 à 1500, et au-delà de 1500, respectivement) par 100 ml de chair.

4-49. Aux termes de la législation promulguée en 1986, la qualité des eaux de mer se fonde en Grèce sur la directive CEE de 1979. En plus de la norme guide de 300 coliformes fécaux par 100 ml de chair + liquide intervalvaire, la législation fixe aussi une norme impérative de 700 CF par 100 ml. Les coquillages conformes à la valeur guide sont acceptables pour la consommation humaine, ceux qui répondent à la valeur impérative doivent subir une épuration.

4-50. La qualité microbiologique des coquillages récoltés dans les eaux conchylicoles classées est fixée par un règlement ministériel publié en décembre 1994 et qui transpose les dispositions de la directive 91/492/CEE du 15 juillet 1991. Les zones et paramètres sont les mêmes que ceux exposés pour la France (par. 4-47 ci-dessus). Les coquillages récoltés dans les zones de classe A sont considérés comme propres à la consommation, ceux récoltés dans les zones de classe B nécessitent une épuration avant consommation, et ceux récoltés dans les zones de classe C nécessitent une épuration au moins deux mois avant consommation. A l'heure actuelle, il n'existe en Grèce que des zones de classe A. Il n'a pas été instauré de procédures pour la création de zones de classe B et C.

4-51. La qualité microbiologique des fruits de mer produits en petites quantités (jusqu'à 100 kg par jour) est régie par des règlements sanitaires qui stipulent que ces produits échantillonnés sur le marché ne doivent pas dépasser 5 coliformes fécaux par ml de chair considérée comme propre à la consommation. Les fruits de mer contenant entre 6 et 16 coliformes fécaux par ml de chair nécessitent une épuration, et ceux qui en contiennent plus de 16 par ml sont considérés comme impropres à la consommation.

Israël

4-52. Il n'existe pas de normes concernant les eaux conchylicoles en Israël, les coquillages n'y étant ni récoltés ni cultivés.

Italie

4-53. Bien que l'Italie n'ait pas encore fixé de valeurs pour les paramètres mentionnés dans la directive CEE de 1979, les normes microbiologiques prescrites par la législation concernant les eaux conchylicoles et les coquillages sont probablement celles qui sont les plus détaillées. Les eaux conchylicoles sont classées en zones agréées et zones conditionnelles, avec les normes suivantes:

zones agréées: l'eau de mer ne devrait pas contenir plus de 2 *Escherichia coli* par 100 ml. Jusqu'à 7 par 100 ml d'eau de mer sont tolérés dans pas plus de 10% des échantillons, à condition que les coquillages eux-mêmes satisfassent aux normes requises;

les coquillages ne devraient pas contenir plus de 4 *Escherichia coli* par ml de chair + liquide intervalvaire, et les salmonelles doivent être absentes dans 25 ml de chair + liquide intervalvaire;

zones conditionnelles: l'eau de mer ne devrait pas contenir plus de 34 *Escherichia coli* par 100 ml. Jusqu'à 49 par 100 ml sont tolérés dans pas plus de 10% des échantillons;

les coquillages ne devraient pas contenir plus de 39 *Escherichia coli* par ml de chair + liquide intervalvaire.

4-54. Les espèces susceptibles d'épuration ne sont admises à la consommation directe que si elles proviennent de zones de culture agréées. Les espèces susceptibles d'épuration provenant a) d'aires de reproduction naturelles de zones agréées et b) d'aires de culture de zones conditionnelles sont soumises obligatoirement à épuration avant consommation. Celles qui proviennent d'une aire de reproduction naturelle d'une zone conditionnelle doivent être cuites avant consommation. Les espèces non susceptibles d'épuration ne sont admises à la consommation directe que si elles proviennent de zones agréées, ou d'aires de culture de zones conditionnelles, sinon elles doivent être obligatoirement cuites.

4-55. Une commission d'experts réunie par le ministre italien de la Santé a émis des règlements visant à harmoniser la législation existante avec les dispositions de la directive 91/492/CEE de 1991. Les zones et paramètres sont les mêmes que pour la France et la Grèce, mais aux termes de la législation nationale les zones de classe A peuvent aussi être soumises à une prescription concernant les salmonelles (0 dans 25 g de chair pour les zones de classe A).

4-56. L'Italie a également des normes s'appliquant aux biotoxines algales des coquillages. Pour celles du groupe IDC, les eaux doivent contenir moins de 1000 *Dinophysis* par litre, et les coquillages doivent satisfaire à un délai de mortalité de plus de 5 heures. La valeur limite pour les toxines du groupe IPC est de 40 µg par 100 g de chair.

Libye

4-57. Il n'y a pas en Libye de normes nationales en vigueur pour les eaux conchylicoles. En attendant l'élaboration et l'adoption de ces normes, dont la procédure est actuellement en cours, la Libye observe les normes adoptées par les Parties contractantes en 1987.

Malte

4-58. Il n'existe pas de normes concernant la qualité des eaux conchylicoles dans la législation maltaise. La quantité de coquillages destinés à la consommation relève de la législation en matière de santé publique, et la vente des coquillages en consignment est interdite à moins que le responsable ne soit en possession d'un permis spécial délivré par le Surintendant de la santé publique. Il n'existe pas actuellement de permis valables pour la vente de coquillages frais (à distinguer des coquillages importés).

Maroc

4-59. Les normes et critères de qualité microbiologique concernant les eaux conchylicoles reposent généralement sur la législation française. Pour l'acceptabilité des eaux conchylicoles, la concentration des coliformes fécaux dans la chair des coquillages ne doit pas dépasser 300 par 100 ml, conformément à la directive CEE de 1979 et aux normes méditerranéennes de 1987.

Slovénie

4-60. Des instructions pour le contrôle de la qualité de l'eau pour la reproduction des coquillages figurent dans le décret slovène de 1988 sur la vaccination préventive, les diagnostics et la recherche s'y rapportant. La norme d'acceptabilité des eaux conchylicoles est de 10 coliformes fécaux par 100 ml de chair, sur la base d'un échantillonnage bimensuel.

Espagne

4-61. Aux termes de la législation espagnole, les limites d'acceptabilité des eaux conchylicoles au point de vue de leur qualité microbiologique prévoyaient que les concentrations d'*Escherichia coli* ne devaient pas dépasser 15 par 100 ml d'eau de mer dans plus de 50% des échantillons et 50 par 100 ml d'eau de mer dans plus de 10% des échantillons. Par le décret royal 38/1989, l'Espagne a fixé des valeurs pour les paramètres énumérés à l'annexe de la directive CEE de 1979. Les normes sont les mêmes que dans la directive.

4-62. Les zones conchylicoles sont désormais classées en trois classes conformément aux termes de la directive CEE de 1991, les paramètres et les valeurs limites étant les mêmes que celles mentionnées pour la France et la Grèce. Les coquillages épurés destinés à la consommation doivent satisfaire aux normes microbiologiques ci-après:

microorganismes aérobie:	jusqu'à 100.000 par gramme
<i>Escherichia coli</i>	jusqu'à 500 par litre
salmonelles	absentes dans 25 ml
streptocoques (groupe D)	jusqu'à 100 par gramme
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	jusqu'à 100 par gramme

Tunisie

4-63. Les eaux conchylicoles sont classées en trois catégories:

zones salubres:	chair de coquillage	jusqu'à 300 coliformes fécaux par 100 ml
	eau	salmonelles absentes dans 25 g jusqu'à 2 coliformes fécaux par 100 ml.
zones conditionnelles:	chair de coquillage	jusqu'à 3900 coliformes fécaux par 100 ml
	eau	jusqu'à 34 coliformes fécaux par 100 ml
zones insalubres:	chair de coquillage	plus de 3900 coliformes fécaux par 100 ml
	eau	plus de 34 coliformes fécaux par 100 ml

Turquie

4-64. La loi sur les produits aquatiques qui est entrée en vigueur en 1971 énonce les conditions et règles générales de protection et production côtières des produits aquatiques. Les règlements concernant les produits aquatiques sont entrés en vigueur en mars 1995. Ils régissent notamment les rejets effectués dans les zones de production de poisson et de coquillages et fixent les valeurs tolérées dans les eaux réceptrices. Le ministère de la Santé est chargé de la coordination des activités liées aux produits aquatiques aux niveaux national et international. L'annexe aux règlements fixe des limites pour les activités et les substances. Les limites microbiologiques des eaux réceptrices sont:

coliformes totaux	ne doivent pas dépasser 70 par 100 ml
coliformes fécaux	ne doivent pas dépasser 10 par 100 ml
<i>Escherichia coli</i>	ne doivent pas dépasser 2 par 100 ml (valeur qui peut être portée à 7 par 100 ml)

SECTION 5

L'ETAT DE LA POLLUTION MICROBIOLOGIQUE DES ZONES COTIERES SENSIBLES DE LA MEDITERRANEE

5.1 L'ETAT DES ZONES COTIERES A USAGE RECREATIF

Le projet pilote MED VII (1976-1981)

5-1. Lors de la phase I ou pilote du programme MED POL, la composante "eaux à usage récréatif" du projet sur le contrôle de la qualité des eaux côtières a été exécuté par 30 laboratoires nationaux coopérants de 14 pays méditerranéens sous la coordination technique globale de l'OMS. C'était la première fois que la qualité microbiologique des eaux côtières de la Méditerranée faisait l'objet d'une étude à si vaste échelle. La surveillance a été réalisée entre 1976 et 1981. Au cours de cette période, ce sont au total 12.500 prélèvements d'échantillons d'eau effectués à un nombre de stations variant de 25 (1981) à 288 (1979) qui ont été soumis à analyse. Les zones échantillonnées étaient choisies en tenant compte avant tout de leur importance comme plages publiques. Cependant, l'accès par route à la zone, la distance au laboratoire d'analyse, et les besoins administratifs locaux se traduisaient par une très grande diversité entre les sites de prélèvement et les stratégies d'échantillonnage et, à l'occasion, entre les périodes de l'année au sein du même laboratoire.

5-2. Une analyse des données MED VII a servi de base à la première évaluation de la pollution microbienne de la mer Méditerranée, réalisée en 1984 (UNEP/OMS, 1985). Le tableau 5.1.1 (A) récapitule les résultats des stations ayant observé une fréquence d'au moins 10 prélèvements par an pour les critères provisoires des eaux de baignade adoptés par les Parties contractantes à la Convention de Barcelone et à ses Protocoles en 1985 (50% des échantillons ne dépassant pas 100 coliformes fécaux par 100 ml et 90% ne dépassant pas 1000 coliformes fécaux par 100 ml), stations dont le nombre variant de 21 (1976) à 133 (1979). En vue d'élargir la base d'évaluation de la qualité microbiologique des eaux à usage récréatif en Méditerranée, il a été procédé à une nouvelle analyse dans le cadre de l'évaluation de 1985 en prenant également en compte les résultats de toutes les autres stations auxquelles le prélèvement était effectué au moins six fois par an (la fréquence moyenne d'échantillonnage du MED VII). Les résultats sont récapitulés sur le tableau 5.1.1 (B) (PNUE/OMS, 1985).

5-3 Au vu de ces résultats, on ne constate pas une nette tendance de l'évolution qualitative au cours de cette période. De l'analyse des résultats du projet pilote MED VII, il a été conclu (PNUE/OMS, 1985) que, bien que le choix des stations de prélèvement dans les eaux côtières à usage récréatif n'eût pas tout à fait été opéré au hasard et qu'on ne pût donc considérer que les conclusions tirées de ces stations étaient applicables partout ailleurs, le nombre et la répartition spatiale des stations d'échantillonnage et des échantillons d'eau analysés permettaient d'obtenir une évaluation fiable de la qualité microbiologique des eaux côtières à usage récréatif en Méditerranée. Il convient aussi de noter que le nombre des stations était réduit par comparaison avec le nombre total de plages de baignade en Méditerranée et qu'il existait un déséquilibre géographique dans la répartition spatiale des stations, les rives Est et Sud du bassin étant plutôt assez mal représentées.

TABLEAU 5.1.1

PREMIERE EVALUATION SOMMAIRE DE LA QUALITE MICROBIOLOGIQUE DES EAUX COTIERES A USAGE RECREATIF EN MEDITERRANEE SELON LES CRITERES PROVISOIRES ADOPTES PAR LES PARTIES CONTRACTANTES EN 1985

(d'après PNUE/OMS, 1985)

A

STATIONS MED POL VII AYANT PRELEVE AU MOINS 10 ECHANTILLONS PAR AN

Année	Nombre de stations			
	surveillées	conformes à une limite de		satisfaisant (aux deux limites)
		50%	90%	
1976	21	16 (76%)	14 (67%)	14 (67%)
1977	40	38 (95%)	34 (85%)	34 (85%)
1978	33	30 (91%)	30 (91%)	28 (85%)
1979	133	124 (93%)	104 (78%)	104 (78%)
1980	86	79 (92%)	72 (84%)	69 (80%)

B

STATIONS MED POL VII AYANT PRELEVE AU MOINS 6 ECHANTILLONS PAR AN

Année	Nombre de stations			
	surveillées	conformes à une limite de		satisfaisant (aux deux limites)
		50%	90%	
1976	26	16 (62%)	15 (58%)	14 (54%)
1977	55	50 (91%)	46 (84%)	46 (84%)
1978	193	181 (94%)	164 (85%)	161 (83%)
1979	288	251 (87%)	201 (70%)	200 (69%)
1980	118	110 (93%)	100 (85%)	97 (82%)
1981	25	19 (76%)	20 (80%)	19 (76%)

Remarque: Les stations du tableau 5.1.1. (A) sont également incluses dans le tableau 5.1.1. (B).

Programmes nationaux de surveillance continue - MED POL - Phase II

5-4. La stratégie adoptée dans la mise en oeuvre du volet "surveillance continue" de MED POL - Phase II était radicalement différente de celle de la Phase I en ce que, au lieu de constituer un programme international auquel les institutions participaient sur une base distincte, indépendamment des programmes similaires existant au plan national, le volet visait maintenant à renforcer les programmes de surveillance nationaux déjà existants et à aider à la création de tels programmes lorsqu'il n'en existait pas encore. Cette aide était octroyée dans le cadre d'accords globaux entre le PNUE en tant qu'organe de coordination du MED POL d'une part et les autorités nationales compétentes d'autre part par l'entremise desquelles le pays concerné fournissait des détails sur les programmes existants et prévus sur une base annuelle et soumettait les résultats au PNUE sous forme de données brutes. De tels accords n'étaient pas signés avec les pays plus développés, ces derniers étant considérés comme n'ayant pas besoin de cette forme d'assistance, si bien qu'aucune donnée brute n'était communiquée de leur part.

5-5. Il s'ensuit que, dans le cas des pays méditerranéens soumettant des données brutes de leur surveillance continue MED POL (Albanie, Algérie, Croatie, Chypre, Egypte, Israël, Liban, Malte, Maroc, Slovaquie, Syrie, Tunisie, Turquie et - jusqu'en 1990 - Yougoslavie), l'évaluation de la qualité microbiologique des eaux côtières à usage récréatif repose sur la conformité ou non aux critères provisoires pour les eaux de baignade adoptés en 1985 par les Parties contractantes à la Convention de Barcelone et à ses Protocoles (PNUE, 1985a). Par contre, dans le cas des quatre pays méditerranéens membres de la CE (Espagne, France, Grèce, Italie), une évaluation similaire doit se fonder sur les rapports qu'ils soumettent à la Communauté européenne aux termes de la directive de 1976 concernant la qualité des eaux de baignade (CE, 1976) et dont les normes prescrites ne sont pas les mêmes. De ce fait, il n'est pas possible d'établir une comparaison directe entre les deux ensembles de données traitées.

Evaluation provisoire des données MED POL

5-6. Une évaluation préliminaire de la qualité microbiologique des plages d'agrément dans les pays soumettant des données au MED POL (PNUE, 1989) a été réalisée sur la base des données obtenues de 1983 à 1987. Ces données représentaient au total 9682 échantillons prélevés à 289 stations dans sept pays (Algérie, Chypre, Israël, Liban, Malte, Maroc et Yougoslavie), les détails étant récapitulés sur le tableau 5.1.2. Il convient de noter que, pour chaque pays, le nombre de stations représente le maximum de stations opérationnelles au cours de l'une des cinq années considérées. Dans la plupart des pays, on enregistre des fluctuations du nombre et de l'emplacement des stations, ainsi que du nombre des échantillons d'eau analysés au cours de ces cinq années. Les résultats de l'évaluation, là encore réalisée sur la base des critères provisoires adoptés par les Parties contractantes en 1985, sont reproduits sur le tableau 5.1.3. Il est à remarquer que, dans cette évaluation, on ne retenait que les stations ayant effectué au moins 6 prélèvements par an, autrement dit un nombre de stations considéré comme respectant les limites de coliformes fécaux mais ne satisfaisant pas à la fréquence minimale requise de dix échantillonnages par an.

TABLEAU 5.1.2

TABLEAU RECAPITULATIF DES DONNEES DE LA SURVEILLANCE CONCERNANT LA QUALITE MICROBIOLOGIQUE DES EAUX A USAGE RECREATIF SOUMISES PAR SEPT PAYS MEDITERRANEENS DANS LE CADRE DU VOLET "SURVEILLANCE CONTINUE" DE MED POL - PHASE II, 1983-1987

(d'après PNUE, 1989)

			Nombre d'échantillons d'eau analysés
Algérie	1986 - 1987	19	60
Chypre	1983 - 1987	125	3182
Israël	1983 - 1987	43	2667
Liban	1984 - 1987	8	243
Malte	1983 - 1987	11	241
Maroc	1983 - 1987	2	54
Yougoslavie	1983 - 1987	81	3235
Total		289	9682

TABLEAU 5.1.3

EVALUATION PROVISOIRE DE LA QUALITE MICROBIOLOGIQUE DES EAUX A USAGE RECREATIF DANS SEPT PAYS MEDITERRANEENS, 1983-1987, SUR LA BASE DES CRITERES PROVISOIRES ADOPTES EN 1985 PAR LES PARTIES CONTRACTANTES

STATIONS EFFECTUANT AU MOINS SIX ECHANTILLONNAGES PAR AN

(d'après PNUE, 1989)

Année	Stations surveillées	Echantillons analysés	Fréquence moyenne d'échantillonnage	Stations conformes		Stations conformes CF50+CF90
				CF50	CF90	
1983	50	524	10	43 (86%)	39 (78%)	39 (78%)
1984	133	1755	13	120 (90%)	111 (83%)	108 (81%)
1985	128	2178	17	115 (90%)	104 (81%)	102 (80%)
1986	238	3048	13	216 (92%)	200 (84%)	200 (84%)
1987	150	1908	13	145 (97%)	145 (97%)	144 (96%)

5-7. Dans l'évaluation provisoire de ces résultats effectuée en 1989, il était conclu que les chiffres indiquaient une proportion de stations d'échantillonnage satisfaisant aux critères provisoires légèrement supérieure à la proportion correspondante de la Phase I de MED POL (tableaux 5.1.1. A et B). Toutefois, on faisait aussi remarquer que l'inégale répartition des stations d'échantillonnage constatée dans l'évaluation, et notamment le manque d'informations concernant des Etats méditerranéens exécutant de vastes programmes de surveillance de la qualité des eaux côtières, ne permettait pas de tirer de conclusions précises quant aux tendances possibles de la qualité des eaux côtières au cours des deux phases du MED POL.

5-8. De fait, le chiffre de 96% de conformité enregistré en 1987 doit être apprécié en tenant compte du fait que cette valeur repose sur un nombre relativement restreint de stations d'échantillonnage dont la plupart sont situées dans un seul et même Etat méditerranéen. Si l'on met ce chiffre de côté, la situation générale au cours de la période 1983-1987 ne semble guère différer de celle qui régnait en 1976-1981. Du fait de cette importante disparité entre les pays et les emplacements des stations, on ne peut, en aucun cas, établir de comparaisons fiables entre les deux groupes de données.

Présente évaluation

5-9. La présente évaluation a été effectuée sur la base des données de la surveillance MED POL recueillies depuis le début de la Phase II jusqu'à ce jour. Elle couvre la période allant de 1983 à 1992. Les données pour 1992 et 1993 n'ont pas été incluses car elles n'ont été disponibles que pour deux pays. Les données ont été obtenues des sept pays qui avaient déjà contribué à l'évaluation provisoire de 1989, avec quatre autres pays (Albanie, Egypte, Syrie et Tunisie) qui ont commencé à communiquer leurs résultats après l'évaluation provisoire. Les résultats provenant de la Yougoslavie ont été remplacés en partie par les résultats correspondants de la Croatie, les emplacements précis des stations restant pratiquement les mêmes. Les données soumises par les pays sont détaillées sur le tableau 5.1.4 sous a) dans leur ensemble et sous b) par pays. Les données ont été informatisées et traitées par l'Unité de coordination du Plan d'action pour la Méditerranée. Lors de l'évaluation de ces données, les stations ont été classées comme "satisfaisantes" (autrement dit respectant pleinement les critères provisoires) que si elles satisfaisaient aux trois conditions requises: fréquence (au moins 10 prélèvements par an), CF50 (50% des échantillons ne dépassant pas 100 coliformes fécaux par 100 ml) et CF90 (90% des échantillons ne dépassant pas 1000 coliformes fécaux par 100 ml).

5-10. Le tableau 5.1.5 présente les résultats. Le nombre de stations satisfaisant à chaque paramètre distinct est donné en colonne séparée, suivi du nombre de stations satisfaisant aux seuls paramètres microbiologiques (indépendamment de la fréquence) et enfin du nombre de stations satisfaisant aux trois paramètres et qui sont classées comme satisfaisantes. Tous les pourcentages portent sur l'ensemble des stations effectivement contrôlées. Le facteur qui grève le plus la conformité est la fréquence, ce qui explique la différence entre les deux dernières colonnes du tableau. Sur la base de la conformité totale aux trois paramètres des critères provisoires, le pourcentage de stations satisfaisantes varie de 28,8% en 1985 à 71,2% en 1991. Si l'on considère uniquement la conformité aux paramètres microbiologiques en laissant de côté la fréquence, cette conformité, comme le montre l'avant-dernière colonne, varie de 91,4% en 1983 à 84,4% en 1986. Mais le chiffre de 1983 doit être apprécié en tenant compte de ce que, cette année-là, la grande masse des données concernaient deux pays ayant des plages de qualité relativement élevée.

TABLEAU 5.1.4

TABLEAU RECAPITULATIF DES DONNEES DE LA SURVEILLANCE DE LA QUALITE MICROBIOLOGIQUE DES EAUX A USAGE RECREATIF SOUMISES PAR TREIZE PAYS MEDITERRANEENS DANS LE CADRE DU VOLET "SURVEILLANCE CONTINUE" DE MED POL - PHASE II, 1983-1984

A. ENSEMBLE DES DONNEES

Année	Nombre de pays	Pays soumettant les données de leur surveillance	Nombre de stations de prélèvement	Nombre d'éch. analysés
1983	5	ISR,MAL,MAR,TUR,YOU	139	1358
1984	6	ISR,LIB,MALT,MAR,TUR,YOU	183	2035
1985	7	CHY,ISR,LIB,MAL,MAR,TUR,YOU	344	2717
1986	7	ALG,CHY,ISR,LIB,MAL,MAR,YOU	352	3903
1987	7	ALG,CHY,ISR,LIB,MAL,MAR,YOU	353	3908
1988	7	ALG,CHY,EGY,ISR,LIB,MAL,MAR,TUN,YOU	354	4326
1989	9	AL,CHY,EGY,ISR,LIB,MAL,MAR,YOU	414	5041
1990	7	ALG,CHY,EGY,ISR,MAL,MAR,YOU	376	4725
1991	6	CHY,EGY,ISR,MAL,SYR,YOU	389	5112
1992	5	ALB,CRO,CHY,SYR,TUN	404	5006
1993	2	ALB,CHY	195	2786
1994	2	ALB,CHY	43	149
	13			41065

B. DONNEES PAR PAYS

Pays	Période	Nombre de stations contrôlées	Nombre d'échantillons analysés
Albanie	1992 - 1994	44	718
Algérie	1986 - 1990	19	162
Croatie	1992	59	634
Chypre	1983 - 1992	154	17816
Egypte	1989 - 1991	14	61
Israël	1983 - 1991	70	7849
Liban	1984 - 1989	8	309
Malte	1983 - 1991	12	656
Maroc	1983 - 1990	24	456
Syrie	1992, 1994	32	388
Tunisie	1989, 1992	111	2100
Turquie	1983 - 1985	16	201
Yougosl.	1983 - 1991	138	9715
Total		642 *	41065

* Le total ne comprend pas 59 stations croates déjà recensées avec la Yougoslavie.

TABLEAU 5.1.5

EVALUATION COMPARATIVE, 1983-1992, DE LA QUALITE MICROBIOLOGIQUE DES EAUX COTIERES A USAGE RECREATIF DANS TREIZE PAYS MEDITERRANEENS, SUR LA BASE DES CRITERES PROVISOIRES ADOPTES EN 1985 PAR LES PARTIES CONTRACTANTES, INDIQUANT LA CONFORMITE AUX DIVERS PARAMETRES EXPRIMEE EN POURCENTAGE DU NOMBRE TOTAL DE STATIONS CONTROLEES

Année	Nombre de pays soumettant des données	Nombre de stations contrôlées	Nombre de stations satisfaisant à			Nombre de stations satisfaisant à CF50+CF90	Nombre de stations satisfais.
			la fréquence	CF50	CF90		
1983	5	139	56 (40,3%)	128 (92,1%)	128 (92,1%)	127 (91,4%)	50 (36,0%)
1984	6	183	97 (53,0%)	165 (90,2%)	165 (90,2%)	159 (86,9%)	85 (46,4%)
1985	7	344	118 (34,3%)	316 (92,0%)	311 (90,4%)	307 (89,2%)	99 (28,8%)
1986	7	352	220 (62,5%)	304 (86,4%)	304 (86,4%)	297 (84,4%)	191 (54,3%)
1987	7	353	241 (68,3%)	314 (89,0%)	318 (90,1%)	300 (85,0%)	221 (62,6%)
1988	7	354	256 (72,3%)	322 (91,0%)	315 (89,0%)	308 (87,0%)	227 (64,1%)
1989	9	414	275 (66,4%)	369 (89,1%)	362 (87,4%)	353 (85,3%)	248 (59,9%)
1990	7	376	286 (76,1%)	366 (97,3%)	367 (97,6%)	354 (94,1%)	263 (69,9%)
1991	6	389	285 (73,3%)	348 (89,5%)	342 (87,9%)	331 (85,1%)	277 (71,2%)
1992	5	404	269 (66,6%)	346 (85,6%)	289 (71,5%)	279 (69,1%)	208 (51,5%)

5-11. Il n'est pas possible de parvenir à une interprétation précise des résultats 1983-1992 du MED POL, et ce pour plusieurs raisons dont l'une des principales tient à la méthode d'évaluation globale qui a été adoptée en vue de préserver la confidentialité des résultats de chaque pays, comme cela a été le cas depuis le lancement du programme en 1975. L'interprétation de ces résultats globaux est entachée par les facteurs suivants:

un certain nombre de pays ont soumis des données correspondant à des périodes différentes entre 1983 et 1992. En raison du regroupement de ces données, on a obtenu des résultats différents d'une année à l'autre concernant le nombre de pays et les divers pays concernés;

la quantité de données soumises présente des variations considérables selon les divers pays;

le nombre et l'emplacement des stations surveillées par plusieurs des pays varient également d'une année à l'autre;

il existe une variation importante de la fréquence de prélèvement entre les diverses stations, une proportion considérable de celles-ci n'observant pas la fréquence requise de prélèvements.

5-12. On peut estimer que le nombre et le pourcentage de stations satisfaisantes, indiqués à la dernière colonne du tableau 5.1.5, rendent compte de la situation par rapport aux prescriptions strictes des normes provisoires adoptées en 1985 par les Parties contractantes. Comme on l'a déjà observé, le principal facteur limitant la conformité est la fréquence des prélèvements. On peut considérer que si cette prescription particulière n'est pas prise en compte, les pourcentages indiqués à l'avant-dernière colonne du tableau 5.1.5 pourraient être retenus comme une meilleure indication de la qualité des eaux côtières relevant des pays en question. Cependant, la fréquence requise est d'une importance considérable puisque l'on ne saurait évaluer correctement la qualité des stations si un certain nombre d'échantillons n'y sont pas prélevés tout au long de l'année, et notamment lors de la saison de baignade. La situation réelle se situe vraisemblablement entre les deux ensembles de pourcentages. Un autre facteur dont il convient de tenir compte est que tous les pourcentages ont trait à des stations de surveillance désignées officiellement. Or, on ignore le degré de correspondance entre le nombre de celles-ci et le nombre des zones de baignade, y compris celles qui ne sont pas surveillées.

5-13. Les pourcentages de plages de baignade satisfaisant pleinement aux critères provisoires de 1985 (indiqués à la dernière colonne du tableau 5.1.5) paraissent présenter une tendance légère à la hausse quand on les compare sur l'ensemble de la période 1983-1992. Mais il est difficile de confirmer cette tendance sur la base des données actuelles, comme on l'a déjà expliqué au paragraphe 5-11 ci-dessus.

5-14. Quant à la conclusion selon laquelle, dans l'ensemble, dans les treize pays méditerranéens communiquant leurs données à l'Unité de coordination du Plan d'action pour la Méditerranée dans le cadre des accords MED POL, une proportion assez importante des plages ne satisfont pas aux critères de qualité du milieu adoptés en 1985 par les Parties contractantes, il convient de l'envisager en tenant compte du fait que bon nombre de ces plages ont été jugées non conformes en raison de la fréquence insuffisante des prélèvements qui y sont opérés. La conformité à la fréquence requise a varié de 34,3% en 1985 à 76,1% en 1990, soit une fréquence moyenne globale de 61,1% sur l'ensemble de la période de dix ans. Ces chiffres soulignent la nécessité d'améliorer cet aspect de la surveillance afin d'obtenir une évaluation plus correcte.

Qualité des eaux de baignade dans les Etats méditerranéens membres de la CE

5-15. Les quatre Etats méditerranéens membres de la CE (Espagne, France, Grèce et Italie) soumettent à la Communauté des rapports annuels sur la qualité microbiologique de leurs eaux côtières à usage récréatif en vertu de la directive de 1975 concernant la qualité des eaux de baignade. Les renseignements fournis pour la période de 1983 à 1987 (lesquels, dans un certain nombre de cas, n'ont été que partiels et n'ont pu être présentés en tableaux significatifs) indiquent, pour la France, que le nombre des stations de surveillance ayant une eau de qualité acceptable (A, AB ou B) a augmenté de 76,4% en 1983 à 83% en 1987, avec une réduction correspondante des stations ayant une eau de qualité inférieure (23,5% en 1983 à 16,7% en 1987). Dans le cas des 606 stations marines côtières échantillonnées au moins dix fois par an, le rapport "stations de qualité acceptable (A,B)/stations de qualité inférieure (C,D)" est passé de 55,8%/44,2% en 1980 à 81,0%/19,0% en 1988 (France, 1989). Pour la Grèce, les résultats de la période considérée ne sont disponibles que pour 1987 et se limitent à l'Attique où 77,7% des stations échantillonnées au moins 5 fois par an se sont avérées conformes aux prescriptions. En Italie, le nombre de stations conformes aux critères nationaux (fondés sur la directive mais en plus rigoureux) présentent une augmentation constante de 68% en 1984 à 89,3% en 1989 (Italie, 1990). La seule tendance négative a été enregistrée en Espagne où le nombre de stations avec une eau de haute qualité (A2) a régressé de 65,2% en 1986 à 51,0% en 1987.

5-16. Les relevés sont plus complets à partir de 1988, et une évaluation du degré de conformité aux valeurs impératives des paramètres microbiologiques de la directive de 1976 (95% des échantillons ne devant pas dépasser 10.000 coliformes totaux et 2.000 coliformes fécaux par 100 ml) des plages de baignade d'Espagne, France, Grèce et Italie pour la période de 1988 à 1994 indique que le respect des valeurs limites de ces deux paramètres, exprimé en pourcentage du nombre total de plages recensées, a varié entre 79 et 91% en France, 88 et 97% en Grèce (où le nombre total de plages recensées n'a été communiqué qu'à partir de 1991 et où les pourcentages pour 1988-1990 reposent sur les stations effectivement contrôlées), entre 70 et 92% en Italie, et entre 80 et 96% en Espagne. Dans l'ensemble, une tendance nettement positive se dégage de cette période de six ans. Le nombre de stations surveillées a également augmenté constamment de 1988 à 1994, passant de 1663 à 1853 en France, de 247 à 1259 en Grèce, de 3115 à 4173 en Italie, et de 985 à 1479 en Espagne. Il n'est pas possible de convertir ces résultats pour les différents pays en chiffres globaux car, au cours des trois premières années de la période considérée, le nombre total de plages recensées n'est disponible que pour trois des quatre pays.

5-17. La norme CE la plus proche des critères méditerranéens de 1985 est la valeur guide pour les coliformes fécaux (80% des échantillons ne devant pas dépasser 100 par 100 ml). La conformité à cette norme implique aussi la conformité à la valeur impérative (95% des échantillons ne devant pas dépasser 2000 par 100 ml). Les relevés du respect de cette norme sont disponibles à partir de 1991, et à part les résultats donnés dans chacun des rapports annuels, ceux de la période 1991-1994 sont également récapitulés dans le rapport concernant la saison 1994 (CE, 1995). Une évaluation de cette période, indiquant la conformité aux valeurs guides de la CEE pour les coliformes totaux et fécaux, est donnée sur le tableau 5.1.6. Le chiffre des stations conformes est exprimé en pourcentage du nombre total de plages recensées. La conformité a varié de 58,4 à 69,4% en France, de 85,0 à 94,9% en Grèce, de 81,0 à 85,4% en Italie, et de 68,3 à 83,4% en Espagne. Dans l'ensemble, la conformité aux valeurs guides a enregistré une hausse légère mais constante au cours de cette période de quatre ans, passant de 78,1% en 1981 à 80,4% en 1994.

TABLEAU 5.1.6

**EVALUATION COMPARATIVE, 1991-1994, DE LA QUALITE MICROBIOLOGIQUE
DES EAUX COTIERES A USAGE RECREATIF DANS LES ETATS MEDITERRANEENS
MEMBRES DE LA CE SELON LES NORMES GUIDES DE LA DIRECTIVE CEE DE 1976
CONCERNANT A) LES COLIFORMES ET (B) LES STREPTOCOQUES FECAUX,
EXPRIMES EN POURCENTAGE DU NOMBRE TOTAL DE ZONES
DE BAINADE RECENSEES**

(compilé d'après un rapport de la Commission européenne, 1995a)

Pays	Année	Zones de baignade recensées	Stations conformes aux valeurs guides pour les coliformes CT80 + CF80	Stations conformes aux valeurs guides pour les streptocoques fécaux SF90
France	1991	1556	1053 (67,7%)	1145 (73,6%)
	1992	1934	1129 (58,4%)	1184 (61,2%)
	1993	1856	1201 (64,7%)	1305 (70,3%)
	1994	1870	1298 (69,4%)	1285 (68,7%)
Grèce	1991	1097	932 (85,0%)	-
	1992	1203	1142 (94,9%)	1166 (96,9%)
	1993	1250	1170 (93,6%)	1246 (99,7%)
	1994	1282	1167 (91,0%)	1258 (98,1%)
Italie	1991	3824	3205 (83,8%)	3425 (89,6%)
	1992	4033	3444 (85,4%)	3690 (91,5%)
	1993	4288	3516 (82,0%)	3964 (92,4%)
	1994	4543	3680 (81,0%)	4229 (93,1%)
Espagne	1991	1303	890 (68,3%)	574 (44,1%)
	1992	1335	980 (73,4%)	743 (55,7%)
	1993	1405	1121 (79,8%)	1091 (77,7%)
	1994	1490	1243 (83,4%)	1153 (78,0%)

5-18. Les paramètres guides de la CE comprennent aussi les streptocoques fécaux (90% des échantillons ne devant pas dépasser 100 par 100 ml). Dans la nouvelle proposition de directive du Conseil concernant la qualité des eaux de baignade (CE, 1994b) qui, sous sa forme finale, devrait remplacer la directive de 1976, la valeur guide de 100 streptocoques fécaux par 100 ml a été maintenue, mais la limite de conformité est désormais fixée à 80% (au lieu de 90%). De plus, une nouvelle valeur impérative de 400 par 100 ml, avec une limite de conformité de 95%, a été introduite. Le tableau 5.1.6 indique aussi les pourcentages de conformité à la valeur guide pour ce paramètre. D'un point de vue comparatif, il n'y a pas de conclusion précise à laquelle

on puisse parvenir à propos de ces données, le degré de conformité enregistré pour les streptocoques fécaux étant meilleur que pour les coliformes totaux et fécaux dans certains cas, et inversement dans d'autres.

5-19. Une évaluation globale de la conformité comparée: a) aux valeurs impératives pour les coliformes fécaux (CT95+CF95), b) aux valeurs guides pour les coliformes (CT80+CF80) et c) aux valeurs guides pour les streptocoques (SF90) pour la période 1991-1994, est donnée sur le tableau 5.1.7. Du fait de la différence dans le nombre de stations surveillées pour les divers paramètres, le degré de conformité à été, là encore, exprimé en pourcentage du nombre total de plages recensées, plutôt qu'en nombre de stations effectivement surveillées pour chaque paramètre en question. Mis à part la conformité à la seule valeur impérative pour les coliformes, qui est restée pratiquement stable juste au-dessus du niveau de 89%, la conformité aux valeurs guides pour les coliformes et pour les streptocoques fécaux a présenté une augmentation, plus prononcée dans le cas de ces derniers, au cours de la période de quatre ans considérée.

TABLE 5.1.7

EVALUATION COMPARATIVE GLOBALE, 1991-1994, DE LA QUALITE MICROBIOLOGIQUE DES EAUX COTIERES A USAGE RECREATIF DES ETATS MEDITERRANEENS MEMBRES DE LA CE, QUANT A LEUR CONFORMITE (A) AUX VALEURS IMPERATIVES POUR LES COLIFORMES, (B) AUX VALEURS GUIDES POUR LES COLIFORMES ET (C) AUX VALEURS GUIDES POUR LES STREPTOCOQUES FECAUX DE LA DIRECTIVE CEE DE 1976, EXPRIMEE EN POURCENTAGE DU NOMBRE TOTAL DE ZONES DE BAINADE RECENSEES

(compilé d'après un rapport de la Commission européenne, 1995a)

Année	Zones de baignade recensées	Stations conformes aux valeurs impératives pour les coliformes CT95 + CF95	Stations conformes aux valeurs guides pour les coliformes CT80 + CF80	Stations conformes aux valeurs guides pour les streptocoques FS90
1991	7780	6938 (89,2%)	6080 (78,1%)	5144 (66,1%)*
1992	8505	7623 (89,6%)	6695 (78,7%)	6783 (79,8%)
1993	8799	7836 (89,1%)	7008 (79,6%)	7606 (86,4%)
1994	9185	8261 (89,9%)	7388 (80,4%)	7925 (86,3%)

* Seule la Grèce n'a pas soumis de résultats pour les streptocoques fécaux en 1991. Pour les trois autres pays réunis, le degré de conformité devrait être de 5144 stations sur un total de 6683 zones de baignade recensées, soit 70%.

5-20. Dans tous les rapports de la CE sur la qualité des eaux de baignade, les données de la France et de l'Espagne ne donnent pas lieu à une subdivision en côtes méditerranéennes et côtes non méditerranéennes, et les données présentées sur les tableaux pertinents (5.1.6 et 5.1.7) l'illustrent. Pour ces deux pays, le nombre total de zones de baignade recensées et de stations surveillées comprend par conséquent des parties du littoral de l'Atlantique et de la mer du Nord. Dans le cas de la France, le littoral méditerranéen contient approximativement un tiers du nombre total de plages de baignade du pays, mais la norme globale est très voisine, si bien que l'état général de l'ensemble des plages françaises donne une image assez exacte de celle des plages méditerranéennes. On n'estime donc pas que l'inclusion d'une certaine proportion de données non méditerranéennes fausse sensiblement l'appréciation de la qualité des eaux de baignade dans la partie de la Méditerranée bordée par les façades littorales des quatre Etats membres.

5-21. En raison des différences de paramètres, normes numériques et limites de conformité existant entre les critères provisoires méditerranéens de 1985 et la directive CEE de 1976, on ne peut procéder à aucune comparaison directe entre les deux groupes de données. Comme on l'a déjà dit, la norme CE la plus proche de la norme provisoire conjointe méditerranéenne de 1985 (50% des échantillons ne devant pas dépasser 100 coliformes fécaux par 100 ml, et 90% 1000 par 100 ml) est la valeur guide pour les coliformes fécaux. Mais cette norme spécifique toutefois que 80% au moins des échantillons devraient ne pas dépasser 100 colonies par 100 ml et, comme elle inclue aussi la valeur impérative, que 95% ne devraient pas dépasser 2000, si bien que les deux normes ne sont pas directement comparables au plan numérique. La comparabilité est encore compliquée par le fait que les stations satisfaisant aux normes peuvent être exprimées en pourcentage *soit* du nombre de stations effectivement échantillonnées à la fréquence minimale réglementaire *soit* du nombre total de plages de baignade recensées. La seule distinction que l'on puisse établir concerne le nombre total de stations de surveillance officiellement désignées (ce qui n'est pas tout à fait la même chose que celui des plages de baignade recensées) et les stations surveillées à une fréquence égale ou supérieure à la fréquence minimale. Entre 1983 et 1992, le plus fort pourcentage de stations désignées surveillées à la fréquence minimale a été de 76,1% et a été enregistré en 1990, et la moyenne générale se situe juste au-dessus de 61%. De plus, la fréquence requise n'est pas tout à fait la même puisque la directive CEE stipule un échantillonnage bimensuel au cours de la saison de baignade alors que la norme méditerranéenne de 1985 stipule un minimum de dix échantillonnages par an. Par conséquent, tout essai de confrontation des deux ensembles de données sur les coliformes fécaux n'aurait aucune portée pratique et ne pourrait conduire qu'à une erreur d'interprétation.

5-22. C'est pourquoi il convient de procéder sur une base double à l'évaluation de la qualité des eaux microbiologiques des eaux de baignade en Méditerranée. La zone délimitée par le littoral des quatre Etats membres de la CE comprend l'ensemble de la région nord-ouest depuis le détroit de Gibraltar jusqu'au golfe de Trieste dans le nord-est de l'Adriatique, et le littoral grec depuis la mer Ionienne jusqu'à la mer Egée, îles comprises. La zone couverte par ce qu'on peut appeler le "groupe MED POL" couvre le reste de la Méditerranée, soit l'est de l'Adriatique, la côte est de la mer Egée, les rives est et sud, et les îles de Chypre et de Malte.

5-23. Néanmoins, on peut tirer un certain nombre de conclusions. Comme on l'a dit précédemment en références aux divers tableaux, il est évident que, en termes de conformité aux normes fixées, la qualité des eaux de baignade dans la zone couverte par les quatre Etats membres de la CE a enregistré une tendance positive aux cours des dernières années. Ce fait est illustré notamment par les pourcentages de stations satisfaisant aux valeurs guides pour les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux (tableaux 5.1.6 et 5.1.7). En outre, le nombre de plages surveillées à une fréquence égale ou supérieure à la fréquence minimale prescrite, en relation avec le nombre total de zones de baignade recensées, est très élevé, tout comme l'est le nombre absolu de stations surveillées (même en tenant compte de la proportion de plages françaises et espagnoles non méditerranéennes qui entrent dans le total général).

5-24. En revanche, le tableau paraît quelque peu différent pour le reste de la Méditerranée. Si la conformité à la norme de 1985 semble être assez considérable sur la base des seuls paramètres microbiologiques (voir l'avant-dernière colonne du tableau 5.1.5), les pourcentages en question sont sérieusement entachés par le fait qu'un nombre important des stations n'ont pas été surveillées à la fréquence minimale requise et, si l'on se fonde sur l'observation stricte de toutes les prescriptions, le tableau qui se dégage est tout à fait différent (voir la dernière colonne du tableau 5.1.5). Dans les deux cas, aucune tendance générale ne peut être confirmée. Le manquement à la prescription de fréquence minimale constitue donc l'une des grandes déficiences. De plus, le nombre total de zones de surveillance officiellement désignées est réduit par comparaison avec la situation de la zone CE.

5-25. Il convient de souligner que les remarques formulées aux paragraphes précédents s'appliquent uniquement au total des données regroupées des treize pays. Elles ne visent absolument pas la situation de tel ou tel des pays concernés, dont certains possèdent des plages ayant des eaux de baignade de haute qualité qui sont le plus souvent échantillonnées à une fréquence égale ou supérieure à la fréquence minimale requise. De plus, il y a lieu de considérer que les données soumises par les divers pays participant au MED POL, bien qu'elles le soient dans le cadre d'accords appelés "programmes nationaux de surveillance continue", ne constituent en aucun cas le programme national officiel ou légalement reconnu de surveillance de la qualité des eaux de baignade du pays en question. Il existe au moins un pays dans lequel un vaste programme de surveillance de la qualité des eaux de baignade est opérationnel depuis une époque bien antérieure au Plan d'action pour la Méditerranée et, cependant, les seules données soumises au MED POL, proviennent d'un programme spécial bien plus restreint administré par des autorités nationales différentes. Dans un autre pays, des programmes indépendants concernant la qualité de l'eau sont mis en oeuvre par diverses autorités municipales, et les données qui en proviennent ne sont pas mises à la disposition du pouvoir central, ni au MED POL par conséquent. Ce sont là, parmi d'autres, des cas qui illustrent le manque de liaison entre les diverses autorités nationales dans les divers pays et qui confirment qu'il n'est pas possible de tirer des conclusions fermes sur la qualité des eaux de baignade dans les parties de la Méditerranée bordées par des Etats non membres de la CE sur la seule base des données soumises.

5.2 L'ETAT DES ZONES CONCHYLICOLES

Le projet pilote MED POL VII (1976-1981)

5-26. Au cours du projet pilote sur le contrôle de la qualité des eaux côtières (MED VII), six laboratoires coopérants de quatre Etats méditerranéens ont surveillé des eaux conchylicoles. La surveillance a démarré à la fin 1976, parallèlement à la surveillance des eaux à usage récréatif, et elle a pris fin en mars 1981. Tous les participants ont mis en oeuvre un même programme minimal, afin de permettre la comparaison des résultats. En fait, les programmes de surveillance ont été supérieurs à ceux qui étaient requis car ils incluaient davantage de paramètres (WHO/UNEP, 1981). Le choix des zones de prélèvement ainsi que le nombre des stations d'échantillonnage étaient avant tout déterminés par la localisation et l'organisation des zones conchylicoles déjà existantes, si bien que l'on estimait que les conclusions tirées du programme de surveillance continue mis en oeuvre dans ces zones conchylicoles de la Méditerranée ne pouvaient pas s'appliquer à l'ensemble d'entre elles. Cependant, compte tenu du nombre et de la répartition spatiale des laboratoires coopérants, on a jugé que ces mêmes conclusions pouvaient constituer une indication précieuse sur la situation régnant à l'époque parmi les zones conchylicoles de la Méditerranée (PNUE/OMS, 1985).

5-27. Lors de l'exécution du projet, 2300 échantillons d'eau et de coquillages provenant de cinquante stations de prélèvement ont été analysés. La moyenne d'échantillons d'eau analysés à chaque station a été estimée à 10 par an, bien que les fréquences de prélèvement aient grandement varié selon les stations tant au sein de la zone surveillée par un laboratoire donné qu'entre les zones des différents laboratoires. Les paramètres de base utilisés pour évaluer la qualité microbiologique des eaux conchylicoles étaient quatre indicateurs de la pollution par les eaux usées: les coliformes totaux, les coliformes fécaux, les streptocoques fécaux et les bactéries hétérotrophes totales. De plus, d'autres paramètres microbiologiques étaient déterminés, et notamment par l'analyse qualitative et quantitative des vibrions (comme *vibrio parahaemolyticus*), salmonelles et virus.

5-28. Dans l'évaluation de la pollution microbienne en mer Méditerranée (PNUE/OMS, 1985), les critères provisoires PNUE/OMS proposés (voir la section 4 du document) ont servi de base à l'évaluation de la qualité microbiologique des eaux conchylicoles et des coquillages. Les résultats de cette évaluation sont récapitulés sur le tableau 5.2.1(A). Plus concrètement, dans le processus d'évaluation, on a retenu comme facteur limitatif le chiffre de 2 coliformes fécaux par g de chair de coquillage. Par conséquent, toute station de prélèvement satisfaisant à cette norme ainsi qu'à la norme correspondante de qualité des eaux conchylicoles, était jugée satisfaisante pour la vente directe de coquillages sans nettoyage ou épuration supplémentaire, au cours de la période annuelle considérée. Seules les stations effectuant au moins dix analyses par année étaient retenues pour cette évaluation particulière (PNUE/OMS, 1985).

5-29. Une analyse du tableau 5.2.1 (A) fait clairement ressortir l'influence marquée que la limitation microbiologique a eue sur le classement de la chair de coquillage lors de l'évaluation d'une station de prélèvement. Si le pourcentage de stations jugées satisfaisantes du point de vue de la qualité microbiologique de leur eau se situait entre 47 et 76% selon l'année, celles jugées satisfaisantes au point de vue de la chair de coquillage se situait entre 0 et 21% au cours de la période en question. Le pourcentage de stations satisfaisant aux deux normes (eau et coquillage) se situait entre 0 et 10% (PNUE/OMS, 1985). Dans une nouvelle évaluation se

fondant sur les mêmes critères microbiologiques, on a retenu toutes les stations ayant effectué au moins six échantillonnages d'eau et de coquillage par an (tableau 5.2.1 (B)). On a obtenu un profil identique, 52 à 86% des stations satisfaisant à la norme pour l'eau, et 0 à 9% à la norme pour les coquillages.

5-30. Les données ont été également analysées sur la base de la conformité aux critères CEE (CE, 1979) stipulant comme valeur guide que le nombre de coliformes fécaux dans 100 ml de (chair de coquillage + liquide intervalvaire) ne devait pas dépasser 300 dans 75% des échantillons prélevés tous les trois mois (ou quatre fois par an). Les résultats de cette évaluation (PNUE/OMS, 1985) sont reproduits sur les tableaux 5.2.2 (A) et 5.2.2 (B). Les deux tableaux offrent un profil presque identique, le pourcentage de stations satisfaisantes au point de vue de la qualité de l'eau dans les deux cas (au moins 10 et au moins 6 prélèvements par an, respectivement) se situant entre 0 et 71%.

5-31. Une comparaison des deux types de normes (normes méditerranéennes de 1985 et normes CEE de 1979) pour les eaux conchylicoles, en fonction de la conformité des stations MED POL 1976-1981 aux unes et aux autres, montre que les normes CEE paraissent être plus rigoureuses. Sur les stations MED POL ayant effectué au moins 10 échantillonnages par an, le taux de conformité aux normes méditerranéennes proposées a varié de 47 à 76% au cours de la période considérée, soit un taux moyen de 63%, alors que le taux de conformité des mêmes stations aux normes CEE a varié de 0 à 71%, soit un taux moyen de 40%. La validité des moyennes doit être considérée avec une certaine réserve du fait que le nombre (et dans certains cas l'emplacement) des stations a varié d'une année à l'autre. Les écarts de conformité enregistrés doivent être appréciés en tenant compte du fait que les normes méditerranéennes proposées stipulaient l'analyse de la chair seule des coquillages, alors que la directive CEE stipulait l'analyse de "chair + liquide intervalvaire". Cependant, malgré cette différence, il faut en déduire que l'analyse des seuls coquillages constitue une norme plus sévère d'acceptabilité des eaux conchylicoles que l'analyse de la seule eau. On ne peut comparer la conformité des stations aux normes méditerranéennes pour les coquillages d'une part et aux normes CEE de l'autre, puisque les premières étaient destinées à l'évaluation des coquillages pour la consommation et que les secondes constituaient un indice d'acceptabilité des eaux aux fins de conchyliculture.

Données MED POL - Phase II

5-32. Bien que les eaux conchylicoles aient été incluses dans le volet "surveillance continue" de MED POL - Phase II, aucun des pays ayant signé des accords nationaux de surveillance avec le PNUE n'a intégré cette matrice dans son programme d'activité au cours de la période considérée. Par conséquent, on ne dispose pas de données sur les eaux conchylicoles en Méditerranée depuis 1982. Les Etats membres de la CE ne soumettent pas à la Commission de rapports sur leurs eaux conchylicoles comme ils le font sur leurs eaux de baignade. Les données des paragraphes précédents et des tableaux 5.2.1 et 5.2.2, bien qu'ayant un intérêt historique, fournissent tout au plus une indication partielle sur la situation qui régnait voici quinze ans et elles ne sauraient en aucun cas être considérées comme un indice de la situation actuelle, laquelle reste jusqu'à ce jour très mal connue puisqu'on ne dispose pas de données provenant d'une surveillance régulière.

TABLEAU 5.2.1

**EVALUATION SOMMAIRE DE LA QUALITE MICROBIOLOGIQUE DES EAUX
CONCHYLICOLES ET DES COQUILLAGES EN MEDITERRANEE, 1976-1981,
SUR LA BASE DES CRITERES PROVISOIRES
OMS/PNUE PROPOSES EN 1985**

(Adapté de PNUE/OMS, 1985)

A

STATIONS MED POL VII AYANT EFFECTUE AU MOINS 10 PRELEVEMENTS PAR AN

Année	Stations surveillées	Stations répondant aux normes pour les:		Stations satisfaisantes
		eaux	coquillages	
1976	15	10 (67%)	0 (0%)	0 (0%)
1977	12	7 (58%)	0 (0%)	0 (0%)
1978	21	14 (67%)	2 (10%)	3 (10%)
1979	19	9 (47%)	4 (5%)	1 (5%)
1980	21	16 (76%)	0 (0%)	0 (0%)

B

STATIONS MED POL VII AYANT EFFECTUE AU MOINS 6 PRELEVEMENTS PAR AN

Année	Stations surveillées	Stations répondant aux normes pour les:		Stations satisfaisantes
		eaux	coquillages	
1976	18	12 (67%)	0 (0%)	0 (0%)
1977	13	8 (62%)	0 (0%)	0 (0%)
1978	24	17 (71%)	3 (13%)	2 (8%)
1979	33	17 (52%)	6 (18%)	3 (9%)
1980	21	14 (67%)	0 (0%)	0 (0%)
1981	7	6 (86%)	0 (0%)	0 (0%)

TABLEAU 5.2.2

**EVALUATION SOMMAIRE DE LA QUALITE MICROBIOLOGIQUE DES EAUX
CONCHYLICOLES EN MEDITERRANEE, 1976-1981, SUR LA BASE DES NORMES
DE LA DIRECTIVE CEE DE 1976**

(Adapté de PNUE/OMS, 1985)

A

STATIONS MED POL VII AYANT EFFECTUE AU MOINS 10 PRELEVEMENTS PAR AN

Année	Stations surveillées	Stations satisfaisantes
1976	15	4 (27%)
1977	12	0 (0%)
1978	21	11 (52%)
1979	20	6 (30%)
1980	21	15 (71%)

B

STATIONS MED POL VII AYANT EFFECTUE AU MOINS 6 PRELEVEMENTS PAR AN

Année	Stations surveillées	Stations satisfaisantes
1976	18	4 (22%)
1977	13	0 (0%)
1978	24	14 (58%)
1979	34	11 (32%)
1980	21	15 (71%)
1981	7	4 (57%)

SECTION 6

RISQUES SANITAIRES IMPUTABLES AUX ZONES A USAGE RECREATIF ET AUX ZONES CONCHYLICOLES POLLUEES EN MEDITERRANEE

6.1 RISQUES SANITAIRES GENERAUX

6-1. L'exposition humaine aux microorganismes pathogènes du milieu marin survient principalement par contact direct avec l'eau, le sable ou le sédiment pollués, y compris l'ingestion d'eau, mais elle peut aussi se produire par la nage ou d'autres activités de plaisance dans les eaux côtières, ainsi que par la consommation de produits de la mer contaminés.

6-2. Les effets sanitaires résultant ou susceptibles de résulter de cette exposition ont suscité des préoccupations dans le monde entier, notamment au cours des trente dernières années. Dans le cas des coquillages, ces préoccupations ont conduit progressivement à élaborer divers critères et normes de qualité, non seulement pour les coquillages proprement dits dans le cadre de la santé publique et de la législation concernant la qualité des aliments, mais aussi pour les eaux d'élevage et de ramassage de ces coquillages. Mis à part les différences de prescriptions réglementaires d'acceptabilité des coquillages destinés à la consommation que l'on observe selon les pays, on a également émis des doutes sur l'efficacité des techniques d'épuration visant à éliminer les risques biologiques et à rendre le produit sûr pour la consommation (Geldreich, 1985). Pour les eaux à usage récréatif, on a été confronté à des problèmes plus fondamentaux. Dans plusieurs pays, on s'est employé à quantifier les risques sanitaires des eaux à usage récréatif polluées en menant des études microbiologiques/épidémiologiques visant à établir une corrélation directe entre la qualité microbiologique de l'eau et les effets sanitaires parmi des groupes de population exposés. Dans l'ensemble, ces études ont donné des résultats contradictoires, d'où d'importantes variations dans les critères et normes de qualité de l'eau appliqués, et à de vives controverses concernant leur mise en oeuvre (Jones et Kay, 1989).

6-3. Les risques sanitaires résultant de la présence de microorganismes pathogènes dans le milieu marin de la Méditerranée peuvent être considérés comme particulièrement importants par suite de toute une série de facteurs hétérogènes. Un document OMS sur le contrôle de la qualité microbiologique dans les eaux côtières à usage récréatif et les eaux conchylicoles de la Méditerranée (WHO, 1989) comprenaient les facteurs suivants dont l'influence sur les risques sanitaires accrus résultant de la pollution marine en Méditerranée a été confirmée par une consultation OMS/PNUE tenue à La Vallette, Malte, en décembre 1989 (WHO/UNEP, 1990):

en dehors des quelque 130 millions d'habitants qui, selon les estimations, résident en permanence le long du littoral méditerranéen, plus de 100 millions de touristes visitent chaque année la région. Au cours des mois d'été, la mer constitue la principale valeur d'agrément pour les populations d'autochtones et de touristes, si bien que la plupart des plages, notamment celles qui sont situées à proximité des villes et des stations, sont surfréquentées, en particulier pendant les week-ends. La nature hétérogène des foules fréquentant les plages favorise encore la propagation des infections;

le climat chaud qui règne dans la région n'implique pas seulement une longue saison de baignade mais aussi des durées accrues d'exposition à l'eau de mer et/ou au sable de plage, par comparaison avec la situation dans d'autres pays plus tempérés;

des quantités considérables de coquillages sont cultivées ou ramassées dans la région méditerranéenne, et elles sont consommées par les populations d'autochtones et de touristes. La consommation totale de coquillages a été estimée à plus de 12.000 tonnes métriques par an. On peut considérer que la majeure partie en est consommée dans les zones côtières;

bien que la situation générale s'améliore progressivement grâce à la mise en place de stations d'épuration des eaux usées et d'émissaires sous-marins, dans la plus grande partie de la région la majeure partie des eaux usées est encore rejetée sans avoir subi de traitement dans la zone marine côtière la plus proche, et bien souvent au voisinage de zones de plaisance et de bancs de coquillages;

les mesures de contrôle de la qualité de l'eau et des produits de la mer varient d'un pays à l'autre. Bien souvent, les mesures de contrôle répondant à des critères ou normes de qualité reposent entièrement sur des concentrations "acceptables" d'organismes indicateurs bactériens. Si ces organismes peuvent fournir une estimation valable du degré de pollution par les eaux usées, et peut-être une corrélation relativement satisfaisante avec les concentrations d'agents entéropathogènes, on n'a pu établir jusqu'ici qu'ils fourniraient une corrélation manifeste avec la présence et la concentration des virus ou autres agents pathogènes non gastro-intestinaux, ainsi qu'avec les toxines algales comme celles des intoxications IPC et IDC. Dans l'ensemble, il n'existe guère de contrôle de la qualité du sable de plage, et c'est seulement récemment que l'on a commencé à prendre conscience du rôle que celui-ci pourrait jouer dans la transmission de plusieurs infections cutanées et par contact, notamment d'infections fongiques.

6-4. Les trois premiers facteurs sont d'ordre climatique et socio-économique, et plus ou moins permanents par nature. Leur importance croît à mesure qu'augmentent le nombre des touristes et la longueur de côte consacrée aux activités de plaisance marines. L'impact du quatrième facteur sur la situation générale se fait toujours fortement sentir, malgré les améliorations survenues dans la gestion des eaux usées et dont témoigne le nombre croissant de stations d'épuration et d'émissaires sous-marins en service, notamment sur la rive Nord. Quant au dernier facteur, dont le caractère est mondial plus que spécifique à la Méditerranée, il représente un risque accru pour la région quand on l'envisage conjointement avec les autres facteurs plus spécifiquement méditerranéens.

6-5. Dans ces conditions, les critères et normes de qualité reposent normalement sur les résultats d'études épidémiologiques visant à établir un rapport entre la qualité de l'eau et des coquillages d'une part et les effets sanitaires parmi des groupes de population exposés d'autre part. Pour les eaux de baignade, des études de ce type ont été menées dans divers pays de la région depuis une vingtaine d'années. On fournira plus loin des détails sur ces études. Bien que celles-ci aient été basées sur des protocoles bien établis au plan international et mis au point pour des études extérieures à la région, elles ont porté des domaines très variables et ont toutes été réalisées à une échelle relativement modeste. Elles ont aussi été d'une interprétation plus ou moins limitée quant à leur résultats en raison de plusieurs facteurs déroutants qu'il s'est avéré difficile de maîtriser. Dans l'ensemble, et sans parler de leur disparité d'un pays à l'autre, les mesures antipollution qui ont été prises ne l'ont pas été à l'issue d'évaluations des risques sanitaires basées sur des éléments épidémiologiques probants.

6.2 MALADIES ET TROUBLES

6-6. Sur un plan très général, les maladies et les troubles provoqués par les microorganismes pathogènes présents dans les diverses matrices du milieu marin peuvent être classés en deux grandes catégories: ceux qui affectent l'appareil gastro-intestinal, et ceux qui affectent le reste de l'organisme. Dans la première catégorie, toutes les maladies qui sont propagées par la voie féco-orale et dont les agents étiologiques sont éliminés dans les fèces des sujets atteints ou porteurs, peuvent être virtuellement contractées lors de la nage dans des eaux polluées par des eaux usées (Cabelli, 1983). Le même auteur a indiqué que ces maladies comprenaient: a) des maladies bactériennes comme les salmonelloses (fièvres typhoïde et paratyphoïdes notamment), les shigelloses (dysenterie bacillaire), le choléra et les gastroentérites dues à *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, etc.; b) des maladies virales comme l'hépatite infectieuse, les affections dues aux entérovirus (poliovirus, virus coxsackie A et B, échovirus, réovirus et adénovirus) et la gastroentérite "non spécifique" provoquée par les virus parvo-like et les rotavirus humain; et enfin c) les maladies provoquées par toute une série de parasites protozoaires et métazoaires telles que la dysenterie amibienne, la lambliaose, l'ascaridiose, etc. Les MICROORGANISMES pathogènes présents en Méditerranée et qui sont à l'origine de ces maladies (dont celles qu'on vient de citer) ont été décrits à la section 3 du présent document.

6-7. Dans la mesure où l'ingestion d'eau reste limitée au cours de la nage ou de la baignade et si l'on excepte les agents pathogènes dont la dose infectante est relativement faible, les maladies susmentionnées peuvent être contractées beaucoup plus facilement par la consommation de fruits de mer crus ou à moitié cuits. Les autres agents pathogènes signalés comme étant à l'origine d'infection chez l'homme par cette dernière voie comprennent *Vibrio parahaemolyticus* et *Clostridium botulinum* (type E) dont l'habitat naturel est la mer. De fait, on dispose de nombreuses preuves de transmission de maladies à l'homme après consommation de coquillages contaminés. Toute une série d'affections ont été décrites (Shuval, 1986), les principales étant les fièvres typhoïde et paratyphoïdes, les salmonelloses, les infections dues à *Vibrio parahaemolyticus*, l'hépatite virale de type A (hépatite infectieuse), l'intoxication paralytique par coquillages et le choléra (PNUE/OMS, 1991).

6-8. En dehors des affections du tube digestif, un certain nombre de maladies ou troubles touchant les yeux, les oreilles, les voies respiratoires supérieures et d'autres régions ont été associés à la baignade. Les états infectieux de cette catégorie particulière peuvent être causés par des microorganismes tels que le staphylocoque doré, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium welchii* et *Candida albicans*, et l'infection peut résulter de la pénétration des microorganismes à travers des coupures ou déchirures de la peau ou des ruptures des membranes délicates de l'oreille et du nez à l'occasion d'un traumatisme survenant lors d'un plongeon dans la mer (Shuval, 1986). On a signalé (Mood et Moore, 1976) que ces MICROORGANISMES sont souvent présents chez l'homme mais qu'ils n'occasionnent de manifestations pathologiques que si, pour une raison ou une autre, les défenses des sujets qui les hébergent sont diminuées. Bien que les quatre espèces précitées puissent également se rencontrer dans les eaux polluées, les mêmes auteurs pensent qu'il faut accueillir avec réserve l'hypothèse selon laquelle un sujet atteint d'infection l'aurait acquise à partir de l'eau polluée, car il est fort possible que ce baigneur était déjà porteur du microorganisme, et la maladie peut être en grande partie déterminée par la sensibilité individuelle plutôt que par l'exposition aux microorganismes présents dans le milieu marin.

6.3 CORRELATION ENTRE LA QUALITE DES EAUX A USAGE RECREATIF ET LES EFFETS SANITAIRES

6-9. Le but fondamental de l'étude des effets sanitaires de la nage ou de la baignade a été conçu à l'origine par Stevenson (1953): déterminer à quels changements de l'incidence des maladies on peut s'attendre par suite de nage dans des eaux contenant divers degrés de pollution bactérienne. L'établissement d'une courbe dose-effet, basée sur la recherche épidémiologique, devrait être le but ultime des investigations dans ce domaine. Cette courbe dose-effet ne dépend pas des indices de pollution reposant sur les agents pathogènes eux-mêmes; les indicateurs de pollution par les eaux usées sont plus appropriés car ils ont une répartition mieux prévisible et sont susceptibles de servir de base à des normes. De plus, il n'est pas nécessaire de définir le risque morbide par référence à des pathogènes précis; les symptômes ou groupe de symptômes sont plus appropriés si le risque est dû à toute une série d'agents dont on ignore la répartition saisonnière et spatiale (Wheeler, 1990). Depuis la première effectuée par Stevenson en 1953, un bon nombre d'études ont été réalisées pour tenter de définir le niveau de risque après une exposition à différentes concentrations de bactéries dans les eaux de baignade. La plupart de ces études épidémiologiques ont été de type prospectif, ou, comme on les désigne désormais, de "type Cabelli" par référence au responsable, de 1972 à 1979, de la première étude à vaste échelle menée par l'US Environmental Protection Agency. Un certain nombre d'études de ce type ont été réalisées dans le monde, dont plusieurs en Méditerranée.

6-10. La bibliographie pertinente, avec les détails de la conception et les résultats des études réalisées, a donné lieu à des synthèses de Shuval (1986), Jones et Kay (1989), Lightfoot (1989), Saliba et Helmer (1990), Wheeler (1990) et Pike (1994). La plupart des études menées en Méditerranée portaient sur des plages, et l'on avait recours, pour évaluer la qualité de l'eau, tantôt à un seul microorganisme tantôt à une combinaison de coliformes totaux, coliformes fécaux, streptocoques fécaux, entérocoques, *Escherichia coli* et staphylocoques. Les résultats de la quasi totalité de ces études ont fait apparaître des taux de morbidité plus élevée parmi les baigneurs que parmi les non baigneurs, la meilleure corrélation avec la qualité de l'eau concernant tel ou tel microorganisme quand différentes plages étaient comparées.

Etudes méditerranéennes

6-11. Une étude menée à Alexandrie en 1980 a été parrainée par l'US EPA qui souhaitait localiser quelques plages plus fortement polluées que celles se prêtant à l'étude aux Etats-Unis de manière à déterminer la nature de la courbe dose-effet à des niveaux de dose plus élevés (Shuval, 1986). Certaines des plages incluses dans l'étude étaient exposées à des émissaires d'eaux usées situés dans le voisinage et elles étaient fortement polluées, les concentrations d'entérocoques et d'*Escherichia coli* atteignant 10^4 par 100 ml. D'autres plages étaient acceptables selon les lignes directrices de l'US EPA. La population étudiée comprenait les habitants d'Alexandrie et les touristes estivaux venant du Caire. On admettait que ces derniers avaient des défenses immunitaires plus faibles contre les maladies endémiques d'Alexandrie. Les principaux résultats ont mis en évidence une relation marquée entre des symptômes gastro-intestinaux avérés et les concentrations d'entérocoques et d'*Escherichia coli*. Une comparaison avec des études antérieures de nature similaire menées à New York a montré que, pour des concentrations d'entérocoques équivalentes, les taux de morbidité étaient plus faibles en Egypte, surtout parmi la population autochtone d'Alexandrie, ce qu'on a attribué à la

nature endémique des maladies de la région et à l'immunité relative qui en résulte chez les grands enfants et les adultes (Shuval, 1986). Selon un rapport établi sur certains aspects de l'étude (El-Sharkawi *et al.*, 1982b), on a relevé un risque important de contracter la typhoïde à l'occasion de la baignade dans l'eau de mer polluée et c'était le groupe d'âge jeune qui s'avérait le plus vulnérable.

6-12. Une étude épidémiologique a été menée en Israël en 1983 à des plages de la région de Tel-Aviv soumises à des degrés variables d'exposition à la pollution par les eaux usées. L'étude englobait 2.231 nageurs et non nageurs (dont 32% figurant dans le groupe d'âge 0-4 ans) et les indicateurs retenus étaient les coliformes, les entérocoques, *Escherichia coli*, le staphylocoque doré et *Pseudomonas aeruginosa*. La principale constatation a concerné un taux plus élevé de symptômes intestinaux (affections gastro-intestinales) parmi les nageurs du groupe d'âge 0-4 ans dans l'eau présentant des titres plus élevés d'entérocoques ou d'*Escherichia coli*. Les coliformes fécaux et *Pseudomonas aeruginosa* ne paraissent pas avoir une valeur aussi importante comme indicateurs de morbidité intestinale associée à la nage (Fattal et Shuval, 1988).

6-13. Une deuxième étude épidémiologique prospective a été menée en Israël à quatre plages de la région de Tel-Aviv et du sud (Fattal et Shuval, 1991). En dehors du premier objectif qui consistait à étudier la morbidité associée à la nage en fonction de la qualité de l'eau exprimée par les concentrations d'indicateurs bactériens, un deuxième objectif consistait à déterminer la faisabilité d'une extension du projet afin de préciser l'étiologie de la gastroentérite associée à la baignade. Un total de 233 familles, soit 784 personnes, ont été interrogées dans le cadre de l'étude, dont 23% relevaient du groupe d'âge 0-4 ans. Quarante-deux échantillons d'eau ont été analysés pour les concentrations d'indicateurs bactériens (coliformes fécaux et entérocoques) dont on a noté des variations importantes entre la plage la plus propre et la plage la plus polluée. On n'a pas observé de différence dans l'incidence des symptômes intestinaux associées à la nage entre ces deux plages, que ce soit pour tous les âges ou pour le groupe 0-4 ans, bien que la morbidité globale ait été similaire à celle enregistrée dans des études antérieures. Chez quarante sujets, nageurs et non nageurs, on a effectué des prélèvements de sang qui se sont avérés positifs pour les rotavirus. Aucune séroréaction n'a été décelée. On a également noté que les taux globaux de symptômes respiratoires et de symptômes intestinaux fiables étaient nettement plus élevés les jours à "fort effet baigneur" que les jours à "faible effet baigneur". Selon les deux grandes conclusions tirées par les auteurs, a) les baigneurs eux-mêmes peuvent être une source importante d'agents responsables de morbidité associée à la nage aux plages très fréquentées ayant des échanges d'eau médiocres, et b) il conviendrait d'appliquer aux plages offrant peu d'échanges d'eau (en raison de digues, etc.) des normes comportant des limites plus strictes d'indicateurs microbiologiques qu'aux plages ayant des échanges d'eau relativement élevés (plages ouvertes au large).

6-14. Trois études ont été réalisées en Espagne. La première (Mujeriego *et al.*, 1983) comportait une vaste étude croisée sur 20.000 personnes interrogées sur diverses plages de Malaga et Tarragona. Les taux les plus élevés de morbidité qu'ont ait relevés concernaient les infections cutanées (2%), suivies par les infections des oreilles et des yeux (environ 1,5%), ce dernier groupe étant considéré par les auteurs comme significativement associé à l'immersion de la tête dans l'eau de mer. Les concentrations de streptocoques fécaux donnaient une meilleure corrélation avec les taux de morbidité que celles de coliformes fécaux. La deuxième étude (Marino *et al.*, 1982), menée sur plusieurs plages de la Méditerranée et de l'Atlantique, était d'une conception à peu près similaire et elle a, elle aussi, donné des taux de morbidité plus

élevés pour les infections des oreilles, des yeux et de la peau. La meilleure corrélation avec cette morbidité a été obtenue avec les coliformes fécaux, les concentrations seuil d'accroissement de la morbidité se situant autour de 400 CF par 100 ml.

6-15. La troisième étude a été réalisée à deux plages de Malaga pour déterminer la qualité de l'eau exprimée en coliformes totaux, coliformes fécaux, *Pseudomonas aeruginosa*, staphylocoques dorés, *Aeromonas hydrophila*, espèces *Vibrio* et *Candida albicans*. Au cours de l'étude (Borrego *et al.*, 1991), des enquêtes auprès de groupes de population tests ont été menées au moyen d'un questionnaire de type Cabelli modifié. Selon les conclusions préliminaires tirées jusqu'à ce jour: a) la symptomatologie intestinale était plus marquée parmi les nageurs que parmi les non nageurs sur les plages les plus polluées; b) on notait un taux supérieur de symptômes cutanés et respiratoires parmi les nageurs que parmi les non nageurs, indépendamment des concentrations bactériennes enregistrées dans l'eau mer; c) aucune signification statistique n'apparaissait entre les taux de symptômes associés à la nage et les indicateurs fécaux; et d) la concentration de champignons dans le sable de plage était la même à la plage polluée et à la plage non polluée, et on ne pouvait établir aucune corrélation entre les symptômes cutanés associés au sable et les agents dermopathogènes. Un autre problème soulevé par cette étude a tenu au fait que, sur les 1.447 sujets soumis à l'enquête, seuls 4,6% pouvaient être définis comme non nageurs, et le groupe témoin était donc très réduit.

6-16. Parmi les études menées en France, l'une (Foulon, 1983) a porté sur cinq plages dont la qualité de l'eau a été analysée pour les coliformes totaux, les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux. Près de 5.000 personnes ont été interrogées sur les plages et un peu plus de 1.500 ont été suivies sur la base d'un questionnaire sous forme de carte-réponse. Les résultats ont indiqué des différences dans l'incidence de la conjonctivite et des infections cutanées entre baigneurs et non baigneurs ainsi que dans l'incidence des troubles abdominaux, nausées et prurit entre les sujets plongeant leur tête dans l'eau et ceux s'abstenant de le faire. On n'a toutefois décelé aucune corrélation entre la morbidité et la qualité de l'eau.

6-17. Une étude menée ultérieurement en France (CAREPS, 1987), dans le Bassin de l'Ardèche, sur des plages d'eau douce, a porté sur 5.700 sujets au cours des étés 1985 et 1986. Outre les coliformes totaux, les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux, les indicateurs de qualité de l'eau retenus comprenaient les espèces *Aeromonas* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les sujets étaient observés en permanence sur des périodes de 3 et 8 jours, et leurs symptômes étaient consignés. On a décelé des taux de morbidité plus élevés parmi les baigneurs que les parmi les non baigneurs pour chacune des affections observées (gastro-intestinales, cutanées, oculaires et oto-rhino-laryngologiques). Les concentrations de coliformes totaux et de coliformes fécaux ont donné la meilleure corrélation avec la morbidité globale. Lorsqu'on prenait chaque type de symptôme séparément, la corrélation variait selon les divers indicateurs, les streptocoques fécaux fournissant la meilleure corrélation avec les symptômes gastro-intestinaux. L'analyse des résultats a permis de conclure qu'une concentration de 100 coliformes fécaux par 100 ml (la norme "guide" de la CEE) correspondait à une incidence de 15,3 cas de morbidité gastro-intestinale globale par 1.000 personne-jours, et une concentration de 2.000 coliformes fécaux par 100 ml à une incidence de 20,4 cas par 1.000 personne-jours. Il a été calculé que la norme guide pour les streptocoques fécaux (100 par 100 ml) correspondait à 23 cas par 1.000 personne-jours. Le calcul de l'incidence prévue de morbidité gastro-intestinale chez les non baigneurs n'a pas été effectué mais, sur la base des résultats des auteurs, elle devrait s'élever à 8,5 cas par 1.000 personne-jours. Les auteurs observent, entre autres conclusions, que les résultats ne peuvent être extrapolés avec certitude à l'eau de mer.

6-18. Parmi les autres études réalisées en Méditerranée, l'une portait sur la relation entre le tourisme littoral, la pollution de la mer et la santé publique (Kocasoy, 1989); réalisée sur 15 plages de la côte ouest de la Turquie, elle n'incluait que les touristes, à l'exclusion par conséquent de la population locale. Elle visait à établir la corrélation entre la concentration de coliformes totaux sur les diverses plages et les symptômes signalés. Sur les 8399 questionnaires distribués, 4068 ont été retournés, dont 3407 ont été classés comme valables. Sur ces derniers, 3240 (95%) provenaient de personnes pratiquant la nage. Les taux de morbidité pour affections gastro-intestinales signalées par les nageurs variaient de 7,2% aux plages les moins polluées à 9,5% aux plages les plus polluées, les chiffres correspondants pour les non nageurs étant de 2,9 et 3,1%. De 66 à 71% des sujets atteints étaient des enfants de moins de 12 ans. Une autre étude a été réalisée sur 3 plages proches de Palerme, en Sicile (Torregrossa *et al.*, 1994). Les plages étaient classées en polluées et non polluées. Parmi les paramètres microbiologiques déterminés à toutes les plages, les niveaux de coliformes totaux, de coliformes fécaux, de streptocoques fécaux, de staphylocoques dorés et autres espèces de staphylocoque, et de *Candida albicans*, étaient, dans une mesure variable, plus élevés aux plages polluées. Les concentrations de *Pseudomonas aeruginosa* et d'autres espèces de *Pseudomonas*, ainsi que des espèces de vibron, étaient à peu près les mêmes aux plages polluées et non polluées. Les salmonelles n'étaient présentes à aucune plage. L'étude a comporté l'interrogatoire de 581 sujets, dont 372 (64%) pratiquaient la nage. La morbidité pour symptômes intestinaux était plus élevée aux plages polluées. On n'a relevé aucune différence significative entre les plages pour d'autres symptômes (respiratoires et généraux). Les concentrations de *Pseudomonas aeruginosa* et de *Candida albicans* aux plages non polluées étaient les mêmes que celles consignées pour l'eau de mer.

Etudes récentes hors Méditerranée

6-19. A part l'étude de l'US EPA, un certain nombre d'études visant à établir une corrélation entre la qualité des eaux à usage récréatif et les effets sanitaires ont été menées dans plusieurs pays. Deux des plus importantes menées en dehors de l'Europe l'ont été à Hong Kong (Cheung *et al.*, 1991) et en Australie (Corbett *et al.*, 1993). Dans la première, neuf indicateurs bactériens ont été testés, *Escherichia coli* et les staphylocoques étaient enregistrés comme de bons indices de différents effets sanitaires dus à la nage. Les niveaux d'*Escherichia coli* à plusieurs plages se sont avérés être influencés par la marée, et ceux des staphylocoques par le nombre de baigneurs. Dans la deuxième étude, réalisée à douze plages de Sydney, 24% des participants ont signalé avoir ressenti des symptômes dans les dix jours ayant suivi le premier entretien de l'enquête. Presque les deux tiers de ces symptômes étaient respiratoires. Les deux principaux indicateurs bactériens examinés étaient les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux, dont la moyenne géométrique de concentration a varié de 591,4 (matin) à 389,1 (après-midi) par 100 ml pour les premiers, et de 65,9 (matin) à 42,7 (après-midi) pour les seconds. La probabilité de signalement de symptômes était deux fois plus élevée pour les nageurs que pour les non nageurs et, à l'exception des troubles intestinaux, il y avait une relation linéaire entre la pollution de l'eau et tous les symptômes signalés.

6-20. Au cours des cinq dernières années, des études détaillées ont eu lieu au Royaume-Uni. En août 1989, le Département de l'Environnement britannique a commandé deux études pilotes sur les effets sanitaires de la baignade en mer. Ces études avaient notamment pour objet d'évaluer la faisabilité à grande échelle des méthodes testées (Pike, 1990). Deux méthodes

étaient testées - une étude prospective adaptée de celle de type Cabelli, et une étude portant sur des volontaires en bonne santé. Ces deux méthodes complémentaires suivaient les protocoles d'étude prospectives de cohortes et d'essais cliniques contrôlés randomisés mis au point par une réunion OMS/PNUE sur la qualité microbiologique des eaux côtières à usage récréatif tenue à Athènes en juin 1993 (PNUE, 1994). Dans la première étude, les notifications de cas de maladie ont été fonction de l'activité, et les surfeurs ont présenté une morbidité plus élevée que les "waders" (pêcheurs entrant dans l'eau). Les symptômes les plus fréquemment signalés concernaient les oreilles et le pharynx (1 baigneur sur 13 contre 1 non baigneur sur 32). La qualité de l'eau de mer répondait aux normes impératives de la CE. Dans la seconde étude, les volontaires en bonne santé ont été recrutés et divisés en cohortes pratiquant ou non la baignade. Les tests cliniques étaient faits avant et après exposition. Si des taux significativement plus élevés de symptômes pharyngés, auriculaires et oculaires ont été signalés par la cohorte des baigneurs trois jours après l'exposition, et de la diarrhée au bout de trois semaines, on n'a pas décelé de corrélation entre les résultats des tests cliniques et les symptômes signalés (Pike, 1990).

6-21. La seconde phase de l'étude a été commandée en 1990 et a comporté, là encore, le recours aux deux méthodes. Dans la première qui portait sur 2000 sujets fréquentant des plages, le groupe des 15-24 ans a présenté le plus fort risque associé à l'âge. Par rapport aux non baigneurs, les baigneurs avaient une probabilité accrue de 47% de contracter une affection gastro-intestinale, et un risque accru de 85% d'être atteints de diarrhée. La morbidité était en rapport avec l'exposition, et les surfeurs et plongeurs étaient significativement plus exposés aux symptômes respiratoires et oculaires (Pike, 1991). Dans la seconde étude, portant sur plus de 800 adultes, les résultats des prélèvements auriculaires et pharyngés n'ont pas accusé de différence notable entre baigneurs et non baigneurs, bien que certains éléments donnaient à penser que la concentration de streptocoques fécaux dans l'eau de baignade était en rapport avec l'isolement d'*Escherichia coli* dans les prélèvements pharyngés pratiqués chez les baigneurs. Bien que les enfants aient été exclus de l'étude, 131 enfants de moins de 18 ans accompagnaient les adultes à la plage, et 64 d'entre eux nageaient. Le pourcentage de ces enfants ayant eu des troubles gastriques a été significativement plus élevé que chez ceux qui ne se baignaient pas.

6-22. Ces études anglaises ont été reprises à une échelle plus vaste après les deux années de phase pilote. Les études de cohortes prospectives ("enquêtes de plage") se sont poursuivies à huit plages d'une qualité très variable, depuis celles qui répondaient aux normes guides de la directive (CEE) sur les eaux de baignade jusqu'à celles qui ne satisfaisaient même pas aux normes impératives (Pike, 1994). Les résultats ont été regroupés avec ceux des années antérieures pour fournir des résultats exploitables concernant 16.596 sujets. Ceux qui entraient dans la mer ont signalé davantage de symptômes que ceux qui ne le faisaient pas: ces hausses étaient en rapport avec le degré de contact avec l'eau et avec l'âge, étant plus marquées chez les surfeurs et les plongeurs et dans le groupe d'âge 15-24 ans. Les hausses de symptômes oculaires, auriculaires, rhinopharyngés, cutanés et respiratoires n'étaient pas en rapport avec la qualité microbiologique de l'eau de mer. L'augmentation des épisodes diarrhéiques chez ceux qui entraient dans la mer étaient en rapport avec la moyenne géométrique des dénombrements de coliformes et entérovirus. Ces résultats ont été communiqués à titre préliminaire et font actuellement l'objet d'une analyse plus poussée. Les résultats d'une étude menée pendant quatre ans à quatre stations balnéaires et portant sur 1216 adultes ont été publiés en 1994 (Kay *et al.*, 1994). Cette étude a été réalisée selon la méthode de l'exposition contrôlée randomisée. Des entretiens détaillés ont permis de recueillir des données sur les éventuels facteurs

déroutants, et une surveillance intensive de la qualité de l'eau a servi à obtenir des indices d'exposition plus précis. 548 sujets ont été randomisés pour la baignade, l'exposition comportant l'immersion totale de la tête. On a relevé des taux bruts significativement plus élevés de gastroentérite dans le groupe exposé (14,8%) que dans le groupe non exposé (9,7%). Des techniques de tendance linéaire et de régression multiple ont servi à établir les relations entre la gastroentérite et la qualité microbiologique de l'eau. Sur toute une série d'indicateurs microbiologiques qui ont été déterminés, seules les concentrations de streptocoques fécaux ont présenté une relation dose-effet significative avec la gastroentérite. On enregistre des effets nocifs sur la santé quand les concentrations de streptocoques fécaux dépassaient 32 par 100 ml. Cette relation était indépendante des indices prévisionnels de gastroentérite non liés à l'eau.

Harmonisation de la méthodologie

6-23. Dans leur revue de la bibliographie sur les résultats des principales études épidémiologiques prospectives de type Cabelli, Jones et Kay (1989) sont parvenus à la conclusion qu'on ne dispose pas de données épidémiologiques assez solides pour y asseoir, pour les eaux à usage récréatif, la mise en vigueur de normes de qualité scientifiquement justifiées qui permettraient de maîtriser un haut niveau de risque. En notant ces conclusions, un auteur (Colley, 1990) a attiré l'attention sur quelques problèmes généraux rencontrés lors des études épidémiologiques menées jusque là, à savoir notamment:

la difficulté qu'il y a à définir des groupes de population exposés et non exposés;

l'incertitude concernant le degré et la durée de l'exposition par baignade;

les informations restreintes dont on dispose sur les polluants présents dans l'eau de baignade;

l'identification insuffisante des maladies et de leur relation avec la baignade;

la difficulté qu'il y a à interpréter toute association entre les maladies et l'exposition à l'eau polluée, ainsi qu'à établir la courbe dose-effet correspondante.

6-24. Le même auteur a également souligné qu'il restait à aborder un certain nombre de questions, notamment les sous-groupes qu'il fallait éventuellement identifier pour l'estimation des risques et la mise au point de mesures préventives, le suivi approprié des personnes exposées et non exposées, l'obtention d'une certaine notion de la "dose" reçue par les baigneurs lors de l'estimation du risque de maladie, et la différenciation entre les expositions par baignade en mer ou en eau douce. Il convient d'attacher aussi la même importance aux expositions autres que la baignade, en particulier la consommation d'aliments contaminés, puisqu'une maladie sans rapport avec la baignade peut être présente au sein d'une population et doit être identifiée pour éviter toute confusion avec une maladie acquise par baignade. Il convient aussi d'attacher la même importance à l'obtention des preuves suffisantes que le pathogène ou agent responsable d'une maladie est également présent dans l'eau.

6-25. Sur la base des éléments jusqu'alors disponibles, il a été conclu qu'il serait difficile de s'employer à quantifier les risques sanitaires réels découlant de la baignade dans des eaux côtières polluées par des eaux usées tout comme à établir la corrélation entre ces risques et

des niveaux donnés de pollution de l'eau exprimés par les dénombrements d'organismes indicateurs bactériens les plus couramment employés. Cependant, du point de vue qualitatif, il est manifeste que des risques sanitaires existent et qu'ils sont plus marqués dans les zones directement exposées à la pollution par des eaux usées non traitées. Si cette conclusion est valable au plan mondial, à plus forte raison l'est-elle pour la région méditerranéenne. Une conclusion semblable a été tirée d'un examen des résultats d'un programme d'études microbiologiques/épidémiologiques menées par l'US EPA sur plusieurs années (Calderon, 1990) qui confirmait que, aux plages de mer, pour les symptômes gastro-intestinaux associés à la baignade, on n'obtenait une bonne corrélation qu'avec les concentrations d'entérocoques dans l'eau. Dans ces études, la source de pollution identifiée était diffuse et concernait des eaux usées. Dans une étude de l'US EPA, il a été procédé à l'examen de la relation entre indicateurs fécaux de sources diffuses et morbidité associée à la nage: les résultats n'ont permis de déceler aucune relation de ce type.

6-26. Dans le cadre du programme MED POL, l'OMS s'est activement employée à harmoniser les méthodes en mettant au point des protocoles d'étude appropriés devant servir non seulement à déterminer le degré de risque sanitaire mais aussi à identifier les meilleurs indicateurs microbiologiques permettant de corréler la qualité de l'eau aux effets nocifs sur la santé. Le groupe OMS/PNUE d'experts sur les critères sanitaires et les études épidémiologiques se rapportant à la pollution des eaux côtières est convenu des grandes lignes d'un protocole basé sur la méthode US EPA de type Cabelli destiné aux études microbiologiques/épidémiologiques dans la région (WHO/UNEP, 1977b). Cette ébauche de protocole a été étoffée en un protocole détaillé par une consultation OMS/PNUE sur la corrélation entre la qualité des eaux côtières et les effets sanitaires qui s'est tenue à Follonica, Italie, en octobre 1985 (WHO/UNEP, 1986). Suite à la mise au point en dehors de la région de nouvelles méthodes s'appliquant aux baigneurs et autres types de groupe d'exposition, l'ensemble de la question a fait l'objet d'un réexamen par une consultation OMS/PNUE sur les risques sanitaires de la baignade dans l'eau de mer qui s'est tenue à Athènes en mai 1991 (WHO/UNEP, 1992) et au cours de laquelle a été élaboré en partie un ensemble détaillé de lignes directrices pour les études microbiologiques/épidémiologiques concernant l'association entre la qualité des eaux naturelles à usage récréatif et les effets sanitaires chez des groupes de population exposés. Un autre réunion OMS/PNUE sur la qualité microbiologique des eaux côtières à usage récréatif a eu lieu à Athènes en juin 1993 pour finaliser l'ensemble des lignes directrices concernant notamment les paramètres à déterminer, les études de cohortes, les études sur des groupes de baigneurs particuliers, les études cliniques contrôlées randomisées et les études restreintes sur différents groupes d'exposition à l'eau. Ces lignes directrices ont été publiées l'année suivante (OMS/PNUE, 1994).

6.4 CORRELATION ENTRE LA QUALITE DES COQUILLAGES ET LES EFFETS SANITAIRES

6-27. La situation concernant les coquillages revêt deux aspects distincts: la qualité des eaux dans lesquelles sont cultivés ou ramassés les coquillages (qui ne peut être mesurée que par l'analyse de l'eau ou par celle des coquillages tant qu'ils se trouvent encore dans ce milieu) et la qualité des coquillages quand ils arrivent sur le marché. La teneur microbiologique des coquillages prélevés dans des eaux polluées peut être considérablement accrue par suite d'un traitement ou d'un stockage défectueux (PNUE/OMS, 1991).

Etudes épidémiologiques sur les intoxications par coquillages

6-28. Deux approches sont couramment utilisées dans les investigations épidémiologiques sur l'étiologie des maladies. Dans l'étude rétrospective (ou contrôle de dossiers), les individus qui ont contracté la maladie sont comparés avec un groupe similaire d'individus indemnes en ce qui concerne l'exposition au facteur étiologique en question. Dans l'étude prospective (ou étude de cohortes), on procède au suivi de groupes ne différant que par leur exposition à un certain facteur étiologique, et l'incidence de la maladie est comparée en fonction de cette exposition. Si, dans la plupart des études épidémiologiques sur la corrélation entre la qualité des eaux de baignade et les effets sanitaires, on a eu recours à l'approche prospective, dans celles reliant l'incidence des maladies à la qualité des coquillages, on a, dans une mesure variable, eu recours à l'approche rétrospective. Dans une étude de ce dernier type, tous les faits en jeu (causes et effets) se sont déjà produits quand l'étude est lancée, si bien qu'on a affaire essentiellement à une investigation des antécédents des sujets atteints, qu'il s'agisse de cas sporadiques ou de cas survenant lors d'une flambée de cas ou d'une épidémie d'une maladie donnée. La distinction entre flambée de cas et cas sporadiques est bien réelle quant à la probabilité d'obtenir une association entre une maladie donnée et une cause suspectée (comme la consommation de coquillages contaminés). Cela est particulièrement vrai quand d'autres voies de transmission sont en cause dans la grande majorité des cas de la maladie concernée (WHO/UNEP, 1977).

6-29. Hormis deux études sur la fièvre typhoïde en Egypte (El-Sharkawi *et al.*, 1982a) et la flambée de cas de choléra survenue en 1973 en Italie (Baine *et al.*, 1974), la bibliographie actuellement disponible fournit très peu d'éléments épidémiologiques sous forme d'études rétrospectives concernant les maladies dues aux coquillages, et notamment les fortes poussées épidémiques se produisant en Méditerranée. Deux poussées ont été enregistrées récemment en France. La première, en 1992, a consisté en 10.000 cas de gastroentérite dues au virus de Norwalk. L'origine en a été identifiée comme étant des huîtres contaminées. La seconde poussée (bien plus réduite), survenue en 1994, a consisté en 21 cas de gastroentérite dont l'agent responsable était le petit virus rond et l'origine des clams contaminés (WHO/UNEP, 1995). En Italie, la relation entre l'hépatite A et la consommation de fruits de mer crus a été établie par une réduction radicale de l'incidence totale des cas qui ont chuté de 15 à 5 pour 100.000 en 1986 après une campagne rigoureuse de contrôle du ramassage, du stockage et de la distribution des fruits de mer. Au cours de la même période, on a pu, lors d'une épidémie d'hépatite A survenue à Livourne, établir au moyen d'une étude rétrospective une relation directe hautement significative entre la maladie et la consommation de fruits de mer crus (moules et clams), par comparaison avec des témoins (Zampieri, 1989). La fréquence relativement élevée de cas de typhoïde dans la région des Pouilles au cours des mois de janvier et février, contrastant avec le pic estival classique observé dans d'autres régions d'Italie, a été mis en rapport avec les habitudes alimentaires de cette région, à savoir une consommation inconsidérée de fruits de mer crus au moment de Noël et du Nouvel An, ce qui constitue une nouvelle confirmation de la corrélation directe entre infection et consommation de fruits de mer, indépendamment de la baignade (Zampieri, 1989).

6-30. Le grand nombre de cas sporadiques, en particulier parmi les touristes, est attesté par une estimation (Stille *et al.*, 1972) selon laquelle 19% des hépatites infectieuses survenant à Francfort pouvaient être attribuées à la consommation de moules et d'huîtres contaminées à l'occasion d'un séjour touristique dans la région méditerranéenne. Par ailleurs, des données récentes provenant d'un certain nombre de pays ont permis d'établir nettement qu'un important facteur contribuant à la transmission de l'hépatite virale était la consommation de fruits de mer crus récoltés dans des eaux côtières contaminées par des eaux usées (WHO/UNEP, 1990),

bien qu'aucune relation spécifique à la Méditerranée n'ait pu être retrouvée dans ce cas. Plusieurs autres études rétrospectives, dont certains résultats sont résumés plus loin dans le présent chapitre, ont été menées sur des groupes de touristes rentrant en Europe du Nord à l'issue d'un séjour en Méditerranée, mais dans la plupart des cas l'origine de l'infection n'a pu être identifiée.

6-31. Le lien entre la qualité des eaux conchylicoles et les effets sanitaires chez l'homme en tant que consommateur final est légèrement plus complexe que celui qui s'applique à la qualité des eaux de baignade. Le degré de contamination fécale qui peut être toléré dans les eaux conchylicoles est un problème complexe pour toute une série de raisons. Il n'existe pas de niveau constant d'agents pathogènes dans les eaux usées, le rapport entre les indicateurs et la plupart des agents pathogènes variant selon chaque volume unitaire de déchet s'écoulant de l'émissaire, et un niveau donné de matières fécales dans les eaux usées peut être relativement dépourvu d'agents pathogènes à un moment et posséder un potentiel élevé de transmission par les coquillages à un autre (Geldreich, 1985). Jusqu'à présent, aucune corrélation satisfaisante n'a été établie soit entre les teneurs d'indicateurs bactériens des coquillages et celles des eaux conchylicoles, soit entre les indicateurs et les agents pathogènes dans les coquillages eux-mêmes.

6-32. Le premier problème a été plus ou moins surmonté en évaluant l'acceptabilité des eaux marines destinées à la culture ou au ramassage de coquillages par le biais de la qualité microbiologique des coquillages proprement dits et non de la masse d'eau environnante. Comme on l'a dit précédemment, l'acceptabilité de la zone conchylicole n'entraîne pas automatiquement l'acceptabilité des coquillages pour la consommation humaine à l'état cru, et d'autres mécanismes de contrôle comme les pratiques de santé publique et de sécurité alimentaire entrent en jeu. De plus, les méthodes épidémiologiques actuelles ne sont pas encore assez sensibles pour permettre de détecter efficacement la transmission des maladies virales par la filière eau de mer-coquillages, puisque les signes cliniques ne se manifestent que chez un petit nombre de sujets infectés et que la période d'incubation précédant l'apparition de ces signes est d'une durée très variable (Geldreich, 1985). Par ailleurs, on ne dispose pas pour l'heure de méthodes de dépistage viral pour tous les agents suspectés d'être responsables de gastroentérite. Tout cela explique en partie la rareté manifeste des données épidémiologiques sur les maladies transmises par les coquillages en Méditerranée, notamment celles qui sont dues à des virus.

6-33. Un important facteur déroutant dans l'interprétation des données sur la morbidité et de l'association de celle-ci à la contamination des coquillages, qui est marquée en Méditerranée, tient à l'exposition concomitante à divers facteurs de risque associés comme la contamination des aliments d'origine non marine et, dans certains cas, la contamination de l'eau de boisson. Il s'ensuit qu'il peut être, dans l'ensemble, très difficile d'attribuer une maladie donnée pouvant avoir de multiples origines à une cause bien précise ((WHO/UNEP, 1995).

La qualité microbiologique des coquillages

6-34. La situation concernant les coquillages est très variable dans la région méditerranéenne. Dans l'ensemble, les risques sanitaires pouvant résulter de la consommation de coquillages sont atténués par le fait que les trois principaux pays producteurs (Espagne, France, Italie) ont, en matière de consommation de coquillages destinés à la consommation, une législation sévère

qui prescrit obligatoirement l'épuration avant commercialisation. L'épuration artificielle des moules est largement pratiquée en Europe. Une méthode consiste à utiliser le chlore pour désinfecter l'eau de mer (laquelle doit alors être déchlorée avant de pouvoir servir à épurer les coquillages contaminés). Bien qu'elle soit assez onéreuse, elle reste une méthode courante dans de nombreuses installations d'épuration en France et en Espagne (Shumway et Hurst, 1991). La désinfection par l'ozone est désormais la méthode d'épuration de choix dans les grandes stations d'épuration de France. Par contre, dans l'ensemble de la Méditerranée, il y a toujours une quantité considérable de fruits de mer qui ne sont pas soumis à des procédés d'épuration rigoureux ou à un contrôle approprié du stockage après récolte (WHO/UNEP, 1995).

6-35. L'épuration a pour inconvénients d'être d'une efficacité très variable, d'être pratiquement inopérante en cas de fortes charges bactériennes et de contaminants à base de métaux lourds et d'hydrocarbures, de ne pouvoir éliminer les contaminants viraux et, dans certains cas, d'être d'un coût dissuasif (Canzonier, 1988). On a également constaté que, au cours de l'épuration, l'eau dans laquelle les coquillages sont en voie de décontamination peut présenter une disparition progressive des coliformes fécaux libérés, mais il ne s'ensuit pas forcément que le taux de libération de tous les pathogènes suivra le même schéma uniforme (Geldreich, 1985). Il semble qu'on sache peu de choses de l'épuration des virus des moules, et les données relativement rares dont on dispose ont: a) démontré que l'élimination des virus des tissus du tube digestif est lente, b) indiqué que les procédés d'épuration classiques ne se prêtent pas à une élimination efficace des virus des moules, et c) révélé aucune corrélation significative entre le nombre des virus et celui des coliformes fécaux, ce qui conforte l'idée avancée par de nombreux auteurs selon laquelle le nombre de coliformes fécaux est un indicateur peu fiable de la présence d'entérovirus humains, en d'autres termes que l'absence de coliformes fécaux n'est pas suffisante pour assurer une consommation sans danger de fruits de mer (Shumway et Hurst, 1991).

6-36. Ces conclusions sont particulièrement pertinentes pour la situation en Méditerranée puisque les principaux indicateurs utilisés pour l'acceptabilité des eaux conchylicoles et, dans certains cas, des coquillages destinés à la consommation, sont précisément les coliformes fécaux. Voilà qui renforce l'opinion exprimée dans les réunions d'experts méditerranéens avant et depuis l'adoption en 1987 de critères de qualité communs pour les eaux conchylicoles, à savoir que les virus présents dans les coquillages constituent un sujet particulier de préoccupation dans la région (WHO/UNEP, 1995).

6.5 INCIDENCES SUR LA SANTE PUBLIQUE

6-37. Il ressort clairement des relevés que de nombreux microorganismes pathogènes (bactériens, fongiques et viraux) qui sont des causes avérées de maladie chez l'homme sont répandus dans les zones marines côtières de la Méditerranée, avec un certain nombre d'espèces endémiques dans diverses zones géographiques. Des estimations OMS de 1985 font état de 12 millions de cas de diarrhée dans les pays méditerranéens de la région européenne, sur une population totale d'environ 300 millions d'habitants. Par contre, dans les autres pays européens, le nombre correspondant de cas était estimé à environ un million sur un total de 500 millions d'habitants. La même année, dans la région OMS/Méditerranée orientale, les cas de fièvres typhoïde et paratyphoïdes ont été estimés à 19,3 millions sur une population totale d'environ 99 millions d'habitants, les estimations correspondantes pour le reste de la région (Moyen-Orient, Pakistan et Afghanistan) étant de 26 millions de cas sur une population

totale de 206,5 millions d'habitants (Cvjetanovic, 1989). Il est établi que le principal réservoir d'infection typhoïde est constitué d'un nombre important de porteurs dont certains manipulent des aliments dans les établissements touristiques et que le mode courant de propagation s'effectue par les aliments et les boissons. On ignore quels sont les pourcentages de ces cas imputables à l'ingestion d'eau de mer et/ou à la consommation de produits de la mer contaminés, mais la possibilité d'une propagation par l'eau de mer polluée par des eaux usées ne saurait être écartée (Cvjetanovic, 1990).

6-38. Comme on l'a vu plus haut, les incidences communiquées ici pour les divers agents pathogènes ne doivent en aucun cas être considérées comme une sorte d'investigation complète des données de la bibliographie, encore moins comme un exposé détaillé de la situation régnant actuellement quand on sait combien cette situation demande encore à être précisée. Mais il est évident que la situation actuelle entraîne des effets défavorables chez les populations locales et les touristes. S'agissant de ces derniers, mis à part l'imputation de cas d'hépatite infectieuse survenus en Allemagne à la consommation de coquillages méditerranéens contaminés (Stille *et al.*, 1972), que l'on mentionnée à la section 3 du présent document, les participants à la consultation OMS/PNUE 1989 sur la pollution microbiologique de la mer Méditerranée (WHO/UNEP, 1990) ont signalé un certain nombre d'effets nocifs sur la santé de touristes européens voyageant en Méditerranée. Une étude suédoise a révélé que 63% des cas de salmonellose relevés dans ce pays résultaient d'infections contractées à l'étranger, principalement dans des pays méditerranéens. Un autre rapport suédois a établi que 90 à 95% des lamblases, 10 à 16% des hépatites virales, 34 à 53% des shigelloses et 92 à 95% des cas de dysenterie amibienne étaient des cas importés. De plus, des responsables touristiques européens ont estimé que 40% des touristes séjournant dans les stations balnéaires de la Méditerranée avaient été malades à un moment ou un autre de leur séjour ou immédiatement après, un tiers d'entre eux ayant été cloués au lit et un cinquième ayant dû interrompre leurs vacances pour cette raison.

6-39. La réunion précitée a estimé que, incontestablement, une partie de cette morbidité relevée parmi les touristes était en rapport avec la consommation d'aliments impropres ou d'eau non potable, ainsi qu'avec d'autres types d'exposition, et qu'il était amplement établi que la principale source de maladie dans les zones où la mer était polluée résultait de la consommation de coquillages contaminés par des eaux usées et/ou résultait de la baignade à des plages contaminées par des eaux usées.

6-40. Il existe un certain nombre d'autres relevés associant des affections gastro-intestinales contractées par des touristes nord-européens à un séjour dans des pays méditerranéens. La très grande majorité des touristes suédois se rendent sur la rive nord de la Méditerranée. Depuis 1978, on a enregistré une augmentation considérable des cas de salmonellose et de shigellose, dont 80% contractés à l'étranger (Andersson et Böttinger, 1989). Pour plus de 75% des cas de salmonellose signalés en Norvège, il est solidement établi qu'ils ont été contractés à l'étranger (Aasen, 1989). L'augmentation globale de leur incidence depuis 1983 paraît être due uniquement à la propagation de *Salmonella enteritidis*. Des données du système norvégien de surveillance des maladies infectieuses ont révélé, au cours de cette période, une flambée de cas parmi les touristes rentrant de pays méditerranéens. Le même problème a été signalé en Finlande où *Salmonella enteritidis* est rarement décelée chez les animaux domestiques ou dans les aliments d'origine animale. Au moins 80% des infections provoquées chez l'homme par *Salmonella enteritidis* surviennent au cours d'un voyage à l'étranger ou peu de temps après, et, depuis 1883, quand s'est amorcé le boom du tourisme finlandais vers la Méditerranée, les infections dues à

Salmonella enteritidis qui y ont été contractées ont dépassé les infections dues à d'autres sérotypes (Jahkola, 1990). Le nombre total de cas de salmonellose importés en Finlande à partir de pays méditerranéens est passé de 394 en 1980 à environ 5000 en 1988. Sur ce nombre, 97 et 3000 étaient respectivement dus à *Salmonella enteritidis*.

6-41. Les résultats de l'enquête de 1986 sur les cas de diarrhée aiguë survenus parmi 19.000 touristes allemands et suisses de retour dans leur pays ont indiqué des taux d'incidence variant de 16,0 à 56,2% pour ceux qui s'étaient rendus dans certains pays méditerranéens (Barua, 1990). Une série de quatre études non chronologiques ont été réalisées entre 1986 et 1988 sur près de 3700 touristes autrichiens s'étant rendus dans divers pays en voie de développement. L'incidence de la diarrhée des voyageurs chez ceux qui avaient visité le sud de la Méditerranée, variant de près de 25% en hiver à plus de 50% en été, était équivalente à celle de la plupart des autres régions en développement du monde (Kollaritsch et Wiedermann, 1990). L'incidence de la diarrhée des voyageurs parmi les touristes britanniques d'un circuit organisé a été surveillée depuis 1983. Une analyse de près de 150.000 questionnaires retournés par des touristes ayant visité la Méditerranée entre avril et octobre 1988 a donné une incidence moyenne globale de 3% en avril, s'élevant à 15% en août et septembre, puis retombant à 11% en octobre. L'incidence a varié par pays et par centre touristique, des pics de 64%, 52% et 40% étant enregistrés à des mois donnés dans un pays de la rive nord et deux pays de la rive sud de la Méditerranée, respectivement.

6-42. Si ces relevés apportent une preuve de la survenue et des indications sur l'ampleur des manifestations pathologiques, l'étendue des préjudices causés à la santé dans l'ensemble de la Méditerranée et la part que représente dans ceux-ci la pollution marine restent encore à déterminer. La même conclusion est valable pour la situation de l'incidence et de la prévalence des agents pathogènes. A cet égard, si les références citées dans le présent document peuvent être considérées comme un choix assez représentatif de l'ensemble de la bibliographie pertinente dans la région, le fait que ces relevés, dont bon nombre provenant d'emplacements différents portent sur une durée de 15 ans, ne permet guère d'établir une évaluation précise de la situation globale à l'heure actuelle, bien qu'il soit manifeste qu'il existe un risque sanitaire dont le degré varie selon la sous-région considérée. En outre, il existe encore des portions étendues du littoral méditerranéen, notamment au sud et à l'est du bassin, dont les relevés sont relativement rares.

SECTION 7

CONCLUSIONS

7.1 ANALYSE DE LA SITUATION ACTUELLE EN MEDITERRANEE

7.1 Il est évident, bien que la situation se soit améliorée aux cours des dix dernières années, que des problèmes de santé publique se posent encore pour les zones côtières à usage récréatif et les zones conchylicoles dans l'ensemble de la Méditerranée. Ces problèmes ne sont pas uniformément répartis au sein de la région. Dans ces conditions, si la quantité des données microbiologiques concernant la qualité de l'eau de mer et des coquillages ainsi que des données épidémiologiques sur les effets sanitaires s'est considérablement accrue, il en faut encore bien davantage, notamment sur les parties Est et Sud de la Méditerranée, afin d'obtenir la base permettant de prendre des mesures de prévention et de lutte satisfaisantes au niveau de toute la région.

Organismes indicateurs bactériens

7.2 Un problème particulier a trait à la validité ou non, comme indice précis de qualité de l'eau, des organismes indicateurs actuellement utilisés. Les critères et normes pour les eaux à usage récréatif visent avant tout à protéger la santé de l'utilisateur. Dans le cas des eaux conchylicoles, ils visent à instaurer, de manière satisfaisante, le premier stade d'un mécanisme multistades de contrôle de la qualité destiné à protéger la santé des consommateurs des produits en question. Tout indice de qualité de l'eau doit donc être directement lié à la santé plutôt que simplement concerner le degré de pollution générale par les eaux usées, autrement dit la qualité de l'eau doit être plus directement rattachée aux constituants des eaux usées (microorganismes pathogènes) qui sont responsables d'effets nocifs sur la santé. A cet égard, les indicateurs bactériens et autres (souvent définis comme indicateurs de qualité de l'eau quant aux effets sanitaires) doivent satisfaire à certaines prescriptions qui ont été soulignées par le Groupe d'experts OMS/PNUJ sur les critères sanitaires et études épidémiologiques concernant la pollution des eaux côtières (WHO/UNEP, 1977b). Des indicateurs satisfaisants doivent:

être régulièrement et exclusivement associés à des sources d'agents pathogènes ou de substances nocives;

être présents en nombre ou quantité suffisants pour fournir une estimation "précise" de la concentration des pathogènes chaque fois que celle-ci est telle que le risque de morbidité est inacceptable;

avoisiner le degré de résistance aux désinfectants et aux agressions du milieu - y compris celle qui résulte des matières toxiques ayant déposé dans le milieu aquatique - de la plupart des agents pathogènes persistants potentiellement présents à des niveaux significatifs à la source;

être quantifiables dans les eaux à usage récréatif par des méthodes suffisamment commodes et relativement bon marché permettant dans le même temps une exactitude, une précision et une spécificité excellentes.

7-3. Les raisons techniques et économiques pour lesquelles il est difficile de mesurer directement les microorganismes sur une base de routine et qui, de ce fait, obligent à les mesurer indirectement au moyen des concentrations d'indicateurs, ont été exposées à la section 4 du présent document. Il est toutefois extrêmement douteux, pour ne pas dire plus, que les seuls coliformes fécaux, pris comme indicateurs, satisfassent à toutes, et même à la plupart, des conditions énoncées au paragraphe précédent. Dans la majorité des études épidémiologiques, que ce soit en Méditerranée ou ailleurs, on a constaté que les concentrations de streptocoques étaient plus étroitement en rapport avec les effets sanitaires observés. Il conviendrait également de prendre en compte les conclusions des deux études épidémiologiques les plus vastes qui aient menées, l'une aux Etats-Unis et l'autre, plus récente, au Royaume-Uni. A la suite de la première étude dont les résultats portaient notamment sur le critère recommandé pour les effets sanitaires (Cabelli, 1983), la norme US EPA proposée pour les eaux marines de baignade, sur la base d'un taux acceptable de gastroentérite de 19 par 1000 nageurs, a été fixée à 33 entérocoques (lesquels font partie du groupe des streptocoques fécaux) par 100 ml sur une moyenne géométrique d'au moins 5 échantillons régulièrement espacés sur une période de 30 jours (US EPA, 1986). Sur la base de ce critère, on devrait s'attendre à trouver 25 à 40 cas de symptômes gastro-intestinaux par 1.000 personnes exposées à de l'eau de mer contenant une concentration de 100 entérocoques par 100 ml. Ce chiffre n'est guère éloigné des pourcentages de touristes européens présentant des troubles gastro-intestinaux après un séjour en Méditerranée (comme on l'a vu à la section 6 du présent document), bien que ces touristes aient aussi été exposés à une pollution autre que marine. Quant aux résultats de la deuxième étude, ils ont montré qu'on relevait des effets nocifs sur la santé quand les concentrations de streptocoques fécaux dépassaient 32 par 100 ml, cette relation étant dépendante des facteurs prédictifs de gastroentérite non liés à l'eau (Jones *et al.*, 1994).

7-4. Il a toujours été notoire qu'aucun indicateur n'est idéal et qu'aucun système d'indicateurs n'est parfait. Comme on l'a exposé plus haut, on s'est activement employé en Méditerranée (et ailleurs) à établir une corrélation entre la présence (et si possible la concentration) de microorganismes pathogènes, notamment de bactéries, voire de champignons, et la concentration d'un ou plusieurs organismes indicateurs bactériens dans le même échantillon. Dans presque toutes les références bibliographiques citées dans le présent document concernant les relevés de la présence et de la concentration des agents pathogènes bactériens et fongiques dans les eaux à usage récréatif et conchylicole de la Méditerranée, on a procédé à cette détermination parallèle d'indicateurs bactériens. Si un certain nombre des résultats comparatifs obtenus ont indiqué une forme de corrélation pathogènes/indicateurs, dans de nombreux cas statistiquement significatifs de diverses études on a enregistré des résultats très variables d'une étude à l'autre pour la question de savoir quel indicateur donné rendait mieux compte d'un ou plusieurs agents pathogènes précis et à quel intervalle donné de concentrations minimales de l'indicateur en question la présence de l'agent pathogène était décelée.

7-5. Pour les eaux à usage récréatif, deux grandes difficultés ont été signalées dans l'évaluation des risques (Pike, 1993). En premier lieu, mis à part les affections bactériennes, lesquelles sont rares, celles dont il est couramment fait état pour les nageurs et qui paraissent liées à une contamination fécale sont symptomatiques et ne peuvent être mises en rapport avec un agent pathogène identifiable, bien qu'elles semblent avoir une étiologie virale; en second lieu, les indicateurs microbiens de pollution fécale actuellement utilisés indiquent seulement que des agents pathogènes véhiculés par l'eau peuvent être présents et ils n'ont donc qu'une relation médiocre avec le risque encouru par la santé des nageurs. Le risque encouru par chaque sujet

varie en fonction de l'immunité innée et l'immunité acquise, ainsi qu'avec le pouvoir pathogène. On ne peut donc prévoir aucune constance du risque pour toute norme microbiologique donnée.

7-6. Les virus soulèvent un gros problème. En dehors du fait qu'ils peuvent survivre pendant très longtemps, notamment quand ils sont associés aux sédiments, on a démontré (Vasl *et al.*, 1981) qu'ils peuvent parcourir de très longues distances dans le milieu marin. La survie comparative des virus et des indicateurs bactériens a fait l'objet d'une étude récapitulative (Wheeler, 1990) à la demande de la Commission de l'environnement de la Chambre des Communes britannique lors d'une investigation sur la pollution des plages. Selon la principale conclusion de cette étude, si les bactéries rejetées par un long émissaire sous-marin typique pouvaient devenir "non décelables" dans le milieu marin quelques jours après y avoir été libérées, les virus entériques pouvaient rester présents pendant plusieurs mois à l'état infectieux et à des niveaux décelables. Si cette conclusion reposait avant tout sur les conditions régnant dans les eaux d'Europe du Nord, il a été confirmé par nombre de chercheurs qu'elle est valable dans les conditions de la Méditerranée (voir la section 2 du présent document), ce qui souligne bien que les indicateurs bactériens actuels constituent un moyen insuffisant de surveillance de la pollution virale.

7-7. Il convient de remarquer que, dans la récente proposition de la CE de nouvelle directive du Conseil concernant la qualité des eaux de baignade (CE, 1994b), les streptocoques fécaux ont été "promus" de paramètre guide à paramètre impératif. Si les entérovirus ont été maintenus, les bactériophages, qui sont de plus en plus considérés comme un bon indicateur de la présence de virus, ont été introduits comme nouveau paramètre, bien que leurs normes numériques restent à fixer.

Programme de surveillance continue de la qualité des eaux à usage récréatif

7-8. Les programmes de surveillance continue ont pour objet de fournir des données servant à la gestion et à la prise de décisions. Plus concrètement, dans le cas des eaux à usage récréatif, leurs résultats indiquent si les plages se prêtent à une nage sans danger du fait de leur conformité aux critères et normes en vigueur, et dans le cas des plages polluées, ils aident à identifier des sources de pollution effectives ou potentielles, permettant ainsi de mettre en oeuvre les mesures de réhabilitation requises. Comme on l'expose à la section 5 du présent document, les résultats de la surveillance continue pratiquée dans les quatre Etats méditerranéens membres de la CE ont fait ressortir une évolution favorable de la qualité des plages de baignade au cours des dernières années. Par contre, les données regroupées des treize autres Etats méditerranéens soumettant leurs résultats de la surveillance dans le cadre du MED POL ne permettent de relever aucune évolution d'ensemble bien nette. Les progrès enregistrés dans le premier groupe de pays sont accentués par le fait que les résultats sont basés sur trois organismes indicateurs, comprenant à la fois les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux. De plus, bien qu'elle ne soit pas prise en compte dans l'évaluation, la détermination de la présence des salmonelles et des entérovirus est également effectuée, bien qu'à un degré moindre. Pour le deuxième groupe de pays, une évaluation par pays, solution que l'on a écartée d'avance pour le présent document, aurait permis de se forger un tableau plus exact. Il est néanmoins patent que, dans un certain nombre de pays, la qualité des eaux de baignade ne s'est pas sensiblement améliorée au cours des dix dernières années, et ce en raison de l'absence de mesures antipollution à la source. Pour sauvegarder la santé humaine et empêcher la baignade dans des zones médiocres jusqu'à ce que les mesures nécessaires aient été mises en oeuvre, les programmes de surveillance demandent à être renforcés dans une partie importante de la Méditerranée.

7-9. Pour les zones de plaisance, en dehors du fait qu'elle se limite en principe à la seule masse d'eau, la surveillance continue est généralement circonscrite à ce que l'on peut appeler la "zone stricte de baignade". Cette question demande à être reconsidérée. Les développements technologiques de l'utilisation du milieu aquatique à des fins récréatives ont élargi la gamme des options de loisir traditionnelles telles que la baignade et la nage pour inclure maintenant d'autres activités comme la plongée en scaphandre autonome, la pêche sous-marine, le surf, etc, si bien que la qualité requise concerne désormais une superficie et une profondeur bien plus étendues et que les procédures d'évaluation du risque doivent prendre en compte de nouvelles modalités d'exposition parmi les divers groupes pratiquant ces sports aquatiques (Saliba, 1993). Plusieurs risques microbiologiques ont été associés à des sports aquatiques, même si, jusqu'à présent, les preuves d'un risque important pour la santé restent restreintes (Philipp, 1991b). Peu de travaux ont, comparativement, été réalisés sur ce sujet, et la vogue croissante des sports aquatiques sur le pourtour de la Méditerranée justifie amplement que l'on comble cette lacune.

Assurance qualité des données

7-10. L'assurance qualité des données fait partie intégrante de tout programme de surveillance continue, puisqu'il convient de prendre des décisions en se fondant sur des données exactes. Cet aspect a fait l'objet d'une attention toute particulière au cours de MED POL - Phase II. Du fait des problèmes logistiques posés par la fragilité des échantillons bactériens sur des délais prolongés, il n'a pas été possible de réaliser des exercices d'interétalonnage selon les modalités qui ont normalement cours avec les échantillons chimiques et qui consistent à distribuer des échantillons étalons aux laboratoires méditerranéens puis à évaluer la qualité des analyses en fonction des résultats obtenus. Pour les méthodes microbiologiques, l'OMS a donc organisé, entre 1982 et 1993, une série d'exercices d'interétalonnage d'une conception différente. Chaque exercice avait lieu dans un laboratoire hôte sélectionné, avec un certain nombre de participants (une vingtaine en moyenne) provenant de divers laboratoires méditerranéens pratiquant l'analyse de l'eau de mer et des coquillages. Les participants déterminaient les concentrations bactériennes dans le même échantillon et sous les mêmes conditions de laboratoire, puis ils interprétaient les résultats selon des instructions très précises. Les résultats obtenus étaient généralement variables, bon nombre de ces variations étant attribuées aux différences d'expérience individuelle. La nécessité d'une formation s'est alors imposée et, en dehors des dispositions prises pour organiser cette formation au niveau individuel, à partir de 1988 les exercices d'interétalonnage ont été combinés avec des cours de formation. Dès 1977, l'OMS avait émis des lignes directrices concernant la surveillance microbiologique, et à partir de 1982 elle a élaboré et publié des méthodes recommandées pour la détermination des concentrations de divers paramètres microbiologiques dans l'eau de mer, les coquillages et les eaux usées. L'ensemble de ces documents ont été récemment mis à jour et étoffés, et réédités sous forme de lignes directrices détaillées pour la surveillance sanitaire des zones à usage récréatif et des zones conchylicoles, ces lignes comportant des recommandations générales, des méthodes recommandées pour la détermination des organismes indicateurs bactériens et de quelques agents bactériens pathogènes, des méthodes statistiques d'interprétation des résultats et des recommandations pour le contrôle de la qualité du laboratoire (OMS/PNUE, 1994c). Une généralisation du recours à cette publication dans la région servirait grandement à obtenir de meilleurs résultats dans le cadre de la surveillance continue. Bien que, dans l'ensemble, la qualité des laboratoires méditerranéens se soit sensiblement améliorée au cours des vingt

dernières années, leurs effectifs ont encore besoin d'une formation et un certain nombre d'entre eux doivent pousser leurs performances si l'on veut obtenir la haute qualité requise de résultats.

Qualité des plages

7-11. Le seul examen de l'eau, qui est la méthode pratiquée en Méditerranée ou ailleurs, n'est pas suffisant pour évaluer les risques effectifs ou potentiels pour la santé. Aux stations balnéaires et plages de la Méditerranée, une grande partie du temps est passée sur le sable - c'est notamment le cas des jeunes enfants. La présence d'agents pathogènes dans le sable a été amplement démontrée (voir section 3 du présent document), et un certain nombre d'affections gastro-intestinales peuvent être contractées par contact avec ce milieu particulier qui, jusqu'à présent, ne faisait pas l'objet d'une surveillance régulière. Dans les eaux peu profondes, où les enfants ont l'habitude de jouer, les bactéries contenues dans le sable ou les sédiments du fond peuvent être transférées par l'agitation des baigneurs à la colonne d'eau immédiatement sus-jacente. Par ailleurs, l'ensemble de la plage doit être perçu comme un ensemble complexe et indissociable où les déficiences des installations - toilettes, douches, services de restauration, etc. - peuvent contribuer au risque sanitaire global au même titre qu'une qualité médiocre de l'eau.

7-12. La qualité esthétique des eaux de plaisance et du milieu environnant est extrêmement importante pour la psychologie et le bien-être des usagers. Une qualité esthétique médiocre des eaux récréatives peut également impliquer une qualité microbiologique/chimique médiocre. Parmi les polluants visibles et inesthétiques, on relève les restes et emballages alimentaires, les ordures ménagères, les poissons, oiseaux ou autres animaux morts, l'écume algale, les produits chimiques, les huiles, les graisses, les détergents, les objets flottants en bois ou en plastique, les feuilles de polyéthylène, les sacs en plastique, les atomiseurs, le caoutchouc, le verre, les déchets médicaux et hygiéniques. C'est pourquoi on a défini la valeur esthétique des eaux à usage récréatif comme devant être exempte : a) de matières visibles sédimentant pour former des dépôts désagréables, b) de débris, huiles, écume et autres matières flottantes, c) de substances responsables de sensations désagréables par leur couleurs, odeurs, goûts ou la turbidité qu'elles provoquent, et d) de substances et conditions - ou combinaisons de celles-ci - à l'origine d'une faune ou d'une flore aquatiques indésirables (WHO/UNEP, 1995).

Critères et normes

7-13. Comme on l'a vu à la section 4, les normes microbiologiques pour les eaux de baignade et les eaux conchylicoles, en dehors du fait qu'elles reposent sur les concentrations d'un ou plusieurs organismes indicateurs bactériens, sont extrêmement variables d'un pays à l'autre. Si certaines peuvent être aisément considérées comme étant plus sévères, il en est bon nombre qui ne se prêtent pas à cette sorte de comparaison. Et en plus des normes proprement dites, les méthodes d'analyse sont aussi, comme on l'a vu, plus ou moins variables selon que l'on adopte l'un ou l'autre des deux grands modèles en usage (filtration sur membrane et nombre le plus probable) et selon les divers milieux de culture employés. Et puis il y a la question cruciale du contrôle de la qualité qui varie aussi selon les laboratoires.

7-14. Il est donc patent qu'il importe non seulement d'actualiser les paramètres actuels de la surveillance mais de s'employer sans relâche et plus activement à réduire au minimum les différences qui existent, d'un pays à l'autre, dans les critères et normes de qualité microbiologique. Cette harmonisation devrait également s'étendre à la manière dont les normes font l'objet d'une application effective. Naturellement, et pour bien des raisons, il ne devrait pas être possible d'obtenir une harmonisation complète, sans compter du reste que celle-ci n'est pas absolument nécessaire du point de vue la protection de la santé: plusieurs systèmes peuvent être tout aussi satisfaisants pris séparément. Cependant, réduire au minimum les différences tout en assurant, quand il y a lieu, le plus haut degré possible d'amélioration de la situation devrait permettre d'empêcher des comparaisons intra-régionales ou inter-régionales peu souhaitables, notamment par les organisations touristiques.

Eaux conchyliques et coquillages

7-15. Les eaux conchyliques méritent une attention particulière et il est dommage que le manque de données tirées de leur surveillance ne permette pas de procéder à une évaluation de la situation actuelle et des éventuels progrès accomplis depuis l'évaluation de 1985, laquelle, en dehors du fait qu'elle ne rendait compte que de l'évolution intervenue entre 1976 et 1981, reposait sur un nombre insuffisant de zones pour justifier une extrapolation à l'ensemble de la région. Bien que les différences dans les normes ne soient pas, pour ces eaux, aussi accusées que dans le cas des eaux à usage récréatif, se fonder uniquement, en pratique, comme le font plusieurs pays, sur un seul indicateur bactérien et sur quatre échantillonnages par an, ne paraît pas suffisant pour juger de l'acceptabilité d'une zone marine de conchyliculture, et certainement pas pour juger de celle de coquillages destinés à la consommation. Pour pallier à cette difficulté, de nombreux pays imposent des normes de qualité strictes pour les coquillages destinés à la consommation par le biais de leur législation en matière de santé publique. La situation générale doit être appréciée en fonction de l'incidence des affections et troubles gastro-intestinaux parmi les populations résidentes et les touristes du littoral, et cette incidence suscite des préoccupations. Bien entendu, les statistiques de morbidité globale sont à elles seules insuffisantes, puisque pratiquement toutes les affections dues à des agents pathogènes peuvent être contractées au contact de milieux autres que le milieu marin - c'est en fait le cas pour la plupart d'entre elles. Par exemple, au cours des quatorze années comprises entre 1973 et 1996, 3144 isolats de salmonelles provenant d'aliments ont été examinés par le Centre national pour les entérobactéries, à Rome, et dans les trois Centres régionaux de Milan, Palerme et Pise (Fantasia *et al.*, 1989). Les aliments les plus fréquemment contaminés étaient de la viande fraîche et traitée, représentant respectivement 51,3 et 20,4% des échantillons. Le compte rendu ne précise pas de quels types d'aliment se composaient les échantillons restants. La plupart des rapports statistiques sur la morbidité offrent ce caractère trop général qui ne permet guère d'établir une relation claire de cause à effet. Il existe toutefois, comme on l'a vu précédemment, un certain nombre de cas qui ont été consignés et où une relation effective entre poussées épidémiques et incidence d'une part, et coquillages contaminés de l'autre, a été établie de manière probante.

7-16. Le problème des biotoxines algales présentes dans les coquillages a été soulevé assez récemment en Méditerranée, et en dehors des relevés cités précédemment, la situation générale reste encore fort mal connue. C'est pourquoi il convient d'abord de recueillir davantage de données, notamment dans les zones notoirement sujettes à des phénomènes réguliers ou

sporadiques d'eutrophisation. Le projet d'un document très détaillé sur l'état de l'eutrophisation en mer Méditerranée (PNUE/FAO/OMS, 1995), qui a été établi récemment, contient, sur les algues toxiques, un grand nombre de données dont certaines ont été reprises ici. Mais une pareille étude sert d'abord à démontrer qu'il faut mener de nouvelles investigations plus poussées dans les zones appropriées.

Législation interne et organisation administrative

7-17. L'enquête de 1976-1977 sur les polluants d'origine tellurique en Méditerranée (PNUE/CEE-ONU/ONUDI/FAO/UNESCO/OMS/AIEA, 1984) comportait un tour d'horizon des pratiques législatives dans la région. Il en était conclu que les promulgations régissant les divers aspects de la pollution marine avaient tendance à s'éparpiller en décrets et règlements destinés à bien d'autres fins, et que parfois les seules dispositions antipollution effectives et coercitives étaient celles qui relevaient de la législation concernant l'aménagement du territoire. Quand, comme cela était le cas dans certains pays, il existait une législation complète concernant l'eau, elle comportait en général des dispositions sur la protection des eaux côtières, les moyens de contrôle variant largement selon le degré de décentralisation. Dans quelques pays, le pouvoir central imposait des normes assez détaillées qui étaient applicables au niveau national. Ou bien il pouvait y avoir une classification précise des eaux réceptrices avec des normes d'effluents correspondantes autorisant une certaine marge de manoeuvre décisionnelle au plan local. Parmi les pays pratiquant depuis longtemps la gestion de l'eau, on relevait une désaffection à l'égard des normes nationales et un transfert de pouvoir aux organes locaux, la législation tendant à favoriser la délégation de l'autorité en laissant à ces derniers la responsabilité de l'exécution.

7-18. Depuis lors, la législation concernant la prévention et la lutte antipollution s'est largement renforcée dans la plupart des pays, en Méditerranée comme ailleurs. S'agissant de la qualité des eaux à usage récréatif et des eaux conchylicoles, cela s'est généralement - mais pas toujours - traduit par un transfert d'attributions des ministères de la santé aux ministères de l'environnement nouvellement créés, et le contrôle de la qualité de ces eaux est devenu partie intégrante de l'ensemble de la législation sur l'environnement et non plus, comme c'était habituellement le cas auparavant, de la législation sur la santé publique. Cette dichotomie, qui faisait qu'un ministère était chargé de l'application de ces normes alors que l'autre entendait manifestement conserver une partie de ses anciennes prérogatives en raison des incidences de cette application en matière de santé publique, aboutissait dans certains pays à des conflits d'attributions entre ces ministères (Saliba, 1993). Le fait que la lutte contre la pollution par les eaux usées entreprise à la source, qui constitue la seule mesure efficace pour protéger les eaux côtières à usage récréatif et conchylicole contre la pollution microbiologique, nécessite l'aménagement de stations d'épuration des eaux usées et d'émissaires sous-marins, ce qui est normalement du ressort d'autres ministères que ceux de l'environnement ou de la santé, ne fait que compliquer encore le problème administratif. Dans le même temps, la tendance à l'harmonisation des normes au plan international (comme c'est le cas au sein de la Communauté européenne et, de manière indépendante, en Méditerranée et dans d'autres mers régionales) a entraîné un retour à des normes instaurées au plan national, bornant le rôle des organes locaux à celui d'exécutants.

7-19. L'une des conséquences de ce que l'on peut appeler un "malentendu administratif" dans un certain nombre de pays méditerranéens est que l'Unité de coordination du Plan d'action pour la Méditerranée manque relativement d'informations et de données sur plusieurs aspects de l'organisation et des programmes de lutte contre la pollution marine, ce qui, à son tour, aboutit à une base régionale incomplète et peut-être erronée pour les évaluations d'ensemble et par pays de la qualité des eaux à usage récréatif et conchylicole dans la région, et des mesures mises en oeuvre pour les protéger et les améliorer.

7.2 MESURES RECOMMANDEES

7-20. Un certain nombre de mesures devraient être prises dans l'immédiat par les pays de la région. Ces mesures concernent: a) l'adoption de critères microbiologiques et normes microbiologiques plus réalistes pour la qualité des eaux côtières à usage récréatif, b) un réexamen des critères et normes actuels pour la qualité des eaux conchylicoles en vue d'approuver et d'adopter une version remaniée répondant mieux aux impératifs de santé, c) une poursuite des études nécessaires pour combler les lacunes les plus importantes existant dans les informations disponibles, et d) l'accélération de la mise en oeuvre de la partie de la Déclaration de Gênes de 1985 concernant la mise en place de stations d'épuration et d'émissaires d'eaux usées pour les villes et agglomérations, afin de permettre la lutte à la source contre la pollution par les eaux usées.

Critères et normes pour les zones côtières à usage récréatif

7-21. L'évaluation 1991 de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les microorganismes pathogènes (PNUE/OMS, 1991), qui a été adoptée par les Parties contractantes (1991), spécifiait dans ses conclusions que les critères provisoires de qualité du milieu pour les eaux de baignade adoptées conjointement par les Parties contractantes en 1985 devaient être clairement reconnues pour ce qu'elles étaient réellement, à savoir une mesure palliative minimale transitoire basée sur les capacités immédiates du plus petit dénominateur commun, et qu'il importait que la planification à long terme, notamment dans la conception des installations de traitement et d'élimination, ne soit pas effectuée sur la seule base de ces critères. L'évaluation spécifiait pareillement qu'il faudrait, en dernier ressort, mettre au point des critères et normes modifiées sur la base d'indicateurs plus fiables. Il n'était pas recommandé de prendre expressément des mesures pour modifier les critères en vigueur au moment de la publication de l'évaluation, fût-ce à nouveau à titre provisoire, du fait que la situation générale concernant la validité de plusieurs indicateurs bactériens alors en vigueur était mouvante, bien que le document recommandât de s'employer, chaque fois que c'était possible, à mesurer les streptocoques fécaux en plus des coliformes fécaux, sur la base soit des critères proposés initialement par l'OMS/PNUE en 1985, soit des concentrations guides de la directive CEE de 1975 relative à la qualité des eaux de baignade, s'il était possible de le faire sans modifications majeures de la législation.

7-22. La situation n'est plus tout à fait la même aujourd'hui. On dispose désormais d'éléments suffisants pour affirmer que le seul indicateur bactérien en usage n'est pas satisfaisant pour l'évaluation de la qualité des eaux à usage récréatif visant à éviter des risques pour la santé. Il convient donc d'envisager de nouvelles normes de qualité sur la base conjointe des concentrations de coliformes fécaux et des concentrations de streptocoques fécaux. Ces normes devraient être fixées à des valeurs correspondant à celle qui est actuellement utilisée pour les coliformes fécaux, soit à la valeur guide CE (et *pas seulement* à la valeur impérative). Si l'on retenait la première, il s'en suivrait que, pour chaque paramètre, 50% des échantillons ne devraient pas dépasser 100 unités CFU ("Colony Forming Units") par 100 ml, et que 90% des échantillons ne devraient pas dépasser 1000 CFU par 100 ml, ce qui reviendrait à la proposition initiale de l'OMS/PNUE en 1985. Si cette dernière était prise comme base, et en convertissant les listes d'échantillons non conformes par nombre total analysé en un pourcentage commun, on obtiendrait alors selon chaque cas: 80% des échantillons ne devant pas dépasser 100 CFU par 100 ml, et 95% ne devant pas dépasser 2000 CFU (coliformes fécaux) et 400 CFU (streptocoques fécaux). Il n'existe pas dans l'ensemble de différence réelle entre les deux options, bien que des circonstances locales particulières puissent rendre l'une ou l'autre plus contraignante pour des plages données. Compte tenu du fait que les deux grandes études

épidémiologiques menées dans des zones et à des époques différentes avaient l'une et l'autre permis l'observation d'effets nocifs pour la santé quand la concentration de streptocoques fécaux dépassait légèrement 30 CFU par 100 ml, on ne saurait qualifier aucune de ces deux options comme étant d'une rigueur inutile. La fréquence d'échantillonnage devrait être plus nettement spécifiée et fixée à un minimum de deux fois par mois au cours de la saison de baignade, et éventuellement associée à un minimum de 10 échantillonnages par an.

7-23. Les entérovirus devraient absolument être introduits comme paramètre, en s'inspirant de la directive CE (zéro germe par 10 litres, à des intervalles mensuels d'échantillonnage). Cette introduction pourrait soulever des problèmes de nature technique dans certains pays dont les laboratoires ne sont pas équipés pour effectuer cette analyse. Mais les virus représentent actuellement le risque principal dans les eaux de baignade en raison de leur persistance, de leur faible dose infectante et de l'absence de corrélation entre leur présence et celle des indicateurs bactériens. Leur importance dans d'autres matrices (autrement dit en dehors du milieu marin) justifie l'existence dans chaque pays d'au moins un laboratoire pleinement équipé, et des échantillonnages mensuels au cours de la saison de baignade devraient impliquer le prélèvement de quatre à cinq échantillons par an à chaque site d'échantillonnage. Les difficultés soulevées au départ pourraient être surmontées en fixant une date ultérieure d'entrée en vigueur de la composante "entérovirus" dans les nouvelles normes, ou en restreignant l'analyse des entérovirus aux seuls cas où l'on soupçonne leur présence. Il reviendrait donc aux autorités sanitaires nationales ou locales de décider de cette forme de surveillance.

7-24. La situation concernant les salmonelles dans l'ensemble de la Méditerranée justifie amplement qu'on les introduise comme paramètre impératif de la surveillance, en s'inspirant au besoin de la directive CE de 1975 (zéro germe par litre lorsqu'on a des indices de leur présence possible). Il reviendrait aux autorités nationales de décider des moments précis auxquels cette analyse serait effectuée. Cette introduction ne devrait pas soulever de grosses difficultés techniques puisque les salmonelles sont l'agent pathogène le plus couramment surveillé dans d'autres milieux comme les aliments et l'eau de boisson dans l'ensemble des pays méditerranéens. Autre solution, on pourrait retenir comme base la procédure proposée pour adoption dans la nouvelle directive CE, ce qui oblige les autorités nationales compétentes à identifier tous les rejets susceptibles de véhiculer les salmonelles jusqu'aux zones de baignade et de prendre les mesures appropriées pour éviter la pollution à partir de ces sources. A cet égard, il convient de souligner que la décision de la CE de modifier le statut des salmonelles a reposé sur le fait que, tout comme les entérovirus, elles peuvent pénétrer dans les eaux de baignade par de nombreuses voies qui ne sont pas toutes contrôlables par les Etats membres et que la nature ubiquitaire du paramètre excluait d'avance toute mesure qui aurait garanti la conformité à la norme. On estime que la situation concernant les salmonelles en Méditerranée n'est pas tout à fait la même que celle qui a cours en Europe (en prenant chaque région dans son ensemble) et qu'il est douteux que la dernière option puisse résoudre le problème, même si la clause générale d'interdiction de la baignade en cas de menace pour la santé publique (figurant à l'article 7(1) de la directive CE) est adoptée en Méditerranée. Tout compte fait, la méthode principale d'appréciation des menaces pour la santé publique consiste en la surveillance continue des milieux appropriés. Peut-être y aurait-il lieu, dans un premier temps, d'adopter la même procédure que pour les entérovirus, autrement dit de confier aux autorités sanitaires nationale ou locales le soin de décider de cette forme de surveillance.

Assurance qualité des données

7-25. Depuis 1994, des cours de formation/exercices d'interétalonnage concernant les méthodes microbiologiques sont organisés à un niveau national, avec le concours financier et autre du MED POL. Aussi longtemps que ces cours doivent se poursuivre, il convient de prendre des dispositions à l'intention des pays où le nombre et les effectifs des laboratoires sont trop restreints pour qu'on y envisage l'organisation de cours nationaux d'un niveau suffisamment élevé de participation. On pourrait alors à cet effet inclure des participants de deux ou trois pays dans un même cours, sans supprimer complètement les cours "internationaux" traditionnels. Ces exercices sont les seuls qui aient permis non seulement de procéder à des comparaisons entre différents laboratoires mais aussi de réunir des participants provenant de divers pays dans un environnement de travail se prêtant particulièrement à l'examen des problèmes communs.

7-26. Les ressources financières disponibles pour le MED POL ne permettent d'organiser que des sessions de formation individuelle et collective de durée assez courte. Il faut donc retenir une formation à base de "familiarisation" s'adressant à des participants déjà au fait des procédures pertinentes et qui ont surtout besoin d'une mise à jour. Quant à l'indispensable formation à long terme aux méthodes microbiologiques, il faudra que les pays continuent à l'organiser avec leurs ressources propres. Le coût de cette formation, tout comme celui de l'équipement et de l'entretien des laboratoires, serait réduit de beaucoup si, chaque fois que c'est possible, les travaux en question étaient confiés au sein des pays à des laboratoires déjà existants comme ceux qui sont chargés de l'analyse de l'eau de boisson, même si ces laboratoires relèvent de ministères ou d'organismes nationaux ou locaux différents de ceux qui ont la responsabilité de la qualité des eaux de baignade et des eaux conchylicoles.

Qualité des zones et des plages de baignade

7-27. La résolution méditerranéenne de 1985 énonçant des critères provisoires de qualité du milieu pour les eaux de baignade ne donnait pas de définition des zones de baignade. Cela devrait être fait, et la définition donnée à l'article 1 de la directive CEE pourrait éventuellement être adoptée. De même, les Etats méditerranéens devraient être invités à recenser sur leur territoire les zones de baignade qui répondent à cette définition et à en fournir une liste à l'Unité du Plan d'action pour la Méditerranée.

7-28. Comme on l'a vu, il existe un certain nombre d'affections gastro-intestinales associées à la baignade qui ne paraissent pas être en rapport avec le degré de pollution des eaux à usage récréatif par les eaux usées. Les éléments fournis par plusieurs études indiquent que la survenue de ces cas pourrait être due à des sujets déjà infectés qui contaminent l'eau, et ce conjointement avec la surfréquentation de certaines plages. Il n'est manifestement pas possible d'avoir prise sur le premier phénomène, mais on pourrait, dans les divers pays qui connaissent ce problème, étudier la possibilité de réduire la surfréquentation des plages, au besoin en étendant la superficie de plage disponible. La question de l'hygiène générale des plages, comme on l'a exposé aux paragraphes 7-10 et 7-11, devrait être examinée en vue d'éventuelles mesures correctives.

Critères et normes pour les eaux conchylicoles

7-29. Les critères et normes pour les eaux conchylicoles adoptés en 1987 sont, comme on l'a déjà souligné, basés sur la surveillance d'un seul indicateur bactérien (coliformes fécaux) à des intervalles de trois mois. D'un côté, on peut avancer que cette mesure représente tout au plus une phase préliminaire de dépistage destinée uniquement à juger de l'acceptabilité d'une masse d'eau donnée comme milieu de conchyliculture, et qu'il existe une procédure de dépistage plus rigoureuse comportant à la fois, s'il y a lieu, une épuration et une analyse plus poussée d'une gamme élargie de paramètres microbiologiques au cours de la période comprise entre la récolte et la vente aux consommateurs. D'un autre côté, comme on l'a vu précédemment, il n'est pas suffisant de se fonder sur un seul paramètre bactérien mesuré à des intervalles espacés, même pour juger de l'acceptabilité d'une zone, et il existe au moins un pays méditerranéen où la conformité à ces normes permet d'accepter les coquillages destinés à la consommation sans autres procédures de contrôle. Par ailleurs, alors que la majeure partie de la production de coquillages est soumise à des procédures de contrôle sanitaire après récolte, on ne dispose guère d'informations sur les quantités de coquillages récoltées à l'état sauvage et sur la proportion de celles-ci qui échappe à la procédure de contrôle normal entre la récolte et la consommation.

7-30. Si, dans l'immédiat, une mesure de révision des normes ne paraît pas s'imposer, il convient par contre de poursuivre les études pour savoir s'il faut augmenter le nombre des paramètres à surveiller et, dans l'affirmative, pour déterminer les nouveaux paramètres à introduire et reconsidérer la question de la fréquence d'échantillonnage. Les Parties contractantes devraient élaborer et adopter une résolution dans ce sens à la première occasion. Elles devraient aussi, dans la même résolution, au titre de mesures transitoires en attendant les résultats de ces études, s'engager a) à surveiller tous les nouveaux paramètres que l'on jugerait nécessaires pour des raisons de santé publique, b) recenser les zones naturelles dans lesquelles des coquillages poussent et sont récoltés, et veiller à ce que ces zones soient surveillées conformément aux dispositions des critères de qualité actuellement en vigueur, et c) comme c'est déjà le cas dans certains pays, interdire la vente des coquillages provenant de zones non agréées, et avertir le public des risques encourus par suite de la consommation de coquillages recueillis à l'état sauvage dans ces zones à un niveau individuel et non commercial.

Recherche microbiologique et épidémiologique

7-31. Les pays devraient encourager les grands axes de recherche ci-après, au sein comme en dehors du MED POL:

Des études microbiologiques pour répondre à la nécessité d'une liste plus complète des microorganismes dont il convient de déterminer la présence et (si possible) la concentration dans les effluents urbains et dans les zones marines (à usage récréatif et conchylicole) connues pour être affectées par ces effluents. On obtiendrait ainsi des données essentielles pour la conception des nouvelles stations d'épuration et de nouveaux émissaires à ces emplacements, et pour apporter d'éventuelles modifications aux installations existantes.

Des études sur la qualité esthétique et hygiénique des plages afin de déterminer pour chacune d'entre elles si des améliorations sont requises. Dans ce cadre, l'analyse d'échantillons de sable provenant des principales plages pour y rechercher des bactéries et des champignons devrait constituer une première étape essentielle. Les résultats de ces études permettraient d'établir si les risques sanitaires résultant du sable et des sédiments pollués sont tels qu'ils appellent pour l'avenir l'instauration de critères et normes applicables à ces milieux.

Des études épidémiologiques sur la corrélation entre la qualité des eaux à usage récréatif et les effets observés sur la santé parmi des groupes de population exposés, en y englobant les principales zones de sports aquatiques (comme la baignade). On obtiendrait ainsi une indication utile sur l'efficacité ou non des normes de qualité en vigueur.

Des études épidémiologiques afin d'établir une corrélation entre l'incidence de maladies et troubles donnés et la surfréquentation des plages.

Des études et investigations épidémiologiques visant à établir dans quelle mesure les aliments contaminés (par rapport à d'autres sources) sont responsables de la survenue d'affections et de troubles gastro-intestinaux parmi les populations locales et les touristes.

Des études microbiologiques permettant d'établir une corrélation entre la concentration d'organismes indicateurs bactériens et la présence et concentration d'agents pathogènes comme les salmonelles. Comme cette corrélation doit varier d'un emplacement à l'autre selon la proportion d'individus atteints et porteurs au sein de la collectivité, les études devront être réalisées dans un certain nombre de localités. Les résultats permettraient d'indiquer quand il conviendrait de déterminer des paramètres supplémentaires à toute localité donnée pour obtenir une appréciation plus exacte des risques sanitaires.

Des études microbiologiques où l'on s'emploiera à interpréter l'importance pathogène réelle d'agents tels que les salmonelles et les entérovirus dans des échantillons d'eau de mer.

Des investigations sur la présence et la concentration des microorganismes pathogènes, notamment des virus, dans les échantillons prélevés dans des eaux conchylicoles considérées comme acceptables selon les critères et normes en vigueur, et dans les échantillons de coquillages après épuration, en vue de réexaminer l'efficacité des techniques d'épuration en usage, et de l'instauration ultérieure de critères pour les virus.

Des études destinées à améliorer les méthodes microbiologiques actuelles de détermination des concentrations d'organismes pathogènes et indicateurs dans les conditions méditerranéennes, y compris la mise au point de technique moins coûteuses de détermination des virus.

Des études sur la survie et l'adaptation des microorganismes indicateurs libérés dans le milieu marin de la Méditerranée, et notamment sur les mécanismes responsables de cette adaptation.

Des études visant à étoffer les bases de données actuelles sur les proliférations anormales d'algues dans les zones de la Méditerranée sujettes à des phénomènes réguliers ou sporadiques d'eutrophisation.

Maîtrise de la pollution par les eaux usées à la source

7-32. Etant donné que, dans plusieurs secteurs de la Méditerranée, les eaux usées municipales sont encore rejetées en mer à l'état brut ou partiellement traitées, les pays devraient accélérer dans toute la mesure du possible l'aménagement de stations d'épuration et d'émissaires sous-marins conformément à la Déclaration de Gênes de 1985. Cela est essentiel pour la réhabilitation des zones de baignade et de conchyliculture actuellement soumises à une pollution par les eaux usées.

Organisation administrative au sein des divers pays et communication des informations

7-33. Les pays méditerranéens devraient, en tant que de besoin, renforcer leurs mécanismes de prévention et de lutte antipollution (y compris leur organisation administrative interne et leurs liaisons interministérielles quand il y a partage des attributions) de manière à éviter que les efforts ne se recourent, à réconcilier les intérêts divergents et à permettre l'application la plus effective possible des normes adoptées. Les pays devraient également veiller à ce que tous les détails pertinents de leurs législations, programmes et mesures adoptés en vertu des dispositions de la Convention de Barcelone et de ses Protocoles soient communiqués au Secrétariat du Plan d'action pour la Méditerranée, ainsi qu'il est prévu par la dite Convention et ses Protocoles.

REFERENCES

- Aasen, S. (1989). *Salmonella enteritidis* infection in Norwegian tourists. In Pasini, W. (Ed.): *Tourist Health: A New Branch of Public Health, Vol. II.* pp. 59-61. WHO Collaborating Centre for Tourist Health and Tourist Medicine, Rimini, Italy.
- Abdussalam, M. (1990) Salmonellosis in tourists and other travellers. In: Pasini, W. (Ed.): *Proceedings of the Second International Conference on Tourist Health, March 15-18, 1989, Rimini (Italy)*, pp. 48-55. WHO Collaborating Centre for Tourist Health and Tourist Medicine, Rimini, Italy.
- Akin, E.W., Hill, F.W.Jr. and Clark, N.A. (1975) Mortality of enteric viruses in marine and other waters. In Gameson, A.L.H. (Ed): *Discharge of sewage from long sea outfalls.* pp. 202-235. Pergamon Press, London.
- Alonso Molina, J.L., Peris Aguirre, I. and Amoros Munoz, I. (1984) Occurrence of *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella* in Valencia coastal waters. *Proceedings of the VIIth ICSEM/UNEP Workshop on Pollution of the Mediterranean, Lucerne, Switzerland, 11-13 October 1984.* pp 587-595. International Council for the Scientific Exploration of the Mediterranean (ICSEM), Monaco.
- Alonso Molina, J.L., Amoros Munoz, I. and Botella, M.S. (1993) *Control of intestinal pathogens (Campylobacter and Aeromonas) in marine coastal recreational areas in Valencia, Spain.* MAP Technical Reports Series, No. 75. United Nations Environment Programme, Athens.
- Andersson, Y. and Böttinger, M. (1989). Two communicable diseases as measures of diarrhoeal illness among Swedish travellers. In Pasini, W. (Ed.): *Tourist Health: A New Branch of Public Health, Vol. II.* pp. 25-34. WHO Collaborating Centre for Tourist Health and Tourist Medicine, Rimini, Italy.
- APHA/AWWA/WPCF (1985) *Standard methods for the examination of water and wastewater, 18th Edition.* American Public Health Association, Washington D.C.
- Araujo, R.M., Arribas, R.M., Lucena, F. and Pares, R. (1988) Distribution of mesophilic aeromonads in temperate aquatic habitats: relationship with faecal indicator parameters. *IAWPRC Newsletter*, **13**: 37.
- Aubert, M. (1988) *Théorie générale de l'eutrophisation.* In Stirn, J. (Ed.) UNESCO Reports in Marine Sciences, No. 49. UNESCO, Paris.
- Aubert, M. and Aubert, J. (1969). *Océanographie Médicale.* Gauthier Villars, Paris.
- Baine, W.B. Zampieri, A. and Mazzotti, M. (1974) Epidemiology of Cholera in Italy in 1973. *Lancet*, **1974**: 1370-1381.
- Barer, M.R., Millership, S.E. and Tabaqchli, S. (1986) Relationship of toxin production to species in the genus *Aeromonas*. *Journal of Medical Microbiology*, **22**: 303-309.

- Barua, D. (1990) Acute diarrhoeas (other than cholera, salmonellosis and shigellosis) as a health problem of tourists. In: Pasini, W. (Ed.): *Proceedings of the Second International Conference on Tourist Health, March 15-18, 1989, Rimini (Italy)*, pp. 56-65. WHO Collaborating Centre for Tourist Health and Tourist Medicine, Rimini, Italy.
- Belin, C., Berthomé, J.P. and Lassus, P. (1989) Dinoflagelles toxiques et phénomènes d'eaux colorées sur les côtes françaises: évolution et tendances entre 1975 et 1988. *Hydroécologie*, **1/2**: 3-17.
- Benjamin, J., Leaper, S.M., Owen, R.J. and Skirrow, M.B. (1983) A new species of thermophilic *Campylobacter*. *Current Microbiology*, **8**: 231-238.
- Berland, B. and Bellan, G. (1990). *Identification of algae and related biotoxins*. Paper presented at WHO Working Group on health impact from human exposure to recreational waters, Rimini, 27 February - 2 March 1990.
- Bernard, P. (1985) *Utilisation de la méthode de filtrations par membranes filtrantes pour la recherche de divers Candida dans les sables des zones marines à vocation balnéaire*. MED POL Research Project Final Report.
- Bernard, P., Gueho, E. and Pesando, D. (1988). *Recherche de dermatophytes et de moisissures pathogènes dans le sable des plages, 1986-1987*. MED POL Research Project Final Report.
- Blaser, M.J., Taylor, D.N. and Feldman, R.A. (1983) Epidemiology of *Campylobacter jejuni* infections. *Epidemiological Review*, **5**: 157-176.
- Boccia, A., Montanaro, D., Annino, I. and Schiappa, F. (1978). Isolamento di vibrioni alofili riferibili a *Vibrio parahaemolyticus* e *Vibrio alginolyticus* da molluschi bivalvi e da campioni di acqua della zona costiera della città di Napoli. *Igiene Moderna*, **71**: 893-904.
- Boni, L., Mancini, L., Milandri, A., Poletti, R., Pompei, M. and Viviani, R. (1992). First cases of DSP in the Northern Adriatic Sea. In Vollenweider, R.A., Marchetti, R. and Viviani, R (Eds.): *Marine Coastal Eutrophication: Proceedings of the International Conference, Bologna, 21-24 March, 1990*. *Journal of Science of the Total Environment*, Supplement 1992, pp 419-426.
- Borrego, J.J. (1982) *Estudio de los bacteriofagos de Escherichia coli en el agua de mar. Su relacion con la polución de dicho medio*. Doctoral thesis, University of Malaga.
- Borrego, J.J., Romero, P. and Mariño, F.(1991). *Epidemiological study on bathers from selected beaches in Malaga*. MAP Technical Reports Series, No. 53. United Nations Environment Programme, Athens.
- Borrego, J.J. and Moriño, M.A. (1994). *Comparison of methods for the isolation of Salmonella from natural waters*. MAP Technical Reports Series, No. 87, pp 1-54.. United Nations Environment Programme, Athens.

- Bosch, A., Gray, M., Diaz, J.M., Gajardo, R., Abad, F.X., Pinto, R.M. and Sobsey, M.D. (1993) *The survival of human enteric viruses in seawater*. MAP Technical Reports Series, No. 76, pp 1-8. United Nations Environment Programme, Athens.
- Bravo, I., Reguera, B., Martinez, A. and Fraga, S. (1990). First Report of *Gymnodinium catenatum* Graham in the Mediterranean coast. In Granéli, E., Sundström, B., Edler, L. and Anderson, D.M. (Eds.): *Toxic Marine Phytoplankton*. pp. 449-452. Elsevier Science Publishing Co., New York.
- Brisou, J. (1976) *An environmental sanitation plan for the Mediterranean seaboard; Pollution and human health*. Public Health Papers, No. 62. World Health Organization, Geneva.
- Brisou, J., Tysset, C., Mallioux, M. and Espinasse, S. (1962) Recherches sur les vibrions marins. A propos de 44 souches isolées de moules (*Mytilus galloprovincialis*) du littoral algérois. *Bulletin de la Société de pathologie exotique*, **55**: 260-275.
- Burke, V., Robinson, J., Bearnan, J., Gracey, M., Lesmana, M., Rockhill, R., Echevarria, P. and Janda, M. (1983) Correlation of enterotoxicity with biotype in *Aeromonas* spp. *Journal of Clinical Microbiology*, **18**: 1196-1200.
- Burke, V., Robinson, J., Gracey, M., Peterson, D. and Partridge, K. (1984) Isolation of *Aeromonas hydrophila* from a metropolitan water supply; seasonal correlation with clinical isolates. *Applied and Environmental Microbiology*, **48**: 361-366.
- Burke, V., Cooper, M. and Robinson, J. (1986) Haemagglutination patterns of *Aeromonas* spp. related to species and source of strains. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science*, **64**: 563-570.
- Cabelli, V.J. (1982) Swimming-associated gastro-enteritis and water quality. *American Journal of Epidemiology*, **115(4)**: 606-616.
- Cabelli, V.J. (1983) *Health effects for marine recreational waters*. R & D Report No. EPA-600/1-80-031, U.S. Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, North Carolina.
- Calderon, R. (1990). *Exposure to point and non-point sources of pollution in bathing beach water (fresh and marine)*. Paper presented at III International Conference on Tourist Health, Venice, November 1990.
- Canzonier, W.J. (1988). Public health component of bivalve shellfish production and marketing. *Journal of Shellfish Research*, **7**: 261-266.
- Carrada, G.C. Casotti, R. and Saggiomo, V. (1988) Occurrence of a bloom of *Gymnodinium catenatum* in a Tyrrhenian coastal lagoon. *Rapports et Communications Internationaux sur la Mer Méditerranée*, **31(2)**: 61.
- Cartwright, R.Y. (1990) Travellers' diarrhoea in British package holiday tourists to Mediterranean countries during the Summer season 1988. In: Pasini, W. (Ed.): *Proceedings of the Second International Conference on Tourist Health, March 15-18, 1989, Rimini (Italy)*, pp. 66-73. WHO Collaborating Centre for Tourist Health and Tourist Medicine, Rimini, Italy.
- CE (1976) Directive du Conseil du 8 décembre 1975 concernant la qualité des eaux de baignade (76/160/EEC). *Journal officiel des Communautés européennes*, No. **L31**: 1-4.

- CE (1979) Directive du Conseil du 30 octobre 1979 relative à la qualité requise des eaux conchylicoles (79/923/EEC) (79/923/EEC). *Journal officiel des Communautés européennes*, No. **L281**: 47-52.
- Centre Alpin de Recherche Epidémiologique et de Prévention Sanitaire (CAREPS) (1987). *Etude épidémiologique des effets sur la santé de la contamination bactériologique des eaux de baignade: cas des eaux de rivière du Bassin de l'Ardèche - Rapport de synthèse*. CAREPS, Grenoble.
- Cheung, W.H.S., Chamg, K.C.K. and Hung, R.P.S. (1991) Variations in microbial indicator densities in beach waters and health-related assessment of bathing water quality. *Epidemiological Infections*, **106**: 329-344.
- Codd, G.A., Bell, S.G. and Brooks, WP. (1989) Cyanobacterial toxins in water. *Water Science and Technology*, **21(3)**: 1-13.
- Codex Alimentarius Commission (1978) *Proposed draft code of hygienic practice for molluscan shellfish*. In Report of the 11th session. Rome, 17-18 April 1978. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Colwell, R.R., Brayton, R.P., Rimes, D.J., Roszak, D.B., Huq, S.A. and Palmer, L.M. (1985) Viable but non-culturable *Vibrio cholerae* and related pathogens in the environment: implications for the release of genetically-engineered microorganisms. *Bio/Technology*, (3): 817-820.
- Cook, D.W. (1994) Effect of time and temperature on multiplication of *Vibrio vulnificus* in post harvest gulf coast shellstock oysters. *Applied and Environmental Microbiology*, **60**: 3483-3484.
- Corbett, S.J., Rubin, G.L., Curry, G.K., Kleinbaum, D.G. and THE SYDNEY BEACH USERS STUDY ADVISORY GROUP (1993) The health effects of swimming at Sydney beaches. *American Journal of Public Health*, **83(12)**: 1701-1706.
- Crovati, P., De Flora, S., Vannucci, A. and Badolati, G. (1974) The virological monitoring of water. II - Seawater *Bollettino dell'Istituto Sieroter Milanese*, **53**: 525-532.
- Cvjetanovic, B. (1989) Diarrhoeal diseases in the Mediterranean area. In Pasini, W. (Ed.): *Tourist Health: A New Branch of Public Health, Vol. I*. pp. 67-78. WHO Collaborating Centre for Tourist Health and Tourist Medicine, Rimini, Italy.
- Cvjetanovic, B. (1990) Typhoid and its control in the Mediterranean. In: Pasini, W. (Ed.): *Proceedings of the Second International Conference on Tourist Health, March 15-18, 1989, Rimini (Italy)*, pp. 33-39. WHO Collaborating Centre for Tourist Health and Tourist Medicine, Rimini, Italy.

- Daily, O.P., Joseph, S.W., Coolbaugh, J.C., Walker, R.I., Merrel, B.R., Rollins, D.M., Seidler, R.J., Colwell, R.R. and Lissner, C.R. (1981) Association of *Aeromonas sobria* with human infection. *Journal of Clinical Microbiology*, **13**: 769-777.
- Dardanoni, I. and Nastasi, A. (1990) Enteric infections: Shigellosis and Amoebiasis. In: Pasini, W. (Ed.): *Proceedings of the Second International Conference on Tourist Health, March 15-18, 1989, Rimini (Italy)*, pp. 41-47. WHO Collaborating Centre for Tourist Health and Tourist Medicine, Rimini, Italy.
- Degobbi, D. (1990). Eutrophication-related phenomena in the Adriatic Sea and Yugoslav coastal region. *Proceedings of the Workshop on Eutrophication-related phenomena in the Adriatic Sea and in other Mediterranean Coastal Zones. Rome, 28-30 May 1990. Water Pollution Research reports*, **16**: 83-95.
- Delgado, M., Estrada, M., Camp, J., Fernandez, J.V., Santmarti, A. and Lleti, C. (1990). Development of a toxic *Alexandrium minutum* Halim (Dinophyceae) bloom in the harbour of San Carlos de la Rapita (Ebro Delta, Northwestern Mediterranean). *Scientia Marina*, **54(1)**: 1-7.
- De Vicente, A., Codina, J.C. and Romero, P. (1991) Relationship between *Pseudomonas aeruginosa* and bacterial indicators in polluted natural waters. *Water science and Technology*, **24(2)**: 121-124.
- Diaz, A. and Velasco, A.C. (1987) Enteropatogenicidad de *Aeromonas* spp. *Revista Española de Microbiología Clínica*, **2**: 11-16.
- De Flora, S., De Renzi, G.P. and Badolati, G. (1975) Detection of animal viruses in bottom seawaters and in marine sediments. *Applied Microbiology*, **30**: 472-475.
- EC (1988). *Quality of bathing water, 1983-1986: Fifth Report*. Document EUR 11588, Commission of the European Communities, Luxembourg.
- EC (1989). *Quality of bathing water, 1987: Sixth Report*. Document EUR 11921, Commission of the European Communities, Luxembourg.
- EC (1991) *Quality of bathing water, 1989-1990*. Document EUR 13333, European Commission, Brussels.
- EC (1992) *Quality of bathing water, 1991*. Document EUR 14210, European Commission, Brussels.
- EC (1993) *Quality of bathing water, 1992*. Document EUR 15031, European Commission, Brussels.
- EC (1994a) *Quality of bathing water, 1993*. Document EUR 15399, European Commission, Brussels.
- EC (1994b) *Proposal for a Council Directive concerning the quality of bathing water*. Document COM(94) 36 final, Commission of the European Communities, Brussels.

- EC (1995a) *Quality of bathing water, 1994*. Document EUR 15976, European Commission, Brussels.
- EC (1995b) *Quality of fresh water for fish and of shellfish water*. Document EUR 14118, European Commission, Brussels.
- El-Sahn, M.A., El-Banna, A.A. and Shahata, A.M.E.T. (1982) Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* in selected marine invertebrates, sediment and seawater around Alexandria, Egypt. *Canadian Journal of Microbiology*, **28(11)**: 1261-1264.
- El-Sharkawi, F.M., El-Derea, H.B. and Akel, M.M. (1982a) The effect of marine pollution on the hygienic quality of shellfish caught in Alexandria beaches. *Bulletin of the High Institute of Public Health, Alexandria*, **12**: 47-57.
- El-Sharkawi, F.M. and Hassan, M.N.E.R. (1982b) The relation between the state of pollution in Alexandria swimming beaches and the occurrence of typhoid among bathers. *Bulletin of the High Institute of Public Health, Alexandria*, **12**: 337-351.
- El-Sharkawi, F.M., El-Attar, A., Abdel Gawad, A. and Molazem, S. (1991) *Some environmental factors affecting survival of faecal pathogens and indicator organisms in seawater*. MAP Technical Reports Series, No. 49, pp 21-32. United Nations Environment Programme, Athens.
- Fantasia, M., Filetici, E. and Arena, S. (1989) Trend in *Salmonella* isolations from food and man in Italy, 1973-1986. In Pasini, W. (Ed.): *Tourist Health: A New Branch of Public Health, Vol. II*. pp. 131-133. WHO Collaborating Centre for Tourist Health and Tourist Medicine, Rimini, Italy.
- FAO/UNESCO/IOC/WHO/WMO/IAEA/UNEP (1983) *Coordinated Mediterranean Pollution Monitoring and research programme (MED POL Phase I) - Programme Description*. UNEP Regional Seas Reports and Studies No. 23. United Nations Environment Programme, Geneva.
- Fattal, B. and Shuval, H.I. (1988). *Epidemiological research on the relationship between the microbial quality of coastal seawater and morbidity among bathers on Israeli Mediterranean beaches*. M.A.P. Technical Report series No. 20, United Nations Environment Programme, Athens.
- Fattal, B. and Shuval, H.I. (1991) *The relationship between microbial quality of coastal seawater and rotavirus-induced gastroenteritis among bathers in Mediterranean Israeli beaches*. MAP Technical Reports Series, No. 49. United Nations Environment Programme, Athens.
- Fonda Umani, S. (1985). Hydrology and "red tides" in the Gulf of Trieste (North Adriatic Sea). *Oebalia*, **XI (N.S.)**: 141-147.
- Foulon, G., Maurin, J., Quoi, N.N. and Martin-Bouyer, G. (1983). Etude de la morbidité humaine en relation avec la pollution bactériologique des eaux de baignade en mer. *Revue française des Sciences de l'Eau*, **2(2)**: 127-143.

- FRANCE, GOVERNMENT OF (1989). *Qualité des eaux de baignade. Saison 1988 - Dossier de Presse*. Ministère de la Solidarité, de la Santé et de la Protection Sociale/Secrétariat d'Etat auprès du Premier Ministre Chargé de l'Environnement, Paris.
- Fricker, C.R. (1987) The isolation of salmonellas and campylobacters: A review. **63**: 99-117.
- Fuks, D. (1991) *Survival of some intestinal pathogens in the marine environment*. MAP Technical Reports Series, No. 49, pp 1-20. United Nations Environment Programme, Athens.
- Gameson, A.H.L. and Gould, D.J. (1975) Effects of solar radiation on the mortality of some terrestrial bacteria in seawater. In Gameson, A.L.H. (Ed): *Discharge of sewage from long sea outfalls*. pp. 209-219. Pergamon Press, London.
- Gauthier, M.J. (1980) Polución en el medio marino. In Péres, J.M. (Ed): *La Polución de las aguas marinas*. pp. 127-141. Omega S.A.. Barcelona.
- Gauthier, M.J. (1992a) Influence des systèmes d'osmorégulation sur la survie et l'adaptation des bactéries entériques dans l'environnement marin MAP Technical Reports Series, No. 63, pp 1-16. United Nations Environment Programme, Athens.
- Gauthier, M.J. (1992b) *Influence des mécanismes d'osmorégulation sur la survie et l'adaptation des bactéries entériques dans l'environnement marin*. MAP Technical Reports Series, No. 63, pp 17-28. United Nations Environment Programme, Athens.
- Gauthier, M.J. (1992c) *Etude expérimentale du transfert de gènes plasmidiques entre les entérobactéries dans l'environnement marin*. MAP Technical Reports Series, No. 63, pp 61-76. United Nations Environment Programme, Athens.
- Gauthier, M.J., Flatau, G.N. and Breittmayer, V.A. (1991) Protective effect of Glycine Betaine on survival of *Escherichia coli* cells in marine environments. *Water science and Technology*, **24(2)**:129-132.
- Gauthier, M.J., Munro, P.M. and Breittmayer, V.A. (1991) *Evolution phénotypique et génétique des entérobactéries pathogènes dans les milieux marins (sédiments, biomasse)* MAP Technical Reports Series, No. 49, pp 43-63. United Nations Environment Programme, Athens.
- Gauthier, M.J., Martin, Y. and Torregrossa, M.V. (1992) *Etude expérimentale du transfert de gènes plasmidiques entre entérobactéries dans l'eau de mer, les sédiments et le tractus digestif des invertébrés marins*. MAP Technical Reports Series, No. 63, pp 20-60. United Nations Environment Programme, Athens.
- Gauthier, M.J., Breittmayer, V.A., and Braux, A.S. (1993) *Expression génique chez les bactéries entériques dans les conditions marines*. MAP Technical Reports Series, No. 76, pp 9-38. United Nations Environment Programme, Athens.
- Geldreich, E.E. (1978) Bacterial populations and indicator concepts in faeces, sewage, stormwater and solid waste. In Berg, G. (Ed): *Indicators of viruses in water and food*. pp. 51-97. Ann Arbor Science, Michigan.

- Geldreich, E. E. (1985) *A review of epidemiological evidence, criteria and standards correlating health effects with shellfish and marine bathing water quality*. Working document presented at WHO/UNEP Consultation meeting on the correlation between coastal water quality and health effects. Follonica, Italy, 21-25 October 1985.
- Gerba, C.P. and Goyal, S.M. (1978) Detection and occurrence of enteric viruses in shellfish; A review. *Journal of Food Protection*, **41**: 743-754.
- Ghinsberg, R.C., Bar-DOV, L., Rogol, M. and Vitkin, M. (1990). *Prevalence of pathogenic microorganisms in beach sand*. MED POL Research Project Progress Report.
- Ghinsberg, R.C., Leibowitz, P., Witkin, H., Mates, A., Seinberg, Y., Bar-Dov, L., Nitzan, Y. and Rogol, M. (1994) *Monitoring of selected bacteria and fungi in sand and seawater along the Tel Aviv coast*. MAP Technical Reports Series, No. 87, pp 65-82. United Nations Environment Programme, Athens.
- Giacobbe, M. and Maimone, G. (1991) *Dinophysis sacculus* outbreaks in a brackish area of Sicily. *Red Tide Newsletter*, **4**: 1.
- Gotsis-Skretas, O. and Friligos, N. (1988). Eutrophication and phytoplankton ecology in the Thermaikos Gulf. *Rapports et Communications Internationaux sur la Mer Méditerranée*, **31(2)**: 297.
- Grauer, F.H. (1959), Dermatitis escharotica caused by a marine alga. *Hawaii Medical Journal*, **19**: 32-34.
- Halim, Y. (1989). *Eutrophication in Egyptian Mediterranean waters*. Report of the meeting of experts on the implications and control of undesirable plankton blooms, Athens, 4-6 April 1989, Annex III, p1. Document UNEP(OCA)MED WG.4/2., United Nations Environment Programme, Athens.
- Hoadley, A.W. (1981) Effect of injury on the recovery of bacteria on membrane filters. In Dutka, B.J. (Ed.) : *Membrane filtration: Applications, techniques and problems*. pp. 413-450. Marcel Dekker Inc., New York.
- Hugues, B. (1994) *Recovery of viruses from seawater*. Personal communication recorded in Table 2.2.2. in WHO/UNEP - Health risks from marine pollution in the Mediterranean. Part II - Review of hazards and health risks. Document EUR/ICP/EHAZ 94 01/MT01(2). WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- Hugues, B., Andre, M., Plantat, J.L. and Champsaur, H. (1993) Comparison of glass wool and glass powder methods for concentration of viruses from treated wastewaters. *Zbl. Hyg.*, **193**: 440-449.
- Innamorati, M., Nuccio, C., Lenzi-Grillini, C., De Pol, M. and Mannucci, M. (1989a). *Biomassa, produzione e specie fitoplanctoniche nel mare antistante lo scarico termico della centrale elettrica di Torre del Sale (Golfo di Follonica)*, Resoconti dei rilevamenti in mare, No. 5. Firenze.

- Innamorati, M., Lazzara, L., Nuccio, C., De Pol, M., Mannucci, M. and Mori, G.(1989b). *Popolamenti fitoplanctonici e condizioni idrologiche nell' Arcipelago Toscano*. Resoconti dei rilevamenti in mare, No. 5. Firenze.
- ITALY, GOVERNMENT OF (1990). *Rapporto sulla qualità delle acque di balneazione (D.P.R. 8 Giugno 1982 N. 470), Anno 1989*. Ministry of Health, Rome.
- Izquierdo, J., Piera, G., Aledany, M.C. and Lucena, F. (1986). *Estudio de la flora fungica de la arena de la playa de Badalona (España)*. MED POL Research Project Progress Report.
- Jahkola, M. (1990) *Salmonella enteritidis* is becoming a health problem for Finnish tourists visiting the Mediterranean area. In: Pasini, W. (Ed.): *Proceedings of the Second International Conference on Tourist Health, March 15-18, 1989, Rimini (Italy)*, pp. 83-87. WHO Collaborating Centre for Tourist Health and Tourist Medicine, Rimini, Italy.
- Janda, J.M. and Duffey, P.S. (1988) Mesophilic aeromonads in human disease: current taxonomy, laboratory identification and infectious disease spectrum. *Review of Infectious Diseases*, **10**: 980-997.
- Jofre, J. (1987) *Bacteriophage of Bacteroides as an indicator of pathogenic viruses in coastal seawater*. Unpublished report.
- Jofre, J., Blasi, M., Bosch, A. and Lucena, F. (1989) Occurrence of bacteriophages infecting *Bacteroides fragilis* and other viruses in polluted marine sediments. *Water Science and Technology*, **21(3)**: 15-19.
- Jofre, J., Lasobres, J., McIntosh, D. and Lucena, F. (1994) *Evaluation of virus contamination of shellfish through enumeration of phages infecting Bacteroides fragilis*. MAP Technical Reports Series, No. 87, pp 99-121. United Nations Environment Programme, Athens.
- Jones, D.M., Abbott, J.D., Painter, M.J. and Sutcliffe, E.M. (1984) A comparison of biotypes and serotypes of *Campylobacter* species isolated from patients with enteritis and from animal and environmental sources. *Journal of Infections*, **9**: 51-58.
- Jones, F. and Kay, D. (1989) Bathing waters and health studies. *Water Services*, **93(1117)**: 87-89.
- Jones, G.E. (1971) The fate of freshwater bacteria in the sea. *Developments in Industrial Microbiology*, **12**: 141-151.
- Jones, G.E. and Cobet, A.B. (1975) Heavy metal ions as the principal bactericidal agent in Caribbean seawater. In Gameson, A.L.H. (Ed): *Discharge of sewage from long sea outfalls*. pp. 199-208. Pergamon Press, London.

- Joseph, S.W., Daily, O.P., Hunt, W.S., Seidler, R.J., Allen, D.A. and Colwell, R.R. (1979) *Aeromonas* primary wound infection of a diver in polluted waters. *Journal of Clinical Microbiology*, **10**: 46-49.
- Kaltenböck, E. and Hemdl, G.J. (1992). Ecology of amorphous aggregations (marine snow) in the Northern Adriatic Sea. IV. Dissolved nutrients and the autotrophic component associated with marine snow. *Marine Ecology Progress Series*, **10**: 17-26.
- Kaper, J.B., Lockman, H. and Colwell, R.R. (1981) *Aeromonas hydrophila*: ecology and toxicogenicity of isolates from an estuary. *Journal of Applied Bacteriology*, **50**: 359-377.
- Kapuschinski, R.B. and Mitchell, R. (1981) Solar radiation induces sublethal injury in *Escherichia coli* in seawater. *Applied and Environmental Microbiology*, **41(3)**: 670-674.
- Kaspar, C.W. and Tamplin, M.L. (1993) Effects of temperature and salinity on the survival of *Vibrio vulnificus* in seawater and shellfish. *Applied and Environmental Microbiology*, **59**: 2425-2429.
- Katzenelson, E. (1977) Concentration and identification of viruses from seawater. *Revue Internationale d'Océanographie Médicale*, **68**: 9-16.
- Kay, D., Fleisher, J.M., Salmon, R.L., Jones, F., Godfree, A.F., Zelenauch-Jacquotte, Z. and Shore, R. (1994) Predicting the likelihood of gastro-enteritis from sea bathing: results from randomized exposure. *The Lancet*, **344**: 905-909.
- Kelly, M. and Naguib, M. (1984) Other examples from the Mediterranean region. In *Eutrophication of coastal marine areas and lagoons: A case study of "Lac de Tunis"*, p 22. UNESCO Reports in Marine Science, No. 29. UNESCO, Paris.
- Kelly, M.T. and Stroh, D. (1988) Occurrence of *Vibrionaceae* in natural and cultivated oyster populations in the Pacific Northwest. *Digest of Microbiology and Infectious Diseases*, **9**: 1-5.
- Kocasoy, G. (1989) The relationship between coastal tourism, sea pollution and public health: A case study from Turkey. *The Environmentalist*, **9(4)**: 245-251.
- Kollaritsch, H. and Wiedermann, G. (1990). Travellers' diarrhoea among Austrian tourists: Epidemiology, clinical features and attempts at nonantibiotic drug prophylaxis. In: Pasini, W. (Ed.): *Proceedings of the Second International Conference on Tourist Health, March 15-18, 1989, Rimini (Italy)*, pp. 74-82. WHO Collaborating Centre for Tourist Health and Tourist Medicine, Rimini, Italy.
- Koray, T. (1990) Planktonic Protista associated with "color-tides" in Izmir Bay (Aegean Sea). *Rapports et Communications Internationaux sur la Mer Méditerranée*, **32(1)**: 212.

- Koray, T. and Buyukisik, B. (1988) Toxic dinoflagellate blooms in the harbour region of Izmir Bay (Aegean Sea). *Revue Internationale d'Océanographie Médicale*, **91-92**: 25-42.
- Koray, T., Buyukisik, B., Benli, A. and Gokpinar, S. (1992) Phytoplankton blooming and Zooplankton swarming in eutrophied zones of Aegean Sea (Izmir Bay). *Rapports et Communications Internationaux sur la Mer Méditerranée*, **33**: 257.
- Krikelis, V. (1987) *Research on enteroviruses in aquatic environments*. Unpublished report.
- Krikelis, V., Spyrou, N., Markoulatos, P. and Serie, Ch. (1985a) Seasonal distribution of enteroviruses and adenoviruses in domestic sewage. *Canadian journal of Microbiology*, **31**: 24-25.
- Krikelis, V., Markoulatos, P., Spyrou, N. and Serie, Ch. (1985b) Detection of endogenous enteric viruses in raw sewage effluents of the city of Athens, Greece, during a two-year survey. *Water Science and Technology*, **17** (Bilthoven): 159-164.
- Krikelis, V., Markoulatos, P. and Spyrou, N. (1986) Viral pollution of coastal waters resulting from the disposal of untreated sewage effluents. *Water Science and Technology*, **18** (Split): 43-48.
- Lakkis, S. (1991). Les Dinoflagelles des côtes libanaises: aspects écologiques. *Revue Internationale d'Océanographie Médicale*, **101-102-103-104**: 115-123.
- Lariviere, L.A., Gaudreau, Ch.L. and Turgeon, F.F. (1986) Susceptibility of clinical isolates of *Campylobacter jejuni* to twenty five antimicrobial agents. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **18**: 681-685.
- Lassus, P., Herbland, A. and Lebaut, C. (1991) *Dinophysis* blooms and toxic effects along the French coast. *World Aquaculture*, **22(4)**: 49-54.
- Legovic, T., Petricoli, D. and Zutic, V. (1991a) Hypoxia in a pristine stratified estuary (Krka, Adriatic Sea). *Marine Chemistry*, **32**: 347-360.
- Legovic, T., Vilicic, D., Petricoli, D. and Zutic, V. (1991b) Subsurface *Gonyaulax polyhedra* bloom in a stratified estuary. *Marine Chemistry*, **32**: 361-374.
- Leveau, M., Maestrini, S., Nival, P. and Romana, A. (1989) *State of the eutrophication problem in France*. Report of the meeting of experts on the implications and control of undesirable plankton blooms, Athens, 4-6 April 1989, Annex III, pp 2-22. Document UNEP(OCA)MED WG.4/2., United Nations Environment Programme, Athens.
- Lightfoot, N.E. (1989). *A prospective study of swimming-related illness at six freshwater beaches in Southern Ontario*. Unpublished Ph.D. Thesis.
- Macowiak, P.A., Caraway, C.T. and Portnoy, B.L. (1976) Oyster Associated Hepatitis: Lessons from the Louisiana experience. *American Journal of Epidemiology*, **103**: 181-191.

- Magazzù, G.A. (1982) La crescita fitoplanctonica in alcuni ambienti lagunari del mare Mediterraneo. *Naturalista Siciliano*, **S.IV**, **6(2)**: 337-259.
- Magazzù, G.A., Caristi, C., Decembrini, F., Cimino, G. and Pulicano, G. (1991) Pollution chimique et eutrophisation de la Lagune Saumatre de Ganzirri (Messina). *Revue Internationale d'Océanographie Médicale*, **101-102-103-104**: 53-61.
- Maini, P., Buci, G., Riva, A., Tuffanelli, A. and Verniani, M.R. (1990). *Microbiological monitoring of the Emilia-Romagna region (Italy) in 1989*. Paper presented at Third International Conference on Tourist Health, Venice, 14-17 November 1990.
- Mallory, L.M., Yuk, C.S., Liang, L.N. and Alexander, M. (1983) Alternative prey: A mechanism for elimination of bacterial species by protozoa. *Applied and Environmental Microbiology*, **46**: 1073-1079.
- Mancini, L., Milandri, A., Nizzoli, C., Pirini, M., Poletti, R., Pompei, M. and Viviani, R. (1986). L'eutrofizzazione in rapporto ad alcuni aspetti igienico-sanitari delle acque costiere e dei prodotti della pesca. *Nova Thalassia*, **8**, **Suppl. 3**: 325-330.
- Marasovic, I. (1986) Occurrence of *Prorocentrum minimum* in Adriatic Sea. *Rapports et Communications Internationaux sur la Mer Méditerranée*, **30(2)**: 186.
- Marasovic, I. (1990) Summer phytoplankton blooms in the Kastela Bay (Adriatic Sea) from 1980 to 1990. *Red Tide Newsletter*, **3**: 3.
- Mariño, M.G., Hernandez, M. and Fernandez, M. (1982). *Relaciones entre calidad microbiologica de las aguas de baño y efectos sanitarios y aceptacion estetica de los bañistas*. Unpublished report.
- Martin, Y.P. and Bonnefont, J.-L. (1990) Variations annuelles et identification des Vibrions cultivant à 37°C dans un effluent urbain, dans les moules et dans l'eau de mer en rade en Toulon (Méditerranée, France). *Canadian Journal of Microbiology*, **36**: 47-52.
- Mascher, F., Reinthaler, F.F., Sixi, W., Schuhmann, G. and Enayat, U. (1989) *Aeromonas* spp aus Trinkwasser und stuhlproben in Südindien: Isolierung, Charakterisierung und Toxinnachweis. *Mitt. österr. Ges. Tropenmed. Parasitol.*, **11**: 189-196.
- McCambridge, J. and McMeekin, T.A. (1980) Relative effects of bacterial predators on survival of *Escherichia coli* in estuarine water samples. *Applied and Environmental Microbiology*, **40**: 907-911.
- McCambridge, J. and McMeekin, T.A. (1981) Effect of solar radiation and predacious microorganisms on survival of faecal and other bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, **41**: 1083-1079.
- Metcalf, T.G. (1982) Viruses in shellfish-growing waters. *Environment International*, **7**: 21-27.
- Metcalf, T.G. and Stiles, W.C. (1965) Survival of enteric viruses in estuary waters and shellfish. In Berg, G. (Ed.) *Transmission of viruses by the water route*. pp. 439-447. Interscience Publishers, New York.

- Mitchell, R. (1971) Destruction of bacteria and viruses in seawater. *Journal of Sanitary Engineering*, **97**: 425-432.
- Mitchell, R. and CHAMBERLIN, C. (1975) Factors influencing the survival of enteric microorganisms in the sea: An overview. In Gameson, A.L.H. (Ed): *Discharge of sewage from long sea outfalls*. pp. 237-251. Pergamon Press, London.
- Mood, E.W. and Moore, B. (1976) *Health criteria for the quality of coastal bathing waters*. Periodical publication, Yale University School of Medicine, New Haven, Connecticut, USA.
- Moore, R.E. (1984) Public health and toxins from marine blue-green algae. In Ragelis, E.P. (Ed.): *Seafood Toxins*, pp 369-376. ACS Symposium Series, No, 262, American Chemical Society, Washington, D.C.
- Mori, I. and Andreoli, C. (1991). Presenza e distribuzione di microalghe tossiche in Adriatico. *Giornale di Botanica Italiano*, **125(3)**: 309.
- Mujeriego, R., Bravo, J.M., Canovas, F., De Vicente, A., Piñas, M., Grane, S., Hernandez, A. and Feliu, M.T. (1980). *Calidad de las aguas costeras y vertido de aguas residuales en el mar. Sus aspectos sobre la salud pública*. Subdirectorato-General of Environmental Health, Ministry of Health and Social Security, Madrid.
- Mujeriego, R., Bravo, J.M. and Feliu, M.T. (1983). Recreation in coastal waters - Public Health implications. *Proceedings of the VIth ICSEM/UNEP Workshop on Pollution of the Mediterranean, Cannes, France, 2-4 December 1982*. pp 585-594, International Council for the Scientific Exploration of the Mediterranean (ICSEM), Monaco.
- OMS/PNUE (1977) *La pollution des eaux côtières, critères sanitaires et études épidémiologiques. Rapport d'un groupe d'experts réuni sous le patronage conjoint de l'OMS et du PNUE, Athènes, 1er-4 mars 1977*. OMS Bureau régional de l'Europe, Copenhagen.
- OMS/PNUE (1978) *Premier rapport sur la surveillance des zones côtières à usage récréatif et des parcs à coquillages (MED VII). Rapport d'un Séminaire organisé conjointement par l'OMS et le PNUE, Rome, 4-7 avril 1978*. Document ICP/RCE 206(8), OMS Bureau régional de l'Europe, Copenhagen.
- OMS/PNUE (1980) *Troisième rapport sur la surveillance des zones côtières à usage récréatif et des parcs à coquillages (MED VII). Rapport d'une réunion de chercheurs principaux organisée conjointement par l'OMS et le PNUE, Rome, 20-23 novembre 1979*. Document ICP/RCE 206 (10), OMS Bureau régional de l'Europe, Copenhagen.
- OMS/PNUE (1986) *La qualité de l'eau côtière et ses effets sur la santé. Rapport sur une réunion mixte OMS/PNUE, Follonica, 21-25 octobre 1985*. Document ICP/CEH 001/m06, OMS Bureau régional de l'Europe, Copenhagen.
- OMS/PNUE (1987) *Critères de qualité de l'environnement pour les eaux d'élevage des crustacés et des mollusques et leurs produits dans la Méditerranée. Rapport sur une réunion conjointe OMS/PNUE, Athènes, 26-27 mars 1987*. Document EUR/ICP/CEH 051, OMS Bureau régional de l'Europe, Copenhagen.

- OMS/PNUE (1990) *La pollution microbiologique de la Méditerranée. Rapport d'une réunion conjointe OMS/PNUE, La Valette, 13-16 décembre 1989.* Document EUR/ICP/CEH 083, OMS Bureau régional de l'Europe, Copenhague.
- OMS/PNUE (1994c) *Recommandations pour la surveillance sanitaire des zones côtières à usage récréatif et des zones conchylicoles, Parties I à V.* Document EUR/ICP/CEH 041(3). OMS, Bureau régional de l'Europe, Copenhague.
- O'Neil, K.R., Jones, S.H. and Grimes, D.J. (1992) Seasonal incidence of *Vibrio vulnificus* in the Great Bay estuary of New Hampshire and Maine. *Applied and Environmental Microbiology*, **58**: 3257-3262.
- Pagou, K. (1990) Eutrophication problems in Greece. *Proceedings of the Workshop on Eutrophication-related phenomena in the Adriatic Sea and in other Mediterranean Coastal Zones. Rome, 28-30 May 1990. Water Pollution Research reports*, **16**: 97-114.
- Pagou, K. and Ignatiades (1990). The periodicity of *Gymnodinium breve* (Davis) in Saronicos Gulf, Aegean Sea. In Granéli, E., Sundström, B., Edler, L. and Anderson, D.M. (Eds): *Toxic Marine Phytoplankton*. pp 206-208. Elsevier Publishing Co., New York.
- Panagiotides, P., Gotsis, O. and Friligos, N. (1989) Observations on the occurrence of a bloom of the species *Gonyaulax tamarensis* in Kavala Gulf during August 1986. *Proceedings of the Second Hellenic Symposium of Oceanography and Fisheries, Athens, 1987*, pp 417-425.
- Papadakis, J.A., (1987) *Relation between densities of indicator organisms and microbial pathogens in seawater.* MED POL Research Project Progress Report.
- Papadakis, J.A., (1991) *Investigation on neurotoxins in shellfish.* MAP Technical Reports Series, No. 60, pp 31-42. United Nations Environment Programme, Athens.
- Papadakis, J.A., (1994) *Comparative distribution of microbial and yeast populations in sand and seawater.* MAP Technical Reports Series, No. 87, pp 87-97. United Nations Environment Programme, Athens.
- Papadakis, J.A. Marcellou-Kinti, U., Mavridou, A. and Tsakris, A. (1990). *A study on the comparative distribution of microbial and yeast populations in sand and seawater.* MED POL Research Project Final Report.
- Papadakis, J.A., Mavridou, A. and Lambiri, M. (1992) *Investigations on microorganisms of human origin in seawater and sand in relation to the number of bathers.* Paper submitted for Athens Academy Award.
- Papaevangelou, G.J., Biziagos, E., Stathopoulos, G.A., Crance, J.M., Vayona, T. and Deloince, R. (1991). *Detection of Hepatitis A virus in sewage, seawater and shellfish.* MAP Technical Reports Series, No. 54, pp 11-22. United Nations Environment Programme, Athens.
- Papapetropoulou, M., Zoumbou, K. and Nicolopoulou, A. (1993). *Metabolic and structural changes in E. coli cells starved in seawater.* MAP Technical Reports Series, No. 76, pp 39-56. United Nations Environment Programme, Athens.

- Papapetropoulou, M. and Rodopoulou, G. (1994). *Occurrence of enteric and non-enteric indicators in Southern Greece coastal waters*. MAP Technical Reports Series, No. 87, pp 55-64. United Nations Environment Programme, Athens.
- Papapetropoulou, M. and Sotiracopoulou, S. (1995). Effect of bathing on human skin flora. MAP Technical Reports Series, No. 93, pp 23-31. United Nations Environment Programme, Athens.
- Patti, A.M., De Filippis, P., Gabrieli, R., Aulicino, F. and Volterra, L. (1990) *Unicellular algae as a vehicle of virus diseases*. Paper presented at Third International Conference on Tourist Health, Venice, 14-17 November 1990.
- Philipp, R. (1991a). Risk assessment of exposure to cyanobacteria. *Environmental Health*, **97**: 80-83.
- Philipp, R. (1991b). Risk assessment and microbiological hazards associated with recreational water sports. *Reviews in Medical Microbiology*, **2**: 208-214.
- Pike, E.B. (1990) *Health effects of sea bathing (ET 9511): Phase I - Pilot studies at Langland Bay 1989*. WRc Report No. DoE 2518-M, Water Research Centre, Marlow.
- Pike, E.B. (1991) *Health effects of sea bathing (ET 9511): Phase II - Pilot studies at Ramsgate and Moreton 1990*. WRc Report No. DoE 2736-M, Water Research Centre, Marlow.
- Pike, E.B. (1993) Recreational use of coastal waters: Development of health-related standards. *Journal of the Institute of Water and Environmental Management*, **7**: 162-169.
- Pike, E.B. (1994) *Health effects of sea bathing (WMI 9021): Phase III - Final Report to the Department of the Environment*. WRc Report No. DoE 3412 (P), Water Research Centre, Marlow.
- PNUE (1975) *Rapport de la réunion intergouvernementale sur la protection de la Méditerranée. Barcelone, 28 janvier - 4 février 1975*, Document UNEP/WG.2/5, Programme des Nations Unies pour l'environnement, Genève.
- PNUE (1979) *Rapport de la réunion IG des Etats riverains de la Méditerranée chargée d'évaluer l'état d'avancement du Plan d'Action pour la Méditerranée et Première Réunion des Parties contractantes à la Convention pour la protection de la mer Méditerranée contre la pollution et ses Protocoles*, Genève, 5-10 février 1979, Document UNEP/IG.14/9, Programme des Nations Unies pour l'environnement, Genève.

- PNUE (1980) *Conférence de plénipotentiaires des Etats côtiers de la région méditerranéenne sur la protection de la mer Méditerranée contre la pollution d'origine tellurique. Mai 1980. Acte final et Protocole.* Nations Unies, New York.
- PNUE (1981) *Rapport de la deuxième réunion des Parties contractantes à la Convention pour la protection de la mer Méditerranée contre la pollution et ses Protocoles, Cannes, 2-7 mars 1981,* Document UNEP/IG.23/11, Programme des Nations Unies pour l'environnement, Genève.
- PNUE (1985a) *Rapport de la quatrième réunion ordinaire des Parties contractantes à la Convention pour la protection de la mer Méditerranée contre la pollution et ses Protocoles, Genoa, 9-13 septembre 1985.* Document UNEP/IG.56/5. Programme des Nations Unies pour l'environnement, Athènes.
- PNUE (1985b): *Rapport de la Réunion d'experts sur l'application technique du protocole relatif à la protection de la mer Méditerranée contre la pollution d'origine tellurique.* Athènes, 9-13 décembre 1985. Document UNEP/WG.125/10, Programme des Nations Unies pour l'environnement, Athènes.
- PNUE (1987) *Rapport de la cinquième réunion ordinaire des Parties contractantes à la Convention pour la protection de la mer Méditerranée contre la pollution et ses Protocoles, Athènes, 8-11 septembre 1987.* Document UNEP/IG.74/5. Programme des Nations Unies pour l'environnement, Athènes.
- PNUE (1989) *Evaluation des données de la surveillance continue du MED POL - Phase II: Partie II - Micro-organismes dans les zones côtières.* Document UNEP(OCA) MED WG.5/Inf.4. United Nations Environment Programme, Athens.
- PNUE (1991) *Rapport de la septième réunion ordinaire des Parties contractantes à la Convention pour la protection de la mer Méditerranée contre la pollution et ses Protocoles, Cairo, 8-11 octobre 1991.* Document UNEP(OCA)/MED IG.2/4. Programme des Nations Unies pour l'environnement, Athènes.
- PNUE (1995a) *Rapport de la réunion des experts juridiques et techniques chargés d'examiner les amendements au protocole relatif à la protection de la mer Méditerranée contre la pollution d'origine tellurique.* Document UNEP (OCA) MED WG.92/4. Programme des Nations Unies pour l'environnement, Athènes.
- PNUE (1995b) *Rapport de la neuvième réunion ordinaire des Parties contractantes à la Convention pour la protection de la mer Méditerranée contre la pollution et ses Protocoles, Barcelone, 5 - 8 juin 1995.* Document UNEP (OCA) MED IG.5/16. Programme des Nations Unies pour l'environnement, Athènes.
- PNUE (1995c) *Acte final de la conférence de plénipotentiaires sur les amendements à la convention pour la protection de la mer Méditerranée contre la pollution et ses Protocoles, Barcelone, 9 - 10 juin 1995.* Document UNEP(OCA)/MED IG.6/7, Programme des Nations Unies pour l'environnement, Athènes.

- PNUE (1996a) Rapport de la Deuxième réunion d'experts juridiques et techniques chargés d'examiner les amendements au protocole relatif à la protection de la mer Méditerranée contre la pollution d'origine tellurique, Syracuse, 3-5 mars 1996. Document UNEP(OCA)/MED WG.107/4, Programme des Nations Unies pour l'environnement, Syracuse.
- PNUE (1996b) Acte final de la conférence de plénipotentiaires sur les amendements au protocole relatif à la protection de la mer Méditerranée contre la pollution d'origine tellurique. Syracuse, 6-7 mars 1996. Document UNEP(OCA)/MED IG.7/4, Programme des Nations Unies pour l'environnement, Athènes.
- PNUE/OMS (1985) *Evaluation de l'état actuel de la pollution microbienne en mer Méditerranée et mesures de contrôle proposées.* Document UNEP/WG.118/6. Programme des Nations Unies pour l'environnement, Athènes.
- PNUE/OMS (1987) *Evaluation de l'état de la pollution microbienne des eaux conchylicoles de la mer Méditerranée et mesures proposées.* Document UNEP/WG.160/10. Programme des Nations Unies pour l'environnement, Athènes.
- PNUE/OMS (1991) *Evaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les micro-organismes pathogènes.* Document UNEP(OCA)/MED WG.25/Inf.7. Programme des Nations Unies pour l'environnement, Athènes.
- PNUE/FAO/OMS (1995) *Premier projet d'Evaluation de l'état de l'eutrophisation en mer Méditerranée.* Document UNEP(OCA)/MED WG.89/Inf.5. Programme des Nations Unies pour l'environnement, Athènes.
- Portnoy, B.L., Macowiak, P.A., Caraway, C.T., Walker, J.A., McKentley, T.W. and Klein Jr, C.A. (1975) Oyster-associated Hepatitis: Failure of shellfish certification program to prevent outbreaks. *Journal of the American Medical Association*, **233**: 1065-1068.
- Presnell, M.W. and Brown, B.W. (1977) Sanitary significance of *Klebsiella pneumoniae* and non-*Escherichia coli* Fecal coliform organisms in the water of Mobile Bay. In D.S. Wilt (Ed.) *Proceedings of the Tenth National Shellfish Sanitation Workshop*. U.S. Food and Drug Administration, Washington, D.C.
- Rao, V.C., Metcalf, T.G. and Melnick, J.L. (1986) Human viruses in sediments, sludges and soils. *Bulletin of the World Health Organization*, **64(1)**: 1-14.
- Rhame, F.S. (1979) The ecology and epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa*. In Sabbath, L.D. (Ed.): *Pseudomonas aeruginosa, diseases it causes, and their treatment*. Hans Huber Publishers, Berne.
- Robinton, E.D. and Mood, E.W. (1966) A quantitative and qualitative appraisal of microbial pollution by swimmers. *Journal of Hygiene, Cambridge*, **64**: 489-491.
- Romero, P. and Borrego, J.J. (1991) Survival of pathogenic microorganisms in seawater. MAP Technical Reports Series, No. 55, pp 1-85. United Nations Environment Programme, Athens.

- Saliba, L.J. (1993). Legal and economic implications in developing criteria and standards. Chapter 5 (pp 57-74) in Kay, D. and Hanbury, R. (Eds.): *Recreational Water Quality Management. Volume 2: Fresh Waters*. Ellis Horwood, Chichester, United Kingdom.
- Saliba, L.J. and Helmer, R. (1990). Health risks associated with pollution of coastal bathing waters. *World Health Statistics Quarterly*, **43**: 177-187.
- Samson-Kechacha, F.L. and Touahria, T. (1992). Populations phytoplanktoniques et successions écologiques dans une Lagune saumâtre le Lac El-Mellah (Algérie). *Rapports et Communications Internationaux sur la Mer Méditerranée*, **33**: 103.
- Sandstedt, K., and Ursing, J. (1986) *Campylobacter upsaliensis*, a new species, formerly the CNW group. *Abstracts of the XIV International Congress of Microbiology*, p. 61. IUMS, Manchester.
- Savage, H.P. and Hanes, N.B. (1971) Toxicity of seawater to coliform bacteria. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, **43**: 854-861.
- Schwartzbrod, L. (1991) *Virologie des milieux hydriques*. Tec. et Doc. Lavoisier edit., Paris.
- Schwartzbrod, L. and Deloince, R. (1995) *Human viruses that may be present in polluted water*. Table 2.2.1 in WHO/UNEP - Health risks from marine pollution in the Mediterranean. Part II - Review of hazards and health risks. Document EUR/ICP/EHAZ 94 01/MT01(2). WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- Sellwood, J., Dadswell, J. and Slade, J. (1981) Viruses in sewage as an indicator of their presence in the community. *Journal of Hygiene*, **86**: 217-225.
- Shumway, S.E. (1990) A review of the effects of algal blooms on shellfish and aquaculture. *Journal of the World Aquaculture Society*, **21(2)**: 65-104.
- Shumway, S.E. and Hurst, J.W.Jr (1991) Mussels and public health. In Gosling, E.M. (Ed.) *The Mussel (Mytilus)*. Elsevier Science Publishers, New York.
- Shuval, H.I. (1986) *Thalassogenic diseases*. UNEP Regional Seas Reports and Studies No. 79. United Nations Environment Programme, Geneva.
- Sinclair, J.L. and Alexander, M. (1984) Role of resistance to starvation in bacterial survival in sewage and lake water. *Applied and Environmental Microbiology*, **48**: 410-415.
- Skirrow, M.B. (1987) A demographic survey of *Campylobacter*, *Salmonella*, and *Shigella* infections in England. *Epidemiology and Infection*, **99**: 647-657.
- Starr, M.P. and Seidler, R.S. (1971) The bdellovibrios. *Annual Review of Microbiology*, **25**: 649-678.
- Steidinger, K.A. (1983). A re-evaluation of toxic dinoflagellate biology and ecology, *Progress in Phycological Research*, **2**: 148-188.

- Stelma, G.N, Johnson, C.H. and Spaulding, P. (1986) Evidence for the direct involvement of B hemolysin in *Aeromonas hydrophila* enteropathogenicity. *Current Microbiology*, **14**: 71-77.
- Stevenson, A.E., (1953). Studies of bathing water quality and health. *American Journal of Public Health*, **43**: 529.
- Stille, W., Kunkel, D. and Nerger, K. (1972) Austem-hepatitis. *Dt. Med. Zeitschr.* **97**: 145.
- Svedhem, A. and Kaijser, B. (1980) *Campylobacter foetus* spp. *jejuni*: a common cause of diarrhoea in Sweden. *Journal of Infectious Diseases*, **142**: 353-359.
- Torregrossa, M.V., Valentino, L. and Saliba, L.J. (1994). Coastal recreational water quality and human health. *Travel Medicine International*, **12(6)**: 225-229.
- Turnbull, P.C.B., Lee, J.V., Miliotis, M.D., Van Der Walle, S., Koornhoff, H.J., Jeffrey, L. and Bryant, T.N. (1984) Enterotoxin production in relation to taxonomic grouping and source of isolation of *Aeromonas* species. *Journal of Clinical Microbiology*, **19**: 175-180.
- Turner, P.C., Gammie, A.J., Hollinrake, K. and Codd, G.A. (1990). Pneumonia associated with contact with cyanobacteria. *British Medical Journal*, **300**: 1440-1441.
- US** EPA (ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY) (1986). *Ambient water quality criteria for bacteria - 1986*. Report No. EPA 440/5-84-002, Office of Water Regulations and Standards Division. Washington, D.C.
- UNEP (1978) *Mediterranean Action Plan and the Final Act of the Conference of Plenipotentiaries of the Coastal States of the Mediterranean Region for the Protection of the Mediterranean Sea*. United Nations, New York.
- UNEP (1983) Long-term Programme of Pollution Monitoring and Research in the Mediterranean. UNEP Regional Seas Reports and Studies No. 28. United Nations Environment Programme, Geneva.
- UNEP/ECE/UNIDO/FAO/UNESCO/WHO/IAEA (1984) *Pollutants from land-based sources in the Mediterranean*. UNEP Regional Seas Reports and Studies No. 32. United Nations Environment Programme, Geneva.
- UNEP/WHO/IAEA (1988) *Guidelines for monitoring the quality of coastal recreational and shellfish areas*. Reference Methods for Marine Pollution Studies, No. 1, Rev.1. United Nations Environment Programme, Nairobi.
- Vasconcelos, G.I. and Swartz, R. G. (1976) Survival of bacteria in seawater using a diffusion chamber apparatus *in situ*. *Applied and Environmental Microbiology*, **31**: 913-920.
- Vasl, R., Fattal, B., Katzenelson, E. and Shuval, H.I. (1981). Survival of enteroviruses and bacterial indicator organisms in the sea. In: Goddard, M. and Butler, M. (Eds). *Viruses and Waste Water Treatment*, pp 113-116. Pergamon Press, Oxford.

- Vassiliadis, P., Mavromati Ch., Trichopoulos, D., Kalapothaki, V. and Papadakis, J.A. (1987) Comparison of procedures based on Rappaport-Vassiliadis medium with those using Muller-Kauffmann medium containing Teepol for the isolation of *Salmonella* species. *Epidemiological Information*, **99**: 143-147.
- Velescu, S. (1983) Indicateurs de pollution fécale dans les sédiments marins soumis aux influences anthropogènes. *Proceedings of the VIth ICSEM/UNEP Workshop on Pollution of the Mediterranean, Cannes, France, 2-4 December 1982.* pp 631-634, International Council for the Scientific Exploration of the Mediterranean (ICSEM), Monaco.
- Verstraete, W and Voets, J.P. (1976) Comparative study of *Escherichia coli* survival in two aquatic ecosystems. *Water Research*, **10**: 129-136.
- Viviani, R., Boni, L., Cattani, O., Milandri, A., Poletti, R., Pompei, M. and Sansoni, G. (1992). ASP, DSP, NSP, PSP monitoring in "mucilaginous aggregates" and in mussels in a coastal area of the Northern Adriatic Sea facing Emilia-Romagna in 1988, 1989 and 1991. *Proceedings of the Workshop on the Mucilage Phenomenon of the Adriatic Sea and Similar Problems.* Elsevier, Cesenatico, Italy.
- Vollenweider, R.A. (1968) *Scientific fundamentals of eutrophication of lakes and flowing waters, with particular reference to nitrogen and phosphorus as factors in eutrophication.* Technical Report DAS/CSI/68.27, OECD, Paris.
- Vollenweider, R.A. (1981) Eutrophication - a global problem. *WHO Water Quality Bulletin*, **6**:12-17.
- Volterra, L. (1989) Enteroviruses indicators in marine coastal environments. Unpublished report.
- Volterra, L. (1991) *Development of analytical techniques for monitoring the hygienic quality of shellfish.* MAP Technical Reports Series, No. 60, pp 22-30. United Nations Environment Programme, Athens.
- Volterra, L. and Aulicino, F.A. (1981) Indicators of faecal pollution in sediments. *Proceedings of the Vth ICSEM/UNEP Workshop on Pollution of the Mediterranean, Cagliari, Italy, 9-13 October 1980.* pp 307-312. International Council for the Scientific Exploration of the Mediterranean (ICSEM), Monaco.
- Watson, I.M., Robinson, J.O., Burke, V. and Gracey, M. (1985) invasiveness of *Aeromonas* spp. in relation to biotype, virulence factors and clinical features. *Journal of Clinical Microbiology*, **22**: 48-51.
- West, P.A. (1989) The human pathogenic vibrios - A public health update with environmental perspectives. Special article, *Epidemiology and Infection*, **103**: 1-34.
- Wheeler, D. (1990). The real risks of bathing in water contaminated by sewage. *Environmental Health*, **98(10)**: 285-287.

- WHO (1975) *Guides and criteria for recreational quality of beaches and coastal waters. Report on a working group, Bilthoven, 28 October - 1 November 1974.* Document IEURO 3125(1). WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- WHO (1982) *Examination of Water for Pollution Control: A Reference Handbook. Vol. 3. Biological, Bacteriological and Virological Examination.* Pergamon Press, Oxford.
- WHO (1984) *Aquatic (marine and freshwater) biotoxins.* Environmental Health Criteria No. 37. World Health Organization, Geneva.
- WHO (1989) *Microbiological quality control in coastal recreational and shellfish areas in the Mediterranean.* Document ICP/CEH 083/6. WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- WHO (1991) *Health impact of human exposure to fresh and saline recreational waters. Report on a WHO Working Group, Rimini, 27 February - 2 March 1990.* Document ICP/RUD 153. WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- WHO/UNEP (1977). *Guidelines for health-related monitoring of coastal water quality. Report of a Group of Experts jointly convened by WHO and UNEP, Rovinj, 23-25 February 1977* Document ICP/RCE 206(4), WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- WHO/UNEP (1981) *Coastal water quality control in the Mediterranean. Final report on the Joint WHO/UNEP Coordinated Pilot Project (MED VII), (1976-1980).* Document ICP/RCE 206, WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- WHO/UNEP (1992) *Health risks from bathing in marine waters. Report of a joint WHO/UNEP meeting, Athens, 15-18 May 1991.* Document EUR/ICP/CEH 103, WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- WHO/UNEP (1994a) *Guidelines for submarine outfall structures for Mediterranean small and medium-sized communities.* Document EUR/ICP/CEH 047, WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- WHO/UNEP (1994b) *Microbiological quality of coastal recreational waters. Report of a joint WHO/UNEP meeting, Athens, Greece, 9-12 June 1993.* Document EUR/ICP/CEH 039(1), WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- WHO/UNEP (1995) *Health risks from marine pollution in the Mediterranean. Part II - Review of hazards and health risks.* Document EUR/ICP/EHAZ 94 01/MT01(2). WHO Regional Office for Europe, Copenhagen.
- Yoshpe-Purer, Y. and Golderman, S. (1991) *Studies on the occurrence of Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa in coastal waters in Israel.* MAP Technical Reports Series, No. 60, pp 1-16. United Nations Environment Programme, Athens.
- Zaghloul, F.A. and Halim, Y. (1992). Long-term eutrophication in a semi-enclosed bay: The Eastern harbour of Alexandria. In Vollenweider, R.A., Marchetti, R. and Viviani, R (Eds.): *Marine Coastal Eutrophication: Proceedings of the International Conference, Bologna, 21-24 March, 1990.* *Journal of Science of the Total Environment*, Supplement 1992, pp 705-717.
- Zampieri, A. (1989). Epidemiology of infections in tourists. In Pasini, W. (Ed.): *Tourist Health: A New Branch of Public Health, Vol. I.* pp. 33-43. WHO Collaborating Centre for Tourist Health and Tourist Medicine, Rimini, Italy.

PUBLICATIONS OF THE MAP TECHNICAL REPORTS SERIES

1. UNEP/IOC/WMO: Baseline studies and monitoring of oil and petroleum hydrocarbons in marine waters (MED POL I). MAP Technical Reports Series No. 1. UNEP, Athens, 1986 (96 pages) (parts in English, French or Spanish only).
2. UNEP/FAO: Baseline studies and monitoring of metals, particularly mercury and cadmium, in marine organisms (MED POL II). MAP Technical Reports Series No. 2. UNEP, Athens, 1986 (220 pages) (parts in English, French or Spanish only).
3. UNEP/FAO: Baseline studies and monitoring of DDT, PCBs and other chlorinated hydrocarbons in marine organisms (MED POL III). MAP Technical Reports Series No. 3. UNEP, Athens, 1986 (128 pages) (parts in English, French or Spanish only).
4. UNEP/FAO: Research on the effects of pollutants on marine organisms and their populations (MED POL IV). MAP Technical Reports Series No. 4. UNEP, Athens, 1986 (118 pages) (parts in English, French or Spanish only).
5. UNEP/FAO: Research on the effects of pollutants on marine communities and ecosystems (MED POL V). MAP Technical Reports Series No. 5. UNEP, Athens, 1986 (146 pages) (parts in English or French only).
6. UNEP/IOC: Problems of coastal transport of pollutants (MED POL VI). MAP Technical Reports Series No. 6. UNEP, Athens, 1986 (100 pages) (English only).
7. UNEP/WHO: Coastal water quality control (MED POL VII). MAP Technical Reports Series No. 7. UNEP, Athens, 1986 (426 pages) (parts in English or French only).
8. UNEP/IAEA/IOC: Biogeochemical studies of selected pollutants in the open waters of the Mediterranean (MED POL VIII). MAP Technical Reports Series No. 8. UNEP, Athens, 1986 (42 pages) (parts in English or French only).
8. Add. UNEP: Biogeochemical studies of selected pollutants in the open waters of the Mediterranean (MED POL VIII). Addendum, Greek Oceanographic Cruise 1980. MAP Technical Reports Series No. 8, Addendum. UNEP, Athens, 1986 (66 pages) (English only).
9. UNEP: Co-ordinated Mediterranean pollution monitoring and research programme (MED POL - PHASE I). Final report, 1975-1980. MAP Technical Reports Series No. 9. UNEP, Athens, 1986 (276 pages) (English only).
10. UNEP: Research on the toxicity, persistence, bioaccumulation, carcinogenicity and mutagenicity of selected substances (Activity G). Final reports on projects dealing with toxicity (1983-85). MAP Technical Reports Series No. 10. UNEP, Athens, 1987 (118 pages) (English only).
11. UNEP: Rehabilitation and reconstruction of Mediterranean historic settlements. Documents produced in the first stage of the Priority Action (1984-1985). MAP Technical Reports Series No. 11. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1986 (158 pages) (parts in English or French only).
12. UNEP: Water resources development of small Mediterranean islands and isolated coastal areas. Documents produced in the first stage of the Priority Action (1984-1985). MAP Technical Reports Series No. 12. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (162 pages) (parts in English or French only).

13. UNEP: Specific topics related to water resources development of large Mediterranean islands. Documents produced in the second phase of the Priority Action (1985-1986). MAP Technical Reports Series No. 13. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (162 pages) (parts in English or French only).
14. UNEP: Experience of Mediterranean historic towns in the integrated process of rehabilitation of urban and architectural heritage. Documents produced in the second phase of the Priority Action (1986). MAP Technical Reports Series No. 14. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (500 pages) (parts in English or French only).
15. UNEP: Environmental aspects of aquaculture development in the Mediterranean region. Documents produced in the period 1985-1987. MAP Technical Reports Series No. 15. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (101 pages) (English only).
16. UNEP: Promotion of soil protection as an essential component of environmental protection in Mediterranean coastal zones. Selected documents (1985-1987). MAP Technical Reports Series No. 16. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (424 pages) (parts in English or French only).
17. UNEP: Seismic risk reduction in the Mediterranean region. Selected studies and documents (1985-1987). MAP Technical Reports Series No. 17. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (247 pages) (parts in English or French only).
18. UNEP/FAO/WHO: Assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by mercury and mercury compounds. MAP Technical Reports Series No. 18. UNEP, Athens, 1987 (354 pages) (English and French).
19. UNEP/IOC: Assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by petroleum hydrocarbons. MAP Technical Reports Series No. 19. UNEP, Athens, 1988 (130 pages) (English and French).
20. UNEP/WHO: Epidemiological studies related to environmental quality criteria for bathing waters, shellfish-growing waters and edible marine organisms (Activity D). Final report on project on relationship between microbial quality of coastal seawater and health effects (1983-86). MAP Technical Reports Series No. 20. UNEP, Athens, 1988 (156 pages) (English only).
21. UNEP/UNESCO/FAO: Eutrophication in the Mediterranean Sea: Receiving capacity and monitoring of long-term effects. MAP Technical Reports Series No. 21. UNEP, Athens, 1988 (200 pages) (parts in English or French only).
22. UNEP/FAO: Study of ecosystem modifications in areas influenced by pollutants (Activity I). MAP Technical Reports Series No. 22. UNEP, Athens, 1988 (146 pages) (parts in English or French only).
23. UNEP: National monitoring programme of Yugoslavia, Report for 1983-1986. MAP Technical Reports Series No. 23. UNEP, Athens, 1988 (223 pages) (English only).
24. UNEP/FAO: Toxicity, persistence and bioaccumulation of selected substances to marine organisms (Activity G). MAP Technical Reports Series No. 24. UNEP, Athens, 1988 (122 pages) (parts in English or French only).
25. UNEP: The Mediterranean Action Plan in a functional perspective: A quest for law and policy. MAP Technical Reports Series No. 25. UNEP, Athens, 1988 (105 pages) (English only).
26. UNEP/IUCN: Directory of marine and coastal protected areas in the Mediterranean Region. Part I - Sites of biological and ecological value. MAP Technical Reports Series No. 26. UNEP, Athens, 1989 (196 pages) (English only).
27. UNEP: Implications of expected climate changes in the Mediterranean Region: An overview. MAP Technical Reports Series No. 27. UNEP, Athens, 1989 (52 pages) (English only).

28. UNEP: State of the Mediterranean marine environment. MAP Technical Reports Series No. 28. UNEP, Athens, 1989 (225 pages) (English only).
29. UNEP: Bibliography on effects of climatic change and related topics. MAP Technical Reports Series No. 29. UNEP, Athens, 1989 (143 pages) (English only).
30. UNEP: Meteorological and climatological data from surface and upper measurements for the assessment of atmospheric transport and deposition of pollutants in the Mediterranean Basin: A review. MAP Technical Reports Series No. 30. UNEP, Athens, 1989 (137 pages) (English only).
31. UNEP/WMO: Airborne pollution of the Mediterranean Sea. Report and proceedings of a WMO/UNEP Workshop. MAP Technical Reports Series No. 31. UNEP, Athens, 1989 (247 pages) (parts in English or French only).
32. UNEP/FAO: Biogeochemical cycles of specific pollutants (Activity K). MAP Technical Reports Series No. 32. UNEP, Athens, 1989 (139 pages) (parts in English or French only).
33. UNEP/FAO/WHO/IAEA: Assessment of organotin compounds as marine pollutants in the Mediterranean. MAP Technical Reports Series No. 33. UNEP, Athens, 1989 (185 pages) (English and French).
34. UNEP/FAO/WHO: Assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by cadmium and cadmium compounds. MAP Technical Reports Series No. 34. UNEP, Athens, 1989 (175 pages) (English and French).
35. UNEP: Bibliography on marine pollution by organotin compounds. MAP Technical Reports Series No. 35. UNEP, Athens, 1989 (92 pages) (English only).
36. UNEP/IUCN: Directory of marine and coastal protected areas in the Mediterranean region. Part I - Sites of biological and ecological value. MAP Technical Reports Series No. 36. UNEP, Athens, 1990 (198 pages) (French only).
37. UNEP/FAO: Final reports on research projects dealing with eutrophication and plankton blooms (Activity H). MAP Technical Reports Series No. 37. UNEP, Athens, 1990 (74 pages) (parts in English or French only).
38. UNEP: Common measures adopted by the Contracting Parties to the Convention for the Protection of the Mediterranean Sea against pollution. MAP Technical Reports Series No. 38. UNEP, Athens, 1990 (100 pages) (English, French, Spanish and Arabic).
39. UNEP/FAO/WHO/IAEA: Assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by organohalogen compounds. MAP Technical Reports Series No. 39. UNEP, Athens, 1990 (224 pages) (English and French).
40. UNEP/FAO: Final reports on research projects (Activities H,I and J). MAP Technical Reports Series No. 40. UNEP, Athens, 1990 (125 pages) (English and French).
41. UNEP: Wastewater reuse for irrigation in the Mediterranean region. MAP Technical Reports Series No. 41. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1990 (330 pages) (English and French).
42. UNEP/IUCN: Report on the status of Mediterranean marine turtles. MAP Technical Reports Series No. 42. UNEP, Athens, 1990 (204 pages) (English and French).
43. UNEP/IUCN/GIS Posidonia: Red Book "Gérard Vuignier", marine plants, populations and landscapes threatened in the Mediterranean. MAP Technical Reports Series No. 43. UNEP, Athens, 1990 (250 pages) (French only).

44. UNEP: Bibliography on aquatic pollution by organophosphorus compounds. MAP Technical Reports Series No. 44. UNEP, Athens, 1990 (98 pages) (English only).
45. UNEP/IAEA: Transport of pollutants by sedimentation: Collected papers from the first Mediterranean Workshop (Villefranche-sur-Mer, France, 10-12 December 1987). MAP Technical Reports Series No. 45. UNEP, Athens, 1990 (302 pages) (English only).
46. UNEP/WHO: Epidemiological studies related to environmental quality criteria for bathing waters, shellfish-growing waters and edible marine organisms (Activity D). Final report on project on relationship between microbial quality of coastal seawater and rotavirus-induced gastroenteritis among bathers (1986-88). MAP Technical Reports Series No.46, UNEP, Athens, 1991 (64 pages) (English only).
47. UNEP: Jellyfish blooms in the Mediterranean. Proceedings of the II workshop on jellyfish in the Mediterranean Sea. MAP Technical Reports Series No.47. UNEP, Athens, 1991 (320 pages) (parts in English or French only).
48. UNEP/FAO: Final reports on research projects (Activity G). MAP Technical Reports Series No. 48. UNEP, Athens, 1991 (126 pages) (parts in English or French only).
49. UNEP/WHO: Biogeochemical cycles of specific pollutants. Survival of pathogens. Final reports on research projects (Activity K). MAP Technical Reports Series No. 49. UNEP, Athens, 1991 (71 pages) (parts in English or French only).
50. UNEP: Bibliography on marine litter. MAP Technical Reports Series No. 50. UNEP, Athens, 1991 (62 pages) (English only).
51. UNEP/FAO: Final reports on research projects dealing with mercury, toxicity and analytical techniques. MAP Technical Reports Series No. 51. UNEP, Athens, 1991 (166 pages) (parts in English or French only).
52. UNEP/FAO: Final reports on research projects dealing with bioaccumulation and toxicity of chemical pollutants. MAP Technical Reports Series No. 52. UNEP, Athens, 1991 (86 pages) (parts in English or French only).
53. UNEP/WHO: Epidemiological studies related to environmental quality criteria for bathing waters, shellfish-growing waters and edible marine organisms (Activity D). Final report on epidemiological study on bathers from selected beaches in Malaga, Spain (1988-1989). MAP Technical Reports Series No. 53. UNEP, Athens, 1991 (127 pages) (English only).
54. UNEP/WHO: Development and testing of sampling and analytical techniques for monitoring of marine pollutants (Activity A): Final reports on selected microbiological projects. MAP Technical Reports Series No. 54. UNEP, Athens, 1991 (83 pages) (English only).
55. UNEP/WHO: Biogeochemical cycles of specific pollutants (Activity K): Final report on project on survival of pathogenic organisms in seawater. MAP Technical Reports Series No. 55. UNEP, Athens, 1991 (95 pages) (English only).
56. UNEP/IOC/FAO: Assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by persistent synthetic materials which may float, sink or remain in suspension. MAP Technical Reports Series No. 56. UNEP, Athens, 1991 (113 pages) (English and French).
57. UNEP/WHO: Research on the toxicity, persistence, bioaccumulation, carcinogenicity and mutagenicity of selected substances (Activity G): Final reports on projects dealing with carcinogenicity and mutagenicity. MAP Technical Reports Series No. 57. UNEP, Athens, 1991 (59 pages) (English only).

58. UNEP/FAO/WHO/IAEA: Assessment of the state of pollution of the Mediterranean Sea by organophosphorus compounds. MAP Technical Reports Series No. 58. UNEP, Athens, 1991 (122 pages) (English and French).
59. UNEP/FAO/IAEA: Proceedings of the FAO/UNEP/IAEA Consultation Meeting on the Accumulation and Transformation of Chemical contaminants by Biotic and Abiotic Processes in the Marine Environment (La Spezia, Italy, 24-28 September 1990), edited by G.P. Gabrielides. MAP Technical Reports Series No. 59. UNEP, Athens, 1991 (392 pages) (English only).
60. UNEP/WHO: Development and testing of sampling and analytical techniques for monitoring of marine pollutants (Activity A): Final reports on selected microbiological projects (1987-1990). MAP Technical Reports Series No. 60. UNEP, Athens, 1991 (76 pages) (parts in English or French only).
61. UNEP: Integrated Planning and Management of the Mediterranean Coastal Zones. Documents produced in the first and second stage of the Priority Action (1985-1986). MAP Technical Reports Series No. 61. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1991 (437 pages) (parts in English or French only).
62. UNEP/IAEA: Assessment of the State of Pollution of the Mediterranean Sea by Radioactive Substances. MAP Technical Reports Series No. 62, UNEP, Athens, 1992 (133 pages) (English and French).
63. UNEP/WHO: Biogeochemical cycles of specific pollutants (Activity K) - Survival of Pathogens - Final reports on Research Projects (1989-1991). MAP Technical Reports Series No. 63, UNEP, Athens, 1992 (86 pages) (French only).
64. UNEP/WMO: Airborne Pollution of the Mediterranean Sea. Report and Proceedings of the Second WMO/UNEP Workshop. MAP Technical Reports Series No. 64, UNEP, Athens, 1992 (246 pages) (English only).
65. UNEP: Directory of Mediterranean Marine Environmental Centres. MAP Technical Reports Series No. 65, UNEP, Athens, 1992 (351 pages) (English and French).
66. UNEP/CRU: Regional Changes in Climate in the Mediterranean Basin Due to Global Greenhouse Gas Warming. MAP Technical Reports Series No. 66, UNEP, Athens, 1992 (172 pages) (English only).
67. UNEP/IOC: Applicability of Remote Sensing for Survey of Water Quality Parameters in the Mediterranean. Final Report of the Research Project. MAP Technical Reports Series No. 67, UNEP, Athens, 1992 (142 pages) (English only).
68. UNEP/FAO/IOC: Evaluation of the Training Workshops on the Statistical Treatment and Interpretation of Marine Community Data. MAP Technical Reports Series No. 68. UNEP, Athens, 1992 (221 pages) (English only).
69. UNEP/FAO/IOC: Proceedings of the FAO/UNEP/IOC Workshop on the Biological Effects of Pollutants on Marine Organisms (Malta, 10-14 September 1991), edited by G.P. Gabrielides. MAP Technical Reports Series No. 69. UNEP, Athens, 1992 (287 pages) (English only).
70. UNEP/IAEA/IOC/FAO: Organohalogen Compounds in the Marine Environment: A Review. MAP Technical Reports Series No. 70. UNEP, Athens, 1992 (49 pages) (English only).
71. UNEP/FAO/IOC: Selected techniques for monitoring biological effects of pollutants in marine organisms. MAP Technical Reports Series No. 71. UNEP, Athens, 1993 (189 pages) (English only).

72. UNEP: Costs and Benefits of Measures for the Reduction of Degradation of the Environment from Land-based Sources of Pollution in Coastal Areas. A - Case Study of the Bay of Izmir. B - Case Study of the Island of Rhodes. MAP Technical Reports Series No. 72. UNEP, Athens, 1993 (64 pages) (English only).
73. UNEP/FAO: Final Reports on Research Projects Dealing with the Effects of Pollutants on Marine Communities and Organisms. MAP Technical Reports Series No. 73. UNEP, Athens, 1993 (186 pages) (English and French).
74. UNEP/FIS: Report of the Training Workshop on Aspects of Marine Documentation in the Mediterranean. MAP Technical Reports Series No. 74. UNEP, Athens, 1993 (38 pages) (English only).
75. UNEP/WHO: Development and Testing of Sampling and Analytical Techniques for Monitoring of Marine Pollutants (Activity A). MAP Technical Reports Series No. 75. UNEP, Athens, 1993 (90 pages) (English only).
76. UNEP/WHO: Biogeochemical Cycles of Specific Pollutants (Activity K): Survival of Pathogens. MAP Technical Reports Series No. 76. UNEP, Athens, 1993 (68 pages) (English and French).
77. UNEP/FAO/IAEA: Designing of monitoring programmes and management of data concerning chemical contaminants in marine organisms. MAP Technical Reports Series No. 77. UNEP, Athens, 1993 (236 pages) (English only).
78. UNEP/FAO: Final reports on research projects dealing with eutrophication problems. MAP Technical Reports Series No. 78. UNEP, Athens, 1994 (139 pages) (English only).
79. UNEP/FAO: Final reports on research projects dealing with toxicity of pollutants on marine organisms. MAP Technical Reports Series No. 79. UNEP, Athens, 1994 (135 pages) (parts in English or French only).
80. UNEP/FAO: Final reports on research projects dealing with the effects of pollutants on marine organisms and communities. MAP Technical Reports Series No. 80. UNEP, Athens, 1994 (123 pages) (English only).
81. UNEP/IAEA: Data quality review for MED POL: Nineteen years of progress. MAP Technical Reports Series No. 81. UNEP, Athens, 1994 (79 pages) (English only).
82. UNEP/IUCN: Technical report on the State of Cetaceans in the Mediterranean. MAP Technical Reports Series No. 82. UNEP, Regional Activity Centre for Specially Protected Areas, Tunis, 1994 (37 pages) (English only).
83. UNEP/IUCN: Specially protected Areas in Mediterranean. Sketch of an Analytical Study of Relevant Legislation. MAP Technical Reports Series No. 83. UNEP, Regional Activity Centre for Specially Protected Areas, Tunis, 1994 (55 pages) (French only).
84. UNEP: Integrated Management Study for the Area of Izmir. MAP Technical Reports Series No. 84, UNEP, Regional Activity Centre for Priority Actions Programme, Split, 1994 (130 pages) (English only).
85. UNEP/WMO: Assessment of Airborne Pollution of the Mediterranean Sea by Sulphur and Nitrogen Compounds and Heavy Metals in 1991. MAP Technical Report Series No. 85, Athens, 1994 (304 pages) (English only).
86. UNEP: Monitoring Programme of the Eastern Adriatic Coastal Area - Report for 1983-1991. MAP Technical Report Series No. 86, Athens, 1994 (311 pages) (English only).

87. UNEP/WHO: Identification of microbiological components and measurement development and testing of methodologies of specified contaminants (Area I) - Final reports on selected microbiological projects. MAP Technical Reports Series No. 87, UNEP, Athens, 1994 (136 pages) (English only).
88. UNEP: Proceedings of the Seminar on Mediterranean Prospective. MAP Technical Reports Series No. 88, UNEP, Blue Plan Regional Activity Centre, Sophia Antipolis, 1994 (176 pages) (parts in English or French only).
89. UNEP: Iskenderun Bay Project. Volume I. Environmental Management within the Context of Environment-Development. MAP Technical Reports Series No. 89, UNEP, Blue Plan Regional Activity Centre, Sophia Antipolis, 1994 (144 pages) (English only).
90. UNEP: Iskenderun Bay Project. Volume II. Systemic and Prospective Analysis. MAP Technical Report Series No. 90, Sophia Antipolis, 1994 (142 pages) (parts in English or French only).
91. UNEP: A Contribution from Ecology to Prospective Studies. Assets and Issues. MAP Technical Reports Series No. 91, Sophia Antipolis, 1994 (162 pages) (French only).
92. UNEP/WHO: Assessment of the State of Pollution in the Mediterranean Sea by Carcinogenic, Mutagenic and Teratogenic Substances. MAP Technical Reports Series No. 92, UNEP, Athens, 1995 (238 pages) (English only).
93. UNEP/WHO: Epidemiological studies related to the environmental quality criteria for bathing waters, shellfish-growing waters and edible marine organisms. MAP Technical Reports Series No. 93, UNEP, Athens, 1995 (118 pages) (English only).
94. UNEP: Proceedings of the Workshop on Application of Integrated Approach to Development, Management and Use of Water Resources. MAP Technical Reports Series No. 94, UNEP, Athens, 1995 (214 pages) (parts in English or French only).
95. UNEP: Common measures for the control of pollution adopted by the Contracting Parties to the Convention for the Protection of the Mediterranean Sea against Pollution. MAP Technical Reports Series No 95, UNEP, Athens, 1995 (69 pages) (English and French).
96. UNEP/FAO: Final reports of research projects on effects (Research Area III) - Pollution effects on plankton composition and spatial distribution, near the sewage outfall of Athens (Saronikos Gulf, Greece). MAP Technical Reports Series No. 96, UNEP, Athens, 1996 (121 pages) (English only).
97. UNEP/FAO: Final reports of research projects on effects (Research Area III) - Pollution effects on marine communities. MAP Technical Reports Series No. 97, UNEP, Athens, 1996 (141 pages) (English and French).
98. UNEP: Implications of Climate Change for the Albanian Coast. MAP Technical Reports Series No. 98, UNEP, Athens, 1996 (179 pages) (English only).
99. UNEP: Implications of Climate Change for the Sfax Coastal Area (Tunisia). MAP Technical Reports Series No. 99, UNEP, Athens, 1996 (326 pages) (English and French).
100. UNEP: State of the Marine and Coastal Environment in the Mediterranean Region. MAP Technical Reports Series No. 100, UNEP, Athens, 1996 (142 pages) (English only).
101. UNEP: State of the Marine and Coastal Environment in the Mediterranean Region. MAP Technical Reports Series No. 101, UNEP, Athens, 1996 (148) (French only).
102. UNEP: Implications of Climate Change for the Coastal Area of Fuka-Matrouh (Egypt). MAP Technical Reports Series No. 102, UNEP, Athens, 1996 (238 pages) (English only).

103. UNEP/FAO: Final reports on research projects dealing with biological effects (Research Area III). MAP Technical Reports Series No. 103, UNEP, Athens, 1996 (128 pages) (English and French).
104. UNEP/FAO: Final reports on research projects dealing with eutrophication and heavy metal accumulation. MAP Technical Reports Series No. 104, UNEP, Athens, 1996 (156 pages) (English and French).
105. UNEP/FAO/WHO: Assessment of the state of pollution of the Mediterranean sea by zinc, copper and their compounds. MAP Technical Reports Series No. 105, UNEP, Athens, 1996 (288 pages) (English and French).
106. UNEP/FAO/WHO: Assessment of the state of eutrophication in the Mediterranean sea. MAP Technical Reports Series No. 106, UNEP, Athens, 1996 (456 pages) (English and French).
107. UNEP/WHO: Guidelines for authorisation for discharge of liquid wastes into the Mediterranean Sea. MAP Technical Reports Series No. 107, UNEP, Athens, 1996 (200 pages) (English and French).

PUBLICATIONS "MAP TECHNICAL REPORTS SERIES"

1. PNUE/COI/OMM: Etudes de base et surveillance continue du pétrole et des hydrocarbures contenus dans les eaux de la mer (MED POL I). MAP Technical Reports Series No. 1. UNEP, Athens, 1986 (96 pages) (parties en anglais, français ou espagnol seulement).
2. PNUE/FAO: Etudes de base et surveillance continue des métaux, notamment du mercure et du cadmium, dans les organismes marins (MED POL II). MAP Technical Reports Series No. 2. UNEP, Athens, 1986 (220 pages) (parties en anglais, français ou espagnol seulement).
3. PNUE/FAO: Etudes de base et surveillance continue du DDT, des PCB et des autres hydrocarbures chlorés contenus dans les organismes marins (MED POL III). MAP Technical Reports Series No. 3. UNEP, Athens, 1986 (128 pages) (parties en anglais, français ou espagnol seulement).
4. PNUE/FAO: Recherche sur les effets des polluants sur les organismes marins et leurs peuplements (MED POL IV). MAP Technical Reports Series No. 4. UNEP, Athens, 1986 (118 pages) (parties en anglais, français ou espagnol seulement).
5. PNUE/FAO: Recherche sur les effets des polluants sur les communautés et écosystèmes marins (MED POL V). MAP Technical Reports Series No. 5. UNEP, Athens, 1986 (146 pages) (parties en anglais ou français seulement).
6. PNUE/COI: Problèmes du transfert des polluants le long des côtes (MED POL VI). MAP Technical Reports Series No. 6. UNEP, Athens, 1986 (100 pages) (anglais seulement).
7. PNUE/OMS: Contrôle de la qualité des eaux côtières (MED POL VII). MAP Technical Reports Series No. 7. UNEP, Athens, 1986 (426 pages) (parties en anglais ou français seulement).
8. PNUE/AIEA/COI: Etudes biogéochimiques de certains polluants au large de la Méditerranée (MED POL VIII). MAP Technical Reports Series No. 8. UNEP, Athens, 1986 (42 pages) (parties en anglais ou français seulement).
8. Add. PNUE: Etudes biogéochimiques de certains polluants au large de la Méditerranée (MED POL VIII). Addendum, Croisière Océanographique de la Grèce 1980. MAP Technical Reports Series No. 8, Addendum. UNEP, Athens, 1986 (66 pages) (anglais seulement).
9. PNUE: Programme coordonné de surveillance continue et de recherche en matière de pollution dans la Méditerranée (MED POL -PHASE I). Rapport final, 1975-1980. MAP Technical Reports Series No. 9. UNEP, Athens, 1986 (276 pages) (anglais seulement).
10. PNUE: Recherches sur la toxicité, la persistance, la bioaccumulation, la cancérogénicité et la mutagénicité de certaines substances (Activité G). Rapports finaux sur les projets ayant trait à la toxicité (1983-85). MAP Technical Reports Series No. 10. UNEP, Athens, 1987 (118 pages) (anglais seulement).
11. PNUE: Réhabilitation et reconstruction des établissements historiques méditerranéens. Textes rédigés au cours de la première phase de l'action prioritaire (1984-1985). MAP Technical Reports Series No. 11. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1986 (158 pages) (parties en anglais ou français seulement).
12. PNUE: Développement des ressources en eau des petites îles et des zones côtières isolées méditerranéennes. Textes rédigés au cours de la première phase de l'action prioritaire (1984-1985). MAP Technical Reports Series No. 12. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (162 pages) (parties en anglais ou français seulement).

13. PNUE: Thèmes spécifiques concernant le développement des ressources en eau des grandes îles méditerranéennes. Textes rédigés au cours de la deuxième phase de l'action prioritaire (1985-1986). MAP Technical Reports Series No. 13. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (162 pages) (parties en anglais ou français seulement).
14. PNUE: L'expérience des villes historiques de la Méditerranée dans le processus intégré de réhabilitation du patrimoine urbain et architectural. Documents établis lors de la seconde phase de l'Action prioritaire (1986). MAP Technical Reports Series No. 14. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (500 pages) (parties en anglais ou français seulement).
15. PNUE: Aspects environnementaux du développement de l'aquaculture dans la région méditerranéenne. Documents établis pendant la période 1985-1987. MAP Technical Reports Series No. 15. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (101 pages) (anglais seulement).
16. PNUE: Promotion de la protection des sols comme élément essentiel de la protection de l'environnement dans les zones côtières méditerranéennes. Documents sélectionnés (1985-1987). MAP Technical Reports Series No. 16. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (424 pages) (parties en anglais ou français seulement).
17. PNUE: Réduction des risques sismiques dans la région méditerranéenne. Documents et études sélectionnés (1985-1987). MAP Technical Reports Series No. 17. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1987 (247 pages) (parties en anglais ou français seulement).
18. PNUE/FAO/OMS: Evaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par le mercure et les composés mercuriels. MAP Technical Reports Series No. 18. UNEP, Athens, 1987 (354 pages) (anglais et français).
19. PNUE/COI: Evaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les hydrocarbures de pétrole. MAP Technical Reports Series No. 19. UNEP, Athens, 1988 (130 pages) (anglais et français).
20. PNUE/OMS: Etudes épidémiologiques relatives aux critères de la qualité de l'environnement pour les eaux servant à la baignade, à la culture de coquillages et à l'élevage d'autres organismes marins comestibles (Activité D). Rapport final sur le projet sur la relation entre la qualité microbienne des eaux marines côtières et les effets sur la santé (1983-86). MAP Technical Reports Series No. 20. UNEP, Athens, 1988 (156 pages) (anglais seulement).
21. PNUE/UNESCO/FAO: Eutrophisation dans la mer Méditerranée: capacité réceptrice et surveillance continue des effets à long terme. MAP Technical Reports Series No. 21. UNEP, Athens, 1988 (200 pages) (parties en anglais ou français seulement).
22. PNUE/FAO: Etude des modifications de l'écosystème dans les zones soumises à l'influence des polluants (Activité I). MAP Technical Reports Series No. 22. UNEP, Athens, 1988 (146 pages) (parties en anglais ou français seulement).
23. PNUE: Programme national de surveillance continue pour la Yougoslavie, Rapport pour 1983-1986. MAP Technical Reports Series No. 23. UNEP, Athens, 1988 (223 pages) (anglais seulement).
24. PNUE/FAO: Toxicité, persistance et bioaccumulation de certaines substances vis-à-vis des organismes marins (Activité G). MAP Technical Reports Series No. 24. UNEP, Athens, 1988 (122 pages) (parties en anglais ou français seulement).

25. PNUE: Le Plan d'action pour la Méditerranée, perspective fonctionnelle; une recherche juridique et politique. MAP Technical Reports Series No. 25. UNEP, Athens, 1988 (105 pages) (anglais seulement).
26. PNUE/UICN: Répertoire des aires marines et côtières protégées de la Méditerranée. Première partie - Sites d'importance biologique et écologique. MAP Technical Reports Series No. 26. UNEP, Athens, 1989 (196 pages) (anglais seulement).
27. PNUE: Implications des modifications climatiques prévues dans la région méditerranéenne: une vue d'ensemble. MAP Technical Reports Series No. 27. UNEP, Athens, 1989 (52 pages) (anglais seulement).
28. PNUE: Etat du milieu marin en Méditerranée. MAP Technical Reports Series No. 28. UNEP, Athens, 1989 (225 pages) (anglais seulement).
29. PNUE: Bibliographie sur les effets des modifications climatiques et sujets connexes. MAP Technical Reports Series No. 29. UNEP, Athens, 1989 (143 pages) (anglais seulement).
30. PNUE: Données météorologiques et climatologiques provenant de mesures effectuées dans l'air en surface et en altitude en vue de l'évaluation du transfert et du dépôt atmosphériques des polluants dans le bassin méditerranéen: un compte rendu. MAP Technical Reports Series No. 30. UNEP, Athens, 1989 (137 pages) (anglais seulement).
31. PNUE/OMM: Pollution par voie atmosphérique de la mer Méditerranée. Rapport et actes des Journées d'étude OMM/PNUE. MAP Technical Reports Series No. 31. UNEP, Athens, 1989 (247 pages) (parties en anglais ou français seulement).
32. PNUE/FAO: Cycles biogéochimiques de polluants spécifiques (Activité K). MAP Technical Reports Series No. 32. UNEP, Athens, 1989 (139 pages) (parties en anglais ou français seulement).
33. PNUE/FAO/OMS/AIEA: Evaluation des composés organostanniques en tant que polluants du milieu marin en Méditerranée. MAP Technical Reports Series No. 33. UNEP, Athens, 1989 (185 pages) (anglais et français).
34. PNUE/FAO/OMS: Evaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par le cadmium et les composés de cadmium. MAP Technical Reports Series No. 34. UNEP, Athens, 1989 (175 pages) (anglais et français).
35. PNUE: Bibliographie sur la pollution marine par les composés organostanniques. MAP Technical Reports Series No. 35. UNEP, Athens, 1989 (92 pages) (anglais seulement).
36. PNUE/UICN: Répertoire des aires marines et côtières protégées de la Méditerranée. Première partie - Sites d'importance biologique et écologique. MAP Technical Reports Series No. 36. UNEP, Athens, 1990 (198 pages) (français seulement).
37. PNUE/FAO: Rapports finaux sur les projets de recherche consacrés à l'eutrophisation et aux efflorescences de plancton (Activité H). MAP Technical Reports Series No. 37. UNEP, Athens, 1990 (74 pages) (parties en anglais ou français seulement).
38. PNUE: Mesures communes adoptées par les Parties Contractantes à la Convention pour la protection de la mer Méditerranée contre la pollution. MAP Technical Reports Series No. 38. UNEP, Athens, 1990 (100 pages) (anglais, français, espagnol et arabe).
39. PNUE/FAO/OMS/AIEA: Evaluation de l'état de la pollution par les composés organohalogénés. MAP Technical Reports Series No. 39. UNEP, Athens, 1990 (224 pages) (anglais et français).
40. PNUE/FAO: Rapports finaux sur les projets de recherche (Activités H, I et J). MAP Technical Reports Series No. 40. UNEP, Athens, 1990 (125 pages) (anglais et français).

41. PNUE: Réutilisation agricole des eaux usées dans la région méditerranéenne. MAP Technical Reports Series No. 41. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1990 (330 pages) (anglais et français).
42. PNUE/UICN: Rapport sur le statut des tortues marines de Méditerranée. MAP Technical Reports Series No. 42. UNEP, Athens, 1990 (204 pages) (anglais et français).
43. PNUE/UICN/GIS Posidonie: Livre rouge "Gérard Vuignier" des végétaux, peuplements et paysages marins menacés de Méditerranée. MAP Technical Reports Series No. 43. UNEP, Athens, 1990 (250 pages) (français seulement).
44. PNUE: Bibliographie sur la pollution aquatique par les composés organophosphorés. MAP Technical Reports Series No. 44. UNEP, Athens, 1990 (98 pages) (anglais seulement).
45. PNUE/AIEA: Transfert des polluants par sédimentation: Recueil des communications présentées aux premières journées d'études méditerranéennes (Villefranche-sur-Mer, France, 10-12 décembre 1987). MAP Technical Reports Series No. 45. UNEP, Athens, 1990 (302 pages) (anglais seulement).
46. PNUE/OMS: Etudes épidémiologiques relatives aux critères de la qualité de l'environnement pour les eaux servant à la baignade, à la culture de coquillages et à l'élevage d'autres organismes marins comestibles (Activité D). Rapport final sur le projet sur la relation entre la qualité microbienne des eaux marines côtières et la gastroentérite provoquée par le rotavirus entre les baigneurs (1986-88). MAP Technical Reports Series No.46. UNEP, Athens, 1991 (64 pages) (anglais seulement).
47. PNUE: Les proliférations de méduses en Méditerranée. Actes des 11èmes journées d'étude sur les méduses en mer Méditerranée. MAP Technical Reports Series No.47. UNEP, Athens, 1991 (320 pages) (parties en anglais ou français seulement).
48. PNUE/FAO: Rapports finaux sur les projets de recherche (Activité G). MAP Technical Reports Series No. 48. UNEP, Athens, 1991 (126 pages) (parties en anglais ou français seulement).
49. PNUE/OMS: Cycles biogéochimiques de polluants spécifiques. Survie des Pathogènes. Rapports finaux sur les projets de recherche (activité K). MAP Technical Reports Series No. 49. UNEP, Athens, 1991 (71 pages) (parties en anglais ou français seulement).
50. PNUE: Bibliographie sur les déchets marins. MAP Technical Reports Series No. 50. UNEP, Athens, 1991 (62 pages) (anglais seulement).
51. PNUE/FAO: Rapports finaux sur les projets de recherche traitant du mercure, de la toxicité et des techniques analytiques. MAP Technical Reports Series No. 51. UNEP, Athens, 1991 (166 pages) (parties en anglais ou français seulement).
52. PNUE/FAO: Rapports finaux sur les projets de recherche traitant de la bioaccumulation et de la toxicité des polluants chimiques. MAP Technical Reports Series No. 52. UNEP, Athens, 1991 (86 pages) (parties en anglais ou français seulement).
53. PNUE/OMS: Etudes épidémiologiques relatives aux critères de la qualité de l'environnement pour les eaux servant à la baignade, à la culture de coquillages et à l'élevage d'autres organismes marins comestibles (Activité D). Rapport final sur l'étude épidémiologique menée parmi les baigneurs de certaines plages à Malaga, Espagne (1988-1989). MAP Technical Reports Series No. 53. UNEP, Athens, 1991 (127 pages) (anglais seulement).
54. PNUE/OMS: Mise au point et essai des techniques d'échantillonnage et d'analyse pour la surveillance continue des polluants marins (Activité A): Rapports finaux sur certains projets de nature microbiologique. MAP Technical Reports Series No. 54. UNEP, Athens, 1991 (83 pages) (anglais seulement).

55. PNUE/OMS: Cycles biogéochimiques de polluants spécifiques (Activité K): Rapport final sur le projet sur la survie des microorganismes pathogènes dans l'eau de mer. MAP Technical Reports Series No. 55. UNEP, Athens, 1991 (95 pages) (anglais seulement).
56. PNUE/COI/FAO: Evaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les matières synthétiques persistantes qui peuvent flotter, couler ou rester en suspension. MAP Technical Reports Series No. 56. UNEP, Athens, 1991 (113 pages) (anglais et français).
57. PNUE/OMS: Recherches sur la toxicité, la persistance, la bioaccumulation, la cancérogénicité et la mutagénicité de certaines substances (Activité G). Rapports finaux sur les projets ayant trait à la cancérogénicité et la mutagénicité. MAP Technical Reports Series No. 57. UNEP, Athens, 1991 (59 pages) (anglais seulement).
58. PNUE/FAO/OMS/AIEA: Evaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les composés organophosphorés. MAP Technical Reports Series No. 58. UNEP, Athens, 1991 (122 pages) (anglais et français).
59. PNUE/FAO/AIEA: Actes de la réunion consultative FAO/PNUE/AIEA sur l'accumulation et la transformation des contaminants chimiques par les processus biotiques et abiotiques dans le milieu marin (La Spezia, Italie, 24-28 septembre 1990), publié sous la direction de G.P. Gabrielides. MAP Technical Reports Series No. 59. UNEP, Athens, 1991 (392 pages) (anglais seulement).
60. PNUE/OMS: Mise au point et essai des techniques d'échantillonnage et d'analyse pour la surveillance continue des polluants marins (Activité A): Rapports finaux sur certains projets de nature microbiologique (1987-1990). MAP Technical Reports Series No. 60. UNEP, Athens, 1991 (76 pages) (parties en anglais ou français seulement).
61. PNUE: Planification intégrée et gestion des zones côtières méditerranéennes. Textes rédigés au cours de la première et de la deuxième phase de l'action prioritaire (1985-1986). MAP Technical Reports Series No. 61. UNEP, Priority Actions Programme, Regional Activity Centre, Split, 1991 (437 pages) (parties en anglais ou français seulement).
62. PNUE/AIEA: Evaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les substances radioactives. MAP Technical Reports Series No. 62, UNEP, Athens, 1992 (133 pages) (anglais et français).
63. PNUE/OMS: Cycles biogéochimiques de polluants spécifiques (Activité K) - Survie des pathogènes - Rapports finaux sur les projets de recherche (1989-1991). MAP Technical Reports Series No. 63, UNEP, Athens, 1992 (86 pages) (français seulement).
64. PNUE/OMM: Pollution par voie atmosphérique de la mer Méditerranée. Rapport et actes des deuxièmes journées d'études OMM/PNUE. MAP Technical Reports Series No. 64, UNEP, Athens, 1992 (246 pages) (anglais seulement).
65. PNUE: Répertoire des centres relatifs au milieu marin en Méditerranée. MAP Technical Reports Series No. 65, UNEP, Athens, 1992 (351 pages) (anglais et français).
66. PNUE/CRU: Modifications régionales du climat dans le bassin méditerranéen résultant du réchauffement global dû aux gaz à effet de serre. MAP Technical Reports Series No. 66, UNEP, Athens, 1992 (172 pages) (anglais seulement).
67. PNUE/COI: Applicabilité de la télédétection à l'étude des paramètres de la qualité de l'eau en Méditerranée. Rapport final du projet de recherche. MAP Technical Reports Series No. 67, UNEP, Athens, 1992 (142 pages) (anglais seulement).

68. PNUE/FAO/COI: Evaluation des ateliers de formation sur le traitement statistique et l'interprétation des données relatives aux communautés marines. MAP Technical Reports Series No. 68. UNEP, Athens, 1992 (221 pages) (anglais seulement).
69. PNUE/FAO/COI: Actes de l'Atelier FAO/PNUE/COI sur les effets biologiques des polluants sur les organismes marins (Malte, 10-14 septembre 1991), publié sous la direction de G.P. Gabrielides. MAP Technical Reports Series No. 69. UNEP, Athens, 1992 (287 pages) (anglais seulement).
70. PNUE/AIEA/COI/FAO: Composés organohalogénés dans le milieu marin: Une synthèse. MAP Technical Reports Series No. 70. UNEP, Athens, 1992 (49 pages) (anglais seulement).
71. PNUE/FAO/COI: Techniques sélectionnées de surveillance continue des effets biologiques des polluants sur les organismes marins. MAP Technical Reports Series No. 71. UNEP, Athens, 1993 (189 pages) (anglais seulement).
72. PNUE: Coûts et bénéfices des mesures pour la réduction de la dégradation de l'environnement des sources de pollution d'origine tellurique dans les zones côtières. A -Etude de cas de la baie d'Izmir. B - Etude de cas de l'île de Rhodes. MAP Technical Reports Series No. 72. UNEP, Athens, 1993 (64 pages) (anglais seulement).
73. PNUE/FAO: Rapports finaux sur les projets de recherche traitant des effets de polluants sur les communautés et les organismes marins. MAP Technical Reports Series No. 73. UNEP, Athens, 1993 (186 pages) (anglais et français).
74. PNUE/FIS: Rapport de l'Atelier de formation sur les aspects de la documentation marine en Méditerranée. MAP Technical Reports Series No. 74. UNEP, Athens, 1993 (38 pages) (anglais seulement).
75. PNUE/OMS: Mise au point et essai des techniques d'échantillonnage et d'analyse pour la surveillance continue des polluants marins (Activité A). MAP Technical Reports Series No. 75. UNEP, Athens, 1993 (90 pages) (anglais seulement).
76. PNUE/OMS: Cycles biogéochimiques de polluants spécifiques (Activité K): Survie des pathogènes. MAP Technical Reports Series No. 76. UNEP, Athens, 1993 (68 pages) (anglais et français).
77. PNUE/FAO/AIEA: Conception des programmes de surveillance continue et de gestion des données concernant les contaminants chimiques dans les organismes marins. MAP Technical Reports Series No. 77. UNEP, Athens, 1993 (236 pages) (anglais seulement).
78. PNUE/FAO: Rapports finaux sur les projets de recherche traitant des problèmes de l'eutrophisation. MAP Technical Reports Series No. 78. UNEP, Athens, 1994 (139 pages) (anglais seulement).
79. PNUE/FAO: Rapports finaux sur les projets de recherche traitant de la toxicité des polluants sur les organismes marins. MAP Technical Reports Series No. 79. UNEP, Athens, 1994 (135 pages) (parties en anglais ou français seulement).
80. PNUE/FAO: Rapports finaux sur les projets de recherche traitant des effets des polluants sur les organismes et communautés marins. MAP Technical Reports Series No. 80. UNEP, Athens, 1994 (123 pages) (anglais seulement).
81. PNUE/AIEA: Examen de la qualité des données pour le MED POL: Dix-neuf années de progrès. MAP Technical Reports Series No. 81. UNEP, Athens, 1994 (79 pages) (anglais seulement).
82. PNUE/UICN: Rapport technique sur l'état des cétacés en Méditerranée. MAP Technical Reports Series No. 82. PNUE, Centre d'activités régionales pour les aires spécialement protégées, Tunis, 1994 (37 pages) (anglais seulement).

83. PNUE/UICN: Les aires protégées en Méditerranée. Essai d'étude analytique de la législation pertinente. MAP Technical Reports Series No. 83. PNUE, Centre d'activités régionales pour les aires spécialement protégées, Tunis, 1994 (55 pages) (français seulement).
84. PNUE: Etude de gestion intégrée pour la zone d'Izmir. MAP Technical Reports Series No. 84, PNUE, Centre d'activités régionales pour le programme d'actions prioritaires, Split, 1994 (130 pages) (anglais seulement).
85. PNUE/OMM: Evaluation de la pollution transférée par voie atmosphérique en mer Méditerranée pour les composés soufrés, azotés et pour les métaux lourds en 1991. MAP Technical Reports Series No. 85, UNEP, Athens, 1994 (304 pages) (anglais seulement).
86. PNUE: Programme de surveillance continue de la zone côtière de l'Adriatique Est - Rapport pour 1983-1991. MAP Technical Reports Series No. 86, UNEP, Athens, 1994 (311 pages) (anglais seulement).
87. PNUE/OMS: Identification de constituants microbiologiques et de dosage (mise au point et essai de méthodes) de contaminants donnés (Domaine de recherche I) - Rapports finaux sur certains projets de nature microbiologique. MAP Technical Reports Series No. 87, UNEP, Athens, 1994 (136 pages) (anglais seulement).
88. PNUE: Actes du Séminaire débat sur la prospective méditerranéenne. MAP Technical Reports Series No. 88, UNEP, Blue Plan Regional Activity Centre, Sophia Antipolis, 1994 (176 pages) (parties en anglais ou français seulement).
89. PNUE: Projet de la Baie d'Iskenderun. Volume I. Gestion de l'environnement dans le cadre de l'environnement-développement. MAP Technical Reports Series No. 89, PNUE, Centre d'activités régionales pour le Plan Bleu, Sophia Antipolis, 1994 (144 pages) (anglais seulement).
90. PNUE: Projet de la Baie d'Iskenderun. Volume II. Analyse systémique et prospective. MAP Technical Reports Series No. 90, UNEP, Sophia Antipolis, 1994 (142 pages) (parties en anglais ou français seulement).
91. PNUE: Une contribution de l'écologie à la prospective. Problèmes et acquis. MAP Technical Reports Series No. 91, Sophia Antipolis, 1994 (162 pages) (français seulement).
92. PNUE/OMS: Evaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les substances cancérigènes, tératogènes et mutagènes. MAP Technical Reports Series No. 92, UNEP, Athens, 1995 (238 pages) (anglais seulement).
93. PNUE/OMS: Etudes épidémiologiques relatives à la qualité de l'environnement pour les eaux servant à la baignade, à la culture des coquillages et à l'élevage d'autres organismes marins comestibles. MAP Technical Reports Series No. 93, UNEP, Athens, 1995 (118 pages) (anglais seulement).
94. PNUE: Actes de l'Atelier sur l'application d'une approche intégrée au développement, à la gestion et à l'utilisation des ressources en eau. MAP Technical Reports Series No. 94, UNEP, Athens, 1995 (214 pages) (parties en anglais ou français seulement).
95. PNUE: Mesures communes de lutte contre la pollution adoptées par les Parties contractantes à la Convention pour la protection de la mer Méditerranée contre la pollution. MAP Technical Reports Series No. 95, UNEP, Athens, 1995 (69 pages) (anglais et français).
96. PNUE/FAO: Rapports finaux des projets de recherche sur les effets (Domaine de recherche III) - Effets de la pollution sur la composition et la répartition spatiale à proximité de l'émissaire d'eaux usées d'Athènes (Golfe Saronique, Grèce). MAP Technical Reports Series No. 96, UNEP, Athens, 1996 (121 pages) (anglais seulement).

97. PNUE/FAO: Rapports finaux des projets de recherche sur les effets (Domaine de recherche III) - Effets de la pollution sur les communautés marines. MAP Technical Reports Series No. 97, UNEP, Athens, 1996 (141 pages) (anglais et français).
98. PNUE: Implications du changement climatique pour la zone côtière d'Albanie. MAP Technical Reports Series No. 98, UNEP, Athens, 1996 (179 pages) (anglais seulement).
99. PNUE: Implications des changements climatiques sur la zone côtière de Sfax. MAP Technical Reports Series No. 99, UNEP, Athens, 1996 (326 pages) (anglais et français).
100. PNUE: Etat du milieu marin et du littoral de la région méditerranéenne. MAP Technical Reports Series No. 100, UNEP, Athens, 1996 (142 pages) (anglais seulement).
101. PNUE: Etat du milieu marin et du littoral de la région méditerranéenne. MAP Technical Reports Series No. 101, UNEP, Athens, 1996 (148) (français seulement).
102. PNUE: Implications des changements climatiques sur la zone côtière de Fuka-Matrouh (Egypte). MAP Technical Reports Series No. 102, UNEP, Athens, 1996 (238 pages) (anglais seulement).
103. PNUE/FAO: Rapports finaux sur les projets de recherche relatifs aux effets biologiques (Domaine de Recherche III). MAP Technical Reports Series No. 103, UNEP, Athens, 1996 (128 pages) (anglais et français).
104. PNUE/FAO: Rapports finaux sur les projets de recherche relatifs à l'eutrophisation et à l'accumulation des métaux lourds. MAP Technical Reports Series No. 104, UNEP, Athens, 1996 (156 pages) (anglais et français).
105. PNUE/FAO/OMS: Evaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par le zinc, le cuivre et leurs composés. MAP Technical Reports Series No. 105, UNEP, Athens, 1996 (288 pages) (anglais et français).
106. PNUE/FAO/OMS: Evaluation de l'état de l'eutrophisation en mer Méditerranée. MAP Technical Reports Series No. 106, UNEP, Athens, 1996 (456 pages) (anglais et français).
107. PNUE/OMS: Lignes directrices concernant les autorisations de rejet de déchets liquides en mer Méditerranée. MAP Technical Reports Series No. 107, UNEP, Athens, 1996 (200 pages) (anglais et français).



Issued and printed by:

Mediterranean Action Plan
United Nations Environment Programme

Additional copies of this and other publications issued by
the Mediterranean Action Plan of UNEP can be obtained from:

Coordinating Unit for the Mediterranean Action Plan
United Nations Environment Programme
Leoforos Vassileos Konstantinou, 48
P.O.Box 18019
11610 Athens
GREECE



Publié et imprimé par:

Plan d'action pour la Méditerranée
Programme des Nations Unies pour l'Environnement

Des exemplaires de ce document ainsi que d'autres
publications du Plan d'action pour la Méditerranée
du PNUE peuvent être obtenus de:

Unité de coordination du Plan d'action pour la Méditerranée
Programme des Nations Unies pour l'Environnement
Leoforos Vassileos Konstantinou, 48
B.P. 18019
11610 Athènes
GRECE