



Disponible en ligne sur  
 ScienceDirect  
 www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France  
 EM|consulte  
 www.em-consulte.com



## Article original

## Détection d'entérovirus dans les eaux usées urbaines à Yopougon, Abidjan

*Detection of enteroviruses in urban wastewater in Yopougon, Abidjan*K.J. Momou<sup>a,\*,b</sup>, C. Akoua-Koffi<sup>a,d</sup>, D.S. Akré<sup>a</sup>, E.V. Adjogoua<sup>a</sup>, L. Tiéoulou<sup>a</sup>, M. Dosso<sup>c</sup><sup>a</sup> Unité des virus du système nerveux, département virus épidémique, institut Pasteur de Côte d'Ivoire, BP 490, Abidjan 01, Côte d'Ivoire<sup>b</sup> UFR sciences et gestion de l'environnement, laboratoire des sciences de l'environnement université d'Abobo-Adjamé, BP 801, Abidjan 02, Côte d'Ivoire<sup>c</sup> Département bactériologie virologie, institut Pasteur de Côte d'Ivoire, BP V153, Abidjan 01, Côte d'Ivoire<sup>d</sup> UFR des sciences médicales de Bouaké, université de Bouaké, Bouaké, Côte d'Ivoire

## INFO ARTICLE

## Historique de l'article :

Reçu le 29 décembre 2010

Accepté le 25 mai 2011

## Mots clés :

Eaux usées

Pollution

Entérovirus non polio

Poliovirus

Abidjan

## R É S U M É

**But de l'étude.** – L'objectif de cette étude était de déterminer la prévalence des entérovirus (EV) dans des eaux usées urbaines et d'en préciser les sérotypes circulants.

**Méthodes.** – Après une concentration des virus selon les recommandations de l'OMS, les phases aqueuses de 68 échantillons d'eaux usées ont été inoculées sur les lignées cellulaires BGM, RD, Hep2 C et L20B. Le typage des isolats après titrage a été réalisé par séroneutralisation en microplaque à l'aide des pools d'antisérums dirigés contre les EV (kit RIVM/OMS). Les souches entérovirus non polio (ENPV) ont été confirmées par le test RT-PCR en région génomique 5'NC des EV. Les tests antigéniques et moléculaires de différenciation intratypique des *Poliovirus* ont été réalisés pour déterminer la nature sauvage ou vaccinale des souches de *Poliovirus* isolées.

**Résultats.** – L'isolement viral a permis d'obtenir 43/68 (65,15 %) échantillons positifs dont 35/43 (81,39 %) étaient après identification des EV et 8/43 (19,04 %) des souches non EV. Parmi les EV, 34/35 (97,14 %) étaient des ENPV et 2/35 (5,71 %) des *Poliovirus* de type 2 vaccinal (Sabin-like). Le typage des souches a donné 77 % de non typables par la méthode conventionnelle. La moyenne de la concentration virale estimée dans ces eaux usées brutes est de  $4,28 \times 10^5$  UFP/L.

**Conclusion.** – Les différents contacts entre les populations et ces eaux exposent celles-ci à des risques sanitaires multiples liés aux entérovirus.

© 2011 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

## A B S T R A C T

## Keywords:

Wastewater

Pollution

Non polio enterovirus

Poliovirus

Abidjan

**Aim.** – The aim of this study was to determine prevalence of enteroviruses in raw municipal wastewater and specify serotypes circulating.

**Methods.** – After virus concentration by WHO recommend method, aqueous phase of 68 samples was inoculate on BGM, RD, L20B and Hep2 cells lines. Typing after titration was performed by microplate neutralization test with specific horse immune serum against EV (kit RIVM/WHO). NPEV strains were confirmed by RT-PCR test in 5'NC genomic region. Antigenic and molecular tests of *Polioviruses* intratypic differentiation were performed to determine vaccine or wild origin of *Poliovirus* strains.

**Results.** – Viral isolation obtained 43/68 (65.15 %) positives samples. Among these 35/43 (81.39%) were EV and 8/43 (19.04 %) non EV strain. Among EVs, 34/35 (97.14 %) were NEPV and 2/35 (5.71 %) vaccinal *Poliovirus* strains type 2 (Sabin-like). NEPV typing gave 77 % untypeable strains by conventionally method. The average virus concentration estimated in the raw sewage is  $4.28 \times 10^5$  PFU/L.

**Conclusion.** – Various contacts between people and these waters expose them to health risks.

© 2011 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

## 1. Introduction

Le terme « virus entérique » est un terme épidémiologique désignant l'ensemble des virus qui entament leur multiplication dans le tractus gastro-intestinal et qui sont éliminés par les

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : akouamc@yahoo.fr (K.J. Momou).

matières fécales [1]. Les virus entériques possèdent un fort pouvoir infectant et sous certaines conditions ont une longue durée de persistance dans les eaux. C'est le cas du genre *entérovirus* (EV) [2,3].

Les EV sont excrétés en grande quantité dans les matières fécales des sujets humains et des animaux infectés. La concentration moyenne de ces virus a été estimée entre  $10^6$  à  $10^8$  particules virales par gramme de selle. Par ailleurs, dans les eaux usées brutes et les eaux de surfaces polluées, les moyennes estimées étaient respectivement de  $10^2$  particules virales pour 100 mL et une à dix particules pour 100 mL [4].

Les EV sont transmis principalement par voie fécale orale. Leurs domaines pathologiques sont très étendus car ils sont capables de provoquer des lésions du système nerveux, du tractus gastro-intestinal, de l'appareil respiratoire, des muscles, de la peau et des yeux [5]. Jusqu'à présent les études réalisées sur le terrain à Abidjan ont permis d'affirmer l'existence d'EV dans les eaux usées [6,7].

La détection par des techniques conventionnelles et moléculaires à partir d'eaux usées polluées non traitées dont l'écoulement débouche sur une lagune tropicale comme à Yopougon, Abidjan pourrait permettre d'évaluer les risques sanitaires liés à ces EV et d'en préciser les sérotypes circulants.

## 2. Matériel et méthodes

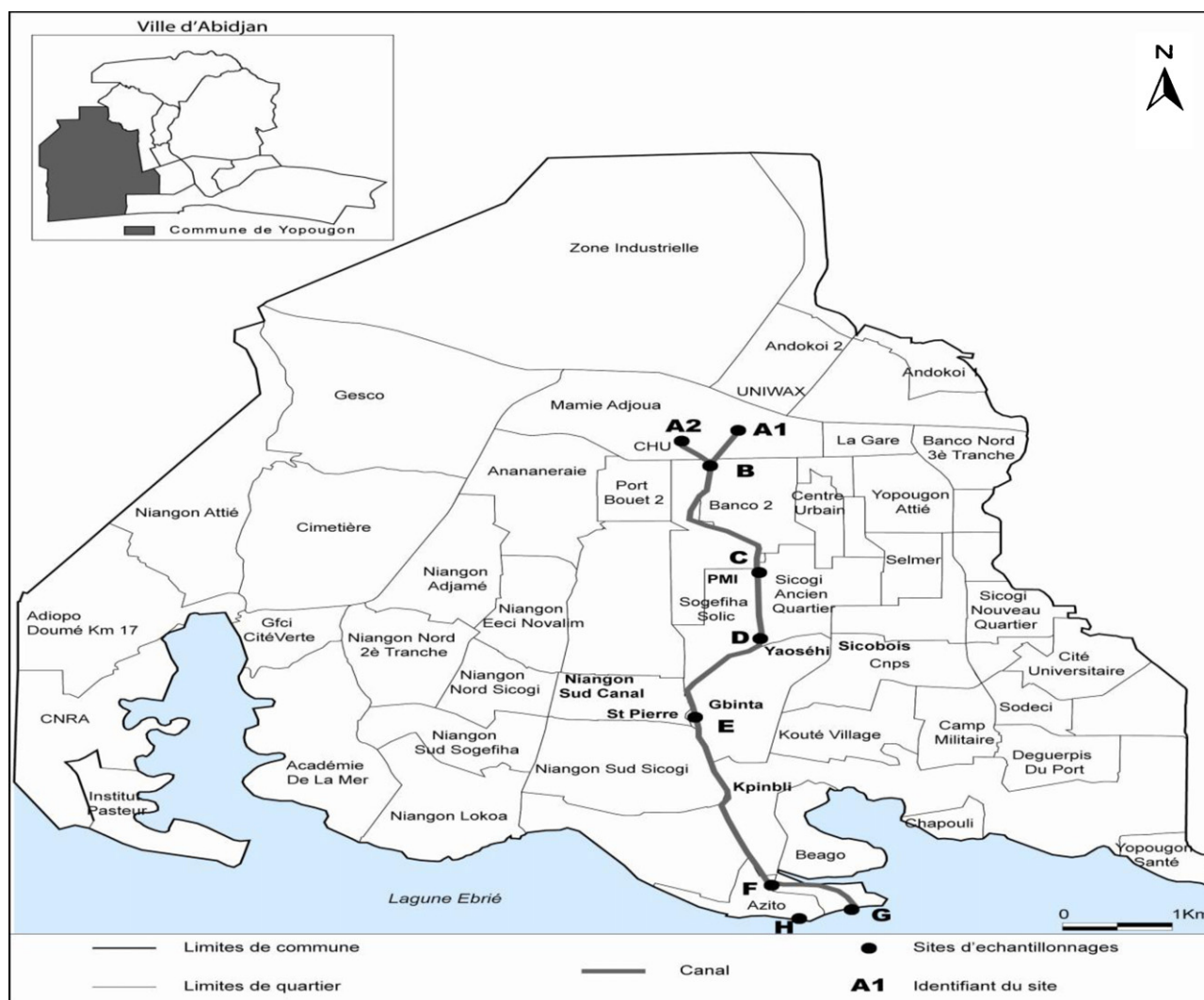
### 2.1. Cadre de l'étude

La commune de Yopougon, située dans la ville d'Abidjan, a une superficie d'environ 85 km<sup>2</sup> et s'étend sur 14 800 hectares. La zone de l'étude s'étend du nord de la commune de Yopougon à partir de la zone industrielle jusqu'au sud de la commune à la berge de la lagune Ebrié, près de la centrale thermique d'Azito (Fig. 1). La population desservie par le collecteur est supérieure à 500 000 habitants. La population en aval de la zone d'étude à Azito était répartie dans 333 ménages pour un effectif de 1479 habitants en 1998, cette population était estimée en 2008 à 2395 habitants.

### 2.2. Échantillonnages

Pendant les mois de septembre, octobre, novembre, décembre 2008 et janvier 2009, 24 sorties pour collecte d'eaux usées ont été effectuées.

Un total de 68 échantillons d'un litre d'eau usée destinés à l'analyse virologique a été recueilli dans un flacon stérile en verre pyrex. Les échantillons sont maintenus à 4 °C avant et pendant leur



Source: Enquêtes Julien K. MOMOU; 2010

Fig. 1. Répartition des sites d'échantillonnage le long du principal canal unitaire d'eaux usées de la commune de Yopougon à Abidjan.

acheminement au laboratoire, à l'unité des virus du système nerveux, au département des virus épidémiques de l'institut Pasteur de Côte d'Ivoire, où ils étaient conservés au réfrigérateur pendant 48 heures à 4 °C si le traitement était différé.

### 2.3. Traitement des échantillons d'eaux

Les échantillons d'eaux usées ont été concentrés sélectivement par l'utilisation de Dextran T40 et de polyéthylène glycol 6000 (PEG 6000) selon la méthode de séparation en deux phases recommandée par OMS et d'après le principe de la concentration des virus par précipitation avec le PEG [8]. Cette méthode de précipitation des virus au PEG 6000 était celle qu'avaient décrite Lewis et Metcalf [9] et Greening et al. [10] avec des modifications comme mentionnées dans *Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation* [8]. Le traitement des échantillons d'eaux usées avait permis d'obtenir 68 concentrats. Deux aliquotes d'un millilitre de chaque concentrat ont été conservés à –80 °C pour utilisation ultérieure [8].

### 2.4. Isolement viral

Les cellules utilisées provenaient du National Institute for Communicable Diseases de Johannesburg en Afrique du Sud (cellules L20B, cellules fibroblastiques dérivées des souris transgéniques  $LtK^{-1}$  aprt1<sup>–</sup> ; cellules RD, cellules humaines RD dérivées de cellules tumorales de rhabdomyosarcome larynx carcinome) et du centre collaborateur de l'OMS et de recherche sur les entérovirus et vaccins viraux, Institut Pasteur de Paris (Hep2 C, cellules épithéliales humaines Hep2 C dérivées de l'épithélioma du col utérin ; cellules BGM ou Buffalo Green Monkey Kidney dérivées de rein de singe vert de Buffalo), dans le cadre des activités polio du laboratoire inter pays de référence OMS pour la poliomyélite de l'institut Pasteur de Côte d'Ivoire. Ces cellules étaient entretenues dans du milieu de survie et de croissance Eagle's Minimum Essential Medium (MEM) Sigma-Aldrich 9,6 g/L avec respectivement 2 % et 5 % de sérum de veau fœtal (SVF) (Gibco 16000) [11].

Les concentrats provenant des 68 échantillons d'eaux usées ont été inoculés sur quatre lignées cellulaires en tube de 2 cm<sup>2</sup> : L20B, BGM, Hep2 C et RD (Passage 0 ou P<sub>0</sub>) sous un volume de 200 µL d'inoculum. Les tubes ont été incubés à 36 °C puis observés au microscope optique inversé pendant cinq jours à la recherche d'effets cytopathiques (ECP) caractéristiques des EV. Un passage était effectué systématiquement en absence d'ECP (P<sub>1</sub>) sur la même lignée cellulaire. Pour les échantillons ayant présenté un ECP sur lignées Hep2 C et RD, les suspensions de cultures ont été ré-inoculées sur lignées BGM et L20B (réactions croisées) et pour ceux qui ont présenté un ECP sur BGM et L20B, le passage s'effectuait sur les lignées cellulaires correspondantes [8,11].

### 2.5. Concentration virale estimée

La concentration virale estimée en unités formant plaque (UFP) dans les eaux usées a été calculée sur la base du titrage viral sur la lignée cellulaire ayant permis l'isolement en plaque de 96 puits. Brièvement, les suspensions virales ont été diluées en série (10<sup>–1</sup> à 10<sup>–10</sup>) dans du MEM sans SVF ; 100 µL de chaque dilution ont été distribués dans six puits (100 µL/puits). Dans chaque puits 100 µL de suspensions cellulaires ont été ajoutés (pour un volume total de 200 µL/puits). Les plaques ont été incubées à 37 °C pendant cinq jours sous 5 % de CO<sub>2</sub>. Cette méthode prend en considération le nombre de puits infectés au total par dilution. Les valeurs de DI<sub>50</sub>/50 µL ont été calculées par la méthode de Spearman-Kärber selon la formule  $\log DI_{50} = L - d (S-0,5)$  [11,12]. Le titre obtenu a été

rapporté à 500 mL. En se rapportant à la méthode décrite par Maul, c'est-à-dire en supposant que le modèle de Poisson a été appliqué à l'analyse des échantillons viraux, 1 DCP 50/mL aurait une densité virale moyenne égale à 0,69 UFP/mL [13].

### 2.6. Typage des souches

La souche virale utilisée comme témoin positif pour la détection des entérovirus est une souche de *Poliovirus* (PV) type 1 Sabin fournie par l'OMS.

Le typage des PV et des entérovirus non polio (ENPV) (Kit RIVM) a été effectué par la méthode de séroneutralisation en microplaque de culture de 96 puits : soit à partir des échantillons qui ont présenté un ECP sur la lignée L20B directement, soit après réaction croisée pour les PV et sur la lignée laquelle un ECP a été obtenu pour les ENPV [11]. Après incubation et observation pendant cinq jours, les résultats ont été interprétés en se référant aux abaques du kit. Les souches identifiées PV ont été ensuite testées en Elisa et RT-PCR pour la différenciation intratypique conformément aux recommandations de l'OMS [11].

### 2.7. Extraction et amplification du génome viral par RT-PCR

L'extraction de l'ARN viral à partir cellules infectées a été réalisée comme décrite par Zoll et al., [14]. Le test RT-PCR en région 5'NC a été effectué en suivant la méthode décrite par Bessaud et al. [15] avec les mêmes amorces. À la fin de l'amplification, les produits d'amplification ont été visualisés par transillumination UV après électrophorèse en gel d'agarose à 1 % contenant du bromure d'ethidium à 0,5 µg/mL.

### 2.8. Analyse statistique

Pour l'analyse des données, le logiciel Epi/Info 6.2 (CDC) a été utilisé et le test Chi<sup>2</sup> ( $\chi^2$ ) a servi pour la comparaison statistique au seuil alpha 0,05.

## 3. Résultats

### 3.1. Positivité sur les lignées cellulaires

Dans l'ensemble, 43/68 (63,23 %) échantillons ont été positifs en culture sur lignées L20B, RD, Hep2 C, BGM dans les combinaisons indiquées dans le [Tableau 1](#).

Les proportions d'échantillons qui ont présenté un ECP sur les quatre lignées étaient : BGM 40 (60,60 %), 14 (21,21 %) sur L20B, 35 (53,03 %) sur RD, 18 (45,45 %) sur Hep2 C.

### 3.2. Identification des souches

#### 3.2.1. Typage entérovirus non polio

Parmi les 43 isolats, 35 étaient des entérovirus (81,4 %) et huit des non entérovirus (18,6 %). Sur les 35 EV, 33 étaient des ENPV et deux souches de PV. L'aspect des ECP des isolats non entérovirus évoquait des réovirus [07] et d'adénovirus [01] non confirmés par des tests conventionnels et moléculaires que nous n'avons pas pu réaliser.

La prévalence des EV et des ENPV dans les eaux usées brutes et lagunaires était respectivement 51,47 % (35/68) et 48,52 % (33/68). Pris séparément, au niveau des eaux usées brutes le taux de positivité était de 55,31 % (26/47) pour les ENPV alors qu'au niveau des eaux lagunaires ce taux était de 33,33 % (7/21). Tous les sites (100 %) ont été positifs aux EV dans diverses proportions ([Tableau 2](#)). Les sérotypes identifiés comprenaient 8 % de *Coxsakiavirus B*, 15 % des *Echovirus* (E7 et E30) et 77 % ENPV non typables.

**Tableau 1**

Répartition des échantillons positifs en fonction de la lignée cellulaire.

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

### 3.2.2. Typage des Poliovirus

L'identification par séroneutralisation avec des immuns sérums spécifiques a révélé la présence des PV de sérotypes 2 (PV2).

### 3.2.3. Différentiation intratypique (DIT)

RT-PCR Polio : en se référant aux abaques du kit (PCR Polio), l'interprétation du profil électrophorétique a révélé pour les échantillons 31 (Site F) et 48 (Site G) la présence des PV type 2 Sabin-like (PV2 SL) [11].

Elisa Polio : les souches testées en Elisa et interprétées en se référant aux abaques du kit (Elisa Polio) sont conformes aux résultats de la RT-PCR.

En effet, les échantillons 31 (Site F) et 48 (Site G) étaient des PV 2 Sabin-like (PV2 SL) [11].

### 3.2.4. Amplification de la région 5'NC des entérovirus non polio

Les résultats de typage antigénique d'ENPV à partir des isolats ont été confirmés par le test RT-PCR (Fig. 2).

### 3.2.5. Concentration virale estimée

La concentration virale estimée dans les eaux usées brutes était comprise entre  $8,72 \times 10^3$  UFP/500 mL et  $1,74 \times 10^6$  UFP/500 mL. La moyenne était de  $2,14 \times 10^5$  UFP/500 mL soit  $4,28 \times 10^5$  UFP/L. La valeur de la concentration virale moyenne estimée la plus élevée a été celle du site F avec  $4,53 \times 10^5$  UFP/500 mL et la plus faible celle du site A1 avec  $1,154 \times 10^4$  UFP/500 mL.

### 3.2.6. Corrélation entre la présence des entérovirus et la pluviométrie

Il a été observé une répartition inégale des EV le long du canal jusqu'au récepteur lagunaire. Au site D où la valeur de la pluviométrie est nulle un taux d'EV isolés très élevé a été obtenu.

**Tableau 2**

Répartition des échantillons positifs par sites de prélèvements.

Sites	Effectif, n (%)
A1 (n=5)	2 (40)
A2 (n=5)	2 (40)
B (n=4)	4 (100)
C (n=9)	4 (44,44)
D (n=7)	5 (71,42)
E (n=8)	6 (75)
F (n=9)	8 (88,88)
G (n=9)	5 (55,55)
H (n=12)	6 (50)
Total (n=68)	43 (63,23)

Lorsque la pluviométrie était très élevée le taux d'EV isolés devenait faible (sites C, G) tandis qu'avec une pluviométrie faible ou nulle, le nombre d'échantillons positifs augmentait comme aux sites B, D, F (Fig. 3).

## 4. Discussion

À Abidjan en Côte d'Ivoire, une étude menée par Gershy-Damet et al., dans le cadre de la surveillance des entérovirus dans les eaux usées en Côte d'Ivoire, avait rapporté une proportion d'EV isolés dans les eaux usées brutes sensiblement égale à celle obtenue dans notre étude [6]. En effet, il avait détecté les EV à un taux de 56,7 % (93/164) par culture cellulaire, test Elisa et immunofluorescence. Parmi les EV isolés par Gershy-Damet et al. 27,95 % étaient des *Coxsackievirus* et 72,05 % des PV [6]. La faible prévalence obtenue pour le PV et surtout la non détection de PV sauvage peut être mis sur le compte des efforts fournis au plan national dans le cadre du programme mondial d'élimination de la poliomyélite mis 1997. En effet, en plus de la vaccination de routine avec un taux national de couverture vaccinale par le vaccin polio oral (VPO) de 74 % en 2008, de nombreuses campagnes de vaccination antipoliomyélique dites « journées nationales de vaccination ou JNV » sont réalisées dans le pays et particulièrement dans les communes d'Abidjan [16]. Depuis 2000, les cas confirmés de poliomyélite (souche sauvage de PV notamment type 1 sauvage) se sont raréfiés : un cas en 2000, 17 cas en 2004 (réintroduction) et un cas en 2008, à la différence des pays comme le Nigeria, le Pakistan et l'Afghanistan où le PV est toujours endémique.

D'autres études africaines, notamment en Tunisie, par Hassine et al. et en Afrique du Sud par Grabow et al., ont rapporté des prévalences de 35,13 % d'EV et de 11,91 % d'ENPV respectivement [17,18]. En Argentine, Mueller et al. avaient rapporté une prévalence de 42,5 % d'ENPV [19]. Par rapport aux données à la prévalence d'ENPV (38/319) obtenue par Grabow, la prévalence d'ENPV (48,5 %) isolés dans les sites, les différences observées étaient statistiquement significatives ( $\chi^2 = 34,02$  ;  $p = 0,001 < 0,05$ ), traduisant ainsi le niveau élevé de pollution.

L'analyse détaillée des résultats du Tableau 1 a mis en évidence la prépondérance des souches isolées sur la lignée BGM que les autres lignées ; confirmant ainsi la spécificité de ces cellules pour les entérovirus hydriques [20].

Dans la série de Grabow, les PV représentaient 6,3 % des isolats et parmi les 11,9 % d'ENPV identifiés, 10,5 % des *Coxsackievirus* et 89,5 % étaient des EV non typables confirmant ainsi la problématique de l'identification des sérotypes des EV. En effet, les



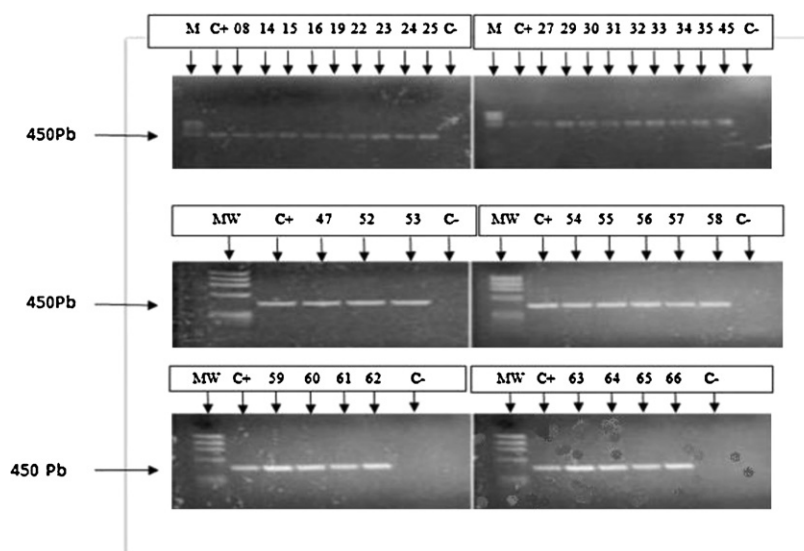


Fig. 2. Produits PCR en gel d'agarose à 1 % contenant du bromure d'éthidium à 0,5 µg/mL.

méthodes antigéniques d'identification et de caractérisation conventionnelle des ENPV se révèlent une technique lourde, longue, coûteuse et limitée par sa capacité à identifier correctement les variantes antigéniques. Selon Rakoko et al. [21], le caractère non sérotypable de ces ENPV peut être dû :

- soit à l'absence de l'antisérum correspondant dans le kit du diagnostic ;
- soit à l'apparition de variantes antigéniques d'un ENPV connu mais non identifiable par l'antisérum ;
- soit à la présence de nouveaux sérotypes d'ENPV.

Les méthodes moléculaires de typage (séquençage) sont devenues indispensables pour le sérogénotypage des ENPV qui permettent selon Shieh et al. la caractérisation génomique des isolats non identifiables par séroneutralisation, la mise en évidence de recombinaison et/ou mutation ; la détection d'une divergence entre le sérotypage et le génotypage qui peut être causée par l'évolution des EV ou à un mélange des sérotypes dans les lysats cellulaires des échantillons [22].

La valeur moyenne totale des EV dans les eaux usées était plus élevée que celle rapportée par Dahling et al. à Puerto Rican aux

États-Unis, leurs concentrations virales estimées variant de 100 à  $2,42 \times 10^5$  UFP/L dans les eaux usées brutes [23]. En toute vraisemblance, selon Schwartzbrod, les eaux usées de toutes les communautés urbaines contiennent des entérovirus à des concentrations variables pouvant atteindre les  $10^5$ /L, c'est le cas des concentrations obtenues dans notre étude [24]. Le volume des eaux usées drainées augmente avec la population des quartiers dont les réseaux d'égouts débouchent sur le collecteur principal dans le sens amont aval. Ce qui pourrait expliquer le nombre élevé d'EV détecté lorsqu'on suit le sens amont aval jusqu'au site F (Fig. 3, Tableau 2).

Le site G étant situé au niveau de la zone de mélange, il y a dilution des eaux usées en lagune d'où la réduction de la proportion des EV. Cette réduction est plus significative au site lagunaire H plus éloigné du site G (Fig. 1 et 3 ; Tableau 2).

Les facteurs hydroclimatiques pourraient expliquer en partie cette répartition disproportionnée des EV le long du canal et en lagune. Le résultat au site D semble être lié au volume très important d'eaux usées drainées par les nombreuses populations des quartiers à l'est du site, auquel viennent s'ajouter les eaux en provenance du site C. Ce fait est plus accentué au site F qui reçoit les eaux en provenance de tous les autres sites. La Fig. 3 (sites A1, A2, B), semble indiquer que la contamination virale dans le canal augmente avec une augmentation sensible de la pluviométrie.

Une étude sur la variabilité saisonnière de la contamination microbienne fécale a été menée dans un estuaire au sud-ouest de la Floride entre décembre 1997 et février 1998 par Lipp et al. qui ont rapporté que 75 % des sites d'échantillonnages étaient positifs aux EV [25]. Les EV ont été détectés seulement au début de l'automne et en saison pluvieuse et d'autres auteurs ont rapporté la grande probabilité de détecter les EV dans les eaux côtières après les événements pluvieux [25].

Les eaux lagunaires sont utilisées par les populations riveraines comme eaux récréatives et/ou eaux de ménage. Les interactions entre les hommes et ces eaux ne sont pas exemptes de risques multiples. La présence de PV2 SL tant au site F qu'au site G illustre bien l'origine anthropique de cette contamination virale en milieu lagunaire.

Selon Griffin et al. à Hong Kong en 1992 les résultats des interviews de 25 000 baigneurs avaient conclu que ces baigneurs avaient présenté deux à 20 fois plus de pathologies que les non-baigneurs au niveau des yeux, de la peau et des symptômes respiratoires [26]. Pour Griffin, les modèles d'évaluations de

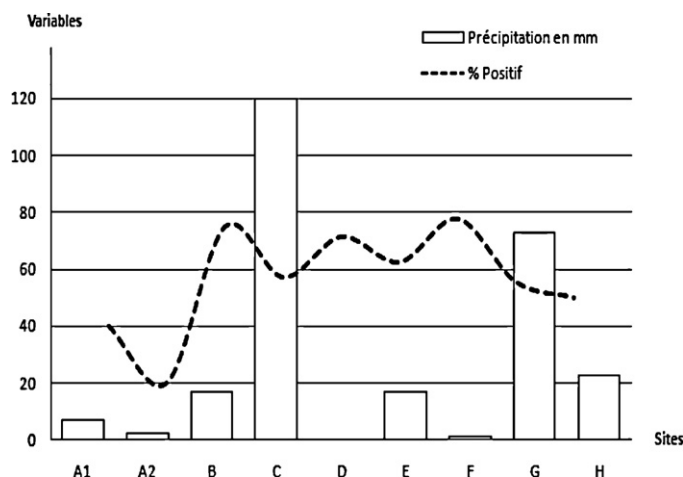


Fig. 3. Variation des échantillons positifs en entérovirus en fonction de la pluviométrie.

risques peuvent être utilisés pour évaluer les risques sanitaires en absence d'évaluations épidémiologiques par l'utilisation de données relatives à la surveillance des pathogènes. Les modèles d'évaluations des risques utilisés pour estimer le maximum des risques d'expositions aux virus ont permis d'avoir un taux prédictif égal à 1,3 infections pour 100 baigneurs [26]. Ce modèle prédictif décrit par Colwell et al. et rapporté par Griffin pourrait être appliqué dans notre étude [27].

## 5. Conclusion

Cette étude sur la prévalence des EV dans les eaux usées mérite d'être complétée par le typage moléculaire des isolats afin d'identifier les sérotypes, de situer avec précision les risques et l'évolution moléculaire de ces souches. Elle pourrait permettre d'identifier les souches qui circulent dans les populations à Yopougon. Cette étude pourrait également servir de modèle pour une étude plus étendue en Côte d'Ivoire portant sur la surveillance environnementale des EV.

## Déclaration d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

## Remerciements

Nous adressons nos sincères remerciements à la direction générale de la Sodexam pour les données pluviométriques fournies, à M. Bouho, responsable du laboratoire de chimie, au Ciapol pour les analyses physicochimiques et à la direction de l'institut Pasteur Côte d'Ivoire pour son soutien à la réalisation de cette étude. Nous tenons aussi à remercier particulièrement M. Koffi Signo Paul, Mme Traoré Fanta et Melle Guidy Françoise, techniciens supérieurs de laboratoire au laboratoire inter pays polio pour leurs précieux conseils lors des manipulations techniques.

## Références

- [1] Goyal SM, Gerba CP, Melnick JL. Human enterovirus in oyster and their overlying waters. *Appl Environ Microbiol* 1979;37:572–81.
- [2] Green DH, Lewis GD. Comparative detection of enteric viruses in wastewaters, sediments and oysters by reverse transcription PCR and cell culture. *Water Res* 1999;33:1195–200.
- [3] Lipp EK, Jarrell LJ, Griffin WD, Lukasi KJ, Jacukiewi CZ, Rose BJ. Preliminary evidence for human fecal contamination in corals of the Florida Keys, USA. *Mar Pollut Bull* 2002;44:666–70.
- [4] Fong TT, Lipp KE. Enteric viruses of humans and animals in aquatic environments: health risks detection, and potential water quality assessment tools. *Microbiol Mol Biol Rev* 2005;69(2):357–71.
- [5] Oberste MS, Maher K, Kilpatrick DR, Pallansch MA. Molecular evolution of the human enteroviruses: correlation of serotype with VP1 sequence and application to picornavirus classification. *J Virol* 1999;73(3):1941–8.
- [6] Gershby-Damet GM, Lanusse A, Dosso M. Surveillance des entérovirus dans les eaux usées en Côte d'Ivoire. *Bull Soc Pathol Exot* 1987;80(2):180–6.
- [7] Bini JC, Ekaza E, Gnagne T, Borget AMY, Veh KA, Akran AV, et al. Apport de la RT-PCR pour la détection des entérovirus dans les eaux usées à Abidjan (Côte d'Ivoire). *Cah Sante Publique* 2006;5(2):54–648.
- [8] WHO Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation WHO/V&B/03.03 Original. English; Vaccines and Biologicals World Health Organization; 2003.
- [9] Lewis GD, Metcalf TG. Polyethylene glycol precipitation for recovery of pathogenic viruses, including hepatitis A virus and human rotavirus, from oyster, water, and sediment samples. *Appl Environ Microbiol* 1988;54:1983–8.
- [10] Greening GE, Hewitt J, Lewis DG. Evaluation of integrated cell culture-PCR (C-PCR) for virological analysis of environmental samples. *J Appl Microbiol* 2002;93:745–50.
- [11] WHO Polio laboratory Manuel, World Health Organization, Geneva, Switzerland, 4th ed. final revision, 31 August 2004.
- [12] Nagata N, Shimizu H, Ami Y, Tano Y, Harashima A, Suzuki Y, et al. Pyramidal and extrapyramidal involvement in experimental infection of cynomolgus monkeys with enterovirus 71. *J Med Virol* 2002;67:207–16.
- [13] Maul A. Aspects statistiques des méthodes de quantification en virologie. In: Schwartzbrod L, editor. *Virologie des milieux hydriques*. Paris: Tec et Doc; 1991. p. 143–73.
- [14] Zoll GJ, Melchers GJW, Kopecka H, Jambroes G, Van Der Poel AJH, Galama DMJ. General primer-mediated polymerase chain reaction for detection of enteroviruses: application for diagnostic routine and persistent infections. *J Clin Microbiol* 1992;160–5.
- [15] Bessaud M, Jegouic S, Joffret ML, Barge C, Balanant J, et al. Characterization of the genome of human enteroviruses: design of generic primers for amplification and sequencing of different regions of the viral genome. *J Virol Methods* 2008;149:277–84.
- [16] WHO. Éradication de la poliomyélite : rapport de situation Cinquante-neuvième session Kigali, Rwanda, 31 août–4 septembre 2009 AFR/RC59/INF.DOC/6 ; 6 p.
- [17] Hassine M, Sdiri K, Riabi S, Beji A, Aouni Z, Aouni M. Detection of enteric viruses in wastewater of Monastir region by RT-PCR method. *Tunis Med* 2010;88(2):70–5.
- [18] Grabow WOK, Botma KL, de Villiers JC, Clay CG, Erasmus B. Assessment of cell culture and polymerase chain reaction procedures for detection of polioviruses in wastewater. *Bull World Health Org* 1999;77(12):973–80.
- [19] Mueller EJ, Bessaud M, Huang QS, Martinez LC, Barril AP, Morel V, et al. Environmental poliovirus surveillance during oral poliovirus vaccine and inactivated poliovirus vaccine use in Cordoba Province, Argentina. *Appl Environ Microbiol* 2009;75(5):1395–401.
- [20] Muscillo M, Carducci A, La Rosa G, Cantiani L, Marianelli C. Enteric virus detection in Adriatic seawater by cell culture, polymerase chain reaction and polyacrylamide gel electrophoresis. *Water Res* 1998;31(8):1980–4.
- [21] Rakoko-Andrianarivelo M, Rousset D, Razafindratsimandresy R, Delpeyroux D. Nouvelle méthode de typage moléculaire des entérovirus humains : caractérisation des souches malgaches « non sérotypable ». *Arch Inst Pasteur de Madagascar* 2002;68(1&2):55–8.
- [22] Shieh CSY, Baric SR, Sobsey DM. Detection of low levels of enteric viruses in metropolitan and airplane sewage. *Appl Environ Microbiol* 1997;63(11):4401–7.
- [23] Dahling DR, Safferman RS, Wright BA. Isolation of enterovirus and reovirus from sewage and treated effluent in selected Puerto Rican communities. *Appl Environ Microbiol* 1989;55:503–6.
- [24] Schwartzbrod L. Virus et milieu hydrique. In: Schwartzbrod L, editor. *Virologie des milieux hydriques*. Paris: Tech et Doc; 1991.
- [25] Lipp EK, Kurz R, Vincent R, Rodriguez-Palcios C, Farrah RS, et al. The effects of seasonal variability and weather on microbial fecal pollution and enteric pathogens in subtropical estuary. *Estuaries* 2001;24(2):266–76.
- [26] Griffin WD, Donaldson AK, Paul HJ, Rose BJ. Pathogenic human viruses in coastal waters. *Clin Microbiol Rev* 2003;16(1):129–42.
- [27] Colwell RR, Orlob TG, Schubel RJ. Study management. Mamala Bay study final report 1996; I, p. 1–23. Mamala Bay Study Commission, Honolulu, Hawaii.