

## **DIFFUSION PAR AEROSOLS DE VIRUS PORCINS A TROPISME RESPIRATOIRE : ESSAI DE QUANTIFICATION EN CONDITIONS EXPERIMENTALES ET SUR LE TERRAIN\***

E. BOURGUEIL<sup>[1]</sup> et P. VANNIER<sup>[1]</sup>

---

**RESUME** : Des travaux épidémiologiques et virologiques récents suggèrent que le virus de la maladie d'Aujeszky se propage d'un animal à l'autre par voie aérienne. Ces résultats ont motivé un programme de recherche concernant la diffusion par aérosols de trois virus porcins à tropisme respiratoire (virus de la maladie d'Aujeszky, virus influenza et coronavirus respiratoire) entre élevages.

Cette étude vise à prouver la réalité de ce phénomène dans les conditions du terrain et à établir, comme cela l'a été pour le virus de la fièvre aphteuse, un modèle de prédiction numérique de la multiplication des foyers d'infection dus à ces virus dans des zones à risque.

Pour cela, deux types de cyclones, permettant la capture de virus aéroportés en milieu clos et en plein-air, ont été construits spécialement pour cette étude.

Les prélèvements issus de chacun des appareils doivent être traités et concentrés au laboratoire avant d'effectuer une recherche virale. La mise au point des techniques de laboratoire a constitué la première étape de ce travail ; la seconde a concerné la mise en place des protocoles de prélèvement d'air en plein-air, incluant le recensement des facteurs météorologiques et liés aux bâtiments d'élevage qui favoriseraient ce mode de diffusion.

**SUMMARY** : Some recent epidemiological and virological studies suggested that Aujeszky's disease virus can be disseminated between pigs via the airborne route. These results have encouraged to set up a research programme, concerning airborne diffusion between herds of three porcine viruses with a respiratory tropism (i.e. Aujeszky's disease virus, influenza virus and Coronavirus).

The aim of this study was to give evidence for the phenomenon in field conditions and to establish, as it has been done for foot and mouth disease virus, a mathematical model for predicting the multiplication of infection sources due to those viruses in concerned areas.

Two types of cyclone apparatus have been built especially for that study, in order to collect airborne viruses as well in a confined atmosphere as well as in the field.

.....  
\* Texte de l'exposé présenté le 26 mai 1989.

[1] C.N.E.V.A. - Station de Pathologie Porcine - B.P. 9 - 22440 Ploufragan

*The first step of our work was to improve the techniques of treatment and concentration of air samples ; the second one was to elaborate an air sampling procedure in the field and to collect data concerning meteorological factors and some characteristics of buildings (fattening units).*

\*  
\* \*

## INTRODUCTION

Les aérosols sont des dispersions dans l'air de particules liquides ou solides, présentant des caractéristiques physiques distinctes (taille, forme, charge électrostatique, vitesse...).

Leur rôle de vecteur pour de nombreux microorganismes est suspecté depuis longtemps mais a été peu étudié dans le cas des maladies infectieuses animales.

L'exemple le mieux connu jusqu'à présent est sans doute celui du virus de la fièvre aphteuse, capable de diffuser sur plus de 200 km au-dessus des mers et environ 60 km au-dessus des terres [Donaldson, 1979 ; Gloster et coll., 1982].

La recrudescence actuelle de la pathologie respiratoire observée au sein des élevages bretons, où de nombreux virus sont impliqués, soulève le problème de la diffusion des agents infectieux dans une région où les densités d'élevages comptent parmi les plus élevées d'Europe.

Des enquêtes épidémiologiques récentes effectuées en Bretagne sur la maladie d'Aujeszky [Vannier et Le Foll, 1988] suggèrent que la voie aérienne contribue largement à la diffusion du virus.

Bien qu'aucune particule virale infectieuse n'ait été isolée directement à partir de l'air à proximité d'un foyer d'infection, des travaux britanniques [Donaldson et coll., 1983] démontrent que le virus aéroporté est produit par des porcs infectés et qu'en conditions expérimentales, le virus se propage d'un animal à l'autre par aérosols.

L'ensemble des travaux, tant virologiques qu'épidémiologiques, réalisés pour le virus de la fièvre aphteuse, a permis de mettre en place un modèle de prédiction numérique de la diffusion de cet agent pathogène à l'échelle de la Grande-Bretagne [Donaldson et coll., 1987].

Un tel système présente un intérêt évident dans le cas des maladies virales contagieuses du porc soumises à un plan d'éradication.

C'est dans cette optique qu'un protocole d'étude a été élaboré à la Station de Pathologie Porcine pour 3 virus responsables de "syndrômes grippaux" chez le porc, à savoir l'herpesvirus de la maladie d'Aujeszky, le coronavirus respiratoire et le virus influenza.

L'objectif principal de cette étude vise à l'obtention d'un modèle de prédiction de la diffusion de ces agents pathogènes dans le contexte breton.

Les étapes nécessaires à la réalisation de cet objectif peuvent se résumer ainsi :

- démontrer le rôle des aérosols dans la dissémination de ces virus en élevage,
- déterminer l'influence des facteurs climatiques sur la survie et la diffusion aérienne des virus entre les élevages,
- recenser les facteurs de risque inhérents aux bâtiments (porcheries d'engraissement) permettant la propagation virale aéroportée.

## MATERIEL ET METHODE

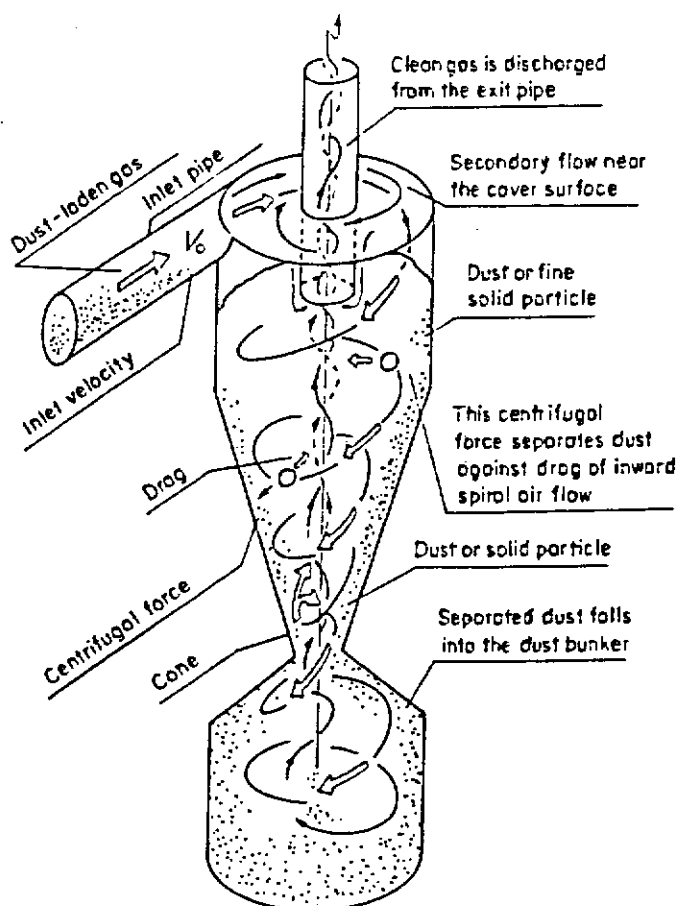
### I. MATERIEL DE PRELEVEMENT D'AIR

Le choix du matériel de prélèvement d'air a été établi sur les bases de données bibliographiques et de discussions avec A. Donaldson (Institut de Santé Animale de Pirbright) et C. Wathes (aérobiologiste à l'Université de Bristol) : le type *cyclone* a été retenu.

#### Principe de fonctionnement

Décrit par Errington et Powell [1969], le *cyclone* soumet l'air qu'il aspire à un mouvement centrifuge, déposant les particules aéroportées le long des parois de l'appareil (figure 1).

Figure 1 : Principe de fonctionnement du cyclone [d'après Ogawa, 1984].



L'injection d'un liquide par l'orifice d'aspiration d'air permet à la fois de rincer les parois et de récupérer l'ensemble des particules aspirées et de limiter l'inactivation des microorganismes ainsi collectés.

### **Caractéristiques physiques**

Deux types de *cyclone* ont été construits spécialement pour cet étude :

- Un *cyclone* de faible capacité (1 m<sup>3</sup> d'air/h), conçu pour les prélèvements d'air en milieu clos (animalerie, bâtiments d'élevage). L'arrivée du liquide de collecte se fait comme celle de l'air, tangentiellement au corps de l'appareil, au moyen d'une pompe, dont le débit a été fixé à 2 ml/mn.

Les volumes de liquide infecté varient entre 50 et 100 ml pour 10 minutes de prélèvement.

- Un *cyclone* de grande capacité (3000 m<sup>3</sup> d'air/h), dont les dimensions ont été extrapolées à partir de celles du petit modèle, assure les prélèvements en plein-air.

Afin de faciliter les déplacements d'un point de prélèvement à l'autre, il a été installé sur un châssis, muni d'un groupe électrogène et d'une armoire électrique, permettant l'alimentation des deux pompes.

Cinq litres de liquide de collecte circulent en circuit fermé le temps du prélèvement (1 heure) dans le corps de l'appareil, après avoir été nébulisés par le haut à un débit moyen de 5 l/h.

La vitesse de l'air à l'entrée de la grille d'aspiration est inférieure à 10 m/s.

Dans les deux cas, le matériau utilisé est l'acier inoxydable, mieux adapté aux conditions du terrain que ne le sont le verre ou l'aluminium.

### **Composition du liquide de collecte**

Compte tenu des volumes nécessités lors de chaque expérience, le milieu MEM préconisé par les différents auteurs a été remplacé par une solution saline de type PBS, additionnée de tampon organique HEPES (20 mM) et ajustée à pH 7,2. Le milieu est antibiosupplémenté avec de la pénicilline (100 U/ml) de la streptomycine (100 U/ml) et de la néomycine (50 U/ml) ainsi qu'avec de la fongizone (4 mg/ml).

L'ajout de protéines sous forme de sérum de veau ainsi que d'un détergent comme Tween 20 à différentes concentrations est en cours d'essai pour chacun des virus étudiés.

### **Désinfection du matériel**

Une solution d'oxygène actif à 0,5 % (SINET) suivie d'un rinçage à l'eau du robinet, permet une désinfection rapide des tuyauteries de chaque appareil entre deux prélèvements.

A la fin de chaque expérience, les petits *cyclones* et leur pompe sont abondamment rincés extérieurement puis sont soit formolés, soit exposés aux UV.

Le grand *cyclone* est rincé extérieurement à l'eau du robinet et intérieurement avec le désinfectant industriel (SINET), circulant en circuit fermé.

## II. PROTOCOLE DE PRELEVEMENT D'AIR EN PLEIN-AIR

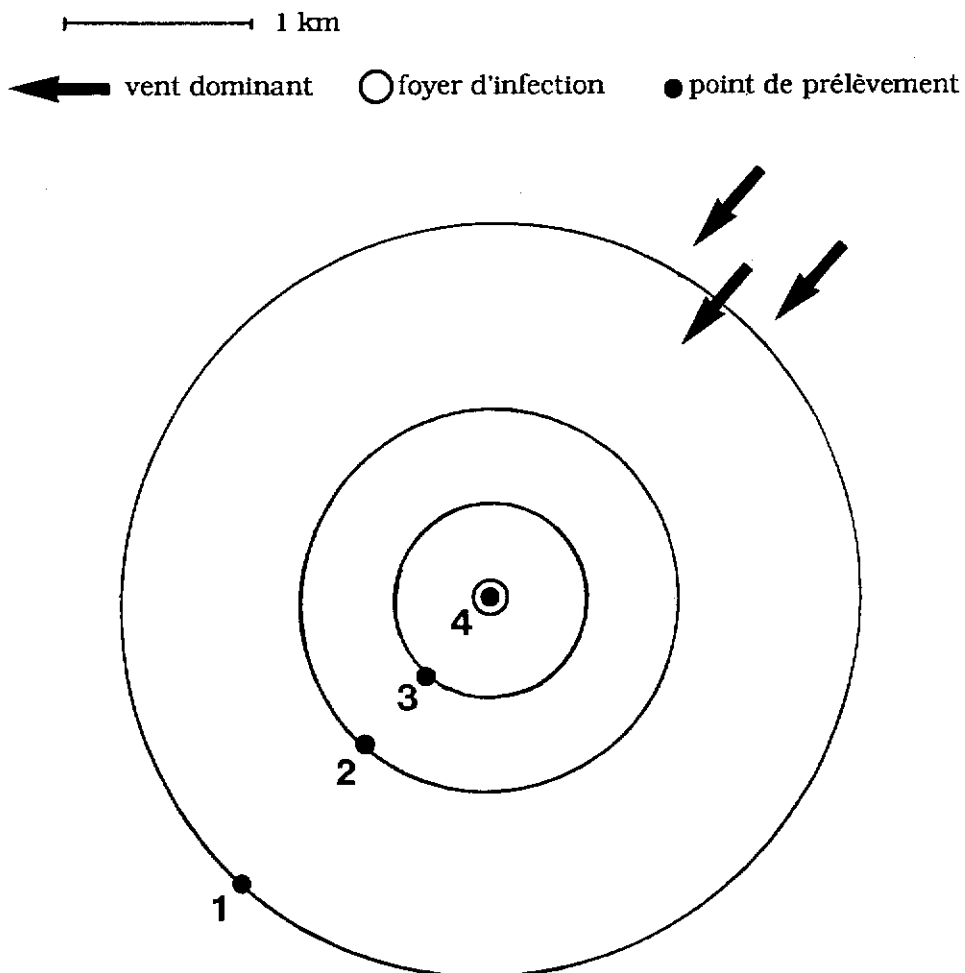
Les informations nécessaires à l'étude sont collectées à partir d'élevages des Côtes-du-Nord essentiellement.

La connaissance des élevages où des syndrômes grippaux se manifestent depuis moins de 48 heures se fait grâce aux appels des vétérinaires et des techniciens des principaux groupements de la région.

Lorsqu'un cas est signalé, on procède systématiquement par étapes, dont la première consiste à localiser l'élevage sur la carte d'Etat-Major (1/25000).

Trois points théoriques de prélèvements d'air en extérieur au moyen du grand *cyclone* sont prévus respectivement aux distances 2 km, 1 km, 500 m et directement au niveau des extracteurs de l'élevage considéré (figure 2).

Figure 2 : Protocole de prélèvement d'air en plein-air.



La situation exacte de ces points se fait grâce aux informations communiquées par la station météorologique (vent, température, HR), essentiellement par rapport au vent dominant (direction, vitesse).

La règle étant de toujours prélever sous le vent par rapport à l'élevage et de respecter un gradient de concentration virale autour de l'élevage : le premier prélèvement a donc lieu au point le plus distant (2 km), en ayant soin de vérifier localement la direction du vent à l'aide d'une girouette. A chaque point, l'appareil est mis en marche 1 heure, l'entrée d'air orientée face au vent.

Des pointages météorologiques sont effectués tous les quarts d'heure : température, humidité relative, vitesse et direction des vents, nébulosité à l'aide d'une trousse SOLOMAT. Un relevé topographique sommaire est aussi réalisé.

La dernière étape du protocole s'effectue à l'intérieur-même de la salle de la porcherie d'engraissement où les porcs présentent les symptômes les plus récents :

- L'air ambiant est prélevé à l'aide d'un petit *cyclone* durant 10 minutes. Le choix du site de prélèvement est variable selon le type de salle : en général, l'appareil fonctionne le plus près possible des animaux, en évitant toutefois de subir les effets directs du système de ventilation. Le site préférentiel reste le milieu de la salle, avec une hauteur par rapport au sol d'environ 1 m.
- Les paramètres concernant les bâtiments (localisation de la salle infectée par rapport à l'ensemble de l'élevage, volume de la salle, type de sol et de plafond, caractéristiques du système de ventilation...) et l'ambiance qui y règne sont relevés.

Les indicateurs d'ambiance se limitent à la température en hauteur et près du sol pour la salle et aux 9 points classiques au niveau des porcs (NH<sub>3</sub>, CO<sub>2</sub>, HR %, vitesse de l'air, régularité de la vitesse, entrée et sortie d'air en conformité avec les normes de construction, zones de turbulence et de condensation, retombées d'air froid sur les animaux, remontée d'air par les fosses).

- La densité des animaux à l'échelle de la salle et du bâtiment est évaluée, de même que les poids et âges.

Huit animaux, sélectionnés sur leur température rectale, sont identifiés et soumis à une première prise de sang ainsi qu'à un écouvillonnage nasal, afin d'établir un diagnostic.

Une deuxième prise de sang est réalisée sur les mêmes animaux 3 semaines plus tard.

Dans la mesure du possible, les prélèvements sont traités dès l'arrivée au laboratoire, sinon stockés à -70°C.

### **III. TRAITEMENT DES PRELEVEMENTS D'AIR ET RECHERCHE VIRALE**

#### **Concentration virale**

L'obtention de grands volumes de liquide de collecte (< 500 ml) à chaque prélèvement réalisé en plein-air nécessite une étape de concentration des échantillons avant d'effectuer une recherche virale.

Deux techniques classiquement utilisées en virologie des eaux pour la concentration de grands volumes de liquides contenant de faibles concentrations virales, ont été testées respectivement dans le cas des virus Aujeszky, coronavirus, virus influenza (H1N1 et H3N2).

La figure 3 résume les principales étapes des deux techniques :

- **Technique sur laine de verre** : développée au laboratoire de virologie du Centre de Recherche et de Contrôle des Eaux de la ville de Paris pour la détection en continu du poliovirus dans les eaux de distribution publique (P. Vilagines, B. Sarrette et R. Vilagines), cette technique utilise des cartouches de laine de verre comme support d'adsorption virale.
- **Technique au PEG 6000** : couramment utilisée pour la concentration du virus de l'hépatite A, elle est basée sur la précipitation virale au polyéthylène glycol 6000 (PEG 6000) [Biziagos et coll., 1987 ; Lewis et Metcalf, 1988].

Une fois concentrés, les différents liquides de collecte sont aliquotés par 0,9 ml, prêts à être utilisés pour la recherche virale.

Un aliquot de chaque prélèvement brut est conservé, à titre de comparaison.

### **Recherche virale**

- **A partir des écouvillons nasaux** : Selon la technique déjà décrite, le liquide d'écouvillons est inoculé à des tapis cellulaires confluents (cellules ST pour le coronavirus, cellules PK pour le virus de la maladie d'Aujeszky). Dès l'apparition d'un effet cytopathique (EPC), le prélèvement est congelé à -70°C.

L'isolement du virus grippal se fait sur oeuf de poule embryonné de 9 jours, à partir d'un inoculum d'écouvillon nasal de 200 ul dilué au 1/10.

Après 3 jours d'incubation à 37°C, le liquide allantoïdien est récupéré et testé par une technique hémagglutination.

- **A partir des prélèvements d'air** : L'inoculation à des tapis cellulaires ou à des oeufs des prélèvements d'air concentrés se déroule comme pour les écouvillons nasaux.

Dès l'apparition d'un effet cytopathique (ECP), la culture est congelée à -70°C. Le surnageant de culture est alors réinoculé à des cellules et titré en microplaque.

La recherche du virus grippal se fait sur oeuf, comme précédemment décrit.

## **RESULTATS ET DISCUSSION**

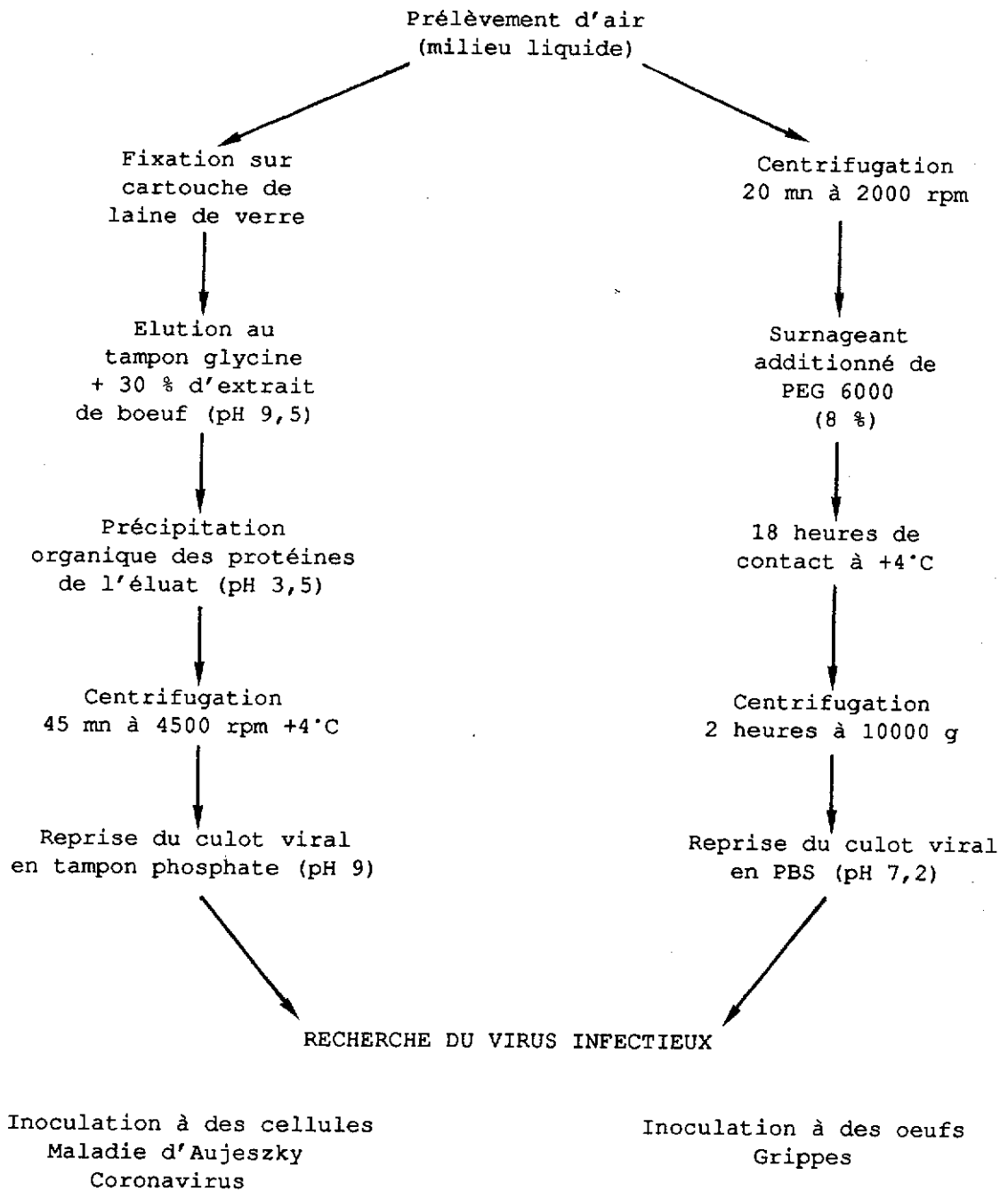
Les travaux réalisés jusqu'à présent (l'étude a débuté il y a 3 mois) aussi bien en élevage qu'au laboratoire, relèvent de la mise au point des techniques de prélèvement et de concentration d'air.

En effet, seulement 4 élevages ont été suivis conformément au principe adopté pour les conditions de plein-air et une seule expérience a eu lieu en animalerie, à partir de porcs infectés par le virus de la maladie d'Aujeszky.

Aucun virus n'a encore été isolé des échantillons issus des différents appareils.

Cette absence de résultats peut être attribuable à un certain nombre de facteurs, qu'il s'agit d'analyser ici.

Figure 3 : Techniques de concentration virale.





## **I. MATERIEL DE PRELEVEMENT D'AIR**

Parmi la gamme d'appareils couramment utilisés pour la collecte de microorganismes aéropoortés décrits par Cox [1987] (bactéries, virus, champignons), seuls trois modèles permettent la récupération des particules virales :

- Les **impingers** [May, 1966] collectent les particules aéropoortées en amenant l'air à grande vitesse sur une surface liquide.

L'inconvénient majeur de cet appareil tient au fort stress mécanique occasionné par l'accélération à laquelle les particules virales sont soumises.

- La **précipitation électrostatique** consiste à fournir une charge aux particules aéropoortées en les exposant à un arc électrique et ensuite à les attirer.

Par cette technique, les particules collectées sont d'autant plus nombreuses que leur taille est faible (< 5  $\mu\text{m}$ ) [Cow, 1988].

Difficilement adaptable aux conditions de plein-air, cet appareil n'a pas été retenu pour notre étude.

- Le type **cyclone** utilisé avec succès par Donaldson pour la collecte du virus de la maladie d'Aujeszky [1983] en milieu clos, présente l'avantage d'une forte capacité d'aspiration, particulièrement recherchée pour un milieu aussi dilué en particules que l'air extérieur.

Contrairement aux autres appareillages, les conditions de collecte des particules sont moins traumatisantes du fait des faibles accélérations subies dans le corps de l'appareil.

Cow précise que si d'excellents rendements de collecte peuvent être obtenus (proches de 100 %) pour des particules d'un diamètre supérieur à 0,7  $\mu\text{m}$ , des pertes importantes sont attribuées à la rétention des particules par les parois du *cyclone*, mettant en jeu les forces électrostatiques.

On dispose de peu d'informations concernant le comportement des différents virus enveloppés vis-à-vis d'un matériau comme l'acier inoxydable, notamment au sujet des points isoélectriques viraux qui déterminent la propension à se fixer ou non sur un support chargé électriquement.

L'autre cause de perte en particules tient au phénomène de réaspiration et d'évaporation des particules au cours d'un prélèvement prolongé : c'est le principal inconvénient du *cyclone* de forte capacité, pour lequel 25 à 50 % (selon les conditions extérieures) de perte en liquide et donc en particules est enregistré après une heure de fonctionnement.

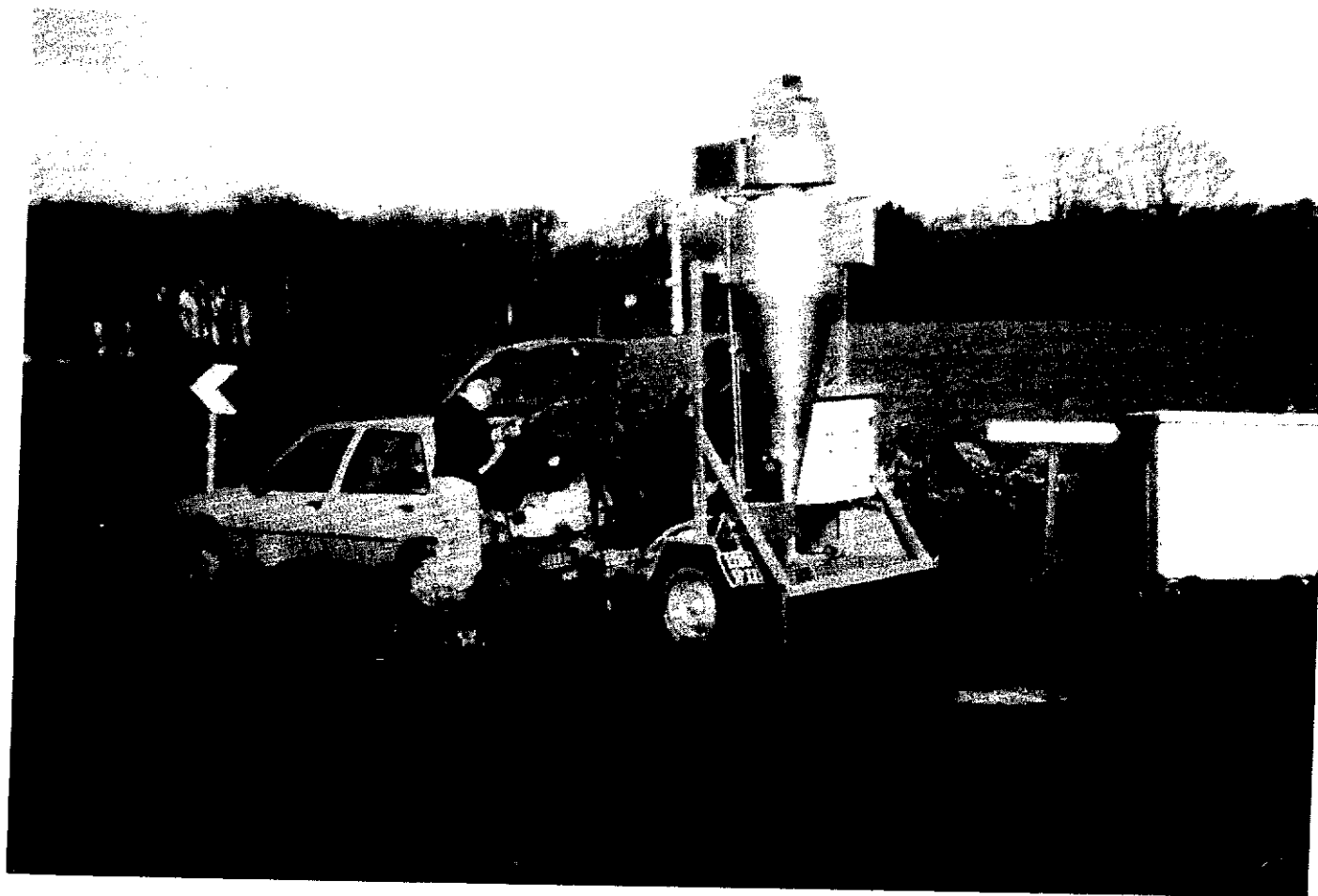
D'autres inconnues subsistent, relatives au pouvoir séparateur des appareils vis-à-vis des différentes particules qui y pénètrent, ainsi qu'à la taille des particules respirables collectées (0,5 à 5  $\mu\text{m}$ ).

Toutes ces interrogations ne nous permettent pas de savoir si nos conditions de prélèvement se rapprochent de celles, considérées comme idéales, d'un prélèvement en isocinétique lors duquel la vitesse de l'air aspiré doit être égale à la vitesse des particules aéropoortées.

## II. PROTOCOLE DE PRELEVEMENT D'AIR

Au cours des différents prélèvements en milieu extérieur, les limites du *cyclone* de grande capacité sont devenues plus perceptives (figure 4).

Figure 4 : Prélèvement d'air en plein-air avec le cyclone de grande capacité.



Malgré sa forte capacité d'aspiration, le *cyclone* ne capte pas l'air en mouvement s'il n'est pas exactement placé face au vent dominant : l'utilisation d'un fumigène manipulé à proximité de l'appareil l'a prouvé. Il est donc primordial de bien orienter l'entrée d'air du *cyclone*. La mauvaise maniabilité du collecteur (due au poids du matériel) reste un handicap pour effectuer une correction de position en cas de vent changeant (cas fréquent par temps orageux).

Afin de pallier cet inconvénient, il est nécessaire d'évaluer systématiquement le temps réel pendant lequel l'air en provenance de l'élevage contaminé a pénétré dans le *cyclone*.

Il serait également envisageable de prolonger des temps de prélèvement d'air à proximité de la source.

### III. TECHNIQUES DE CONCENTRATION

Les volumes de liquide nécessités à chaque collecte avec le *cyclone* de grande capacité notamment sont tels qu'une étape de concentration est nécessaire avant la recherche virale sur oeuf ou sur cellules. La collecte des particules virales se faisant en milieu liquide, il semble logique d'avoir recours aux méthodes de concentration utilisées classiquement en virologie des eaux et spécialement adaptées pour de faibles quantités virales dans de grands volumes de liquide.

La technique utilisée par l'équipe de P. Vilagines est basée sur le principe d'adsorption et d'élution des virus à partir d'un support électronégatif (filtre, membrane, poudre ou laine de verre...). L'exposition des virus à d'importantes variations de pH ou de molarité semble inévitable par cette approche.

Contrairement aux entérovirus, les virus enveloppés comme ceux de la maladie d'Aujeszky, de la grippe et, dans une moindre mesure, les coronavirus, sont sensibles aux variations de pH, c'est pourquoi nous avons dû rejeter une telle méthode et nous tourner vers une technique moins dénaturante pour les virus, à savoir la concentration virale par précipitation au PEG 6000.

Cette technique, facilement mise en oeuvre, permet de traiter plusieurs litres \*\* d'échantillons sans inconvénient majeur.

Par contre, les résultats obtenus pour de faibles concentrations sont décevants : en effet, pour des quantités n'excédant pas 10 TCID50/ml, le rendement de récupération virale (estimé à partir du culot) ne dépasse pas 24 %. Lorsque la dose infectieuse est 100 à 1000 fois plus importante, le taux de récupération dépasse 60 % pour chacun des virus testés (tableau I).

Tableau I : Rendements de concentration obtenus par la technique de précipitation virale au PEG.

Dose de virus initiale (en TCID50/ml)	Rendement de récupération (%)			
	AUJESZKY		CORONAVIRUS	
	Témoin	PEG	Témoin	PEG
10	0,1	5,5	-	-
100	0,4	20,0	0,2	9,95
1000	6,8	42,08	0,3	10,02
10000	42,06	66,6	-	-

(Résultats calculés à partir de 6 répétitions de l'expérience).

La principale difficulté liée à cette technique tient à la non visualisation d'un culot viral après centrifugation, en raison des trop faibles concentrations initiales.

### IV. RECHERCHE VIRALE

Les premiers essais d'isolement viral à partir des liquides de prélèvement d'air, préalablement concentrés au PEG 6000 et congelés à -70°C, ont été pratiqués à partir d'élevages où un diagnostic viral et sérologique a été établi.

Parmi les 4 élevages autour desquels le *cyclone* de grande capacité a fonctionné, tous ont présenté des cas de grippe, vraisemblablement dus au virus H1N1, isolé à partir d'écouvillons nasaux.

Les prélèvements d'air à l'intérieur des bâtiments réalisés pour ces 4 élevages n'ont pas permis d'isoler du virus sur oeufs ou sur cellules. La même constatation est valable pour les conditions extérieures.

Cette absence d'isolement pour l'ensemble des prélèvements du terrain peut être due au fort degré de contamination des milieux de récupération. En effet, qu'ils soient effectués en milieu clos ou en plein-air, les liquides collectés après chaque prélèvement sont particulièrement chargés en grosses particules, essentiellement de poussière.

Malgré une première série de centrifugation à basse vitesse pour chacun des prélèvements, afin d'éliminer un maximum de ces particules, les milieux restent opaques à la lumière, nécessitant une étape de filtration (filtres Millipore, 0,45 µm) avant d'être traités au PEG.

La prolifération bactérienne qui survient dans les 24 heures qui suivent l'inoculation aux différents systèmes cellulaires est telle qu'elle empêche toute manifestation de la présence virale, si elle existe.

Il importe donc d'élargir le spectre des antibiotiques entrant dans la composition des liquides de collecte en ayant soin de tester leur toxicité vis-à-vis des cultures utilisées.

### **CONCLUSION**

L'ensemble de ces travaux, depuis la conception des appareils de prélèvement d'air jusqu'aux premiers essais sur le terrain, nous ont montré les points faibles de la stratégie adoptée pour cette étude.

Il s'agit donc maintenant de procéder par des étapes successives tant au laboratoire (techniques de concentration virale) qu'en animalerie (étalonnage des *cyclones*).

Pour cela, chacun des virus étudiés devra être testé pour sa résistance aux conditions de capture par le *cyclone*. Une estimation des seuils de concentration virale captable par chaque appareil est nécessaire à la poursuite de cette étude.

Ce n'est qu'ensuite que les essais sur le terrain pourront être repris.

### **BIBLIOGRAPHIE**

- BIZIAGOS E., PASSAGOT J., CRANCE J.M., AGBALIKA F., LAVERAN H. and DELOINCE R.- Concentration of Hepatitis A virus. *Wat. Res.*, 1987, 21 (6), 683-686.
- COX C.S.- The aerobiological pathway of microorganisms. John Wiley and sons. Chichester, New-York, Brisbane, 1987.

- COX C.S.- Principles of aerosol sampling and samplers. Conference CEC "Aerosol sampling in animal houses. 26-27 juillet 1988, Bristol. Editeurs : CM Wathes et JM Randall, 1988.
- DONALDSON A.I.- Airborne foot and mouth disease. Vet. Bull., 1979, 49, 653-659.
- DONALDSON A.I., WARDLEY R.C., MARTIN S. and FERRIS N.P.- Experimental Aujeszky's disease in pigs : excretion, survival and transmission of the virus. Veterinary Record, 1983, 113, 490-494.
- DONALDSON A.I., LEE M. and GIBSON C.F.- Improvement of mathematical models for predicting the airborne spread of foot and mouth disease. Adv. in Aerobiology, 1987, 51, 351-355.
- ERRINGTON F.P. and POWELL E.O.- A cyclone separator for aerosol sampling in the field. J. Hyg. Camb., 1969, 67, 387-399.
- GLOSTER J., SELLERS R.F. and DONALDSON A.I.- Long distance transport of foot and mouth disease over the sea. Vet. Record, 1982, 110, 47-52.
- LEWIS G.D. and METCALF T.G.- Polyethylene glycol precipitation for recovery of pathogenic viruses, including hepatitis A virus and human rotavirus, from oyster, water and sediment samples. Applied and Environmental Microbiology, 1988, 54 (8), 1983-1988.
- MAY K.R.- Multistage liquid impinger. Bacteriological Reviews, 1966, 30 (3), 559-570.
- VANNIER P. et LE FOLL P.- Les grandes maladies virales contagieuses du porc : situation épidémiologique en France et en Europe. Journées Rech. Porcine en France, 1988, 20, 73-82.
-