



Programme
des Nations Unies
pour l'environnement

UNEP(OCA)/MED WG.25/Inf.7
15 mars 1991

FRANCAIS
Original: ANGLAIS

PLAN D'ACTION POUR LA MEDITERRANEE

Réunion conjointe du Comité scientifique et
technique et du Comité socio-économique

Athènes, 6 - 10 mai 1991

**EVALUATION DE L'ETAT DE LA POLLUTION DE LA
MER MEDITERRANEE PAR LES MICRO-ORGANISMES PATHOGENES**

En coopération avec



ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTE

TABLE DES MATIERES

	<u>Paragraphes</u>
RAPPEL DES FAITS	1 - 9
INTRODUCTION	9 - 15
ENTREE DES MICRO-ORGANISMES PATHOGENES DANS LE MILIEU MARIN	
Sources et apports	16 - 21
Survie et devenir	22 - 37
MICRO-ORGANISMES PATHOGENES DANS LE MILIEU MARIN MEDITERRANEEN	
Considérations d'ordre général	38 - 44
Agents pathogènes bactériens	45 - 55
Virus	56 - 61
Parasites animaux divers	62 - 63
Champignons pathogènes	64 - 65
Proliférations d'algues toxiques	66 - 67
CORRELATION ENTRE LA QUALITE DE L'EAU DE MER ET DES PRODUITS DE LA MER ET LES EFFETS SUR LA SANTE	
Considérations d'ordre général	68 - 74
Eaux côtières à usage récréatif	75 - 85
Eaux conchylicoles	86 - 89
CONCLUSIONS	
Analyse de la situation actuelle	90 - 103
Mesures et études recommandées	104 - 112
REFERENCES	

RAPPEL DES FAITS

1. L'article 8 de la Convention pour la protection de la mer Méditerranée contre la pollution, adoptée par les Etats riverains de la région à Barcelone le 16 février 1976, stipule que les Parties contractantes 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 (PNUE, 1982).

2. Conformément aux dispositions de cet article et d'autres d'une nature plus générale énoncés dans la Convention, les Etats côtiers méditerranéens ont adopté le Protocole relatif à la protection de la mer Méditerranée contre la pollution d'origine tellurique, à Athènes le 17 mai 1980.

3. L'article 6 dudit Protocole stipule que les Parties contractantes s'engagent à réduire rigoureusement la pollution d'origine tellurique de la zone du Protocole par les substances ou sources énumérées à l'annexe II au présent Protocole et que, à cette fin, elles élaborent et mettent en oeuvre, conjointement ou individuellement selon le cas, des programmes et mesures appropriés. Le même article stipule également que les rejets sont strictement subordonnés à la délivrance, par les autorités nationales compétentes, d'une autorisation tenant dûment compte des dispositions de l'annexe III au présent Protocole. Les micro-organismes pathogènes constituent l'une des rubriques énumérées à l'annexe II au Protocole.

4. L'article 7 du Protocole stipule que les Parties contractantes élaborent et adoptent progressivement, en collaboration avec les organisations internationales compétentes, des lignes directrices et, le cas échéant, des normes ou critères communs concernant notamment 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.

5. La Convention de Barcelone de 1976 est entrée en vigueur le 12 février 1978 et a été ratifiée par l'ensemble des dix-huit Etats côtiers méditerranéens et par la Communauté économique européenne, la dernière ratification datant du 19 juin 1990. Le Protocole d'Athènes de 1980 est entré en vigueur le 17 juin 1983 et, au 31 décembre 1990, il avait été ratifié par quinze Etats côtiers méditerranéens et par la Communauté économique européenne.

6. A leur Quatrième réunion ordinaire, tenue à Gênes du 9 au 13 septembre 1985, les Parties contractantes à la Convention pour la protection de la mer Méditerranée contre la pollution et aux Protocoles y relatifs sont convenues que, s'agissant de l'application technique du Protocole relatif à la protection de la mer Méditerranée contre la pollution d'origine tellurique, le Secrétariat à la Convention et aux Protocoles proposerait un ordre de priorité et un calendrier réaliste pour l'élaboration de programmes et de mesures concernant au moins deux substances chaque année, y compris des normes communes d'émission et d'usage, comme l'exige la mise en application du Protocole et que, pour cette proposition, les substances de l'annexe I du Protocole seraient étudiées en priorité. Les Parties contractantes convenaient toutefois qu'il y aurait une exception pour le cas des micro-organismes pathogènes auxquels serait accordé le même degré de priorité que pour les substances de l'annexe I. A la même réunion, les Parties contractantes ont adopté des critères provisoires pour les eaux côtières à usage récréatif basés sur les concentrations d'un organisme indicateur bactérien (coliformes fécaux). Dans le même temps, elles convenaient que des études seraient entreprises sur la comparaison entre ces critères provisoires et ceux déjà en vigueur dans d'autres pays méditerranéens, et également que seraient poursuivies les études épidémiologiques et autres dans le cadre du Programme à long terme de surveillance continue et de recherche en matière de pollution de la mer Méditerranée (PNUE, 1985a).

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. La réunion a approuvé un plan de travail et un calendrier pour l'application progressive du Protocole (PNUE, 1985b) qui comportait l'élaboration par étapes des évaluations de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les substances énumérées aux annexes I et II du Protocole, assorties de mesures antipollution proposées sur la base de ces évaluations. Il a été convenu que ces documents d'évaluation devaient notamment comprendre des chapitres consacrés aux:

- sources, points d'entrée et quantités de polluants dus aux rejets industriels, municipaux et autres dans la mer Méditerranée;
- niveaux de pollution;
- effets de la pollution;
- mesures légales, administratives et techniques existant aux niveaux national et international.

8. A leur Cinquième réunion ordinaire tenue à Athènes en septembre 1987, les Parties contractantes ont adopté des critères de qualité du milieu pour les eaux conchylicoles. Ces critères, qui sont identiques à la Directive de la CEE en la matière, sont également basés sur les concentrations de coliformes fécaux (PNUE, 1987). En l'occurrence, il était entendu que la résolution en question, par sa portée, n'était destinée qu'à satisfaire l'acceptabilité des zones marines de culture et/ou de récolte de mollusques et crustacés et ne préjugait en rien de l'acceptabilité des mollusques et crustacés eux-mêmes pour la consommation humaine, aspect qui continuerait à être régi par la législation spécifique à la santé publique ou aux domaines connexes dans les divers pays (OMS, 1989).

9. Le présent document, qui a été établi par l'Organisation mondiale de la santé dans le cadre du plan de travail et du calendrier détaillés précités, tente de fournir une évaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les micro-organismes pathogènes sur la base des informations disponibles jusqu'à ce jour, expose succinctement les mesures de prévention et de contrôle présentement en vigueur, et propose des mesures à court et à long terme que les pays méditerranéens pourraient à prendre dans le cadre du Protocole relatif à la protection de la mer Méditerranée contre la pollution d'origine tellurique afin d'améliorer la situation.

INTRODUCTION

10. Les principaux types d'exposition aux micro-organismes pathogènes chez l'homme consistent dans le contact direct avec l'eau de mer et/ou le sable pollués, y compris l'ingestion de la première au cours de la natation ou de la baignade, et dans la consommation de produits de la mer contaminés.

11. Les effets néfastes sur la santé, effectifs et potentiels, résultant de cette exposition, ont suscité des préoccupations à un niveau mondial, notamment au cours des vingt dernières années. Dans le cas des mollusques et crustacés, on a été ainsi amené à élaborer progressivement divers critères et normes de qualité non seulement pour les mollusques et crustacés eux-mêmes dans le cadre de la législation en matière de santé publique et de qualité des aliments mais aussi pour les eaux d'élevage et de récolte. Mis à part le fait que les prescriptions réglementaires varient selon les pays, on a également émis des doutes quant à l'efficacité des techniques d'épuration des coquillages pour éliminer les risques microbiologiques et assurer la salubrité du produit pour la consommation par l'homme (Geldreich, 1985). Dans le cas des 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 dus à des eaux à usage récréatif polluées en menant des études épidémiologiques destinées à établir une corrélation directe entre la qualité microbiologique de l'eau et les effets sur la santé parmi les groupes de population exposés. Dans l'ensemble, ces études ont donné des résultats différents, ce qui a abouti à d'importantes variations dans les

critères et normes de qualité appliqués aux eaux à usage récréatif ainsi qu'à de vives controverses concernant leur application (Jones et Kay, 1989).

12. Les risques sanitaires résultant de la présence de micro-organismes pathogènes dans le milieu marin de la Méditerranée peuvent être considérés comme particulièrement importants par suite de toute une série de facteurs hétérogènes, à savoir notamment les suivants (OMS, 1989):

- (a) Bien que la situation générale s'améliore progressivement grâce à l'aménagement de stations d'épuration et d'émissaires sous-marins, la majeure partie des eaux usées municipales dans la plupart de la région est encore actuellement rejetée sans avoir subi de traitement dans la zone marine côtière attenante, et dans bien des cas à proximité de zones récréatives et/ou conchylicoles.
- (b) En dehors des 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. Pendant les mois d'été, la mer constitue le principal agrément récréatif pour les populations locales comme pour les touristes, si bien que la plupart des plages, notamment celles qui se trouvent à proximité de villes et de centres touristiques, sont surfréquentées, notamment pendant les week-ends. La nature hétérogène des populations fréquentant les plages favorise encore plus la propagation des infections.
- (c) Les conditions prévalentes de climat chaud entraînent une saison de baignade relativement longue mais aussi une plus grande durée d'exposition à l'eau de mer et/ou au sable de plage par comparaison à la situation dans d'autres pays au climat plus tempéré.
- (d) Des quantités considérables de mollusques/crustacés sont élevées et récoltées dans la région et elles sont consommées aussi bien par les populations locales que par les touristes. La consommation totale de mollusques/crustacés dans les pays méditerranéens a été estimée à plus de 12.000 tonnes métriques par an. On peut considérer que la majeure partie de cette quantité est consommée dans les zones côtières.
- (e) Les mesures de contrôle de la qualité de l'eau et des produits de la mer varient d'un pays à l'autre. Dans de nombreux cas, les mesures de contrôle en fonction de critères et normes de qualité reposent en pratique entièrement sur des concentrations "acceptables" d'organismes indicateurs bactériens. Alors que ces organismes peuvent permettre d'obtenir une estimation raisonnable du degré de pollution par les eaux usées et éventuellement une corrélation plus ou moins satisfaisante avec des concentrations d'agents pathogènes gastro-intestinaux bactériens, il n'a pas été admis jusqu'à ce jour qu'ils fournissent une corrélation nette avec la présence et la densité de virus ou d'agents pathogènes non gastro-intestinaux. Dans l'ensemble, il n'est guère pratiqué de contrôle de la qualité du sable de plage et ce n'est que récemment que celle-ci a commencé à être reconnue comme un facteur à prendre en compte dans la transmission d'un certain nombre d'infections de contact cutanées ou autres, notamment les mycoses.

13. La situation exposée au paragraphe 12 (e) ci-dessus revêt un caractère mondial plutôt que méditerranéen. Elle constitue toutefois un facteur de risque accentué dans la région quand on l'envisage associée aux autres facteurs spécifiquement méditerranéens. Cette remarque est également valable en ce qui concerne les études épidémiologiques établissant une corrélation entre la qualité des eaux à usage récréatif et les effets sur la santé et qui ont été réalisées en divers pays de la région au cours des vingt dernières années. Ces études reposaient essentiellement sur des protocoles admis au plan international et utilisés pour des études menées en dehors de la région, mais elles étaient d'une ampleur relativement restreinte. Dans une certaine

mesure, elles étaient toutes faussées, notamment dans l'interprétation des résultats, par plusieurs facteurs déroutants sur lesquels il s'était avéré difficile d'exercer un contrôle satisfaisant.

14. Pratiquement tous les Etats méditerranéens ont désormais instauré des programmes pour surveiller la qualité microbiologique et connexe de leurs plages de baignade. Ces programmes varient dans une mesure importante par leur portée et leur appui infrastructurel et, en outre, certains pays ayant des programmes relativement de longue date et complets, d'autres en ont qui restent aux premiers stades d'élaboration ou de mise en oeuvre. Dans le cadre du Programme à long terme de surveillance continue et de recherche en matière de pollution de la mer Méditerranée (MED POL - Phase II), l'OMS et le PNUE ont déployé de très gros efforts, et continuent à le faire, pour fournir toute l'aide possible sous forme de matériel et de formation à des laboratoires de la région, notamment à ceux des pays en développement, pour les amener à des niveaux adéquats de capacité dans la réalisation d'une surveillance microbiologique de routine. Bien que, par son importance, cette aide ne puisse être qualifiée que de catalytique, elle n'a pas médiocrement contribué aux progrès remarquables effectués au cours de la dernière décennie.

15. Conformément aux activités approuvées par les Etats méditerranéens pour la composante "recherche" de la Phase II du programme MED POL à la Deuxième réunion ordinaire des Parties contractantes, à Cannes en mars 1981 (PNUE, 1983), et conformément aux résolutions ultérieures des Parties contractantes concernant les eaux à usage récréatif et les eaux conchylicoles, l'OMS a organisé des études sur la mise au point d'une méthodologie appropriée pour la détermination des concentrations de certains micro-organismes pathogènes et indicateurs (y compris les relations agents pathogènes/indicateurs dans diverses matrices marines et connexes sous des conditions méditerranéennes spécifiques, sur les facteurs affectant la survie et l'adaptation des agents pathogènes et, en particulier, des études microbiologiques/épidémiologiques sur la corrélation entre la qualité des eaux côtières et du sable et les effets sur la santé (OMS/PNUE, 1990). Un exposé succinct des résultats de ces études et d'autres études pertinentes réalisées jusqu'à ce jour, ainsi de leur apport à une évaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les micro-organismes pathogènes, est fourni aux sections appropriées du présent document.

ENTREE DES MICRO-ORGANISMES PATHOGENES DANS LE MILIEU MARIN

Sources et apports

16. Les micro-organismes pathogènes pénètrent principalement dans le milieu marin par les rejets d'eaux usées municipales. Les résultats d'un projet pilote sur les polluants d'origine tellurique en Méditerranée (PNUE/CEE/ONUDI/FAO/UNESCO/OMS/AIEA, 1983), mené en 1977 dans le cadre du Programme conjoint coordonné de surveillance continue et de recherche en matière de pollution de la Méditerranée (MED POL - Phase I) a fourni une estimation d'approximativement 2×10^9 m³/an pour le volume total de rejets d'eaux usées par les collectivités côtières de la région. Ce chiffre a paru négligeable comparé à celui de 420×10^9 m³/an d'eau douce déversés par les cours d'eau. Cependant, bien que les cours d'eau puissent ajouter une quantité considérable de pollution microbiologique, surtout par suite des rejets d'eaux usées en amont, leur contribution relative effective à la pollution de la mer Méditerranée par les micro-organismes (pathogènes et autres) n'a pas été évaluée, et l'on a admis que la concentration élevée de micro-organismes dans les rejets d'eaux usées effectués directement dans les eaux côtières fait de ces rejets la principale source de pollution microbiologique atteignant la mer Méditerranée (PNUE/OMS, 1985). Une étude actualisée est actuellement en cours, mais l'on n'escompte pas que ses résultats seront disponibles avant 1992. Etant donné l'essor du développement du littoral au cours de la dernière décennie, on peut s'attendre à une augmentation de la quantité totale des eaux usées rejetées

depuis la dernière étude.

17. L'atmosphère peut également servir aux micro-organismes pathogènes de voie d'entrée dans le milieu marin. Brisou (1976) soutient que les vents soufflant des continents en direction de la mer véhiculent notamment des bactéries, des virus et des parasites, et que les pluies favorisent la retombée de ces contaminants dans les cours d'eau et les océans. Une autre source incriminée est constituée par les baigneurs eux-mêmes. Shuval (1986) déclare que les eaux à usage récréatif ne recevant pas d'effluents peuvent être contaminées par des entérovirus et que le sérotype trouvé dans l'eau est probablement le même que celui qui prédomine dans des infections humaines concomitantes. Ainsi, les eaux côtières contaminées de la sorte par les baigneurs eux-mêmes peuvent parfois servir de voie effective de transmission de certaines maladies virales. Il pourrait en aller de même pour d'autres infections bactériennes et fongiques. Les résultats d'études épidémiologiques et connexes centrées sur cet aspect précis sont passés brièvement en revue à la section pertinente du présent document. On recueille actuellement de plus en plus d'indices permettant d'associer des effets néfastes sur la santé à la baignade sur des plages très fréquentées, et la contribution des baigneurs eux-mêmes à la pollution des eaux à usage récréatif par les micro-organismes pathogènes est une question qui appelle un examen approfondi.

18. Les eaux usées non traitées ou insuffisamment traitées restent le principal motif de préoccupation, et leur évacuation dans le milieu marin attendant par des émissaires relativement courts, et dans de nombreux cas en bordure même du littoral, explique le faible degré de dilution et de dispersion dans la masse d'eau de mer réceptrice et les effets nocifs consécutifs entraînés dans les zones proches des points de rejet (PNUE/OMS, 1985).

19. En dehors des micro-organismes pathogènes (bactéries, virus et champignons) rejetés dans le milieu marin par les effluents d'égout ou d'autres sources terrestres, un autre groupe de micro-organismes se trouvant naturellement dans la mer et que l'on peut considérer comme pathogènes en raison de leur faculté de produire diverses toxines auxquelles l'homme est exposé principalement par la consommation de coquillages, peut créer une menace similaire pour la santé quand ces micro-organismes sont présents en grand nombre. Ces micro-organismes, des algues dinoflagellées principalement, sont à l'origine d'un phénomène que l'on appelle "prolifération algale" ou "eaux rouges" quand leur concentration dans l'eau de mer atteint des niveaux de 10^4 à 10^5 cellules par litre. Bien qu'il ne semble pas qu'on ait pleinement élucidé les conditions environnementales sous lesquelles ces micro-organismes sont capables de se multiplier à des taux élevés par reproduction asexuée, le fait que le phénomène des eaux rouges soit essentiellement côtier a conduit à estimer que le drainage des terres joue un rôle dans leur apparition (OMS, 1984). On a également démontré que l'importance des proliférations algales est proportionnelle au volume des masses d'éléments nutritifs apportées par les cours d'eau (OMS, 1991). Dans une synthèse récente (Shumway, 1990), on a estimé qu'un certain nombre de facteurs favorisaient les proliférations algales, et notamment l'enrichissement en éléments nutritifs (eutrophisation), la diminution de la pression de la pâture, des changements hydrométéorologiques à grande échelle, la remontée des eaux du fond riches en éléments nutritifs, des précipitations et un ruissellement importants, et jusqu'à l'existence de proliférations précédentes d'autres espèces phytoplanctoniques. Le même auteur déclare qu'il a aussi été solidement établi qu'il y a une corrélation directe entre le nombre de phénomènes d'eaux rouges et l'ampleur de la pollution côtière, en particulier celle imputable aux eaux usées et à certaines formes de déchets industriels.

20. Lors de la Quatrième réunion ordinaire des Parties contractantes à Gênes, en 1985, les Etats méditerranéens ont adopté une Déclaration (connue par la suite comme Déclaration de Gênes) par laquelle ils se sont engagés sur un certain nombre d'objectifs environnementaux à atteindre pendant la prochaine décennie d'exécution (1986-1995) du Plan d'action pour la Méditerranée. Ces objectifs incluent la mise en place en priorité de stations d'épuration dans toutes les villes de la Méditerranée de plus de 100.000 habitants et d'émissaires et/ou autres équipements dans toutes les villes de plus de 10.000 habitants.

21. Depuis l'adoption de la Déclaration de Gênes en septembre 1985, le nombre de stations d'épuration des eaux usées municipales et d'émissaires sous-marins évacuant les effluents au large a augmenté, et il en existe davantage qui en sont au stade de la planification. Toutefois, la Méditerranée prise dans son ensemble est encore loin d'avoir remédié de manière satisfaisante à la situation, notamment en ce qui concerne les zones précises où l'on sait que les proliférations algales se produisent et pour lesquelles les mesures préventives et correctives à la source sont plus complexes.

Survie et devenir

22. Au cours du siècle écoulé, de nombreuses études ont été menées en vue d'estimer le devenir des micro-organismes pathogènes entériques et non entériques (virus, bactéries, champignons et protozoaires) dans les estuaires et l'eau de mer par des expériences et observations tant *in situ* qu'en laboratoire. L'eau de mer ne constitue pas le milieu naturel pour la plupart des micro-organismes rejetés dans les effluents municipaux, notamment pour ceux qui proviennent du tractus intestinal de l'homme et d'autres animaux à sang chaud. Dans la première évaluation de l'état de la pollution microbienne de la mer Méditerranée (PNUE/OMS, 1985), il était énoncé que l'on pouvait s'attendre à ce que les concentrations des trois principaux groupes d'agents bactériens indicateurs (coliformes totaux, coliformes fécaux et streptocoques fécaux) ne demeurent pas inchangées dans les eaux de mer réceptrices mais qu'elles disparaissent plutôt progressivement. Mais on ajoutait que la question de savoir si tous les micro-organismes rejetés dans les effluents municipaux étaient définitivement inactivés dans les heures suivant leur brassage avec l'eau de mer réceptrice faisait l'objet d'importants débats et d'une recherche continue.

23. Les résultats d'études *in situ* menées lors du projet pilote sur le contrôle de la qualité des eaux côtières (MED VII) entre 1976 et 1980, dans le cadre du programme conjoint coordonné de surveillance continue et de recherche en matière de pollution de la Méditerranée (OMS/PNUE, 1981) et d'études menées ailleurs ont mis en évidence les différents schémas de survie des trois indicateurs bactériens mentionnés au paragraphe précédent. Alors que les coliformes totaux et les coliformes fécaux paraissent être inactivés assez rapidement et progressivement dans l'eau de mer sous les conditions naturelles, les streptocoques fécaux présentent un taux d'inactivation plus faible ainsi qu'une réduction moindre à long terme en pourcentage.

24. Les micro-organismes rejetés dans l'eau de mer sont rapidement adsorbés sur des particules de toute nature qui flottent dans l'eau (plancton, particules minérales, débris organiques divers) et quand on procède aux numérations de routine, cette adsorption aboutit à une diminution apparente du nombre d'organismes par unité de volume (Brisou, 1976). Ces adsorbants sont dilués, dispersés, floculés, déposés, ou ramenés vers le littoral. Le processus physico-chimique de floculation des cellules microbiennes et leur sédimentation ultérieure au fond de la mer sont tenus pour le mécanisme responsable de l'enrichissement microbiologique des sédiments dans les zones entourant les rejets d'eaux usées (Mitchell, 1975). Les turbulences naturelles et les courants marins peuvent être considérés comme un mécanisme vraisemblable par lequel des sédiments contaminés peuvent être remis en suspension, avec pour conséquence l'altération de la qualité microbiologique des eaux sus-jacentes (Volterra, 1980; Velescu, 1982).

25. La plupart des recherches menées sur la survie des micro-organismes rejetés dans le milieu marin par les eaux usées ont été centrées sur les organismes indicateurs bactériens. Les renseignements sur les organismes pathogènes sont rares comparativement. La situation générale concernant le devenir des micro-organismes pathogènes dans le milieu marin a fait l'objet d'un examen par le Groupe de travail OMS sur l'impact sanitaire de l'exposition humaine aux eaux douces et salines à usage récréatif qui s'est réuni à Rimini en février/mars 1990. Les informations données aux dix paragraphes suivants se fondent, pour l'essentiel, sur les parties pertinentes du rapport de la réunion (OMS, 1991), sauf quand d'autres références sont spécifiées.

26. La faculté de survie des micro-organismes allochtones dans les milieux marins naturels varie grandement selon le compartiment colonisé (eau, sédiment, organes intestinaux et tissus des organismes animaux, etc.). Pour l'eau de mer, des études menées *in situ* et en laboratoire ont montré que la lumière, la salinité, la température et la disponibilité d'éléments nutritifs sont les paramètres les plus importants influant sur la viabilité et, notamment, sur la survie des agents pathogènes microbiens d'origine humaine. La lumière paraît comporter le plus fort potentiel d'induction. Ses effets létaux croissent avec l'intensité: les valeurs de T90 (temps nécessaire à une réduction de 90% de la numération des germes) pour les bactéries sont généralement 50 à 100 fois plus faibles à la lumière qu'à l'obscurité. En outre, la lumière agit de manière synergique avec la salinité et, dans une certaine mesure, avec la température. L'action létale maximale s'observe dans l'eau sous fort rayonnement solaire et à salinité et température élevées. D'amples variations des valeurs de T90 sont enregistrées dans différentes zones marines pour les agents entéropathogènes. Ces différences sont imputables à des conditions environnementales très différentes. L'effet de la température dépend plus étroitement de l'organisme testé: certaines bactéries ou certains virus (par ex., *Salmonella typhi* et plusieurs coliphages) sont plus sensibles que d'autres (comme les shigelles) à une température élevée. Les vibrions (*Vibrio cholerae*, *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*) sont très sensibles à de faibles températures; ils deviennent généralement indécélables dans des milieux marins dont les températures sont inférieures à 15-18°C.

27. Les substances organiques provenant des eaux usées sont également des facteurs importants influant sur la survie des agents pathogènes puisqu'elles peuvent manifestement favoriser leur prolifération, ce qui n'est naturellement pas le cas pour des parasites stricts comme les virus.

28. Toutefois, ces facteurs physico-chimiques, en raison de leur importante influence écologique, pourraient exercer un effet direct ou indirect sur les microbes pathogènes en favorisant leur prolifération. En outre, une action antagoniste ou protectrice d'autres organismes marins (micro-organismes, végétaux ou animaux) est possible. Cependant, il est quelque peu hasardeux d'extrapoler des résultats de laboratoire aux milieux naturels: les divergences relevées entre les études *in situ* et les études *in vitro* proviennent de l'extrême complexité des conditions naturelles.

29. De plus, des expériences *in situ* et des études en laboratoire ont mis en évidence l'action antagoniste d'organismes marins sur les agents pathogènes microbiens. De nombreux animaux marins utilisent ces derniers, avec la microflore autochtone, comme source d'éléments nutritifs, et un grand nombre d'organismes marins (bactéries, champignons, algues, invertébrés) produisent des substances antibiotiques ou lytiques qui peuvent inhiber ou détruire des bactéries et virus telluriques. On peut supposer que cette action antagoniste par le biais de produits allélopathiques est plus marquée dans les eaux eutrophes ou dans les sédiments.

30. Quelle que soit l'origine des processus antagonistes, tant les virus pathogènes (virus entériques, poliovirus, virus de l'hépatite A) que les champignons (*Candida albicans*) survivent pendant des périodes plus longues que les bactéries.

31. 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 telles que les sédiments ou les tractus intestinaux des animaux. Toutes les expériences réalisées dans les sédiments marins ont conduit à conclure que les bactéries telluriques peuvent survivre plus longtemps (des semaines et parfois des mois) dans ces dépôts que dans la colonne d'eau. L'accroissement important de la capacité de survie a été attribué à l'origine à l'absence de lumière et à la présence d'éléments nutritifs organiques, bien que les sédiments contiennent de nombreux micro et macro-prédateurs et des micro-organismes produisant des antibiotiques. Des constatations récentes ont fait ressortir que les sédiments marins contiennent des osmolytes, permettant aux cellules entérobactériennes de réguler leur pression de turgescence et de restaurer un métabolisme normal sous les conditions marines.

32. Cette activité régulatrice peut être considérée comme un processus d'adaptation qui aiderait les agents pathogènes d'origine humaine à survivre dans le milieu marin. Des osmolytes organiques ont été décelés dans les dépôts marins, parfois à des concentrations assez élevées. De plus, les entérobactéries sont capables de fixer et d'utiliser ces osmolytes sous les conditions marines. Par conséquent, les sédiments marins pourraient favoriser l'entretien (et probablement la prolifération) des entérobactéries à l'état virulent et servir ainsi de réservoir pour ces contaminants allochtones. En outre, certaines eaux eutrophisées peuvent agir de la même manière, 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 précisément, on considère (Gauthier, 1990) que certaines des eaux eutrophisées et des sédiments marins pourraient être des "zones à haut risque" puisqu'agissant comme réservoirs produisant des cellules résistantes "adaptées" d'agents entéropathogènes gardant toute leur virulence. Dans ces zones, on suppose que la "survie" résulterait de l'équilibre entre l'action 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 dépendrait dans une large mesure de la composition des populations d'algues et d'invertébrés.

33. Le comportement des agents pathogènes microbiens dans les appareils intestinaux et les tissus des animaux aquatiques est loin d'être élucidé. Une fois fixés dans les poissons ou les mollusques, ces agents se comporteraient différemment qu'ils ne le font dans l'eau. Cependant, il est nécessaire d'obtenir des données complémentaires pour confirmer ces différences et élucider les processus responsables d'une adaptation spécifique *in vivo* des bactéries telluriques.

34. En plus de ces considérations "classiques", il convient également de prendre en compte certaines observations récentes qui sont suivies le développement des méthodes de microscopie directe permettant la numération des cellules bactériennes viables. Colwell et coll., à l'université du Maryland, ont avancé que les agents pathogènes bactériens peuvent évoluer vers un état *viable mais non cultivable* dans l'eau de mer, état dans lequel ils garderaient leur pouvoir infectieux et leur virulence et que l'on pourrait considérer comme une phase de transition vers l'inactivité. Bien que cela reste à confirmer pour plusieurs agents pathogènes bactériens, on peut admettre que ces cellules viables non cultivables restent potentiellement virulentes pour l'homme. Cependant, cette évolution vers l'inactivité paraît être surtout liée au manque d'éléments nutritifs et pourrait être à exclure dans le cas d'eaux eutrophisées.

35. A part cela, toute modification des conditions environnementales pourrait notablement modifier la survie et l'évolution des agents pathogènes bactériens dans la mer. La prolifération d'algues mucilagineuses dans la mer Adriatique en 1988 et 1989 a laissé entrevoir la possibilité que, sous ces conditions nouvelles, des agents pathogènes opportunistes résistent ou se multiplient de manière exceptionnelle. Des études récentes consacrées à la présence et l'évolution d'indicateurs bactériens ou d'agents pathogènes au cours d'épisodes de "mucilage" ont montré que les eaux colorées observées le long des côtes de l'Adriatique correspondent à une réduction généralisée des titres entéromicrobiens de ces eaux pendant les périodes en question. Cependant, des échantillons contenant du mucilage ont paru particulièrement enrichis en organismes halophiles marins, tels que les espèces *Vibrio*, *Aeromonas* et *Pseudomonas*, ce qui indique que des agents pathogènes autochtones opportunistes peuvent être présents dans l'eau de mer et se développer à l'excès sous ces conditions anormales.

36. Les virus sont capables de survivre sur des périodes prolongées à l'extérieur d'un hôte animal (Akin et al., 1975) et peuvent rester infectieux pendant plusieurs semaines ou plus après rejet dans les eaux réceptrices. Les virus entériques peuvent survivre de quelques jours à plus de 130 jours dans l'eau de mer, une survie qui dépend de la température, de la salinité, du type de virus, de l'antagonisme bactérien, des matières solides en suspension et de la pollution. Les facteurs influant sur la survie virale ont été examinés par Gerba et Goyal (1987). La température paraît être le facteur déterminant primordial de la survie virale dans l'eau de mer, avec une inactivation accrue

dans les eaux plus chaudes. La fixation de virus par les mollusques et crustacés a été clairement démontrée et, à l'instar des bactéries, la plupart des virus se concentrent dans le système digestif de l'hôte. Une fois à l'intérieur d'un mollusque ou crustacé, la survie des virus paraît se prolonger davantage (Metcalf et Stiles, 1965).

37. Plusieurs auteurs ont avancé que l'association à des particules prolonge notablement la capacité de survie des virus et augmente leur potentiel d'interaction avec les organismes marins locaux (Shumway et Hurst, 1991). La rétention des virus par l'appareil branchial est favorisée par leur adsorption sur des matières particulaires, et ce phénomène peut revêtir une importance toute particulière pour les moules dont on sait qu'elles se nourrissent beaucoup de matières organiques remises en suspension. Les virus associés aux matières solides et transférés jusqu'aux plages de baignade et aux eaux conchylicoles peuvent donc se transmettre à l'homme (Rao *et al.*, 1986). Dans l'étude menée en 1972-1978 par l'Environment Protection Agency des Etats-Unis sur la qualité de l'eau et les symptômes gastro-intestinaux, l'association entre les maladies relevées et la présence de quelques rares bactéries indicatrices (10 *E. coli* par 100 ml) a donné à penser que les agents responsables de la maladie étaient extrêmement infectieux, se trouvaient en grand nombre dans les eaux usées et survivaient plus longtemps qu'*E. coli* dans le milieu marin. Ces caractères, conjointement aux aspects cliniques de la maladie, évoquaient une étiologie virale (Cabelli *et al.*, 1982). Des expérimentations récentes réalisées en mer Adriatique indiquent que certaines espèces d'algue adsorbent les virus et réduisent leur pouvoir infectieux décelable (Patti *et al.*, 1990). Toutefois, les virus adsorbés peuvent être infectieux à l'état libre et l'on estime que les algues unicellulaires, notamment au cours des épisodes de leur prolifération, peuvent servir de véhicules pour transférer les virus jusqu'aux zones balnéaires et conchylicoles.

MICRO-ORGANISMES PATHOGENES DANS LE MILIEU MARIN MEDITERRANEEN

Considérations d'ordre général

38. A de rares exceptions près, l'estimation de la présence de micro-organismes pathogènes lors des programmes de surveillance de la pollution des eaux marines à usage récréatif et conchylicoles continue à reposer dans une large mesure sur les concentrations d'un ou plusieurs organismes indicateurs bactériens retenues comme indice d'acceptabilité ou de non acceptabilité. On citera, parmi les exceptions, la Directive de la CEE de 1975 sur la qualité des eaux de baignade (CEE, 1976) qui interdit toute tolérance pour *Salmonella* et les entérovirus mais limite la fréquence d'échantillonnage à la discrétion des autorités nationales en stipulant que celles-ci doivent contrôler les concentrations quand une inspection de la zone de baignade indique que le contaminant peut être présent ou que la qualité de l'eau de mer s'est dégradée. Etant donné que les concentrations de l'indicateur bactérien fournissent une mesure du degré de la pollution fécale totale, alors que la concentration d'agents pathogènes dans les eaux usées est fonction du nombre de cas cliniques ou infra-cliniques avec excrétion des organismes pathogènes spécifiques en question, les concentrations prévues d'agents pathogènes dans l'eau de mer ou dans les coquillages devraient être bien plus faibles que celles des indicateurs. L'examen de routine des eaux usées ou de l'eau de mer pour y rechercher des micro-organismes pathogènes est rendu impraticable pour les raisons ci-après: a) on ne dispose pas d'une procédure unique permettant d'isoler et d'identifier tous les agents pathogènes; b) des résultats négatifs concernant tel ou tel agent pathogène ne peuvent être considérés que comme provisoires car la méthodologie, en l'état actuel de nos connaissances, n'est pas suffisamment sensible pour déceler un niveau d'un agent pathogène dans les volumes d'eau de mer (100 ml) habituellement utilisés pour les indicateurs, et c) même dans le cas de *Salmonella*, qui est probablement l'organisme le plus ubiquitaire, les techniques d'isolement mettent en jeu des procédures assez complexes qui excèdent les capacités de nombreux laboratoires pratiquant les examens de routine. Dans le cas des virus, la surveillance ne peut être effectuée que dans des laboratoires relativement bien équipés, et le plus souvent dans le cadre de projets de recherche spéciaux et d'autres études apparentées.

39. Il résulte de ce qui précède que les données sur la présence et la densité de micro-organismes pathogènes dans l'eau de mer et les coquillages sont rares par rapport à celles dont on dispose pour les indicateurs couramment employés de pollution fécale de la mer par les eaux usées. Les statistiques de morbidité globale sont à elles seules insuffisantes, puisque pratiquement toutes les maladies causées par des agents pathogènes peuvent être contractées par des voies autres que le milieu marin. Il y a toutefois eu des cas où des associations de cette nature ont été établies de manière concluante, notamment en ce qui concerne les mollusques et les crustacés.

40. Sur un plan très général, les micro-organismes pathogènes peuvent être classés *grosso modo* en deux catégories: ceux qui affectent le tractus gastro-intestinal et ceux qui affectent d'autres parties de l'organisme. S'agissant de la première catégorie, virtuellement, toutes les maladies qui sont propagées par la voie fécale/orale et dont les agents étiologiques sont éliminés dans les fèces de sujets atteints ou de porteurs, pourraient être contractées par natation dans des eaux polluées par des effluents d'égout (Cabelli, 1983). Le même auteur a indiqué que ces maladies comprennent: a) des affections bactériennes comme la salmonellose (y compris les fièvres typhoïde et paratyphoïde), la shigellose (dysenterie bacillaire), le choléra et la gastro-entérite causée par *E. coli* entéropathogène, *Yersinia enterocolitica*, etc. b) des affections virales telles que l'hépatite infectieuse, les maladies dues aux entérovirus (poliovirus, virus Coxsackie A et B, virus ECHO, réovirus et adénovirus, et c) des affections dues à divers parasites protozoaires et métazoaires, telles que la dysenterie amibienne, la lambliaose, l'ascaridiose, etc.

41. Dans la mesure où l'ingestion effective d'eau lors de la natation ou de la baignade est forcément limitée, et à l'exception des agents pathogènes dont la dose infectante est relativement faible, les affections sus-mentionnées peuvent être contractées plus facilement par la consommation de poissons et de mollusques/crustacés crus ou insuffisamment cuits. Parmi les autres agents pathogènes signalés (Wood, 1976) comme provoquant chez l'homme des infections par cette voie, il y a *Vibrio parahaemolyticus* et *Clostridium botulinum* (type E), dont l'habitat naturel est la mer. De fait, on dispose de nombreuses preuves de la propagation de maladies à l'homme après la consommation de coquillages contaminés. Un large spectre de maladies a été décrit (Shuval, 1986), les principales étant les fièvres typhoïde et paratyphoïde, la salmonellose, les infections dues à *Vibrio parahaemolyticus*, l'hépatite virale de type A (hépatite infectieuse), l'intoxication paralysante par les fruits de mer et le choléra.

42. La situation concernant les mollusques/crustacés offre deux aspects: la qualité des eaux dans lesquelles ils sont élevés ou récoltés (que l'on peut mesurer par l'analyse de l'eau ou par celle des mollusques et crustacés eux-mêmes quand ils sont encore dans ce milieu) et la qualité de ces produits quand ils arrivent sur le marché. La teneur microbiologique des mollusques et des crustacés prélevés dans des eaux polluées peut être considérablement accrue par suite d'un traitement ou d'un stockage défectueux.

43. En dehors des affections touchant l'appareil gastro-intestinal, un certain nombre de maladies ou de troubles atteignant l'oeil, l'oreille, la peau, les voies respiratoires supérieures et d'autres sièges ont été associés à la baignade. Cette catégorie particulière d'états infectieux peut avoir pour cause des micro-organismes comme *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Clostridium welchii* et *Candida albicans*, et ces germes peuvent se transmettre quand ils pénètrent dans des ruptures ou des déchirures cutanées, ou dans des ruptures des membranes fragiles de l'oreille ou du nez par suite de traumatismes survenant lors de plongées dans l'eau (Shuval, 1985). Ces micro-organismes ont été décrits (Mood et Moore, 1976) comme souvent présents chez l'homme mais n'occasionnant une affection que si, pour une raison ou une autre, la résistance du sujet qui les héberge est affaiblie. Bien que les quatre espèces précitées puissent également être décelées dans l'eau polluée, les mêmes auteurs estiment qu'il faut accueillir avec réserve l'idée selon laquelle un individu souffrant d'infection a contracté celle-ci dans l'eau polluée, car il est fort probable qu'il ait été porteur de l'agent responsable avant de s'y être baigné, et la maladie peut

être dans une grande mesure déterminée par la sensibilité du sujet plutôt que par l'exposition aux organismes dans le milieu marin.

44. Un bref résumé des données disponibles sur divers agents pathogènes du milieu marin méditerranéen est fourni aux prochains paragraphes de cette section. Ces données sont destinées à fournir une vue d'ensemble avec des exemples précis plutôt qu'à tenter de compiler tous les comptes rendus des recherches publiées.

Agents pathogènes bactériens

45. Les espèces *Salmonella*, qui sont les agents des fièvres typhoïde et paratyphoïde, d'intoxications alimentaires et de gastro-entérites, sont distribuées dans le monde entier et abondamment représentées en Méditerranée. On estime (Brisou, 1976) que tous les pays du pourtour méditerranéen sont, dans l'ensemble, des réservoirs importants de salmonelles. Si l'on a prêté une grande attention à *S. typhi*, *S. paratyphi A* et *S. paratyphi B*, un grand nombre d'autres sérotypes ont été isolés dans la région. Ce sont au total 29 sérotypes que l'on a isolés en Grèce au cours d'une seule étude (Vassiliadis *et al.*, 1987), dont 24 provenant d'eaux fluviales contaminées par des effluents d'égout. Plusieurs sérotypes différents ont également été isolés en France, en Israël, en Italie, en Espagne et en Yougoslavie (Brisou, 1976). Lors d'une enquête de trois ans sur la pollution par les salmonelles des eaux marines côtières du golfe de Trieste (Majori *et al.*, 1978), 401 échantillons sur 1059 (soit 37,8%) étaient positifs pour des souches de *Salmonella* qui se répartissaient parmi un large spectre de sérotypes. Ce sont au total 220 souches de *Salmonella* qui ont été isolées dans des effluents d'égout à Alexandrie (El-Sharkawi *et al.*, 1982). Les salmonelles ne survivent pas longtemps dans l'eau de mer, et l'infection résultant directement de la baignade ou d'autres activités récréatives a peu de chances de se produire en raison de la dose infectante relativement élevée qui est nécessaire dans le cas de la plupart des sérotypes. Par contre, la dose infectante de *S. typhi* et de *S. paratyphi A* et B est considérablement plus faible. La consommation de produits de la mer soulève un problème différent, car les bactéries sont concentrées soit par les coquillages se nourrissant par filtration soit sur les branchies des poissons. Dans les coquillages, la concentration peut être 50 fois plus élevée que dans l'eau (PNUE/OMS/IAEA, 1988).

46. Les espèces *Shigella*, qui sont les agents de la dysenterie bacillaire, sont également, comme les salmonelles, largement distribuées dans l'ensemble du monde. *Shigella* est endémique sur les rives Est et Sud la Méditerranée (Brisou, 1976). Les cas signalés dans la région appellent une évaluation plus complète de la situation que celle entreprise jusqu'ici, et des statistiques sur la présence de *Shigella* dans les eaux usées devraient constituer la première étape pour établir sa corrélation avec les cas de dysenterie (PNUE/OMS/IAEA, 1987). Un certain nombre d'auteurs signalent que ces micro-organismes ont un temps de vie relativement court dans le milieu marin. Toutefois, on a fait état (El-Sharkawi, 1986) de différences peu importantes du temps de survie dans l'eau de mer de *Shigella flexneri* par rapport à ceux de *Salmonella typhi*, *S. wien* et *Escherichia coli*.

47. Le choléra est l'une des principales affections 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. Des cas ont été signalés dans diverses parties de la Méditerranée, notamment en Espagne, en France, en Algérie et au Maroc (Brisou, 1976), et une poussée importante dans laquelle des moules ont été identifiées comme les agents étiologiques, s'est produite en Italie en 1973 (Baine *et al.*, 1974). *Vibrio cholerae* non 01 a été isolé dans deux échantillons d'eau de mer de zones balnéaires de l'Adriatique Nord au cours d'une enquête menée en 1989 (Maini *et al.*, 1990). Brisou *et al.* (1962) ont isolé 44 souches de vibrions provenant du littoral algérien, dont seules quelques-unes sont considérées comme pathogènes, mais on dispose d'indices manifestes selon lesquels certaines souches de bactéries aquatiques résidentes sont capables de provoquer de la gastro-entérite, des infections générales

et des intoxications chez l'homme (Shumway et Hurst, 1991). Les vibrions NAG (non agglutinables), responsables de gastro-entérite, sont également décelés fréquemment dans les coquillages de la région. Comme dans le cas du vibrion cholérique, ils sont rejetés par les effluents d'eau d'égout et l'infection se produit très vraisemblablement par la consommation de coquillages contaminés. 214 sérotypes de *Vibrio* ont été analysés et identifiés au total lors d'une étude récente à Toulon (Martin et Bonnefont, 1990) portant sur des échantillons d'effluent, d'eau de mer et de moules. La population présente dans l'effluent était très variée et comprenait plusieurs espèces significatives sur le plan sanitaire comme *V. fluvialis*, *V. cholerae* (non 01) et *V. metchnikovii*, dont aucune, toutefois, n'a été retrouvée dans l'eau de mer et les moules.

48. Deux autres espèces *Vibrio* largement 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 eaux usées. Dans le cas de *V. parahaemolyticus*, la principale cause d'infection intervient à nouveau par les coquillages (PNUE/OMS/AIEA, 1988), bien que le contact de plaies avec l'eau de mer constitue une autre voie de transmission (OMS, 1982). *Vibrio alginolyticus* occasionne otites, angines et infections de plaies. On le trouve dans les zones marines côtières et sa principale voie de transmission à l'homme a lieu par contact avec l'eau de mer et les sédiments. *Vibrio parahaemolyticus* et, dans une moindre mesure, *V. alginolyticus*, ont été isolés dans un grand nombre de pays méditerranéens (Boccia *et al.*, 1978), les échantillons examinés comprenant l'eau de mer, les moules, les mollusques benthiques et les sédiments. Volterra (1989) communique pour *V. parahaemolyticus* une concentration relative de 10^3 dans les moules (*Mytilus galloprovincialis*), de 10^4 dans *Ensis siliqua* et de 10^5 dans *Chamelea gallina*, contre 10^1 dans l'eau de mer. L'étude a été réalisée dans différents bancs de mollusques situés le long de la côte tyrrhénienne. Sur un total de 165 échantillons prélevés dans les environs d'Alexandrie en 1979/1980, les numérations de *V. parahaemolyticus* par 100 ml ou 100 g étaient les suivantes: 36 pour l'eau de mer, 349 pour *Echinus*, 436 pour les sédiments, 534 pour *Tapes* et 1872 pour *Donax trunculus*. Des échantillons prélevés en été présentaient des concentrations plus élevées que des échantillons prélevés en hiver (El-Sahn *et al.*, 1982). *V. parahaemolyticus* et *V. alginolyticus* ont également été isolés dans des échantillons d'eau de mer provenant de zones balnéaires de l'Adriatique Nord en 1989 (Maine *et al.*, 1990), et on a constaté que *V. alginolyticus* était l'espèce prédominante dans l'eau de mer et les moules prélevées dans l'enquête de Toulon (Martin et Bonnefont, 1990). Les niveaux d'espèces vibrioniques enregistrés dans l'eau de mer au cours d'une étude épidémiologique sur deux plages espagnoles ont fourni des numérations de 100-2800 par 100 ml pour la plage la moins polluée et de 250-12000 pour la plus polluée (Borrego *et al.*, 1988). Aucune distinction entre les espèces n'était opérée.

49. *Staphylococcus aureus* et les espèces apparentées (*S. epidermis* notamment) sont des agents pathogènes potentiels associés à la peau, aux glandes cutanées et aux muqueuses des animaux à sang chaud, homme y compris. Ils sont décelés dans les piscines et les eaux de baignade naturelles, et les souches coagulase-positives sont responsables de toute une série d'infections et d'intoxications comme les furoncles, les abcès, la méningite, la pyohémie, l'ostéomyélite, l'otite, la suppuration des plaies et l'intoxication alimentaire. *Staphylococcus aureus* est tolérant au sel et capable de survivre dans le milieu marin (PNUE/OMS/AIEA, 1988). Les otites ainsi que les autres infections touchant la peau et les voies naso-pharyngiennes sont soupçonnées d'être transmises par les eaux de baignade (OMS, 1982). L'origine de l'agent pathogène dans l'eau de mer est attribuée aux activités humaines, puisque l'on a constaté que toutes les souches étaient disséminées par des baigneurs dans toutes les conditions de natation (Robinson et Mood, 1966). Sur 628 échantillons d'eau côtière contrôlés en Israël, 60,7% renfermaient *S. aureus*. En décomposant les résultats, on a obtenu une amplitude de 49,5% pour la charge des plages les moins fréquentées (Yoshe-Purer, 1987). Une comparaison entre les concentrations de *S. aureus* dans l'eau de mer et le sable de plages très et peu fréquentées de Grèce (Papadakis *et al.*, 1989) a fourni des relevés positifs dans tous les échantillons. Si les concentrations dans l'eau de mer n'étaient pas significativement différentes selon les plages, des concentrations considérablement plus élevées ont été trouvées dans le sable des plages très

fréquentées. *S. aureus* n'a pas été isolé dans l'eau de mer et le sable de plages espagnoles lors d'une étude menée en 1988 (Borrego *et al.*, 1988), mais les auteurs confirment sa présence dans des enquêtes antérieures.

50. Bien que *Staphylococcus aureus* soit lié à l'intoxication alimentaire en général, la transmission de celle-ci par les coquillages est assez rarement mentionnée. En Egypte, des coquillages prélevés dans des eaux extrêmement polluées ont été jugés d'une qualité inacceptable en raison de la présence de micro-organismes pathogènes comprenant *S. aureus* (El-Sharkawi *et al.*, 1982). En France, les normes microbiologiques imposées aux coquillages destinés à la consommation comportent une limite admissible de 100 *S. aureus* par gramme (PNUE/OMS, 1987).

51. *Pseudomonas aeruginosa* occasionne des infections des oreilles et des yeux, ainsi que des infections des plaies, des brûlures et des voies urinaires, et de l'entérite. Comme *Staphylococcus aureus*, il est répandu en Méditerranée. On estimait à l'origine que la voie de transmission consistait principalement dans les piscines contaminées (OMS, 1982), mais on incrimine désormais de plus en plus ce germe dans des infections de l'oreille, de la gorge et de la peau transmises par baignade dans de l'eau de mer contaminée (PNUE/OMS/AIEA, 1988). De nombreux cas de folliculite, de dermatite, d'infection de l'oreille et des voies urinaires dus à *P. aeruginosa* transmis par la baignade dans de l'eau contaminée ont été signalés (Yosher-Purer, 1987), bien que l'auteur n'établisse aucune distinction pour le milieu de transmission entre les piscines et l'eau de mer.

52. *P. aeruginosa* peut être récupéré dans environ 10% des fèces humaines normales, et il est par conséquent fréquemment décelé dans les eaux usées où ses concentrations peuvent atteindre 10^5 par 100 ml (Rhame, 1979). Des numérations dépassant 1600/100 ml ont été relevées en Espagne dans un fleuve pollué près de son embouchure (Alonso Molina *et al.*, 1984) et des numérations plus faibles (0-210) l'ont été dans l'eau de mer (Borrego *et al.*, 1988). En Israël, sur 652 échantillons d'eau de mer provenant de diverses plages et prélevés entre 1983 et 1984, près de 50% renfermaient *P. aeruginosa*. Dans un petit nombre de ces échantillons, l'indicateur normal (coliformes fécaux) était d'une concentration faible ou absent (Yoshe-Purer, 1987).

53. On a également relevé des concentrations élevées d'espèces *Pseudomonas* dans les coquillages. Volterra (1989) fait état de concentrations atteignant jusqu'à 110.000 par 100 ml dans *Mytilus galloprovincialis*, 460.000/100 ml dans *Donax trunculus*, 42.000/100 ml dans *Ensis siliqua* et 34.000/100 ml dans *Chamelea gallina*. Les concentrations étaient supérieures de un à quatre ordres de grandeur à celle des eaux environnantes.

54. D'autres agents bactériens pathogènes ou potentiellement pathogènes relevés en Méditerranée (PNUE/OMS/AIEA, 1988) et capables d'entraîner des gastro-entérites de degré variable par la consommation de coquillages contaminés ou, dans une moindre mesure, par l'ingestion d'eau de mer polluée pendant la baignade, comprennent *Clostridium perfringens*, les espèces *Campylobacter* et *Esterichia coli* entéropathogène. *C. perfringens* est rejeté en quantités considérables dans les eaux usées où il est principalement d'origine humaine. Il possède un taux de survie relativement élevé dans le milieu marin, mais il ne se reproduit pas dans les sédiments. Des numérations importantes de clostridia totaux dans les sédiments, par comparaison avec les coliformes totaux, les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux dans les mêmes échantillons, ont été signalées (Volterra *et al.*, 1985). Ce n'est que récemment que l'on a reconnu que *Campylobacter* est un germe pathogène important chez l'homme (Geldreich, 1985); *C. jejuni* et *C. coli* provoquent de la diarrhée et de la fièvre. *Campylobacter jejuni* et, dans une moindre mesure, *C. faecalis*, ont été isolés assez régulièrement en Grèce, notamment en juillet/août, à partir de rejets d'eaux usées et d'eau de mer polluée (Papadakis, 1987). On estime qu'il conviendrait encore de mener des études fondamentales sur ces organismes (PNUE/OMS/AIEA, 1988). Des membres du groupe D de streptocoques (selon la classification de Lancefield), à savoir *S. faecalis*, *S. faecium*, *S. bovis* et *S. equinum*, ont été incriminés dans des poussées d'affections d'origine alimentaire associées à des sources essentiellement non marines. Des cas

mettant en cause les coquillages sont moins bien établis. Des streptocoques hémolytiques (groupe A de la classification de Lancefield) et d'autres streptocoques (groupes A et C) ont été relevés dans des eaux de baignade (OMS, 1982), et l'on pense qu'ils pourraient être transmis à l'homme par cette voie.

55. Parmi d'autres germes pathogènes non entériques ou non complètement entériques se rencontrant en Méditerranée, on citera *Aeromonas hydrophila* qui provoque des septicémies chez des hôtes aux défenses immunitaires affaiblies, de la diarrhée, de la pneumonie, des abcès et l'infection de plaies. Il peut être transmis par contact ou par ingestion d'eau, ou encore par la consommation de produits de la mer contaminés. Les niveaux enregistrés dans l'eau de mer en Espagne variaient de 0-50/100 ml aux plages non polluées à 80-11800/100 ml aux plages polluées (Borrego *et al.*, 1988). Les niveaux relevés dans les coquillages sont de 36.000/100 ml dans *Mytilus galloprovincialis*, de 740.000/100 ml dans *Donax trunculus* et de 22.000/100 ml dans *Ensis siliqua* (Volterra, 1989).

Virus

56. On connaît plus de 120 types de virus différents qui sont excrétés dans les fèces de sujets humains infectés, que ceux-ci présentent ou non des manifestations pathologiques (Rao *et al.*, 1986). Ces virus appartiennent à des groupes variés, à savoir notamment les entérovirus (poliovirus, virus Coxsackie, virus ECHO et virus de l'hépatite A), réovirus, adénovirus et parvovirus (virus adéno-associés). Ces groupes sont récapitulés sommairement sur le tableau 1 avec le nombre de leurs types et les affections qu'ils provoquent. La fréquence d'isolement et la quantité de virus récupérés dans les eaux usées ne dépendent pas seulement des infections causées par des virus d'apparition naturelle et de celles induites par le vaccin antipoliomyélitique oral mais aussi de l'efficacité des procédures de récupération. Selon Sellwood *et coll.* (1981), les sérotypes qui peuvent être détectés à tout moment dans les eaux usées, hormis pour les poliovirus, reflètent plus ou moins les virus circulant avec la plus haute fréquence dans la collectivité. Cependant, dans les pays utilisant le vaccin oral de Sabin pour immuniser contre la poliomyélite, on peut s'attendre à ce que les trois souches de poliovirus soient présentes dans les effluents urbains, et l'on a suggéré qu'ils pourraient constituer un indicateur approprié de qualité virologique de l'eau (Payment *et al.*, 1979). Dans plus d'un pays méditerranéen, les poliovirus sont décelés dans chaque échantillon d'eaux usées testé (Krikelis *et al.*, 1985).

57. Des entérovirus ont été relevés dans des effluents d'égout et/ou de l'eau de mer en maintes parties de la Méditerranée. Selon la bibliographie disponible, les isolats comprennent les trois sérotypes de poliovirus, les sérotypes 1-5 du virus Coxsackie B et les sérotypes 1, 7 et 30 des virus ECHO (Krikelis *et al.*, 1985a, 1985b, 1986), le virus de l'hépatite A (Papaevangelou *et al.*, 1990) ainsi qu'un grand nombre de sérotypes non établis ou non spécifiés (Krikelis, 1987; Petrilli *et al.*, 1985a) avec un certain nombre d'isolats non typés.

Tableau 1

VIRUS ENTERIQUES HUMAINS QUI PEUVENT ETRE PRESENTS
DANS L'EAU POLLUEE*

Groupe de virus	Nombre de types	Maladie provoquée
Entérovirus:		
Poliovirus	3	Paralyse, méningite, fièvre
Echovirus	31	Méningite, atteinte des voies respiratoires, éruption cutanée, diarrhée, fièvre
Virus Coxsackie A	23	Herpangine, atteinte des voies respiratoires, méningite, fièvre
Virus Coxsackie B	6	Myocardite, anomalies cardiaques congénitales, éruption cutanée, fièvre, méningite, atteinte des voies respiratoires, pleurodynie
Nouveaux entérovirus:		
Types 68-71	>4	Méningite, encéphalite, atteinte des voies respiratoires, conjonctivite hémorragique aiguë, fièvre
Entérovirus type 72 (virus de l'hépatite A)	1	Hépatite virale A
Virus de la gastro-entérite (Norwalk)	2	Vomissements et diarrhée épidémiques, fièvre
Rotavirus	4	Vomissements et diarrhée épidémiques, principalement chez les enfants
Réovirus	3	Non établie avec précision
Adénovirus	37	Atteinte des voies respiratoires, infections oculaires, gastro-entérite
Parvovirus (dépendovirus)	3	Fièvre, éruption cutanée, aplasie médullaire

* D'après Rao *et al.*, 1986

58. Comme même une seule unité formatrice de plaque de lyse cellulaire ("plaque-forming unit", PFU, des auteurs anglo-saxons) ou (selon une autre terminologie utilisée) unité cytopathogène ("cytopathogenic unit", CPU) de virus peut entraîner une infection quand elle est ingérée, la présence de virus humains dans l'eau de mer est à prendre au sérieux et le danger d'infection par baignade dans des eaux polluées n'est donc pas imaginaire (Katzenelson, 1977). Bien que les études épidémiologiques n'aient pas permis jusqu'ici d'établir une nette corrélation entre la natation en eau polluée et des épidémies virales, on ne peut écarter la possibilité de cas sporadiques d'infection. La plupart des travaux de recherche réalisés en Méditerranée sur les virus dans les eaux usées et dans l'eau de mer ont été soit qualitatifs soit quantitatifs de manière bien distincte. Parmi les résultats des travaux quantitatifs, les concentrations d'entérovirus relevées dans les effluents urbains en Méditerranée orientale ont varié de 10 à 90 CPU par litre, et celles d'adénovirus de 70 à 3200 CPU par litre. Dans les eaux côtières, on a enregistré un intervalle de variation de 5 à 145 CPU par litre pour les virus totaux (Krikelis *et al.*, 1985a, 1987). Parmi les relevés effectués en Méditerranée occidentale, les valeurs moyennes pour les entérovirus totaux s'établissaient à 258 CPU par 10 litres dans les eaux usées brutes, et à 1,35-2,1 CPU par kg dans les sédiments marins (Jofre, 1987). Dans une autre série d'expérimentations, les valeurs moyennes de récupération de virus entériques dans 24 échantillons de sédiments variaient entre 200 CPU et 57 FF par kg pour les entérovirus et les rotavirus, et 130 CPU et 140 FF par kg pour les entérovirus et les rotavirus respectivement, en fonction du procédé spécifique d'éluion utilisé (Jofre *et al.*, 1989).

59. Le rôle des mollusques et des crustacés comme vecteurs de maladies entérovirales humaines est bien établi. Les virus dont a démontré par des études épidémiologiques qu'ils sont transmis par des fruits de mer comprennent ceux de l'hépatite A, de l'hépatite non A/non B, de Norwalk, l'agent de Snow Mount, les astrovirus, les virus Coxsackie et de petits virus ronds. Parmi ces virus, ceux de l'hépatite A et de Norwalk paraissent être les plus préoccupants pour les responsables de la santé publique (Shumway et Hurst, 1991). Il y a, au niveau mondial, un certain nombre de 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 que nombre de ces cas sont imputables à un agent viral non identifiable plutôt qu'à un agent bactérien pathogène (Geldreich, 1985).

60. Un certain nombre d'épidémies d'hépatite infectieuse A se sont déclarées en Europe et aux Etats-Unis au cours des 30 dernières années, en plus du fond endémique de cas sporadiques qui peuvent se monter à plusieurs centaines par an (Shuval, 1986). On a indiqué (Stille *et al.*, 1972) que la consommation de mollusques et de crustacés représentait, selon les estimations, 19% des cas d'hépatite A à Francfort, et les cas recensés en Allemagne étaient surtout imputables à la consommation d'huîtres et de moules qui avait eu lieu sur le littoral méditerranéen. Le poliovirus, le virus Coxsackie A18 et les virus ECHO 3, 5, 6, 8, 9, 12 et 13 ont été diversement relevés dans des moules, en France et en Italie, tandis qu'en Grèce on a isolé le virus et/ou l'antigène de l'hépatite A dans des coquillages provenant d'eaux polluées (Papaevangelou *et al.*, 1990). Les virus contaminant les moules relevés en Méditerranée sont brièvement récapitulés sur le tableau 2.

Tableau 2

VIRUS CONTAMINANT LES MOULES RELEVES
EN MEDITERRANEE

Virus contaminant	Localisation	Référence
Virus ECHO 5, 6, 8, 12 Virus Coxsackie A18	Italie	Bandinelli et Ruschi, 1969
Poliovirus 3	Italie	Petrilli et Crovari, 1965
Virus ECHO 3, 9, 13	Italie	Bellelli et Leogrande, 1967
Virus Coxsackie A18	France	Denis, 1973
Virus de l'hépatite A antigène viral de l'hépatite	Grèce	Papaevangelou <i>et al.</i> , 1990

61. Il convient de noter que le diagnostic clinique des maladies virales dépend de l'isolement du virus et d'une séroréaction positive. Comme, dans de nombreux pays méditerranéens, on ne dispose guère en pratique courante des moyens diagnostiques nécessaires, il s'ensuit que l'ampleur des affections virales, notamment en nombre de cas individuels, reste très mal connue.

Parasites animaux divers

62. On dispose d'assez peu d'informations sur les risques sanitaires résultant de la présence de parasites animaux dans le milieu marin. Les oeufs d'ascaris, de toxoplasme, d'oxyure et de *Trichuris* sont capables de survivre pendant des mois dans le milieu marin, et l'ingestion d'un seul

oeuf suffit à provoquer l'infection (PNUE/OMS/AIEA, 1988). Ces quatre espèces de nématode précitées sont courantes dans la région méditerranéenne. Les oeufs sont éliminés dans les fèces par les individus atteints, et la transmission par natation dans l'eau contaminée est une possibilité (OMS, 1982).

63. Les parasites protozoaires qui sont répandus dans le monde ou qui sont présents dans la région méditerranéenne comprennent *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Balantidium coli* et les espèces *Naegleria* parmi ceux décelés dans les eaux usées et constituant un risque sanitaire potentiel. Il a été recommandé de leur vouer une attention toute particulière ainsi qu'aux oeufs de nématodes lorsqu'on surveille les coquillages récoltés à proximité d'émissaires d'eaux usées.

Champignons pathogènes

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

65. *Candida albicans*, avec d'autres espèces *Candida*, a été isolé d'un certain nombre de plages de sable de la Méditerranée, notamment au sud de la France (Bernard, 1985), en Grèce (Papadakis, 1987; Papapetropoulou, 1988) et en Israël (Ghinsberg, 1990). En Grèce, sa présence dans l'eau de mer a été reliée à la pollution par les eaux usées, comme l'ont montré les numérations d'indicateurs bactériens (Papadakis, 1987). Sa présence dans l'eau de mer fait actuellement l'objet d'investigations dans un certain nombre de zones méditerranéennes. Parmi les travaux portant sur l'identification d'autres champignons, il y a deux études approfondies. La première, menée le long de la section nord du littoral méditerranéen de l'Espagne entre 1983 et 1985 a permis d'isoler plus de 16 espèces de champignons tant dans le sable que dans l'eau de mer (Izquierdo *et al.*, 1986). Pour 80% d'entre eux, ces isollements concernaient les genres *Penicillium*, *Aspergillus* et *Cladosporium*, dont les deux derniers comprennent des espèces pathogènes. La deuxième étude, réalisée sur du sable de plage le long du littoral méditerranéen de la France n'a permis d'isoler aucune espèce pathogène. Huit espèces kératinophiles et onze espèces non kératinophiles, dont toutes ne manifestent qu'une faible activité pathogène, ont été isolées (Bernard *et al.*, 1988). Une étude en cours sur la teneur microbiologique du sable de plage et de l'eau de mer, menée en Israël, a jusqu'ici mis en évidence une flore fongique considérable qui demande encore à être identifiée (Ghinsberg, 1990). De récents relevés effectués en Grèce (Papadakis *et al.*, 1990) comprennent les isollements d'*Aspergillus niger*, d'autres espèces *Aspergillus* et des espèces *Mucor*, *Fusarium* et *Rhizopus* dans l'eau de mer. Toutes sont des agents pathogènes opportunistes, mais l'attention est attirée sur *Fisarium* qui est toxigène et l'une des principales causes d'infections oculaires.

Proliférations d'algues toxiques

66. Les apparitions de proliférations d'espèces d'algues toxiques sont courantes dans les zones de conchyliculture, au niveau mondial, les espèces en cause, qui produisent de puissantes toxines, appartenant au groupe des dinoflagellés. Les coquillages accumulent les cellules toxiques au cours de leur alimentation par filtration, et ils deviennent ainsi les vecteurs de diverses formes d'intoxication par les coquillages (Shumway et Hurst, 1991). Sur tous les coquillages consommés, ce sont probablement les moules qui posent la plus grande menace quant à l'intoxication par les coquillages. Les maladies comprennent l'intoxication paralysante par les coquillages (IPC), l'intoxication neurotoxique par les coquillages (INC) et l'intoxication diarrhéique par les coquillages (IDC). Les toxines de l'IPC constituent un groupe bien caractérisé de tétrahydropurines, la

saxitoxine étant le premier composant à avoir été identifié, et elles sont produites par un groupe bien défini de dinoflagellés, à savoir principalement les espèces *Gonyaulax* et *Gymnodinium* que l'on rencontre dans les mers tropicales et tempérées. L'INC est provoquée par *Gymnodinium breve*, avec des symptômes analogues mais moins marqués que dans l'IPC. Quant à l'IDC, elle est provoquée par un certain nombre de composants toxiques isolés des coquillages et associés chez l'homme à des symptômes tels que diarrhée, nausées, vomissements et douleurs abdominales. On estime que les algues responsables sont *Dinophysis* et les espèces apparentées. Une autre forme - l'intoxication amnésique par les coquillages (IAC) -, due à des toxines occasionnant des crampes abdominales et des réactions neurologiques comportant une amnésie et une désorientation a également été décrite (OMS, 1984; Shumway, 1990).

67. Une récapitulation des proliférations algales toxiques et nocives avec leurs effets sur les coquillages a été récemment compilée (Shumway, 1990). *Dinophysis sacculus* présent dans des coquillages a entraîné en France, entre 1987 et 1989, l'interdiction à la vente des fruits de mer altérés. La même espèce a été incriminée dans des IDC au Portugal. Selon le même auteur, l'IDC est une affection également répandue dans l'Adriatique. Des toxines de l'IPC dues à *Gonyaulax tamarensis* dans des moules ont été signalées en Espagne, de même que des toxines analogues dues à *Gymnodinium catenatum* dans les bivalves marins *Venus verrucosa* et *Cytherea*, relevé pour la première fois sur le littoral méditerranéen de l'Espagne en 1990. *Alexandrium minutum* dans des moules a également été incriminé dans le premier cas d'IPC enregistré en France en 1989. La liste de répartition communiquée par le même auteur montre également que l'IPC se produit en mer Tyrrhénienne. En 1984, dans la région d'Emilie-Romagne en Adriatique, *Gonyaulax polyhedra* a été identifié comme l'algue responsable d'eaux rouges, mais l'analyse des algues et des coquillages n'a pas permis de mettre en évidence des quantités mesurables de saxitoxine, par comparaison avec celles contenues dans des cultures de souche de laboratoire de *Gonyaulax tamarensis* provenant du Canada (Fortuna et al., 1985). Sur un total de 128 échantillons d'eau de mer de zones conchylicoles de Grèce, les espèces *Gonyaulax* et *Gymnodinium* n'ont été décelées que dans 12 et 18 échantillons respectivement, la première en faible nombre, et la deuxième en nombre relativement élevé. Les concentrations de saxitoxine dans ces échantillons et dans des coquillages prélevés sur le marché se situaient en deça du seuil de détection (Papadakis, 1989). Dans une synthèse récente (Berland et Bellan, 1990), on mentionne que des proliférations de *Gymnodinium breve* (responsable de l'INC) ont été relevées dans le nord de l'Espagne et en Méditerranée orientale.

CORRELATIONS ENTRE LA QUALITE DE L'EAU DE MER ET DES PRODUITS DE LA MER ET LES EFFETS SUR LA SANTE

Considérations d'ordre général

68. Conformément à la pratique internationale, les normes de qualité des eaux à usage récréatif en Méditerranée sont basées sur des concentrations acceptables d'organismes indicateurs bactériens (avant tout les coliformes fécaux, complétés dans une moindre mesure par les streptocoques fécaux), et dans certains cas d'agents pathogènes tels que les salmonelles et les entérovirus. Les quatre pays qui sont membres de la Communauté économique européenne (Espagne, France, Grèce et Italie) sont liés par la directive pertinente de la CEE (CEE, 1976) qui comprend également un assortiment de paramètres physico-chimiques en plus des paramètres microbiologiques. Des normes et des critères existent dans tous les pays de la région, mais ils diffèrent dans une large mesure tant en ce qui concerne le ou les micro-organismes spécifiques surveillés que les niveaux "acceptables" de chacun (OMS, 1989). La situation n'a pas changé de manière notable depuis l'adoption des critères provisoires communs pour les eaux de baignade par les pays méditerranéens en 1985, puisque la résolution en question stipulait expressément que les pays disposant déjà de normes et/ou critères nationaux continueraient à les appliquer jusqu'à ce qu'une étude comparative appropriée eût été menée à bien.

69. Cela mis à part, même si les mêmes normes étaient en vigueur dans l'ensemble de la Méditerranée, la comparaison resterait difficile eu égard aux différences dans les techniques d'échantillonnage, les méthodologies d'analyse et l'interprétation des résultats (Saliba et Helmer, 1990). S'agissant des méthodologies d'analyse, environ la moitié des pays de la région utilisent la méthode du nombre le plus probable (NPP) pour la détermination des principaux organismes indicateurs bactériens dans l'eau de mer, tandis que les autres ont recours à la méthode des membranes filtrantes (MF). Les deux méthodes ne sont pas tout à fait comparables, et les controverses vont encore bon train sur les avantages et inconvénients respectifs de chacune sous différentes conditions. A part la technique proprement dite, les milieux de culture recommandés peuvent donner des résultats inattendus. Les méthodes servant à l'analyse de l'eau de mer ont été mises au point d'après celles utilisées pour l'eau potable, laquelle, à l'état salubre, est bactériologiquement pure. La flore bactérienne marine naturelle interfère fréquemment avec les relevés négatifs, et comme cette flore varie selon la zone au sein même de la Méditerranée, il s'est avéré difficile de fournir une méthodologie type destinée à garantir l'obtention des mêmes résultats où qu'elle fût appliquée. La comparaison de l'état de la pollution microbiologique des eaux à usage récréatif ou (en l'occurrence) des eaux conchylicoles en diverses zones de la région peut donc être dénuée de toute signification si elle se borne uniquement aux numérations obtenues, sans prendre en compte les méthodes d'analyse et d'échantillonnage, pour ne pas parler du contrôle de la qualité des données (Saliba et Helmer, 1990).

70. Le recours aux indicateurs fécaux pour mettre en évidence les risques sanitaires associés aux eaux à usage récréatif (et à l'eau de boisson) remonte à la fin du XIXe et au début du XXe siècles, peu après qu'ont été pour la première fois isolés ces micro-organismes et qu'on les ait associés aux déchets fécaux des animaux à sang chaud. Compte tenu de certaines restrictions basées sur les taux de morbidité dans les populations qui sont à l'origine des rejets, il a été admis (OMS/PNUE, 1977) que:

- les eaux usées municipales peuvent contenir un grand nombre de bactéries et de virus pathogènes et le risque de maladie varie pour chacun d'eux, à doses égales;
- la surveillance systématique de chacun de ces agents pathogènes serait une tâche au-dessus des possibilités humaines;
- les méthodes de numération ne sont pas disponibles pour certains des agents pathogènes les plus importants et présentent des difficultés pour d'autres;
- les données sur la densité des agents pathogènes sont d'une interprétation ardue car les méthodes sont généralement longues, onéreuses et pas toujours quantitatives et, dans certains cas, les données sur la relation dose-effet sont rares, voire inexistantes; et
- sur un plan théorique, le véritable objectif ne consiste pas à mettre en évidence la présence de l'agent pathogène mais plutôt la probabilité qu'il soit présent en nombre suffisant pour constituer un risque sanitaire inacceptable.

71. Depuis que le Groupe d'experts OMS/PNUE a dégagé les conclusions ci-dessus en 1977, la situation s'est modifiée dans la mesure où les méthodes disponibles pour l'identification et la numération des organismes pathogènes, virus y compris, se sont notablement accrues. Néanmoins, dans bien des cas, ces méthodes ne sont pas à la portée de la plupart des laboratoires méditerranéens, notamment de ceux se consacrant en pratique courante à la surveillance de la pollution marine.

72. Les indicateurs bactériens et autres (souvent définis comme indicateurs de qualité de l'eau en relation avec les effets sanitaires) sont censés répondre à certains critères qui ont été exposés à grands traits par le Groupe d'experts OMS/PNUE de 1977. Les indicateurs doivent:

- être associés de façon systématique et exclusive avec la source de substances pathogènes ou nuisibles;
- être présents en nombre ou quantité suffisante pour que leur densité soit mesurable avec "précision" quand le niveau de l'un quelconque des éléments pathogènes atteint une valeur telle que le risque de maladie devient inacceptable;
- présenter une résistance aux désinfectants et aux contraintes du milieu, notamment aux produits toxiques déversés dans le milieu aquatique, du même ordre de grandeur que l'agent pathogène le plus résistant susceptible d'être présent dans la source en quantité suffisante pour constituer un risque; et
- être mesurables dans les eaux à usage récréatif par des méthodes relativement simples et peut coûteuses, avec une exactitude, une précision et une spécificité très élevées.

73. Il a toujours été reconnu qu'aucun des divers indicateurs n'est idéal et qu'aucun système d'indicateurs n'est parfait. Nombreux sont les travaux qui ont été réalisés en Méditerranée (et ailleurs) pour tenter d'établir une corrélation entre la présence (et la densité, si possible) des micro-organismes pathogènes, notamment des bactéries et, dans certains cas, des champignons d'une part, et les concentrations d'un ou plusieurs organismes indicateurs bactériens types dans le même échantillon d'autre part. Dans la quasi totalité des références mentionnées dans le présent document à propos des relevés de la présence et de la densité des agents pathogènes bactériens et fongiques dans les eaux récréatives et conchylicoles de la Méditerranée, les auteurs ont procédé à cette recherche parallèle sur les indicateurs bactériens. Si, parmi les résultats comparatifs obtenus, un certain nombre ont indiqué une forme de corrélation indicateurs/agents pathogènes qui, dans de nombreux cas, était statistiquement significative au sein de chaque étude, on constate que les résultats des diverses études variaient largement entre eux quant aux points de savoir quel indicateur spécifique correspondait le mieux avec un ou plusieurs agents pathogènes donnés et quelle gamme précise de concentrations de l'indicateur en question représentait un niveau minimal auquel la présence de l'agent pathogène était décelée.

74. La situation concernant les virus est peut-être plus préoccupante. En dehors du fait qu'ils sont capables de survivre sur des périodes considérables, notamment en association avec les sédiments, il a été montré (Vasl *et al.*, 1981) qu'ils peuvent franchir des distances importantes dans le milieu marin. La survie comparative des virus et des bactéries indicatrices dans le milieu marin a fait récemment l'objet d'une récapitulation (Wheeler, 1990) à la requête de l'Investigation sur la pollution des plages du Comité de l'environnement de la Chambre des Communes, Royaume-Uni (figure 1). Selon la principale conclusion de cette récapitulation, si les bactéries rejetées par un émissaire marin de longueur courante peuvent être "indécelables" dans le milieu au bout de quelques jours après leur libération, les virus entériques resteraient présents pendant plusieurs mois à l'état infectant et à des niveaux décelables. Bien qu'une telle conclusion, fondée avant tout sur les conditions prévalant dans les eaux de l'Europe septentrionale, doive être examinée d'après les conditions méditerranéennes (climatiques et autres), elle souligne l'insuffisance des indicateurs bactériens actuels comme moyens de surveillance de la pollution par les virus.

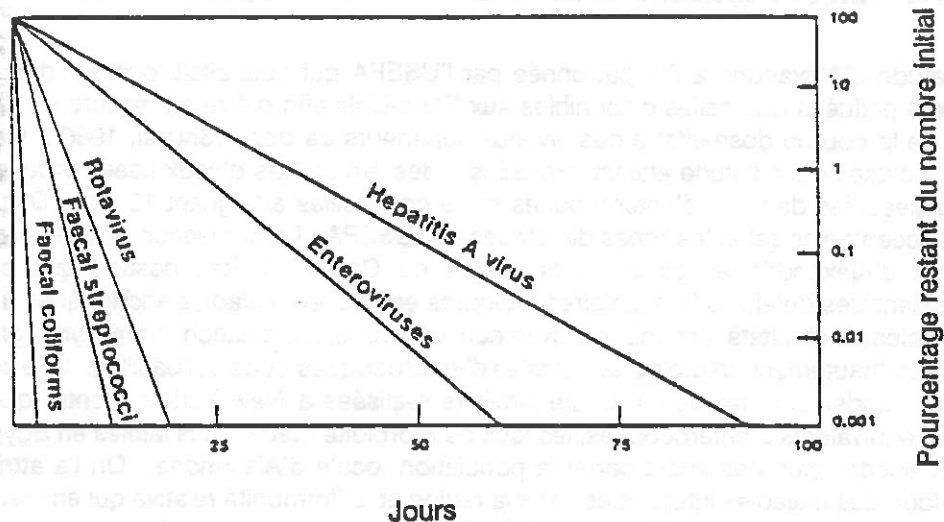
Eaux côtières à usage récréatif

75. Les investigations menées sur les effets sanitaires de la natation ou de la baignade ont toujours pour but fondamental celui qu'avait conçu Stevenson à l'origine (1953), à savoir de déterminer à quelle différence on peut s'attendre dans l'incidence de la morbidité à la suite de natation dans des eaux présentant divers degrés de pollution bactérienne. L'établissement de la courbe dose-effet, basé sur des études épidémiologiques, devrait être le but ultime de la recherche dans ce domaine. Cette courbe dose-effet ne dépend pas des indices de pollution fondés sur les agents pathogènes eux-mêmes; les indicateurs de pollution des eaux usées sont plus appropriés,

puisqu'ils ont une distribution mieux prévisible et qu'ils sont susceptibles de servir de base aux normes. En outre, il n'est pas nécessaire de définir un risque de maladie en se référant à des agents pathogènes précis; les symptômes ou groupes de symptômes conviennent mieux quand le risque est dû à toute une série d'agents pathogènes dont la distribution saisonnière et spatiale n'est pas connue (Wheeler, 1990). Depuis la première étude réalisée par Stevenson en 1953, d'autres chercheurs se sont employés à définir les niveaux du risque consécutif à l'exposition à différentes concentrations bactérienne dans les eaux de baignade. La plupart de ces études ont relevé du type épidémiologique prospectif que l'on appelle généralement "type Cabelli" aujourd'hui, d'après le nom du responsable de la première étude de grande ampleur menée par l'Environmental Protection Agency des Etats-Unis (USEPA) entre 1972 et 1979. Le tableau 3 présente une liste récapitulative des résultats des principales études de cette nature. Cette liste ne comprend pas une étude récemment achevée en Israël ni une autre étude qui est en voie de l'être en Espagne.

Figure 1

CARACTERES TYPQUES DE LA SURVIE DES BACTERIES FECALES
ET DES VIRUS ENTERIQUES HUMAINS DANS L'EAU DE MER*



D'après Wheeler, 1990

76. La bibliographie pertinente, y compris la conception et les résultats détaillés des études réalisées, a fait l'objet de synthèses de la part de Shuval (1986), Jones et Kay (1989), Lightfoot (1989), Saliba et Helmer (1990) et Wheeler (1990). La plupart des études réalisées en Méditerranée portaient sur des plages, et pour évaluer la qualité de l'eau, on y a, selon les cas, utilisé un seul indicateur ou une combinaison de plusieurs indicateurs comprenant les coliformes totaux, les coliformes fécaux, les streptocoques fécaux, les entérocoques, *E. coli* et les staphylocoques. Dans presque toutes ces études, on a enregistré une morbidité plus élevée parmi les baigneurs que parmi les non baigneurs, la meilleure corrélation avec la qualité de l'eau étant avec tel ou tel micro-organisme quand on comparait différentes plages.

Tableau 3

RESULTATS RECAPITULATIFS DES PRINCIPALES ETUDES EPIDEMIOLOGIQUES
PROSPECTIVES DE TYPE CABELLI*

Auteur	Date	Pays/zone	Eau douce/ eau de mer	Indicateur	R ² b	Symptômes c
Stevenson	1953	Etats-Unis d'Amérique	Douce + mer	Coliformes totaux	NR	ENT/GI/R
Cabelli	1982	Etats-Unis d'Amérique	Douce + mer	Entérocoques	0,56	GI
Seyfried	1985	Canada	Douce	Staphylocoques totaux	0,19	R/GI
				Coliformes fécaux	0,08	
				Streptocoques fécaux	0,03	
Cheung	1988	Hong Kong	Mer	<i>E. coli</i>	0,53	S/GI
				Staphylocoques		
El Sharkawi	1983	Egypte	Mer	Entérocoques	0,79	GI
				<i>E. coli</i>	0,77	
Fattal	1986	Israéli	Mer	Entérocoques	NR	GI
				<i>E. coli</i>	NR	GI
Mujeriego	1982	Espagne	Mer	Streptocoques fécaux	NR	S/E/ENT/GI
Foulon	1983	France	Mer	Streptocoques fécaux	NR	E/S/GI
				Coliformes totaux		
				Coliformes fécaux		

* D'après Jones, F. & Kay, D. *Recreational water quality: the relationship between epidemiological studies and recreational activities in water*. Rapport d'un séminaire sur les normes biologiques, Middlesex Polytechnic, 9 février 1990. (Anglais seulement).

b R² = Coefficient de détermination; NR = non indiqué.

c E = infections oculaires; S = troubles cutanés; GI = troubles intestinaux; ENT = infections nez-gorge-oreilles; R = affections respiratoires.

77. L'étude d'Alexandrie a été patronnée par l'USEPA qui souhaitait localiser des plages plus fortement polluées que celles disponibles aux Etats-Unis afin d'être en mesure de déterminer la nature de la courbe dose-effet à des niveaux supérieurs de dose (Shuval, 1986). Certaines des plages incluses dans l'étude étaient exposées à des émissaires d'eaux usées proches et étaient très polluées, les densités d'entérocoques et de colibacilles atteignant 10^6 /ml. D'autres plages étaient acceptables selon les lignes directrices de l'USEPA. La population étudiée comprenait les habitants d'Alexandrie et les estivants venant du Caire. Il était postulé que ces derniers présentaient des défenses immunitaires moindres envers les maladies endémiques à Alexandrie. Les principaux résultats ont mis en évidence une forte association entre symptômes gastro-intestinaux "hautement crédibles" et densités d'entérocoques et de colibacilles. Une comparaison avec des études antérieures de nature similaire réalisées à New York a montré que, pour des densités équivalents d'entérocoques, les taux de morbidité étaient plus faibles en Egypte, et qu'ils l'étaient encore plus nettement parmi la population locale d'Alexandrie. On l'a attribué à l'état endémique des maladies intestinales dans la région et à l'immunité relative qui en résulte chez les grands enfants et les adultes (Shuval, 1986). Dans un rapport sur certains aspects de l'étude (El-Sharkawi *et al.*, 1982), les auteurs relèvent qu'il existait un risque significatif de contracter la typhoïde par baignade dans l'eau de mer polluée et que le groupe d'âge jeune s'avérait être le plus vulnérable.

78. L'étude réalisée en Israël en 1983, à des plages de baignade de la région de Tel-Aviv, a porté sur trois sites offrant divers degrés d'exposition à la pollution par les eaux usées. L'étude englobait 2.231 nageurs et non nageurs (32% dans le groupe d'âge 0-4 ans) et les indicateurs utilisés étaient les coliformes fécaux, les entérocoques, les colibacilles, les staphylocoques dorés et les bacilles pyocyaniques. On a principalement noté un excédent significatif de symptômes intestinaux (affection gastro-intestinales) parmi les nageurs du groupe d'âge 0-4 ans dans l'eau présentant les plus fortes teneurs en entérocoques et en colibacilles. Les coliformes fécaux et les bacilles pyocyaniques n'ont pas semblé revêtir une valeur équivalente comme indicateurs de morbidité intestinale associée à la natation (Fattal et Shuval, 1988).

79. Sur deux études menées en Espagne, la première (Mujeriego *et al.*, 1982) comportait une

investigation chez des échantillons représentatifs et portait sur plus de 20.000 personnes sur diverses plages de Malaga et de Tarragone qui répondaient directement sur place à un questionnaire. Les plus forts taux de morbidité observés concernaient les infections de la peau (2%), suivies par celles de l'oreille et de l'oeil (près de 1,5%), ce dernier groupe étant considéré par les auteurs comme significativement associé à l'immersion de la tête dans l'eau de mer. On obtenait une meilleure corrélation avec les taux de morbidité pour les streptocoques fécaux que pour les coliformes fécaux. La deuxième étude (Marino *et al.*, 1982), réalisée sur plusieurs plages de la Méditerranée et de l'Atlantique, était d'une conception assez similaire et, là aussi, elle a permis d'obtenir des taux plus élevés de morbidité pour les infections de l'oreille, de l'oeil et de la peau. Il s'agissait d'une corrélation positive mais, dans ce cas, la meilleure que l'on a obtenue l'était avec les coliformes fécaux, les concentrations seuil pour les accroissements de la morbidité s'établissant autour de 400 CF par 100 ml.

80. Les études réalisées en France en comprenaient une (Foulon, 1983) portant sur cinq plages dont la qualité de l'eau a été testée pour les coliformes totaux, les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux. Près de 5.000 personnes ont été interrogées sur ces plages et plus de 1.500 suivies sur la base d'un questionnaire en forme de carte-réponse qui était rempli. Les résultats ont indiqué des différences dans l'incidence des conjonctivites et des infections cutanées entre baigneurs et non baigneurs, de même que dans l'incidence des troubles abdominaux, nausées et prurit entre ceux qui immergeaient leur tête dans l'eau et ceux qui s'en absteinaient. On ne relevait toutefois aucune corrélation entre la morbidité et la qualité de l'eau.

81. Une étude postérieure (CAREPS, 1987) réalisée dans le bassin de l'Ardèche sur des plages de rivières a porté sur 5.700 personnes au cours des étés 1985 et 1986. Parmi les indicateurs de qualité de l'eau retenus, il y avait, outre les coliformes totaux, les coliformes fécaux et les streptocoques fécaux, les espèces *Aeromonas* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les personnes étudiées ont fait l'objet d'une observation constante pendant des périodes de 3 à 8 jours et les symptômes étaient consignés. On a relevé des taux plus élevés de morbidité parmi les baigneurs que parmi les non baigneurs pour chaque type d'affection observée (gastro-intestinal, cutané, oculaire et oto-rhino-laryngé). C'est pour les concentrations de coliformes totaux et de coliformes fécaux que l'on obtenait la meilleure corrélation avec la morbidité globale. En prenant chaque type de symptôme séparément, la corrélation variait selon les indicateurs, les streptocoques fécaux donnant la meilleure corrélation avec les symptômes gastro-intestinaux. De l'analyse des résultats, on a conclu 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 1000 personne-jours, et de 2.000 par 100 ml (la norme "obligatoire" de la CEE) à une incidence de 20,4 cas par 1.000 personne-jours. La norme guide pour les streptocoques fécaux (100 par 100 ml) a été calculée comme correspondant à 23 cas par 1000 personne-jours. Il n'a pas été procédé au calcul de l'incidence prévue de la morbidité gastro-intestinale parmi les non baigneurs, mais sur la base des résultats des auteurs celle-ci s'élèverait à 8,5 cas par 1000 personne-jours. Parmi leurs conclusions, les auteurs notaient que les résultats ne pouvaient être extrapolés avec sûreté à l'eau de mer.

82. Une étude actuellement en cours en Espagne est réalisée sur deux plages de Malaga pour déterminer la qualité de l'eau exprimée en coliformes totaux, coliformes fécaux, streptocoques fécaux, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Aeromonas hydrophila*, les espèces vibroniques et *Candida albicans*. Lors de la première année de l'étude (Borrego *et al.*, 1988), des enquêtes ont été menées parmi les groupes de population témoins à l'aide d'un questionnaire de type Cabelli modifié. D'après les conclusions préliminaires obtenues jusqu'ici: a) la symptomatologie intestinale a été plus forte parmi les nageurs que les non nageurs sur la plage la plus polluée; b) on a relevé un excédent significatif de symptômes dermatologiques et respiratoires parmi les nageurs par comparaison avec les non nageurs, indépendamment des densités bactériennes enregistrées dans l'eau de mer; c) aucune signification statistique n'a été nettement établie entre les taux de symptômes associés à la natation et les indicateurs fécaux; et

d) la teneur en champignons du sable de plage a été la même pour la plage polluée et la plage non polluée, et l'on n'a décelé aucune relation entre les symptômes de dermatite associés au sable et les agents pathogènes de la peau. Un autre problème soulevé par cette étude était le fait que, sur les 1.447 personnes soumises à l'enquête, seules 4,6% d'entre elles pouvaient être définies comme non nageuses, et par conséquent le groupe témoin était très restreint. L'étude se poursuit actuellement sur un groupe de population plus important.

83. Une étude épidémiologique prospective a été menée en Israël sur quatre plages de la région de Tel-Aviv et au sud de celle-ci (Fattal et Shuval, 1991). En dehors de l'objectif premier qui consistait à étudier la morbidité associée à la natation en rapport avec la qualité de l'eau exprimée en concentrations d'indicateurs bactériens, le deuxième objectif était de déterminer s'il était possible d'élargir le projet afin d'établir l'étiologie de la gastro-entérite associée à la natation. 233 familles au total, représentant 784 personnes, ont été interrogées dans le cadre de l'enquête; 23% de la population étudiée se situait dans la tranche d'âge 0-4 ans. Un total de 42 échantillons d'eau de mer ont été testés pour les concentrations d'indicateurs bactériens (coliformes fécaux et entérocoques) qui ont, pour l'un et l'autre indicateurs, varié significativement entre la plage la plus propre et la plus polluée. Aucune différence significative dans l'incidence des symptômes intestinaux associés à la natation n'a été relevée entre ces deux plages, tant pour tous les âges que pour la tranche 0-4 ans, bien que les résultats de la morbidité globale ait été similaires à ceux enregistrés lors d'études antérieures. Quarante sujets, comprenant des nageurs et des non nageurs, ont été soumis à des prélèvements de sang qui ont tous été trouvés positifs pour les rotavirus. Aucune séroconversion n'a été décelée. Il a également été noté que les taux associés à la natation pour les symptômes totaux et les symptômes respiratoires et intestinaux "hautement crédibles" étaient nettement plus accusés lors des jours "à effet "baigneurs" élevé" que lors des jours "à effet "baigneurs" faible". Les auteurs en ont tiré deux conclusions, à savoir: a) que les baigneurs eux-mêmes peuvent constituer une importante source des agents responsables de la morbidité associée à la natation sur les plages de mer dans des conditions de haute fréquentation et d'échanges d'eau médiocres et b) que des normes plus basses d'indicateurs microbiologiques devraient être appliquées aux plages ayant des échanges d'eau médiocres (en raison de bris-lames, etc.) que celles appliquées aux plages ayant des échanges d'eau relativement élevés (plages ouvertes).

84. Dans leur synthèse de la bibliographie ayant trait aux résultats des principales études épidémiologiques prospectives de type Cabelli, Jones et Kay (1989) en sont arrivés à la conclusion qu'il n'existe pas de bonnes données épidémiologiques sur lesquelles fonder l'application de normes de qualité scientifiquement justifiées pour les eaux à usage récréatif et permettant de maîtriser un niveau élevé de risque. En notant ces conclusions, Colley (1990) a attiré l'attention sur certains problèmes généraux dans la conduite des études épidémiologiques réalisées jusqu'à présent, à savoir notamment: i) les difficultés que soulève la définition des groupes de population exposés et non exposés; ii) l'incertitude quant au degré et à la durée de l'exposition à la baignade; iii) la disponibilité de renseignements seulement limités sur les polluants présents dans l'eau de baignade; iv) l'identification insuffisante des maladies et de leurs rapports avec la baignade; et v) les difficultés que l'on rencontre à interpréter toute association entre les maladies et l'exposition à l'eau polluée ainsi qu'à attribuer une relation cause-effet. Cet auteur souligne également un certain nombre de questions qui restent à aborder dans les études épidémiologiques à venir, notamment celle des sous-groupes qu'il peut être nécessaire d'identifier tant en ce qui concerne l'estimation du risque que l'examen de mesures préventives, le suivi approprié des personnes exposées et non exposées, l'obtention d'une certaine évaluation de la dose que les baigneurs reçoivent lors de l'estimation du risque de morbidité, et la différenciation entre expositions à la baignade en mer et en eau douce. Les expositions autres qu'à la baignade sont également importantes, notamment la consommation de produits comestibles contaminés de la mer, puisqu'une maladie n'ayant aucun rapport avec la baignade peut être présente au sein d'une population et doit être identifiée afin de prévenir toute confusion avec une maladie acquise par baignade, et qu'il faut obtenir des preuves suffisantes selon lesquelles l'agent pathogène ou causal

d'une maladie est également présent dans l'eau.

85. Des auteurs ont récemment conclu (Saliba et Helmer, 1990) que sur la base des indices dont on dispose jusqu'ici il est difficile de tenter de quantifier les risques sanitaires effectifs résultant de la baignade dans des eaux côtières polluées, de même que d'établir la corrélation entre de tels risques et les niveaux de pollution de l'eau exprimés en concentrations d'indicateurs bactériens de pratique courante. Cependant, sur le plan qualitatif, il est nettement établi que les risques sanitaires existent et sont plus marqués dans les zones directement exposées à la pollution par des eaux usées non traitées. Si cette conclusion est valable pour l'ensemble du monde, elle s'applique plus particulièrement à la région méditerranéenne. C'est à une conclusion similaire qu'on est parvenu récemment à l'issue d'une analyse des résultats d'un programme pluriannuel d'études microbiologiques/épidémiologiques menées sous l'égide de l'USEPA (Calderon, 1990) qui ont confirmé que, pour les plages de mer, une bonne corrélation avec les symptômes gastro-intestinaux associés à la natation n'était obtenue qu'avec des concentrations élevées d'entérocoques dans l'eau. Dans ces études, il s'agissait d'une source ponctuelle, identifiée. Dans une autre étude de l'USEPA, on a examiné les relations entre les indicateurs fécaux provenant de sources non ponctuelles et la morbidité associée à la natation. Les résultats n'ont pas mis en évidence une telle morbidité associée aux indicateurs fécaux de qualité de l'eau.

Eaux conchylicoles

86. Deux méthodes sont communément utilisées dans les enquêtes épidémiologiques sur l'étiologie d'une maladie. Dans une étude rétrospective (ou étude cas-témoins), les personnes qui ont contracté la maladie sont comparées à un groupe de personnes analogues quant à l'exposition au facteur étiologique en question mais qui ne l'ont pas contractée. Dans une étude prospective (ou étude de cohortes), des groupes qui ne diffèrent que par leur exposition à un facteur étiologique donné font l'objet d'un suivi et l'incidence de la maladie est comparée en tenant compte de l'exposition. Si, dans la plupart des études épidémiologiques sur la corrélation entre la qualité de l'eau de baignade et les effets sanitaires, on a utilisé la méthode prospective, dans les études reliant l'incidence de la maladie à la qualité des mollusques et crustacés, on a invariablement utilisé la méthode rétrospective. Dans une étude de cette nature, tous les événements étudiés (causes et effets) se sont déjà produits quand l'étude est amorcée et une telle étude constitue foncièrement une enquête sur les antécédents des personnes atteintes, qu'il s'agisse de cas sporadiques ou de cas survenant à l'occasion de la poussée ou de l'épidémie d'une maladie. La distinction entre les poussées et les cas sporadiques est tout à fait légitime en ce qui concerne la probabilité d'obtenir une association entre une maladie donnée et une cause présumée (par exemple la consommation de fruits de mer contaminés). C'est particulièrement vrai quand d'autres voies de transmission expliquent la grande majorité des cas de la maladie concernée (OMS/PNU, 1977).

87. Hormis les deux études réalisées sur la fièvre typhoïde en Egypte (El-Sharkawi *et al.*, 1982) et la poussée de choléra de 1973 en Italie (Baine *et al.*, 1984), la bibliographie actuellement disponible contient très peu d'informations sur des éléments épidémiologiques tirés d'études rétrospectives sur les maladies dues aux mollusques et crustacés, notamment en ce qui concerne d'importantes poussées de cas, en Méditerranée. Le grand nombre de cas sporadiques, en particulier parmi les touristes, ressort de l'estimation selon laquelle (Stille *et al.*, 1972) 19% des hépatites infectieuses survenant à Francfort étaient imputables à la consommation par des touristes allemands en Méditerranée d'huîtres et de moules contaminées. En outre, des données épidémiologiques récentes de plusieurs pays ont permis d'établir qu'un des principaux facteurs contribuant à la contraction de l'hépatite virale était la consommation de fruits de mer crus récoltés dans des eaux côtières contaminées par les eaux usées (OMS/PNU, 1990), bien qu'aucun lien avec la Méditerranée n'ait été relevé dans ce cas.

88. Le lien entre la qualité des eaux conchylicoles et les effets sanitaires chez l'homme qui

constitue le consommateur ultime est un peu plus complexe que celui s'appliquant à la qualité des eaux de baignade. L'ampleur de la contamination fécale qui peut être tolérée dans les eaux d'élevage est un problème complexe pour toute une série de facteurs. Il n'existe pas de niveau constant d'agents pathogènes dans les eaux usées, le rapport entre les indicateurs et les agents pathogènes variant avec chaque volume unitaire d'eaux usées s'écoulant de l'émissaire, et un niveau spécifique de fèces dans les eaux usées peut être relativement exempt d'agents pathogènes à un moment donné et présenter un fort potentiel de transmission d'agents pathogènes par les mollusques et crustacés à un autre moment (Geldreich, 1985). Jusqu'à ce jour, il n'a pu être établi aucune corrélation satisfaisante ni entre les niveaux indicateurs bactériens dans les mollusques et crustacés et ceux dans les eaux d'élevage, ni entre les indicateurs et la plupart des agents pathogènes dans les mollusques et crustacés eux-mêmes. Le premier problème a été plus ou moins surmonté en évaluant l'acceptabilité des zones marines pour l'élevage ou la récolte de mollusques et crustacés par la qualité microbiologique des eaux d'élevage proprement dites, prises séparément de la masse d'eau environnante. Comme on l'a vu plus haut, le fait qu'une zone d'élevage soit acceptable n'implique pas automatiquement que les mollusques et crustacés le soient pour la consommation humaine à l'état cru, et d'autres mécanismes de contrôle comme les pratiques en matière de santé publique et de salubrité des aliments entrent en jeu. De plus, les méthodes épidémiologiques actuelles ne sont pas assez sensibles pour permettre de détecter efficacement la transmission des maladies virales par la voie eau de mer - mollusques/crustacés puisque les maladies cliniquement apparentes ne se rencontrent que chez un nombre restreint de ceux qui sont infectés et que la durée de la période d'incubation avant l'apparition des symptômes est extrêmement variable (Geldreich, 1985). En outre, on ne dispose pas actuellement de méthodes de dépistage viral pour tous les agents étiologiques présumés de la gastro-entérite. Tous ces facteurs expliquent en partie qu'il n'y ait apparemment que des rares données sur les maladies transmises par les mollusques et crustacés, notamment celles provoquées par les virus, en Méditerranée.

89. Un important facteur déroutant dans l'interprétation des données sur la morbidité et de l'association de celle-ci à la contamination par les mollusques/crustacés, qui est significatif en Méditerran[e, tient à l'exposition concomitante des populations à d'autres facteurs de risque combinés tels que la contamination d'aliments qui ne sont pas d'origine marine et, dans certains cas, la contamination de l'eau de boisson. Il s'ensuit qu'il peut être difficile, sur un plan très général, d'attribuer une maladie donnée, dont l'origine potentielle comprend plusieurs sources, à une cause précise.

CONCLUSIONS

Analyse de la situation actuelle

90. Il ressort clairement de la bibliographie que de nombreux micro-organismes pathogènes (bactériens, fongiques et viraux) qui sont les causes notoires de maladie chez l'homme sont courants dans les zones marines côtières de la Méditerranée, avec un certain nombre d'espèces endémiques en diverses zones géographiques. Il est tout aussi évident que la situation entraîne actuellement des effets néfastes sur la santé tant parmi les populations locales que parmi les touristes. S'agissant de ces derniers, en dehors du fait qu'ont été attribués à la région l'origine d'hépatites qui ont touché des Allemands, ainsi qu'on l'a mentionné plus haut, les participants à une consultation OMS/PNUE assez récente sur la pollution de la mer Méditerranée ont signalé: a) qu'une étude suédoise a révélé que 63% des cas de salmonelloses recensés dans ce pays résultaient d'infections contractées à l'étranger, principalement dans des pays méditerranéens, b) selon un autre rapport suédois, 90 à 95% des lamblases, 10 à 16% des hépatites virales, 34 à 53% des shigelloses et 92 à 95% des dysentéries amibiennes étaient des cas importés, et c) des responsables du tourisme en Europe ont estimé que quelque 40% des touristes séjournant dans les stations du littoral méditerranéen tombaient malades pendant leur séjour ou juste après, un

tiers d'entre eux signalant qu'ils avaient dû s'aliter et un cinquième qu'ils avaient été contraints d'écourter leurs vacances pour cause de maladie (OMS/PNUE, 1990).

91. La réunion précitée a estimé que si, incontestablement, une partie de ces maladies contractées par les touristes était associée à la consommation d'aliments peu hygiéniques ou d'eau de boisson insalubre, ainsi qu'à d'autres types d'exposition, il était amplement établi qu'une source majeure de morbidité dans les zones où la mer était polluée résultait de la consommation de fruits de mer contaminés par des eaux usées et/ou de baignade à des plages contaminées de la même façon.

92. Si des comptes rendus de cette nature témoignent de la survenue de cette morbidité et donnent des indications sur son ampleur, l'étendue du dommage occasionné à la santé à l'échelle de toute la région méditerranéenne reste à déterminer. La même conclusion est valable pour l'incidence et la prévalence des agents pathogènes. A cet égard, bien que les références citées dans le présent document puissent être considérées comme un échantillon assez représentatif de la bibliographie pertinente dans la région, le fait que ces relevés, dont bon nombre, effectués à des sites différents, remontent à quelque quinze ans, rend difficile d'aboutir à une évaluation précise de la situation d'ensemble à l'heure actuelle. En outre, il y a encore d'importantes zones de la région littorale méditerranéenne, principalement sur les rives Sud et Est, pour lesquelles les relevés sont rares.

93. A n'en pas douter, des progrès d'ordre général sont intervenus au cours des dix dernières années, notamment l'augmentation des stations d'épuration et des installations d'évacuation en diverses parties de la région. Les résultats des programmes de surveillance continue des eaux côtières reflètent également une tendance positive. D'après des renseignements communiqués par les Etats membres à la CEE en vertu de la directive de 1975 relative à la qualité des eaux de baignade (CEE, 1988, 1989), le nombre des stations de surveillance avec une eau de qualité élevée à acceptable (A, AB ou B) est passée de 76,4% en 1983 à 83% en 1987, avec une réduction correspondante des stations à la qualité d'eau inférieure (de 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, 1988). En Italie, la proportion de stations répondant aux critères nationaux (basés sur la directive de la CEE mais plus rigoureux) a accusé une hausse régulière de 68% en 1984 à 89,3% en 1989 (Ministère de la Santé, Rome, 1990). De même, d'après les données des deux rapports de la CEE qui sont disponibles, les résultats concernant la Grèce n'existent que pour 1987 et sont limités à l'Attique où 77,7% des stations où sont pratiqués au moins cinq échantillonnages par an se sont avérées répondre aux normes applicables. La seule tendance négative qu'on ait enregistrée se situe en Espagne où le nombre des stations ayant une eau de haute qualité (A2) a régressé de 65,2% en 1966 à 51,0% en 1987.

94. On a procédé en 1989 à une évaluation des données de la surveillance continue des eaux à usage récréatif soumises à l'Unité de coordination du Plan d'action pour la Méditerranée par sept autres pays méditerranéens (Algérie, Chypre, Israël, Liban, Malte, Maroc et Yougoslavie) dans le cadre des accords nationaux de surveillance continue MED POL pour la période 1983-1987. Selon cette évaluation, le taux des stations d'échantillonnage se conformant aux critères de qualité du milieu adoptés en 1985 s'est élevé de 78% en 1983 à 96% en 1987 dans le cas des stations procédant au moins à six prélèvements par an (PNUE, 1989).

95. Les informations dont on dispose pour les onze pays ci-dessus ont été jugées suffisantes (OMS, 1989) pour conclure à une tendance générale à l'amélioration au cours de la période considérée sur une longueur du littoral méditerranéen correspondant à presque toute la rive Nord, à la partie occidentale de la rive Sud et à une partie des zones centrale et orientale. A part cette tendance générale, il n'a pas été possible de tirer d'autres conclusions ni de tenter des comparaisons entre les différentes zones car: a) pour la majeure partie des rives Sud et Est, on

a dû considérer qu'on avait affaire à une "terra incognita" quant à la surveillance de la qualité de l'eau; b) les critères et normes d'acceptabilité adoptés par les différents pays divergeaient grandement tant pour le nombre des paramètres mesurés que pour les valeurs limites effectives affectées à chacun d'eux; et c) les méthodes d'analyse employées différaient.

96. C'est avec une extrême prudence qu'il convient de procéder à toute extrapolation hypothétique de la tendance générale relevée ci-dessus à l'incidence et à la densité des micro-organismes pathogènes dans les zones côtières contaminées ou aux risques sanitaires résultant des activités de baignade. D'une part, il est manifeste que toute augmentation du rapport eaux usées traitées/eaux usées non traitées et/ou du nombre d'émissaires sous-marins éloignant les rejets d'effluents de la bordure littorale attenante à des points situés plus au large devrait, tant en théorie qu'en pratique, réduire l'incidence et la densité globales des micro-organismes pathogènes dans les zones précédemment atteintes et entraîner par conséquent une réduction des risques sanitaires. D'autre part, la tendance favorable dans la qualité de l'eau est avant tout objectivée par la diminution de la densité des organismes indicateurs dont l'aptitude à survivre dans le milieu marin et à résister au traitement des eaux usées est généralement moindre que celle des agents pathogènes, remarque qui s'applique encore davantage dans le cas des virus. Un point préoccupant est également que le principal (et souvent le seul) critère d'acceptabilité est fondé sur les concentrations d'un indicateur particulier (coliformes fécaux) dont la plupart des études épidémiologiques, quelles que soient par ailleurs les variations enregistrées dans leurs résultats, ont indiqué qu'il constituait une base peu satisfaisante pour établir une corrélation avec les symptômes de morbidité chez les groupes de population humaine exposés.

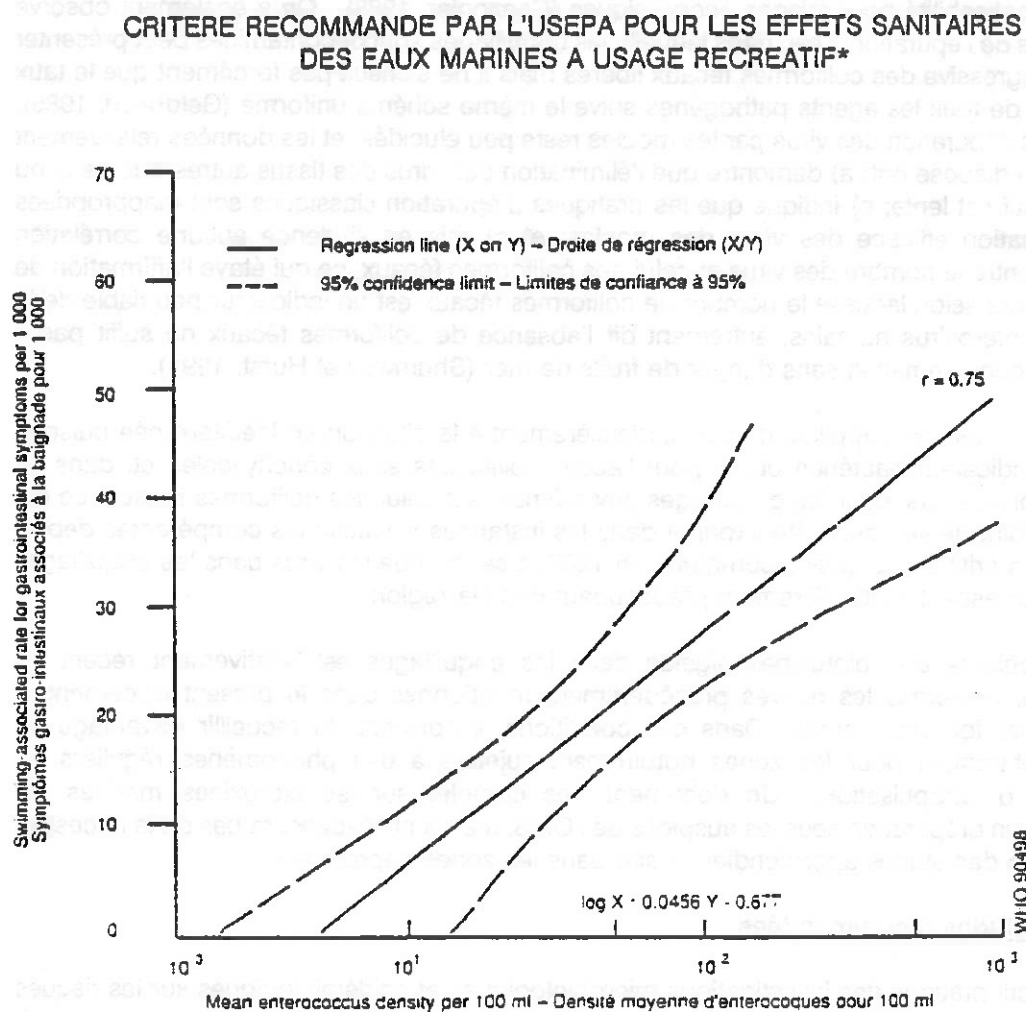
97. Un exemple spécifique du risque potentiel pour la santé résultant de la baignade dans des eaux côtières polluées par les eaux usées nous est fourni par l'étude de l'USEPA de 1972-1979 (Cabelli, 1983) qui a permis d'obtenir ce qui constitue peut-être la meilleure quantification des risques sanitaires associés à la baignade en dégagant des données converties en droite de régression pour les symptômes gastro-intestinaux totaux et hautement crédibles (comme les nausées, vomissements, diarrhée et gastralgies). Les dernières données ont été exploitées par l'USEPA pour établir une droite de régression servant de critère recommandé des effets sanitaires pour les eaux marines à usage récréatif, car on considérait que ces types de symptômes graves étaient plus crédibles et que les conséquences de la morbidité étaient d'une plus grande importance pour la santé publique et se prêtaient ainsi mieux à l'analyse économique (Cabelli *et al.*, 1984).

98. Le critère des effets sanitaires recommandé par l'USEPA est reproduit sur la figure 2. Il s'ensuit que la norme USEPA proposée pour les eaux marines de baignade, en se fondant sur un taux acceptable de gastro-entérite associée à la natation de 19 nageurs sur 1000, était une limite de 33 entérocoques par 100 ml sur la moyenne géométrique d'au moins 5 prélèvements effectués à des intervalles égaux sur une période de 30 jours (USEPA, 1986). En se fondant sur ce critère, on peut s'attendre à trouver 25 à 40 cas de symptômes gastro-intestinaux sur 1000 personnes exposées à de l'eau de mer contenant une concentration de 100 entérocoques par 100 ml. Sur une population hypothétique d'un million de personnes, cela se traduit par 25.000 à 40.000 cas, et si l'on extrapole également aux populations locales et touristiques normales de diverses régions du monde, notamment dans les climats tropicaux et subtropicaux, les chiffres obtenus renforcent les préoccupations que doit susciter une telle situation (Saliba et Helmer, 1990).

99. L'élaboration d'un critère analogue des effets de santé pour la Méditerranée faciliterait une estimation assez précise des risques sanitaires hypothétiques pouvant résulter d'eaux de qualité variable et l'obtention finale de critères et normes de qualité de l'eau suffisamment sûrs pour les eaux de baignade de la région. Comme aucune opération comparable de cette ampleur n'a jusqu'à ce jour été menée en Méditerranée, ce n'est actuellement pas possible. De même, il n'est pas possible d'appliquer le critère USEPA en vue d'une estimation approximative du degré de risques sanitaires que l'on pourrait escompter en Méditerranée puisque l'organisme indicateur

présentement utilisé dans la surveillance courante est différent, tout comme sont différentes les conditions d'exposition des populations se baignant en Méditerranée par rapport à celles étudiées aux Etats-Unis. En outre, comme on l'a souligné récemment, une nouvelle analyse des données sur lesquelles reposent les normes USEPA de 1986 autorise à penser que la relation mathématique entre la morbidité parmi les baigneurs et la concentration d'entérocoques est d'une valeur douteuse, sans compter les biais importants dus aux erreurs grevant les numérations bactériennes et qui n'ont pas été prises en compte dans l'analyse originelle (Fleisher, 1990, 1991; Godfree *et al.*, 1990). Mais dans l'ensemble, si l'on tient compte des considérations d'ordre climatique et socio-économique propres à la région méditerranéenne, on peut s'attendre à ce que les effets sanitaires exprimés en chiffres de morbidité hypothétique dans la région soient associés à des concentrations bactériennes plus faibles dans l'eau de mer que les effets équivalents aux Etats-Unis.

Figure 2



D'après Cabelli *et al.*, 1984

100. La situation concernant les mollusques et crustacés varie selon les diverses zones de la région méditerranéenne, et les risques sanitaires sont atténués par le fait que les trois principaux pays producteurs de fruits de mer sur une grande échelle commerciale (Espagne, France et Italie)

possèdent une législation rigoureuse pour les fruits de mer destinés à la consommation à l'état cru, législation qui rend généralement obligatoire l'épuration préalablement à la commercialisation. L'épuration artificielle des moules est largement pratiquée en Europe. L'une des méthodes consiste à désinfecter au chlore l'eau de mer (qui doit alors être déchlorée avant qu'elle puisse être utilisée pour épurer les coquillages contaminés). Bien que cette méthode soit relativement coûteuse, elle demeure la méthode de choix dans maintes installations d'épuration de France et d'Espagne (Shumway et Hurst, 1991). La désinfection à l'ozone est désormais la méthode de choix dans les grandes stations françaises d'épuration des coquillages. Mais par contre, il y a encore dans l'ensemble de la Méditerranée des quantités considérables de coquillages qui ne sont pas soumises à des procédures rigoureuses d'épuration ou à un contrôle approprié de stockage après la récolte.

101. Les inconvénients de l'épuration comprennent son efficacité variable, l'impossibilité de l'obtenir dans le cas de très fortes charges bactériennes, son inutilité de fait pour réduire les métaux lourds et hydrocarbures contaminants, l'absence d'action contre les virus et, dans certains cas, son inapplicabilité pour raisons économiques (Canzonier, 1988). On a également observé que, au cours de l'épuration, l'eau dans laquelle les coquillages sont décontaminés peut présenter une mort progressive des coliformes fécaux libérés mais il ne s'ensuit pas forcément que le taux de libération de tous les agents pathogènes suive le même schéma uniforme (Geldreich, 1985). Il semble que l'épuration des virus par les moules reste peu élucidée, et les données relativement rares dont on dispose ont: a) démontré que l'élimination des virus des tissus autres que ceux du tractus digestif est lente; b) indiqué que les pratiques d'épuration classiques sont inappropriées à une élimination efficace des virus des moules; et c) mis en évidence aucune corrélation significative entre le nombre des virus et celui des coliformes fécaux, ce qui étaye l'affirmation de certains auteurs selon laquelle le nombre de coliformes fécaux est un indicateur peu fiable de la présence d'entérovirus humains, autrement dit l'absence de coliformes fécaux ne suffit pas à garantir une consommation sans danger de fruits de mer (Shumway et Hurst, 1991).

102. Ces conclusions s'appliquent tout particulièrement à la situation en Méditerranée puisque le principal indicateur bactérien utilisé pour l'acceptabilité des eaux conchylicoles et, dans un certain nombre de cas, pour les coquillages eux-mêmes, est celui des coliformes fécaux, ce qui renforce le point de vue qui a été exprimé dans les instances scientifiques compétentes depuis l'adoption des critères de qualité communs en 1987, à savoir que les virus dans les coquillages constituent un aspect particulièrement préoccupant dans la région.

103. Le problème des biotoxines algales dans les coquillages est relativement récent en Méditerranée, et hormis les relevés précédemment mentionnés dans le présent document, il semble encore fort mal connu. Dans ces conditions, il convient de recueillir davantage de données, notamment pour les zones notoirement sujettes à des phénomènes réguliers ou sporadiques d'eutrophisation. Un document très complet sur les biotoxines marines est actuellement en préparation sous les auspices de l'OMS, mais il ne dispensera pas de la nécessité de procéder à des études approfondies *in situ* dans les zones appropriées.

Mesures et études recommandées

104. L'objectif pratique des investigations microbiologiques et épidémiologiques sur les risques sanitaires associés à l'utilisation du milieu marin consiste à acquérir des données pouvant servir à l'élaboration et à l'application, par les autorités nationales et locales, de mesures de prévention et de lutte.

105. Ce qu'il convient d'obtenir en premier lieu est un inventaire plus complet de la présence et (si possible) de la densité des micro-organismes pathogènes dans les effluents municipaux et dans les zones marines (à usage récréatif et conchylicole) notoirement contaminées par ces effluents. Cet inventaire fournirait des données essentielles pour la conception de nouvelles stations

d'épuration et de nouveaux émissaires à ces sites, et pour toute modification éventuellement nécessaire des stations et émissaires existants.

106. Du point de vue général de la lutte contre la pollution à la source, il est nécessaire d'accélérer la mise en oeuvre de l'engagement de la Déclaration de Gênes ayant trait aux stations d'épuration et aux émissaires pour les grandes villes et les villes moyennes. Une mesure supplémentaire de nature plus urgente pourrait consister à aménager des installations de traitement séparé (là où ce n'est déjà fait) pour les déchets hospitaliers avant que ceux-ci ne pénètrent dans le réseau d'assainissement municipal.

107. Le critère provisoire actuel pour les eaux à usage récréatif qui a été conjointement adopté par les Parties contractantes en 1985 devrait être clairement reconnu pour ce qu'il est effectivement, à savoir une mesure palliative minimale temporaire basée sur les capacités immédiates du plus petit dénominateur commun. Il importe que la planification à long terme, notamment dans la conception des installations d'épuration et de rejet, ne soit pas uniquement réalisée sur la base de ce critère.

108. Il conviendra en dernier lieu de mettre au point des critères et normes modifiés sur la base d'indicateurs plus fiables. Toutefois, au stade actuel, il n'est pas recommandé de prendre officiellement des initiatives en vue de modifier le présent critère, même sur une nouvelle base provisoire, puisqu'au niveau international la situation concernant la validité de plusieurs indicateurs bactériens actuellement en usage ne cesse d'évoluer. Toutefois, on devrait s'employer autant que possible à mesurer les streptocoques fécaux de même que les coliformes fécaux, sur la base soit des critères proposés à l'origine par l'OMS et le PNUE en 1985, soit des concentrations guides énoncées dans la directive de la CEE de 1975 relative à la qualité de l'eau de baignade, si cela est possible sans entraîner d'importantes modifications de la législation.

109. La question de la qualité esthétique et hygiénique des plages mérite une attention immédiate. Dans ce contexte, l'analyse de prélèvements de sable opérés sur des plages importantes pour y rechercher les bactéries et les champignons devrait être réalisée au titre d'étude fondamentale. La question de la surfréquentation des plages est une question plus complexe qui appelle une solution au cas par cas.

110. En ce qui concerne les eaux conchylicoles, il est pareillement recommandé que les critères conjointement adoptés par les Parties contractantes en 1987 ne soient pas modifiés au stade actuel. Il conviendrait toutefois d'entreprendre, dans toute la mesure du possible, des investigations sur la présence et la densité des micro-organismes pathogènes, notamment des virus dans les échantillons prélevés dans des eaux acceptables, en vue d'examiner l'efficacité des techniques d'épuration en usage et l'instauration éventuelle de critères pour les virus.

111. La question des études épidémiologiques visant à établir une corrélation entre les eaux à usage récréatif et les effets sanitaires mérite une attention toute particulière. Jusqu'à présent, les études menées en Méditerranée ont été essentiellement axées sur l'adaptation de techniques mondialement consacrées aux conditions régnant dans la région. Etant donné les doutes que suscitent présentement parmi la communauté scientifique mondiale toutes les études passées, et compte tenu de l'importance accordée à l'ensemble de ce problème dans les pays d'Europe septentrionale, les travaux menés en Méditerranée sur ce sujet devraient être étroitement coordonnés avec les initiatives existantes et prévues à l'échelon européen, et des liens resserrés entre les organisations internationales compétentes (notamment l'OMS et la CCE) à un niveau euro-méditerranéen contribueraient grandement à la solution ultérieure du problème.

112. Dans le domaine de la recherche microbiologique liée à la santé en Méditerranée, il conviendrait de réorienter plus nettement, dans la composante pertinente du MED POL, les études individuelles vers des projets multinationaux coordonnés sur des sujets prioritaires définis dans

le cadre des domaines de recherche déjà approuvés. A part les études épidémiologiques (qui nécessitent une coordination tant au sein qu'en dehors de la région ainsi qu'un financement extérieur substantiel en plus de la contribution MED POL au rôle "catalyseur"), les sujets à aborder en priorité paraissent être: a) les densités comparatives des agents pathogènes (virus y compris) et des organismes indicateurs dans les eaux côtières à usage récréatif et dans les mollusques/crustacés de zones représentatives autour de la Méditerranée; b) la survie des virus dans l'eau de mer et dans les mollusques/crustacés et leur résistance aux techniques d'épuration et de traitement des eaux usées; et c) les effets sanitaires néfastes des proliférations algales et apparentées, notamment en ce qui concerne la présence et la concentration de biotoxines algales sous les conditions méditerranéennes.

REFERENCES

- ARIN, E.W., HILL, W.F. Jr., and CLARKE, N.A. (1975). Mortality of enteric viruses in marine and other waters. In Gameson, A.L.H. (Ed), Discharge of Sewage from Sea outfalls, pp.227-235. Pergamon Press, New York.
- ALONSO MOLINA, J.L., PERIS AGUIRRE, I. and AMOROS MUNOZ, I. (1984). Occurrence of *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella* in Valencia coastal waters. Villes Journées Etud. Pollutions, Lucerne, pp.587-595. C.I.E.S.M., Monaco.
- BAINE, W.B., ZAMPIERI, A., MAZZOTTI, M. et al (1974). Epidemiology of Cholera in Italy in 1973. *Lancet*, 1974, 1370-1381.
- BELLELLI, E. and LEOGRANDE, G. (1967). Ricerche batteriologiche e virologiche sui mitili. *Ann. Selaro*, 9 : 820-828.
- BENDINELLI, M. and RUSCHI, A., (1969). Isolation of human enterovirus from mussels. *J. Food Prot.*, 51 : 218-251.
- 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. Unpublished report.
- BERNARD, P., GUEHO, E. and PESANDO, D. (1988). Recherche de dermatophytes et de moisissures pathogènes dans le sable des plages, 1986-1987. Unpublished report.
- BOCCIA, A., MONTANARO, D., ANNINO, I. and SCHIAPPA, F. (1978). Isolamento di vibroni alofili riferibili a *Vibrio parahaemolyticus* e *Vibrio alginolyticus* da molluschi bivalvi e da campioni di acqua della zona costiera della città di Napoli. *Ig. Moderna*, 71 : 893- 904.
- BOCCIA, A., MONTANARO, D., ANNINO, I. and SCHIAPPA, F. (1979). Sulla correlazione tra *Salmonelle* e coli fecali in acque marine costiere della città di Napoli. *Ig. Moderna*, 72 : 639-649.
- BORREGO, J.J., ROMERO, P. and MARINO, F. (1988). Epidemiological study on bathers from selected beaches in Malaga. Unpublished report.
- BREITTMAYER, J.P., and GAUTHIER, J.L (1978). Contamination bactérienne d'une zone balnéaire liée à sa fréquentation. *Water Research*, 12 : 193-197.
- BRISOU, J. (1976). Mesures à prendre en vue d'assurer la salubrité du littoral méditerranéen: aspects sanitaires de la pollution. *Cahiers de santé publique*, No. 62, OMS, Genève.
- BRISOU, J., TYSSET, C., MAILLOUX, M., and ESPINASSE, S. (1962). Recherches sur les vibroni marins. A propos de 44 souches isolées de moules (*Mytilus galloprovincialis*) du littoral algérois. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, 55 : 260-275.
- 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 criteria for marine recreational waters. R & D report No. EPA-600/1-80-031, U.S. Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, N.C.
- CABELLI, V.J. et al (1984). A marine recreational water quality criterion consistent with indicator concepts and risk analysis. *Journal of the Water Pollution Control Federation*, 55 : 1306-1314.
- 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. *J. Shellfish Res.*, 7 : 261-266.
- CAREPS (Centre Alpin de Recherche Epidémiologique et de Prévention Sanitaire). (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.
- CEE (1976). Directive du Conseil du 8 décembre 1975 concernant la qualité des eaux de baignade (76/160/CEE). *Journal officiel des Communautés européennes* No. L31: 1-4.
- CEE (1979). Directive du Conseil du 30 octobre 1979 relative à la qualité requise des eaux conchylicoles (79/923/CEE). *Journal officiel des Communautés européennes* No. L281: 47-52.
- CEE (1988). La qualité des eaux de baignade, 1983-1986: cinquième rapport. Document EUR 11588, Commission des Communautés européennes, Luxembourg.
- CEE (1989). La qualité des eaux de baignade, 1987: sixième rapport. Document EUR 11921, Commission des Communautés européennes, Luxembourg.
- COLLEY, J.R.T. (1990). Epidemiological data on health impact of recreational (marine) waters. Paper presented at WHO Working Group on health impact from human exposure to recreational waters, Rimini, 27 February - 2 March 1990.
- DENIS, F. (1973). Coxsackie virus group A in oysters and mussels. *Lancet*, 1(7814) : 1262
- EL-SAHN, M.A., EL-BANNA, A.A. and SHEHATA, A.M.E.T. (1982). Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus* in selected marine invertebrates, sediment and seawater around Alexandria, Egypt. *Can. J. Microbiol.*, 28(11) : 1261-1264.
- EL-SHARKAWI, F.M. and HASSAN, M.N.E.R. (1982). The relation between the state of pollution in Alexandria swimming beaches and the occurrence of typhoid among bathers. *Bull. High. Inst. Pub. Hlth. Alexandria*, 12: 337-351.
- EL-SHARKAWI, F., EL-DEREA, H.B., and AKEL, M.M. (1982). The effect of marine pollution on the hygienic quality of shellfish caught in Alexandria beaches. *Bull. High. Inst. Pub. Hlth. Alexandria*, 12: 47-57.
- 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, UNEP, Athens.

- FATTAL B. and SHUVAL, H.I. (1991). The relationship between the microbiological quality of coastal seawater and rotavirus-induced gastroenteritis among bathers in Mediterranean Israeli beaches. M.A.P. Technical Report Series, No. 46, UNEP, Athens.
- FLEISHER, J.M. (1990). The effects of measurement error on previously reported mathematical relationships between indicator organism density and swimming-associated illness: A quantitative estimate of the resulting bias. *International Journal of Epidemiology*, 19(4): 1100-1106.
- FLEISHER, J.M. (1991). A re-analysis of the data supporting U.S. Federal bacteriological water quality criteria governing marine recreational waters. *Water Pollution Control Federation Journal* (in press).
- FORTUNA, S., VOLTERRA, L., SPANO, A.M. and MICHALEK, H. (1985). Ricerca di neurotossine nelle alghe e nei mitili raccolti durante la "marea rossa" nell'estate 1984 sul litorale Romagnolo. *Ann. Ist. Super. Sanità*. 21(3): 349-356.
- 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, GOUVERNEMENT DE LA (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.
- GELDREICH, E.E. (1985). A review of epidemiological evidence, criteria and standards correlating health effects with shellfish quality and marine bathing waters. Unpublished document.
- GERBA, C.P. and GOYAL, S.M. (1978). Detection and occurrence of enteric viruses in shellfish: A review. *J. Food Prot.*, 41: 743-754.
- GHINSBERG, R.C., BAR-DOW, L., ROGOL, M. and VITKIN, M. (1990). Prevalence of pathogenic microorganisms in beach sand. Unpublished report.
- GIRONES, R. JOFRE, JUAN T., and BOSCH, A. (1989). Isolation of marine bacteria with antiviral properties. *Can. J. Microbiol.*, 35: 1015-1021.
- GODFREE, A., JONES, F. and KAY, D. (1990). Recreational water quality - The management of environmental health risks associated with sewage discharges. *Marine Pollution Bulletin*, 21(9): 414-422.
- ITALIE, GOUVERNEMENT DE L' (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). Unpublished report.
- 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. *Wat. Sci. Tech.*, 21(3): 15-19.

- JONES, F. and KAY, D. (1989). Bathing waters and health studies. *Water Services*, 93(1117): 87-89.
- JONES, F. and KAY, D. (1990). Recreational water quality: the relationship between epidemiological studies and recreational activities in waters. Report of a biological standards seminar, Middlesex Polytechnic, 9 February 1990.
- KATZENELSON, E. (1977). Concentration and identification of viruses from seawater. *Rev. Int. Oceanogr. Med.* 68: 9- 16.
- KRIKELIS, V. (1987). Research on enteric viruses in aquatic environments. Unpublished report.
- KRIKELIS, V., SPYROU, N., MARKOULATOS, P. and SERIE, Ch. (1985a). Seasonal distribution of enteroviruses and adenoviruses in domestic sewage. *Can. J. Microbiol.*, 31: 24-25.
- KRIKELIS, V., MARKOULATOS, P., SPYROU, N. and SERIE, Ch. (1985b). Detection of indigenous enteric viruses in raw sewage effluents of the city of Athens, Greece, during a two-year survey. *Wat. Sci. Tech.*, 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. *Wat. Sci. Tech.*, 18(Split): 43-48.
- KRIKELIS, V., SPYROU, N. and MARKOULATOS, P. (1987). Evaluation of enteric virus levels and serotypes recovered from wastewater and seawater. *J. Hygiene, Epidem. Microbiol. Immunology*, 18: 43-48.
- LIGHTFOOT, N.E. (1989). A prospective study of swimming- related illness at six freshwater beaches in Southern Ontario. Unpublished Ph.D. Thesis.
- MAINI, P., BUCCI, G., PIVA, 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.
- MAJORI, L., CAMPANELLO, C. and CREVATIN, E. (1978). Salmonella pollution of coastal seawaters of the Gulf of Trieste: A 3-year Survey. *IVes Journées Etud. Pollutions, Antalya*, pp.505-510. C.I.E.S.M., Monaco.
- MARCELLOU-KINTI, A.U., TSAKRIS, A. and MAVRIDOU, A. (1987). Comparative distribution of microbial and yeast populations in beach sand. Unpublished report.
- MARINO, M.G., HERNANZ, M. and FERNANDEZ, M. (1982). Relaciones entre calidad microbiologica de las aguas de bano y efectos sanitarios y aceptacion estetica de los banistas. 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 des moules et dans l'eau de mer en rade en Toulon (Méditerranée, France). *Can. J. Microbiol.*, 36: 47-52.
- 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. and CHAMBERLAIN, C. (1975). Factors influencing the survival of enteric microorganisms in the sea: An overview. In Discharge of Sewage from long sea outfalls. IAWPRC, Pergamon Press, Oxford.
- 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.
- MUJERIEGO, R., BRAVO, J.M. and Feliv, M.T. (1982). Recreation in coastal waters - Public Health implications. Vles Journées Etud. Pollutions, Cannes, pp.585-594, C.I.E.S.M., Monaco.
- OMS (1982). Examination of Water for Pollution Control: A reference handbook. Vol.3: Biological, Bacteriological and Virological Examination. Pergamon Press, Oxford.
- OMS (1984). Aquatic (marine and freshwater) biotoxins. Environmental Health Criteria 37, WHO, Geneva.
- OMS (1989). Contrôle de la qualité microbiologique dans les zones côtières à usage récréatif et les zones conchylicoles en Méditerranée. Document ICP/CEH 083/6. Bureau régional de l'Europe de l'OMS, Copenhague.
- OMS (1991). Health impact of human exposure to fresh and saline recreational waters. Report on a WHO working Group, Rimini.
- OMS/PNUE (1977). La pollution des eaux côtières - critères sanitaires et études épidémiologiques. Rapport d'une réunion d'un groupe d'experts organisée conjointement par l'OMS et le PNUE, Athènes 1-4 mars 1977. Document ICP/RCE 206(5), Bureau régional de l'Europe de l'OMS, Copenhague.
- OMS/PNUE (1981). Le contrôle de la qualité des eaux côtières en Méditerranée: rapport final du Programme coordonné de surveillance et de recherche sur la pollution dans la Méditerranée (MED VII) (1976-1980). Document ICP/RCE 206, Bureau régional de l'Europe de l'OMS, Copenhague.
- 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, Bureau régional de l'Europe de l'OMS, Copenhague.
- PAPADAKIS, J.A. (1987). Relation between densities of indicator organisms and microbial pathogens in seawater. Unpublished report.
- PAPADAKIS, J.A. (1989). Investigations of neurotoxins in shellfish. Unpublished report.
- 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. Unpublished report.
- PAPAEVANGELOU, G.J., BIZIAGOS, E., STATHOPOULOS, G.A., CRANCE, J.M., VAYONA, T. and DELOINCE, R. (1990). Unpublished report.
- PAPAPETROPOULOU, M. (1988). Effects of bathing on human skin flora. Unpublished report.
- PATTI, A.M., DE FILIPPIS, P., GABRIELI, R., AULICINO, F. and VOLTERRA, L. (1990). Unicellular algae as a vehicle of virus disease. Paper presented at Third International Conference on Tourist Health, Venice, 14-17 November 1990.

- PETRILLI, F. and CROVARI, P. (1965). Aspetti dell'inquinamento delle acque marine con particolare riguardo alla situazione in Liguria. *G. Ig. Med. Prev.*, 8: 269-311.
- PETRILLI, F.L., DE RENZI, G.P., and DE FLORA, S. (1978). Monitoring of coastal areas in Tuscany (Tyrrhenian Sea). *Ives Journées Etud. Pollutions, Antalya*, pp.477-481. C.I.E.S.M., Monaco.
- PETRILLI, F.L., DE RENZI, G.P., ORLANDO, P. and DE FLORA, S. (1980). Microbiological evaluation of the coastal water quality in the Tyrrhenian Sea. *Prog. Wat. Tech.*, 12(1): 129-136.
- PAYMENT, P., LAROSE, Y. and TRUDEL, M. (1979). Polioviruses as indicators of virological quality of water. *Can. J. Microbiol.*, 25: 1212-1214.
- PNUE (1982). Convention pour la Protection de la mer Méditerranée contre la pollution et les protocoles y relatifs. PNUE, New York.
- PNUE (1983). Long-term programme of pollution monitoring and research in the Mediterranean (MED POL Phase II). UNEP Regional Seas Reports and Studies No. 28. UNEP, Geneva.
- 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 aux protocoles y relatifs, Gênes, 9-13 septembre 1985. Document UNEP/IG.56/5. UNEP, Athens.
- 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. UNEP, Athens.
- 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 aux protocoles y relatifs. Athènes, 7-11 septembre 1987. Document UNEP/IG.74/5. UNEP, Athens.
- PNUE (1989). Evaluation des données de la surveillance continue de MED POL - Phase II: Partie II -Micro-organismes dans les zones côtières. Document UNEP(OCA)/MED WG.5/Inf.4, UNEP, Athens
- PNUE/ECE/UNIDO/FAO/UNESCO/OMS/AIEA (1983). Pollutants from land-based sources in the Mediterranean. UNEP Regional Seas Reports and Studies No. 32. UNEP, Geneva.
- 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. UNEP, Athens.
- 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. UNEP, Athens.
- PNUE/OMS/AIEA (1988). Guidelines for monitoring the quality of coastal recreational and shellfish areas. Reference Methods for Marine Pollution Studies No. 1, Rev 1. UNEP, Nairobi.
- 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 L.D. Sabbath (Ed.), "Pseudomonas aeruginosa, the organism, diseases it causes, and their treatment. Hans Huber Publishers, Berne, Switzerland.

- ROBINSON, E.D., and MOOD, E.W. (1966). A quantitative and qualitative appraisal of microbial pollution by swimmers. *J. Hyg. Camb.*, 64: 489-491.
- SALIBA, L.J. and HELMER, R. (1990). Health risks associated with pollution of coastal bathing waters. *Wld Hlth Statist. Quart.*, 43: 177-187.
- SELLWOOD, J., DADSWELL, J. and SLADE, J. (1981). Viruses in sewage as an indicator of their presence in the community. *J. Hyg.*, 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.S. and HURST, J.W.Jr (1991). *Mussels and Public Health*. In Gosling, E.M. (Ed.): *The Mussel (Mytilus)*. Elsevier Science Publishers.
- SHUVAL, H.I. (1986). *Thalassogenic diseases*. UNEP Regional Seas Reports and Studies No. 79. UNEP, Geneva.
- STILLE, W., KUNKEL, B. and NERGER, K. (1972). Austern- hepatitis. *Dt. Med. Zeitschr.*, 97: 145.
- 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.
- 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. (1987). Comparison of procedures based on Rappaport-Vassiliadis medium with those using Muller-Kauffmann medium containing Teepol for the isolation of *Salmonella* species. *Epidem. Inf.*, 99: 143-147.
- VELESCU, S. (1982). Indicateurs de pollution fécale dans les sédiments marins soumis aux influences anthropogènes. In: *Vies Journées Etudes Pollutions*, Cannes, pp. C.I.E.S.M., Monaco.
- VOLTERRA, L. (1989a). Development of analytical techniques for monitoring the hygiene quality of shellfish. Unpublished report.
- VOLTERRA, L. (1989b). Enterovirus Indicators in marine coastal environments. Unpublished report.
- VOLTERRA, L. and AULICINO, F. (1980). Indicators of faecal pollution in sediments. In *Ves Journées Etudes Pollutions*, Cagliari, pp.307-312 C.I.E.S.M., Monaco.
- VOLTERRA, L., TOSTI, E., VERO, A. and IZZO, G. (1985). Microbiological pollution of marine sediments in the southern stretch of the Gulf of Naples. *Water, Air and Soil Pollution*, 26: 175-184.
- WHEELER, D. (1990). The real risks of bathing in water contaminated by sewage. *Environmental Health*, 98(10): 285-287.
- WOOD, P.C. (1976). *Manuel d'hygiène des fruits de mer*. Publication offset No. 31, OMS, Genève.

YOSHPE-PURER, Y. (1987). The occurrence of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* in coastal waters in Israel. Unpublished report.