

Contamination parasitaire des sédiments marins. Étude sur le site de Barcelone

Parasitological contamination
of marine sediments.

Study in Barcelona area

J.L. STIEN, J. SCHWARTZBROD¹

RÉSUMÉ

Les apports contaminants d'origine continentale jouent un rôle fondamental dans le processus de contamination du milieu marin. Une étude a été réalisée sur le site de Barcelone, afin de réaliser un inventaire des sources de pollution et de déterminer l'influence de ces apports sur la contamination des sédiments marins ; ce lieu d'expérimentation ayant été retenu du fait de la multiplicité des types de rejets effectués en mer : eaux usées, boues de station d'épuration... Les sédiments ont été prélevés à partir du navire océanographique au cours de 3 campagnes de novembre 1987 à juin 1988 à des distances de 50 mètres à 4 km de la côte et à des profondeurs de 10 à 52 mètres. Globalement 88,8 % des échantillons analysés renfermaient des œufs d'helminthes (Nématodes et/ou Cestodes) à des concentrations variant de 5 à 256 œufs 100 g⁻¹ de sédiments. Si des œufs de Nématodes (*Ascaris*, *Toxocara*, *Trichuris*, *Capillaria*) sont retrouvés dans tous les échantillons positifs, seulement 44,4 % renferment des œufs de Cestodes (*Taenia*, *Hymenolepis*). Chez les Nématodes, les œufs de *Toxocara* ont été retrouvés avec une très grande fréquence (66,6 %) chez les Cestodes des œufs de *Taenia* (38,8 %) prédominent. Il faut donc noter la moindre résistance des œufs de Cestodes dans le milieu marin. Quant à la viabilité réalisée sur les œufs d'*Ascaris*, elle s'échelonne selon les prélèvements de 5 à 100 %. Des études ultérieures devraient être poursuivies pour vérifier si ces œufs viables ont encore conservé leurs potentialités infectieuses.

Mots clés : eaux usées, boues de station d'épuration, œufs d'helminthes, Nématodes, Cestodes, sédiments marins, viabilité, *Ascaris*.

SUMMARY

Microbiological pollution of the marine environment is often the result of man's presence in the coastal zone (offshore flow of sewage sludge or effluents from raw or treated wastewater).

Although many studies have been carried out on the viral and bacteriological pollution of the marine environment, very little is known about parasitological contamination of

1. Département de Microbiologie, Faculté de Pharmacie, 5 rue Albert-Lebrun, 54000 Nancy, France.

this important resource. This investigation is aimed at the problem of parasitological contamination by examining its sources and their effect on the contamination of marine sediments of a specific coastal region.

Barcelona was selected as the study site because of the many types of effluent flowing into the sea. These are due to : two highly polluted rivers (the Besos river and the Llobregat river), treated and raw wastewater. Sewage sludge is transported offshore from Barcelona through a deep conduit.

Marine sediments were collected at distances between 50 m. to 4 km of the shores of urban Barcelona at depths varying from 10 to 52 m. Samples obtained by the oceanographic vessel « Garcia del Cid » required use of a Reineck device.

Parasite density was too low for direct microscopic examination, thus all the samples underwent an enrichment procedure. A preliminary study had shown that, out of all the various concentration methods available, the one described by Janecsko-Urbanyi was the best adapted to the samples investigated here. This method uses a high density ($d = 1.44$) potassium iodomercurate solution with low viscosity so that the eggs rise rapidly to the surface. The slides were enlarged 100 times and numbered with a Mac Master slide. The determination of the viability of *Ascaris* eggs was studied after a n-butanol treatment. The results are expressed as number of eggs per 100 g^{-1} sample.

Helminth eggs were found in 88,8 % of 36 samples analysed with levels ranging from 5 to 256 eggs per 100 g^{-1} of sediment. During the 3 campaigns, in November 1987 (first campaign) was obtained the smallest number of positive samples (9/12) and in March 1988 (second campaign) the highest number of positive samples since all these samples contained helminth eggs. These eggs were of the Nematode and/or the Cestode class. All the positive samples (32/36) contained Nematode eggs whereas Cestode eggs are found only in 16 samples. The Nematode eggs were *Ascaris*, *Toxocara* and *Trichuris*, *Capillaria* ; Cestode eggs *Hymenolepis* and *Taenia*. All the samples with Nematode eggs contained in decreasing amounts *Toxocara* (66,6 %), *Ascaris* (61 %) and *Trichuris*, *Capillaria* (22,2 %). Cestodes were predominantly *Taenia* (38,8 %), *Hymenolepis* (16,6 %). The difference in behaviour between Nematode and Cestode eggs, the latter being much less frequent, was probably due to the greater fragility of Cestodes in a marine environment. The viability of the *Ascaris* eggs found on samples at the Besos area was 100 %. The samples from the effluent zone contained *Ascaris* eggs with viability ranging from 0 to 100 %. In the Barceloneta area, 5 to 42 % of *Ascaris* eggs were viable.

These results obtained from seawater emphasize the necessity of further investigation into the extent of parasitological pollution on the marine environment by offshore flowing of treatment plant sludge, paying particular attention to the viability and the infection potential of the helminth eggs.

Key words : wastewater, sludge, helminth eggs, Nematodes, Cestodes, marine sediments, viability, *Ascaris*.

INTRODUCTION

La pollution microbiologique du milieu marin a pour principale source le rejet en mer des résidus de l'activité humaine : eaux usées brutes ou épurées, boues de station d'épuration parfois rejetées au large... (BITTON *et al.*, 1983 ; FEACHEM *et al.*, 1983 ; SCHWARTZBROD *et al.*, 1986). L'étude réalisée sur le site de Barcelone a pour objectif de déterminer à la fois l'origine et le niveau de contamination parasitaire des sédiments marins. Ce lieu d'expéri-

mentation a été retenu du fait de la multiplicité des types de rejets polluants effectués en mer. En effet, à ce niveau sont rejetées les eaux de 2 rivières (Rio Besos et Rio Llobregat) dont les eaux sont extrêmement polluées, eaux usées brutes et épurées ainsi que les boues issues de la station d'épuration qui sont déposées au large des côtes par un émissaire profond.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Échantillonnage

Les sédiments ont été prélevés à partir du navire océanographique « Garcia del Cid » au cours de 3 campagnes : novembre 1987, mars 1988, juin 1988.

Les prélèvements sont effectués à l'aide d'un appareil de Reineck mis au point par l'Instituto de Ciencia del Mar permettant de recueillir un parallélépipède de sédiments.

Trois zones essentielles ont été étudiées : la zone du Besos (échantillons 1, 2, 3, 4), la zone de l'émissaire située à 4,5 km des côtes (échantillons 5, 6, 7, 8) et la zone de Barcelonetta avec des prélèvements provenant de la frange littorale (échantillons 9, 10, 11, 12).

La position exacte de tous les points de prélèvements obtenue à l'aide du satellite TRANSIT est indiquée dans le tableau 1 et schématisée sur la figure 1.

Tableau 1 Position des points de prélèvements.

Table 1 Location of sampling points.

Points de prélèvement	Latitude N	Longitude E	Profondeur (mètres)
Zone Besos (zone A)			
Point de prélèvement n° 1	41°24.69'	02°14.72'	30
Point de prélèvement n° 2	41°24.94'	02°14.19'	10
Point de prélèvement n° 3	41°24.65'	02°14.20'	16
Point de prélèvement n° 4	41°24.31'	02°14.34'	29
Zone Emissaire (zone B)			
Point de prélèvement n° 5	41°23.22'	02°15.15'	50
Point de prélèvement n° 6	41°23.40'	02°15.40'	50
Point de prélèvement n° 7	41°23.30'	02°15.35'	50
Point de prélèvement n° 8	41°23.10'	02°15.40'	52
Zone Barcelonetta (zone C)			
Point de prélèvement n° 9	41°23.65'	02°13.12'	20
Point de prélèvement n° 10	41°23.21'	02°13.83'	40
Point de prélèvement n° 11	41°22.70'	02°11.80'	19
Point de prélèvement n° 12	41°21.90'	02°12.65'	40

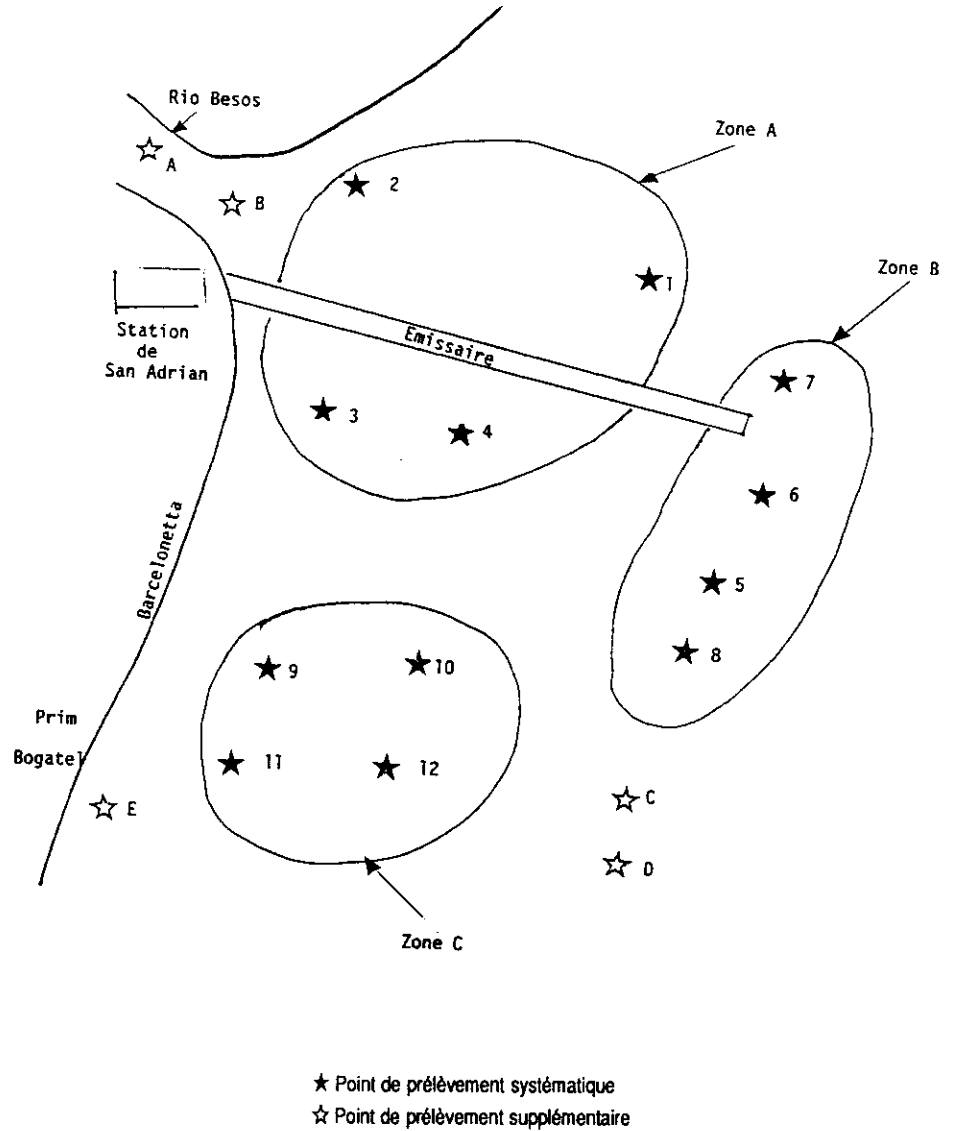


Figure 1 Situation des points de prélèvements
Location of sampling points

En fonction des résultats observés au cours des deux premières campagnes, quelques points supplémentaires destinés à affiner les conclusions ont été étudiés au cours de la troisième campagne (A, B, C, D, E).

Méthodes

Technique de dénombrement des œufs d'helminthes

Parmi les nombreuses méthodes de concentration, une étude préliminaire (STIEN et SCHWARTZBROD, 1986) a permis de retenir pour ce type de prélèvement la technique de JANECKSO-URBANYI (1931) mettant en jeu une solution d'iodomercurate de potassium de densité élevée ($d = 1,44$) et de viscosité assez faible de façon à ce que les œufs les plus couramment impliqués en pathologie humaine remontent rapidement à la surface. La quantification est effectuée au microscope à l'aide d'une cellule de Mac Master ($\times 100$). Cet examen microscopique permet de déterminer exclusivement l'appartenance à un genre qui peut parfois regrouper des espèces inféodées à l'homme et/ou à des animaux.

Technique de détermination de la viabilité des œufs d'helminthes

Les résultats expérimentaux ne présentent d'intérêt que s'ils peuvent conduire à une estimation du risque sanitaire impliquant donc l'appréciation de la viabilité des œufs observés. La détermination de la viabilité a été effectuée à l'aide de la méthode décrite par STIEN et SCHWARTZBROD (1988). Elle permet exclusivement l'étude de la viabilité des œufs d'*Ascaris* en considérant ce type d'œufs comme indicateur de l'état parasitologique des sédiments. Avant l'enrichissement selon le protocole à l'iodomercurate de potassium, il est procédé à une étape préliminaire de traitement de l'échantillon au n-butanol qui permet de séparer par centrifugation des œufs viables qui sédimentent et des œufs non viables retrouvés dans le surnageant. Un test est effectué parallèlement sur le même échantillon sans traitement préalable au n-butanol. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'œufs d'*Ascaris* viables. Cette étude a été effectuée de façon ponctuelle sur quelques échantillons au cours des 2^e et 3^e campagnes de prélèvements.

RÉSULTATS

Étude quantitative

Ils sont exprimés en nombre moyen d'œufs d'helminthes pour 100 g de sédiments (*tableau 2*).

Globalement sur les 36 échantillons analysés, 32 (soit 88,8 %) renfermaient des œufs d'helminthes à des concentrations s'échelonnant de 5 à 256 œufs 100 g^{-1} de sédiments.

Tableau 2 Concentrations en œufs d'helminthes au cours des trois campagnes.**Table 2** Concentration of helminth eggs during the three campaigns

Echantillon	Novembre 1987	Mars 1987	Juin 1988
Zone Besos (zone A)			
Point de prélèvement n° 1	15*	80	124
Point de prélèvement n° 2	0	11	0
Point de prélèvement n° 3	15	55	16
Point de prélèvement n° 4.	30	60	30
Zone Emissaire (zone B)			
Point de prélèvement n° 5	120	132	83
Point de prélèvement n° 6	45	88	60
Point de prélèvement n° 7	0	90	88
Point de prélèvement n° 8	15	256	41
Zone Barcelonetta (zone C)			
Point de prélèvement n° 9	30	56	90
Point de prélèvement n° 10	45	60	41
Point de prélèvement n° 11	15	76	5
Point de prélèvement n° 12	0	106	66

* Nombre total d'œufs d'helminthes/100 g de sédiments

La comparaison par campagne de prélèvement montre que c'est en novembre 1987 que le nombre d'échantillons positifs est le plus faible 9/12, alors qu'au cours de la 2e campagne de prélèvements (mars 1988), les 12 sédiments collectés renfermaient tous des œufs d'helminthes. Une explication possible à cette observation serait peut-être à rechercher au niveau des variations saisonnières.

Si l'on compare les valeurs retrouvées pour chaque échantillon au cours du temps, globalement on peut décrire 3 zones.

• La zone regroupant les échantillons 1, 2, 3, 4 sous influence du rio Besos est toujours assez faiblement polluée. Le point 2 situé à proximité du débouché du rio Besos est retrouvé faiblement positif seulement au cours de la campagne de mars 1988 ; les concentrations observées dans ce sédiment étant d'ailleurs les plus faibles avec 11 œufs pour 100 g de sédiments. Si les prélèvements effectués aux points 2, 3, 4 renferment toujours des œufs d'helminthes, en revanche le point 1 plus au large des côtes que les points 3 et 4 a une concentration parasitaire plus élevée atteignant 124 œufs 100 g⁻¹ de sédiments en juin 1988 ; les différences observées étant statistiquement significatives. Ces observations ont été affinées par l'examen de 2 points de prélèvements supplémentaires : le point A (sédiments fluviaux du rio Besos) et le point B (sédiments au niveau de l'embouchure) qui renferment respectivement en moyenne 72 et 103 œufs 100 g⁻¹ de sédiments. Les résultats obtenus dans cette zone démontrent l'importance des courants marins dominants, ainsi les œufs d'helminthes issus du rio Besos sont retrouvés jusqu'au point 1 comme le prouve l'excellente continuité entre les points A, B et 1 (fig. 2).

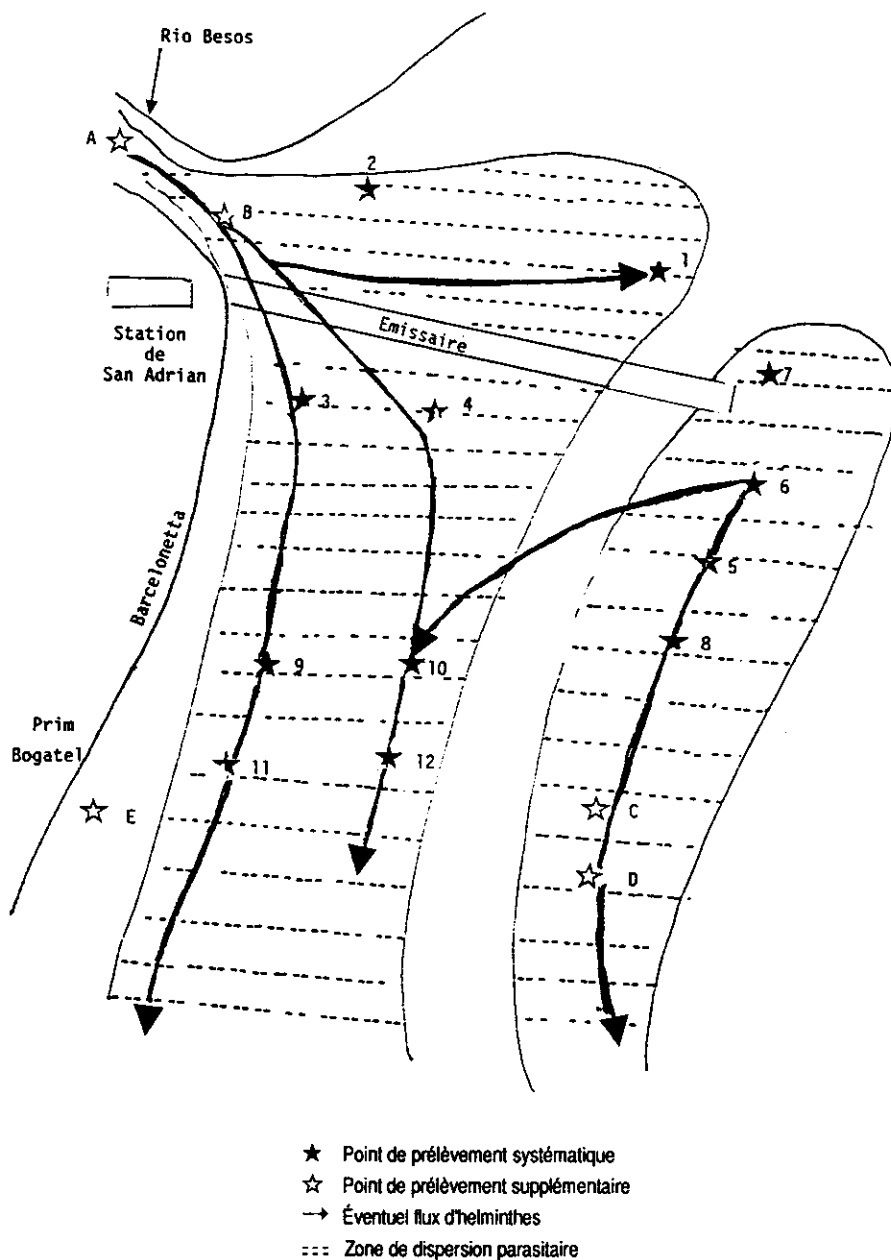


Figure 2 Etude de la dispersion parasitaire
Study of parasitological spreading

• Dans la région de l'émissaire, les échantillons 5 et 8 étaient toujours fortement contaminés avec des concentrations en œufs variant de 15 à 256 pour 100 g de sédiments ; l'échantillon 7 ayant le niveau de contamination le plus faible. L'explication de ce phénomène tient sans doute à l'existence de courants marins qui véhiculent les œufs d'helminthes de la sortie de l'émissaire vers le large selon un trajet qui intègre les points de prélèvements 6, 5, 8. L'analyse de 2 points supplémentaires C et D avec respectivement des concentrations moyennes de 65 et 106 œufs 100 g⁻¹ a permis de confirmer cet axe (fig. 2).

• Enfin dans la zone de Barcelonetta ou zone des plages, les concentrations en œufs retrouvées (points 9, 10, 11, 12) s'échelonnent de 5 à 106 pour 100 g de sédiments ; elles sont en fait intermédiaires entre celles observées dans la zone Besos et la zone de l'émissaire. Les résultats obtenus démontrent que cette région a des sédiments moyennement contaminés. Il pouvait être intéressant de rechercher s'il n'y avait pas rabat des sédiments vers les plages. Or des sédiments prélevés au point E ne contenaient aucun œuf d'helminthe, ce qui prouve l'absence de rabat vers la zone littorale (fig. 2).

Analyse qualitative

Sur les 36 échantillons analysés, 32 renfermaient des œufs d'helminthes Nématodes et/ou Cestodes. Il faut noter l'écrasante prédominance des œufs de Nématodes qui sont retrouvés dans tous les échantillons positifs, alors que les œufs de Cestodes sont observés dans 16 échantillons seulement (tableau 3).

Tableau 3 Répartition des œufs d'helminthes (Nématodes et Cestodes).

Table 3 Repartition of helminth eggs (Nematodes and Cestodes).

Echantillon	Novembre 1987		Mars 1988		Juin 1988	
	Nématodes	Cestodes	Nématodes	Cestodes	Nématodes	Cestodes
Zone Besos (zone A)						
Point de prélèvement n° 1	100 %	0 %	50 %	50 %	100 %	0 %
Point de prélèvement n° 2	0 %	0 %	100 %	0 %	0 %	0 %
Point de prélèvement n° 3	100 %	0 %	80 %	20 %	50 %	50 %
Point de prélèvement n° 4	100 %	0 %	66,7 %	33,3 %	100 %	0 %
Zone Emissaire (zone B)						
Point de prélèvement n° 5	87,5 %	12,5 %	84 %	16 %	100 %	0 %
Point de prélèvement n° 6	33,3 %	66,7 %	100 %	0 %	50 %	50 %
Point de prélèvement n° 7	0 %	0 %	100 %	0 %	100 %	0 %
Point de prélèvement n° 8	100 %	0 %	61 %	39 %	61 %	39 %
Zone Barcelonetta (zone C)						
Point de prélèvement n° 9	100 %	0 %	84,7 %	15,3 %	91,2 %	8,8 %
Point de prélèvement n° 10	100 %	0 %	82 %	18 %	80,5 %	19,5 %
Point de prélèvement n° 11	100 %	0 %	100 %	0 %	100 %	0 %
Point de prélèvement n° 12	0 %	0 %	90,5 %	9,5 %	95 %	5 %

Chez les Nématodes sont mis en évidence des œufs de *Toxocara* présents dans 66,6 % des échantillons, des œufs d'*Ascaris* retrouvés dans 61 % des prélèvements et des œufs de *Trichuris*, *Capillaria* observés dans 22,2 % des sédiments.

Chez les Cestodes des œufs de *Taenia* et *Hymenolepis* dans respectivement 38,8 % et 16,6 % des échantillons ont été isolés ; il faut souligner l'extrême fréquence des œufs de *Taenia* retrouvés dans 14 des 16 échantillons renfermant des Cestodes comparativement aux 6 échantillons positifs en œufs d'*Hymenolepis*.

Ces types d'œufs sont ceux décrits classiquement dans les boues et les eaux usées par différents auteurs (VINCENT et CRITCHLEY, 1983 ; FELICIANO, 1982 ; REIMERS *et al.*, 1981 ; BERGSTROM, 1981). Au niveau des sédiments marins, aucune donnée bibliographique n'a été trouvée sur la recherche des œufs d'helminthes. Dans un travail précédent nous avons effectué l'analyse parasitologique des boues de la station d'épuration San Adrian. Ces boues s'étaient révélées fort riches en œufs d'helminthes avec 70 % d'échantillons contenant au moins 3 types d'œufs différents. Les œufs de Cestodes étaient pratiquement représentés de la même façon que les œufs de Nématodes (80 % d'échantillons avec des Cestodes contre 90 % avec des Nématodes).

Il semblerait donc que le milieu marin se révèle particulièrement hostile aux œufs de Cestodes (BURGER, 1984) retrouvés dans seulement 44,4 % des échantillons contre 88,8 % de prélèvement renfermant des Nématodes. Les œufs de *Toxocara* ont été retrouvés avec une très grande fréquence (66,6 %). Ces œufs possèdent une très grande capacité de conservation dans le sable (BOUCHET et LEGER, 1984) et pour étudier l'hypothèse d'une possible contamination du sédiment marin à partir de la plage, des échantillons de sable prélevés sur les plages de Prim et Bogatel ont été analysés. Ils se sont tous révélés négatifs balayant l'hypothèse d'une contamination tellurique.

Étude de la viabilité des œufs d'*Ascaris*

Dans la zone du Besos l'étude de la viabilité des œufs d'*Ascaris* effectuée sur les prélèvements A et B de sédiments collectés dans le Besos ou juste à son embouchure montre que 100 % des œufs sont viables. Cependant dès que l'on s'éloigne de l'embouchure, la viabilité des œufs d'*Ascaris* retrouvés est plus faible avec respectivement 42 % et 50 % au point 3 au cours des 2e et 3e campagnes.

Dans la zone de l'émissaire, si au point 6 la viabilité varie de 50 % (2e campagne) à 100 % (3e campagne) aux points C et D elle est de 0 %. Enfin pour les prélèvements effectués dans la zone de Barcelonetta, la viabilité des œufs s'échelonne de 5 à 42 % selon les lieux.

CONCLUSION

Ce travail a porté sur la recherche des œufs d'helminthes dans les sédiments marins après rejet en mer de boues urbaines de la station San Adrian sur le site de la baie de Barcelone.

• Des prélèvements appartenant essentiellement à trois zones : la zone du Besos, la zone de l'émissaire, la zone des plages ont été analysés.

Une étude préliminaire a permis de sélectionner comme méthode d'enrichissement la mieux adaptée à ce type d'échantillon la technique de Janeckso-Urbanyi à l'iodomercurate de potassium.

La détermination de la viabilité des œufs d'*Ascaris* a été effectuée après traitement de l'échantillon au n-butanol, ce traitement préliminaire permettant de séparer œufs viables et non viables. Les résultats sont exprimés en pourcentages d'œufs d'*Ascaris* viables.

• Trois campagnes de prélèvements ont été réalisées en novembre 1987, mars 1988 et juin 1988.

Globalement sur les 36 échantillons analysés 32 renfermaient des œufs d'helminthes Nématodes et/ou Cestodes. Il faut souligner l'écrasante prédominance des œufs de Nématodes (88,8 %) qui sont présents dans tous les échantillons positifs avec par fréquence décroissante des œufs de *Toxocara* (66,6 %), des œufs d'*Ascaris* (61 %) , des œufs de *Trichuris*, *Capillaria* (22,2 %). Seulement 44,4 % des échantillons renfermaient des œufs de Cestodes (*Taenia* 38,8 %) et (*Hymenolepis* 16,6 %). En confrontant nos résultats aux données bibliographiques se rapportant à des travaux effectués sur des boues placées en décharge, il semblerait que le milieu marin soit peu favorable aux œufs de Cestodes.

L'étude des valeurs retrouvées pour chaque échantillon au cours du temps a permis de décrire trois zones. La zone regroupant les échantillons 1, 2, 3, 4 sous influence du rio Besos est toujours faiblement polluée, de plus dès que l'on s'éloigne de l'embouchure les concentrations en parasites diminuent ainsi que les pourcentages d'œufs viables. Dans la région de l'émissaire les échantillons 5 et 8 sont toujours fortement contaminés, en revanche l'échantillon 7 a un niveau de contamination toujours plus faible. La différence entre ces points de prélèvements tient sans doute à l'existence de courants marins qui véhiculent les œufs de la sortie de l'émissaire vers le large. Enfin dans la zone des plages (points 9, 10, 11, 12) les concentrations observées sont intermédiaires entre celles observées dans la zone du rio Besos et celle de l'émissaire. Les résultats obtenus démontrent l'existence d'un flux d'œufs entre les points 9, 11 et 10, 12. L'étude de points supplémentaire E, a permis de prouver qu'il n'y avait pas de rabat des sédiments vers ces plages.

En conclusion, cette étude démontre que des œufs d'helminthes provenant de boues de station d'épuration rejetées en mer sont dispersés plus ou moins loin des côtes selon les courants marins. Si le milieu marin semble être particulièrement défavorable aux œufs de Cestodes, en revanche des œufs de Nématodes sont retrouvés systématiquement dans ces échantillons et la détermination de la viabilité des œufs d'*Ascaris* montre qu'elle s'échelonne de

5 à 100 % selon les prélèvements. Des études ultérieures devraient être poursuivies pour vérifier si ces œufs viables ont encore conservé toutes leurs potentiabilités infectieuses (WALLIS et LEHMANN, 1984).

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé dans le cadre d'un contrat avec la Coporacio metropolitana de Barcelona « Proyecto Spio » n° 881344. Nous remercions le Professeur Pares, Faculta de Biologia, Université de Barcelone, instigateur de cette coopération.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BERGSTROM K., 1981. Recovery of parasite eggs from sewage sludge from sewage plants and septic tanks in Norway. *Norsk. Vet.*, 93 : 323-330.
- BITTON G., DAMRON B.L., EDDS G.T., DAVIDSON J.M., 1980. Sludge Health Risks of Land Application. Ann Arbor Science. Ann Arbor.
- BOUCHER F., LEGER N., 1984. Prévention de la toxocarose en milieu urbain. Présentation d'une nouvelle technique d'assainissement des bacs à sable. *Bull. Soc. Franc. Parasitol.*, 2 : 43-47.
- BURGER H.J., 1984. Survival of *Taenia saginata* in sewage and on pasture. In : *Processing and use of sewage sludge*, Ed. L'Hermitte, Ott, 191-201.
- FEACHEM R.G., BRADLEY D.J., GARELICK H., MARA D.D., 1983. *Sanitation and Disease : Health aspects of excreta and wastewater management*. John Wiley, New York.
- FELICIANO D.V., 1982. Sludge on land. *J. Wat. Pollut. Control. Fed.*, 54 : 1259-1266.
- JANECKSO A., URBANYI L., 1931. Méthode d'enrichissement coprologique. *Rev. Gen. Med. Vet.*, 42 : 496-497.
- REIMERS R.S., LITTLE M.D., ENGLANDE D.B., LEFTWICH D.B., BOWMAN D.D., WILKINSON R.F., 1981. Parasites in Southern sludges and disinfection by standard sludge treatment. EPA-600/S₂ - 81-166.
- SCHWARTZBROD J., THEVENOT M.T., COLLOMB J., BARADEL J.M., 1986. Parasitological study of wastewater sludge. *Environ. Techn. Letters*, 7 : 155-162.
- STIEN J.L., SCHWARTZBROD J., 1986. Techniques de concentration des œufs d'helminthes : valeurs et limites. *Proceedings Colloque Fes : Eaux continentales ressources et assainissement*, 48.
- STIEN J.L., SCHWARTZBROD J., 1988. Viability determination of *Ascaris* eggs recovered from wastewater. *Environ Techn. Letters*, 9 : 401-406.
- VINCENT A.J., CRITCHLEY R.F., 1983. A review of sewage sludge treatment and disposal in Europe. *Water Research Center*, 44Z-M.
- WALLIS P.M., LEHMANN D.L., 1984. Biological health risks of the disposal sewage sludge to land in cold climates. In : *Processing and Use of sewage sludge*. Ed. L'hermitte, Ott, 237-239.

1

2

3

4

5

6



7

8

9

10

11

12

13