

L'exposition environnementale humaine aux micro-organismes

*A propos d'un avis de l'Académie Nationale de Pharmacie
(avril 2016)*

Docteur Fabien Squinazi

Médecin biologiste

Membre correspondant de l'Académie Nationale
de Pharmacie

Cette séance n'a pas traité :

- des expositions *via* l'alimentation (déjà traitées)
- de la transmission inter-humaine directe d'agents infectieux, responsables de maladies contagieuses
- de la transmission de maladies infectieuses et parasitaires
 - par un animal réservoir
 - par piqûre d'un insecte (moustiques, puces, tiques)
- des aéro-allergènes (pollens, domestiques)

Les milieux de l'environnement

- Les fluides
 - air ambiant, extérieur ou intérieur,
 - gaz
 - eaux
- Les supports inertes
 - surfaces
 - sols
 - matériels
 - équipements
 - textiles
 - liquides

Une diversité de micro-organismes

- **Les bactéries** (0,5 à 10 μm) : êtres unicellulaires dépourvus de noyau (procaryotes), distinguées classiquement par leurs :
 - forme : sphérique (coque), bâtonnet (bacille), virgule (vibrion)
 - coloration : Gram + et Gram –
 - respiration : aérobies stricts, aéro-anaérobies facultatives, anaérobies strictes
 - état physiologique : cultivables, viables non cultivables



Journées nationales de la Société des
Sciences Pharmaceutiques de Tunisie,
Tunis 15 & 16 février 2018

Une diversité de micro-organismes

- **Les virus** (10 à 300 nm), à ARN ou à ADN, entourés d'une capsule protéique, parasites obligatoires de cellules animales, végétales ou bactériennes (bactériophages), identifiés par :
 - un examen microscopique (électronique)
 - la recherche des effets cytopathologiques
 - un diagnostic immunologique par réaction antigène – anticorps (+ marqueur)
 - leurs composants (méthode biochimique ou immunologique)

Une diversité de micro-organismes

- **Les champignons** : pourvus d'un noyau ADN (procaryotes)
 - moisissures (1 à 50 μm) : thalle filamenteux produisant des spores, dans des conditions d'humidité
 - levures (1 à 10 μm) : forme unicellulaire
- Identifiés par :
 - leur morphologie
 - l'observation microscopique
 - la production de métabolites
 - la caractérisation moléculaire

Le classement des agents biologiques

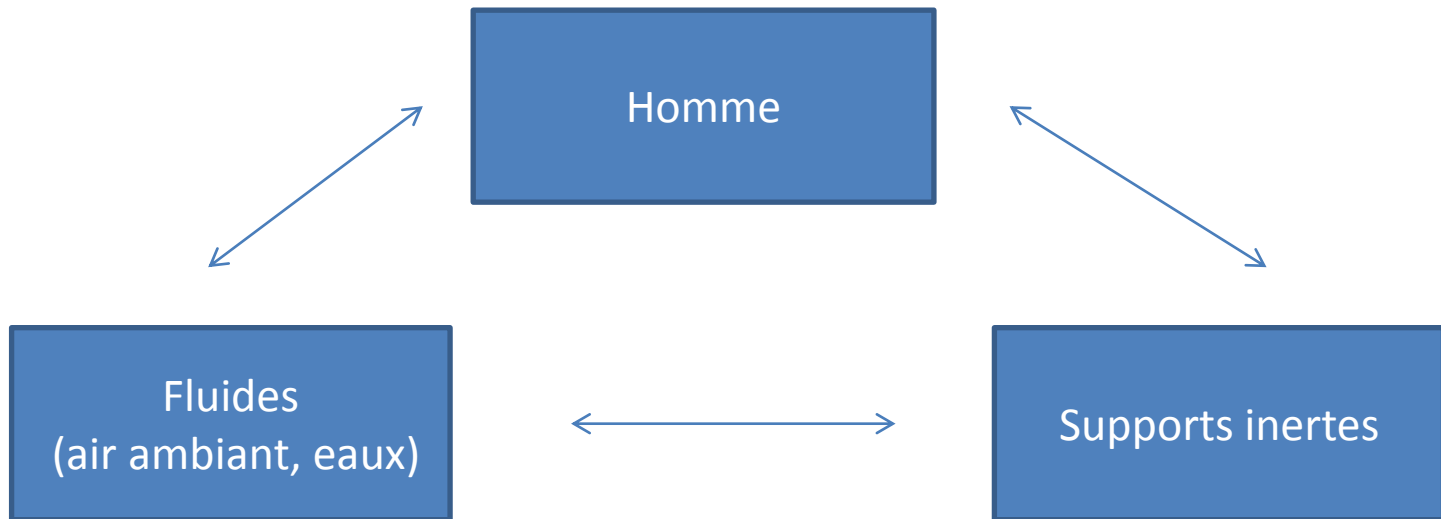
	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4
Susceptible de provoquer une maladie chez l'homme	non	oui	grave	grave
Constitue un danger pour les travailleurs	-	oui	sérieux	sérieux
Propagation dans la collectivité	-	peu probable	possible	élevée
Existence d'une prophylaxie ou d'un traitement efficace	-	oui	oui	non

Micro-organismes de l'environnement

- origine humaine
- *Staphylococcus*
- *entérobactéries*
- *entérocoques*
- *virus (rotavirus, VRS)*
- *parasites (Giardia, amibes,...)*
- origine environnementale
- Bacilles aérobies à Gram négatif
- *Legionella*
- *mycobactéries atypiques*
- *champignons*
- *amibes libres*

Sources et transferts des micro-organismes

- Transferts par bioaérosol ou contact direct



La voie aérienne

Contamination – amplification - diffusion

- Les vecteurs microbiens
 - source humaine
 - gouttelettes microbiennes (Pflügge)
 - noyaux de condensation (*Droplet nuclei*)
 - squames cutanées
 - sources inertes
 - poussières
 - supports
 - réseaux d'eau et d'air

Les réservoirs vivants

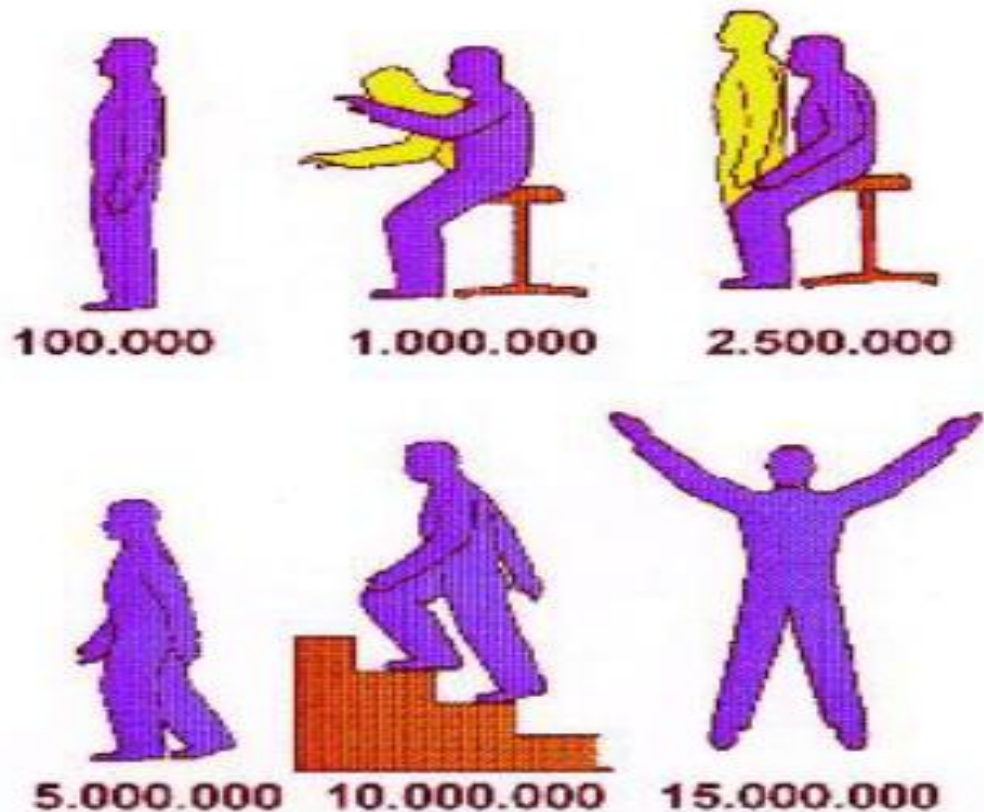
Cuir chevelu	10^6 bactéries/cm ²
Front	$10^4 - 10^5$ bactéries/cm ²
Sécrétion nasale	10^7 bactéries/g
Salive	10^8 bactéries/g
Aisselle	$10^6 - 10^7$ bactéries/cm ²
Main propre	100 à 1000 bactéries
Matières fécales	$> 10^8$ bactéries/g



Gouttelettes de Pflügge

Particules $D \geq 0,5 \mu\text{m}$	Activité
700 000	toux
1 400 000	éternuement
100	parole : lettre « p »
180	parole : syllable « pré »
15 – 20 000	conversation : 1 minute

NOMBRE DE PARTICULES DE PLUS DE 0,3 μm EMISES PAR MINUTE SELON L'ACTIVITE DES INDIVIDUS



La voie par contact direct

- Transfert par les mains (manuportage)
- Transfert par contact avec des supports inertes contaminés
 - surfaces
 - matériels
 - équipements
 - textiles
 - liquides

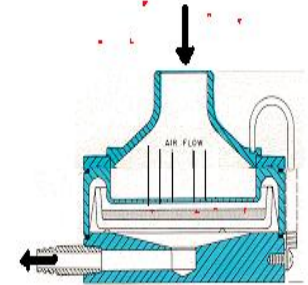
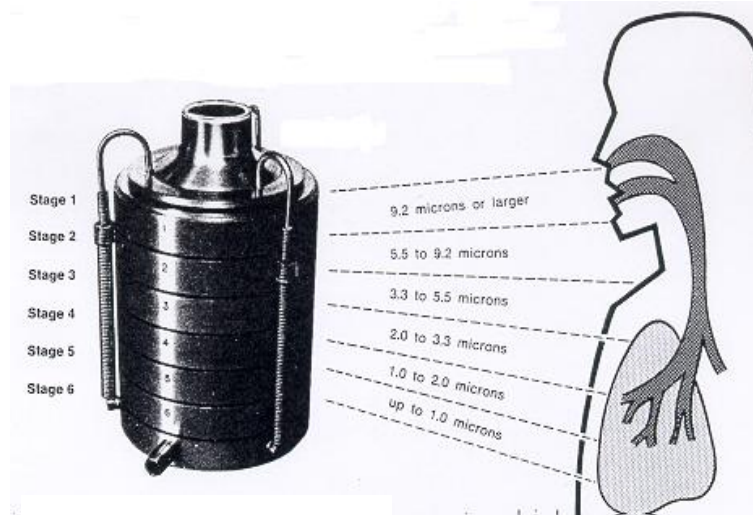
Conséquences de la présence des micro-organismes

- Si la plupart de micro-organismes de l'environnement sont considérés comme inoffensifs, voire bénéfiques pour la fabrication de produits
- D'autres, moins nombreux, peuvent avoir des impacts technico-économiques ou humains
 - dégradation des supports
 - effets indésirables pour la santé humaine

Les modes d'exposition

- L'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés
- L'inhalation de bioaérosols
 - perturbation de supports inertes
 - aérosolisation de microgouttelettes d'eau
- La peau et les muqueuses
 - supports inertes
 - eaux (par exemple, baignades)

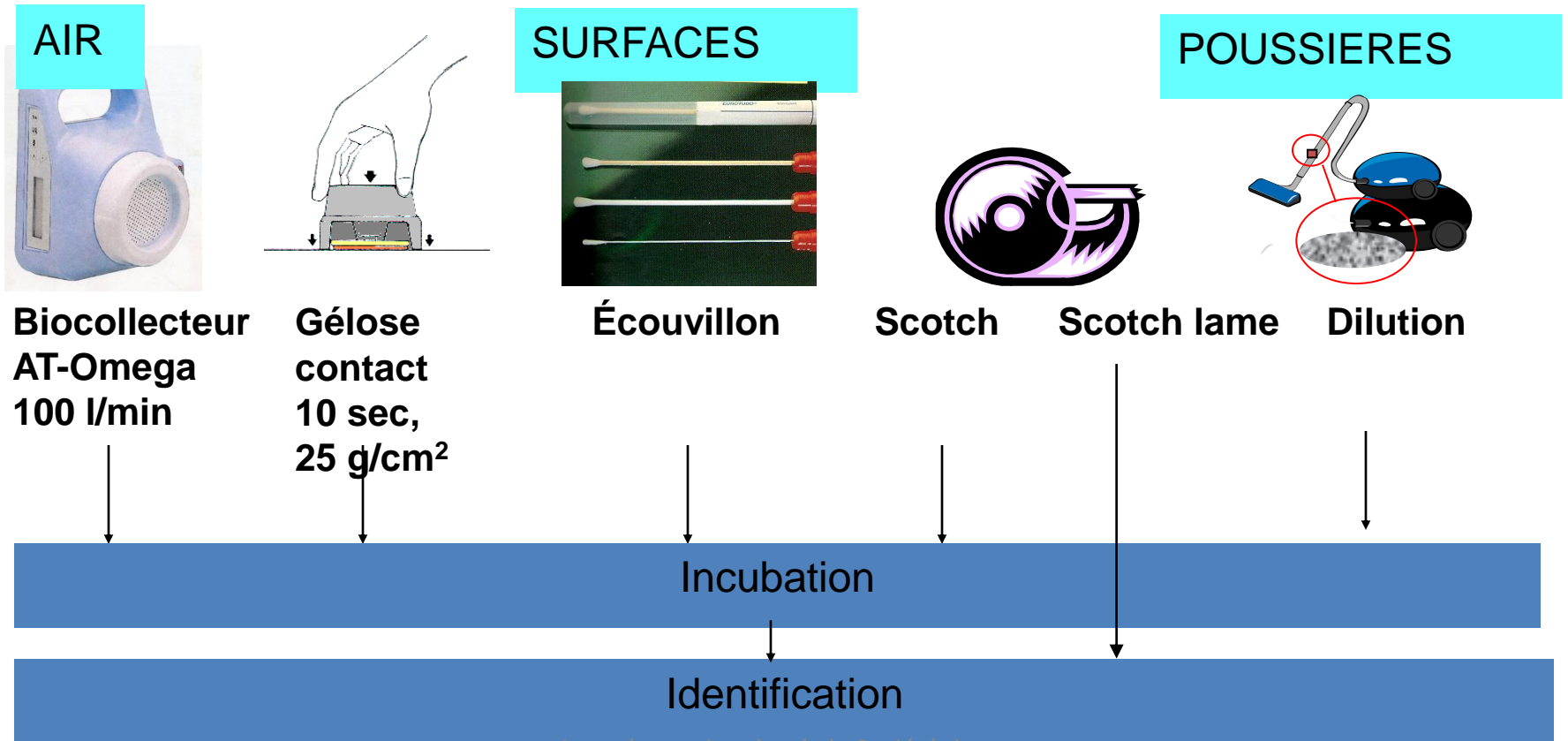
Les biocollecteurs



Développements de la collecte en milieu liquide

- Etudes de la diversité microbienne par des outils moléculaires
 - comparaison de divers biocollecteurs
 - dans des localisations différentes
 - suite à des traitements d'inactivation
 - meilleure compréhension des bioaérosols
- Détection en temps réel
 - collecte – transfert liquide – analyse rapide

Bactéries et Moisissures Prélèvements et analyses



Perspectives

- Une meilleure connaissance des facteurs interférant avec l'environnement microbien intérieur (*indoor environmental microbiome*)
 - facteurs humains et animaux
 - conception du bâtiment et pratiques d'exploitation (aération, ventilation, température, humidité, produits chimiques)
 - choix des matériaux
- par un développement de nouvelles technologies d'identification microbienne

Focus sur 4 milieux environnementaux

- Habitat et développement de moisissures
 - *Stéphane Moularat, Centre scientifique et technique du bâtiment*
- Expositions microbiennes liées aux piscines
 - *Françoise Enkiri, Service parisien de santé environnementale*
- Systèmes de climatisation et expositions microbiennes
 - *Sylvie Parat, Air & Bio, Chambéry*
- Diversité des micro-organismes dans les réseaux de distribution d'eau
 - *Professeur Jean-Claude Block, Université de Lorraine*

Habitat et exposition aux moisissures

- En France, entre 14 et 20 % des logements présentent des moisissures visibles
- L'exposition aux moisissures concerne également les bâtiments neufs ou rénovés



Les facteurs favorisant le développement des moisissures

- **eau issue du sol des fondations** : nappe phréatique, infiltrations, fuite de canalisation enterrée
- **eau issue de l'enveloppe du bâtiment** : eau de construction, ponts thermiques, intempéries, fuite de canalisation
- **condensations murales** : renouvellement d'air insuffisant, chauffage insuffisant, suroccupation, production excessive de vapeur d'eau

Une grande diversité fongique

Murs et surfaces horizontales

- *Aspergillus versicolor*
- *Cladosporium sphaerospermum*
- *Penicillium chrysogenum*
- *Ulocladium botrytis*
- *Acremonium strictum*
- *Stachybotrys chartarum*

Papiers peints

- *Alternaria alternata*
- *Aspergillus versicolor*
- *Aspergillus penicilloides*
- *Cladosporium cladosporioides*
- *Paecilomyces variotii*
- *Penicillium chrysogenum*
- *Penicillium brevicompactum*
- *Penicillium glabrum*
- *Trichoderma harzianum*
- *Chaetomium globosum*

Présence de moisissures et survenue d'effets sur la santé

- développement d'asthme (enfant)
- exacerbation des symptômes de l'asthme (enfant)
- incidence augmentée de l'asthme dans les bâtiments ayant connu des dégâts des eaux (adultes sur le lieu de travail)
- rhinite allergique
- altération de la fonction cognitive chez l'enfant pour des expositions de plus de 2 ans dès la naissance
- pas de conclusion sur le syndrome du bâtiment malsain
- sévérité des réponses inflammatoires et allergiques pulmonaires

Moisissures dans le bâti, avis de l'Anses, juin 2016

Objectifs des travaux de décontamination fongique

- éliminer ou nettoyer les matériaux contaminés, en appliquant des techniques qui permettent :
 - la protection des occupants, c'est-à-dire en empêchant la dispersion des moisissures des zones contaminées vers les zones propres ;
 - la protection des travailleurs, vis-à-vis d'une exposition professionnelle.
- vérifier la présence éventuelle d'autres nuisances telles que le plomb ou l'amiante

Contrôle de l'humidité

- identifier et corriger l'origine du problème d'accumulation d'eau afin de prévenir la réapparition des moisissures (expert du bâtiment) :
 - fuites en façade ou en toiture
 - inondations
 - condensation,
 - humidité relative importante
- ⇒ séchage et/ou élimination des matériaux endommagés par l'humidité
- ⇒ maintien de l'humidité relative à un niveau < 65%

Expositions microbiennes dans les piscines

Un bassin artificiel étanche, dans lequel se pratiquent des activités aquatiques et dont l'eau est filtrée, désinfectée et désinfectante, renouvelée et recyclée

ainsi que tous les équipements nécessaires à son fonctionnement



Sources d'exposition microbienne

- **Equipements**
 - bassin (eau et surfaces)
 - pédiluves (eau et surfaces)
 - réseau d'eau (douches et lavabos)
- **Baigneurs**
 - peau
 - muqueuses
 - sphère ORL
- **Locaux** (surfaces et matériels)
 - zone de déchaussage
 - vestiaires
 - douches et cabinets d'aisance
 - plages et accessoires
- **Air ambiant**
 - centrale de traitement d'air
 - réseau aéraulique
 - grilles

Amplification de la contamination

- **5 causes principales :**
 - déficience dans le traitement de l'eau des bassins
 - gestion inadaptée des installations techniques
 - dysfonctionnements de la centrale de traitement d'air
 - manquements vis-à-vis des règles d'hygiène par les usagers
 - dérives dans les bonnes pratiques en hygiène par le personnel

Les principaux dangers microbiens

- **Une grande diversité de micro-organismes** présents dans ces environnements chauds, humides et confinés :
 - **bactéries**, d'origine fécale (*E. coli*, *Shigella spp.*, *Salmonella spp...*), d'origine cutanéomuqueuse (*S. aureus...*), d'origine environnementale (*P. aeruginosa*, *L. pneumophila*, mycobactéries non tuberculeuses...)
 - **virus** : norovirus, rotavirus, adénovirus, entérovirus, virus de l'hépatite A, *Molluscum contagiosum*, Papillomavirus...)
 - **fungi** : *Candida*, Dermatophytes (*Epidermophyton*, *Microsporum*, *Trichophyton*), *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*...
 - **protistes** : *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium spp.*, amibes libres

Les pathologies d'origine microbienne liées à la fréquentation des piscines*

- les plus fréquentes : mycoses cutanéomuqueuses, verrues plantaires
- fréquentes : otites, angines, conjonctivites, rhinites, autres dermatoses
- plus rares : gastro-entérites, pneumopathies
- exceptionnelles : méningites

* *Rapports d'expertise collective de l'Anses, juin 2010 et janvier 2013*

Le contrôle sanitaire des piscines

- **Contrôle mensuel** d'indicateurs microbiens sur l'eau des bassins exclusivement :
 - *Escherichia coli* absence dans 100 mL
 - Coliformes totaux < 10 UFC dans 100 mL
 - Staphylocoques pathogènes absence dans 100 mL
 - flore aérobie à 36°C < 100 UFC dans 1 mL

- + vérification d'une chloration adéquate de l'eau des bassins

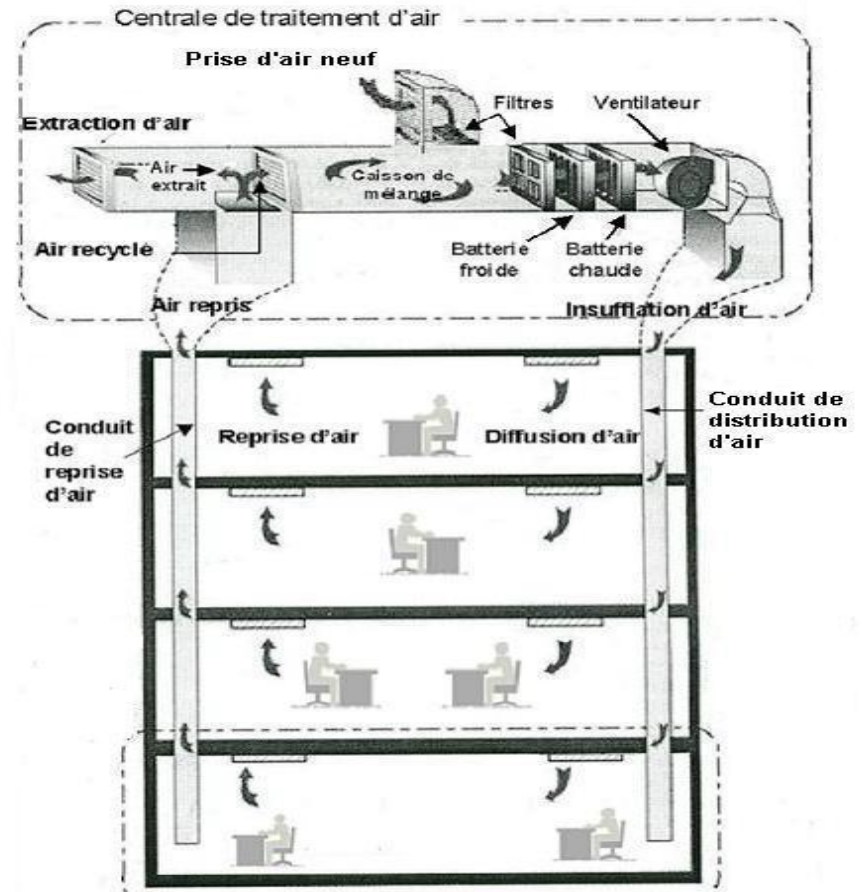
Recommandations de l'Anses*

- **Paramètres supplémentaires** du contrôle sanitaire
 - **sur l'eau des bassins**
 - entérocoques intestinaux absence dans 100 mL
 - spores de bactéries sulfitoréductrices abs. dans 100 mL*
 - *si présence, recherche des *Giardia* et *Cryptosporidium*
 - *Pseudomonas aeruginosa* absence dans 100 mL
 - *Legionella pneumophila* (remous) non détectée dans 1 L
 - **sur les surfaces** : ATPmétrie

* *Rapports d'expertise collective de l'Anses, juin 2010 et janvier 2013*

Systemes de climatisation et expositions microbiennes

- Technique consistant à modifier, contrôler et réguler les conditions climatiques et la qualité de l'air d'un local pour des raisons de confort ou techniques. Elle comprend une centrale de traitement d'air et un réseau aéraulique.



Sources d'exposition microbienne

- **Centrale de traitement d'air**
 - introduction de micro-organismes de sources externes : prise d'air neuf
 - développement et relargage de micro-organismes : préfiltre, batterie chaude, batterie froide (condensat)
 - risque d'aérosolisation d'une eau contaminée : humidificateur
 - réintroduction de micro-organismes d'origine intérieure : recyclage de bactéries d'origines humaine et environnementale

Les pathologies microbiennes liées aux systèmes de climatisation

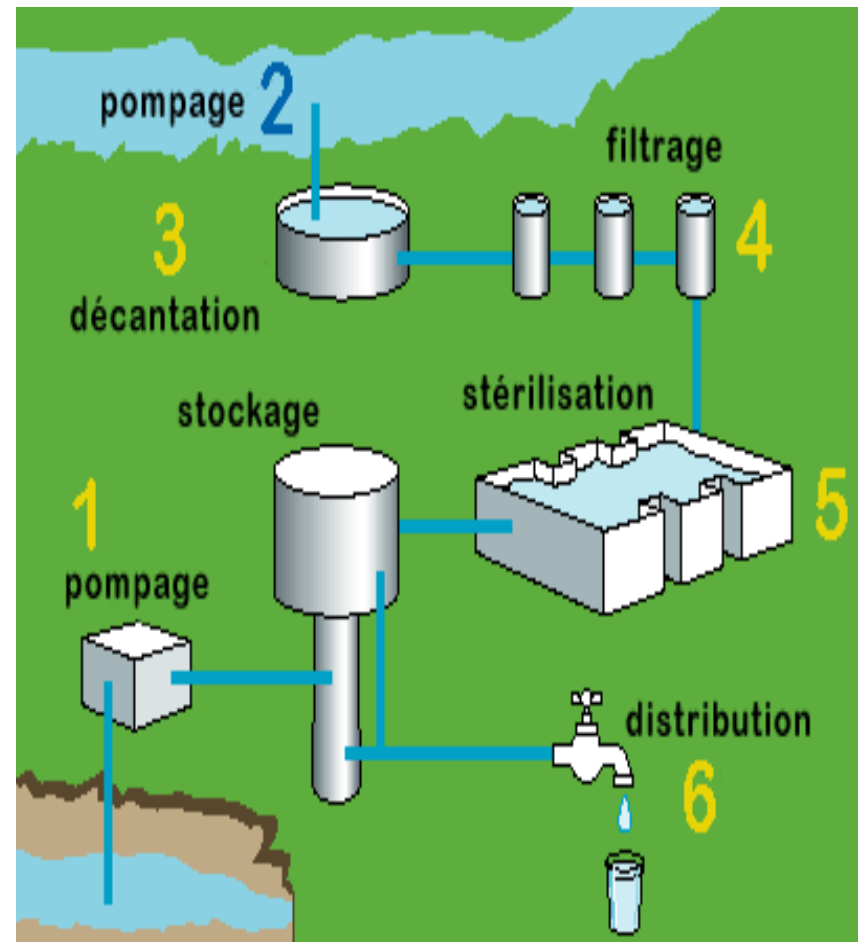
- Une flore bactérienne et fongique diversifiée et leurs produits dérivés (endotoxines bactériennes, glucanes, mycotoxines)
 - pathologies infectieuses : légionellose, aspergillose
 - pathologies immuno-allergologiques : asthme, ORL, alvéolite
 - pathologies inflammatoires : ORL, respiratoires, oculaires, cutanées

La surveillance de la qualité microbiologique de l'air

- **dénombrement de la flore fongique**
(limite préconisée : 100 UFC/m³)
 - indicateur de la qualité de la filtration (flore extérieure)
 - indicateur de présence d'une source intérieure d'humidité (dégât des eaux, infiltration, condensation) et de développement de moisissures
- **dénombrement de la flore bactérienne**
(limite préconisée : 1 000 UFC/m³)
 - indicateur de l'occupation et de l'activité récente dans les locaux (flore humaine, remise en suspension)
 - indicateur du renouvellement d'air
 - indicateur de la propreté des locaux et des installations de ventilation/climatisation

Les réseaux de distribution d'eau

- La distribution d'eau destinée à la consommation humaine comprend :
 - les installations de production
 - les réseaux publics de distribution
 - les installations privées (canalisations, réservoirs, appareillages, équipements raccordés)



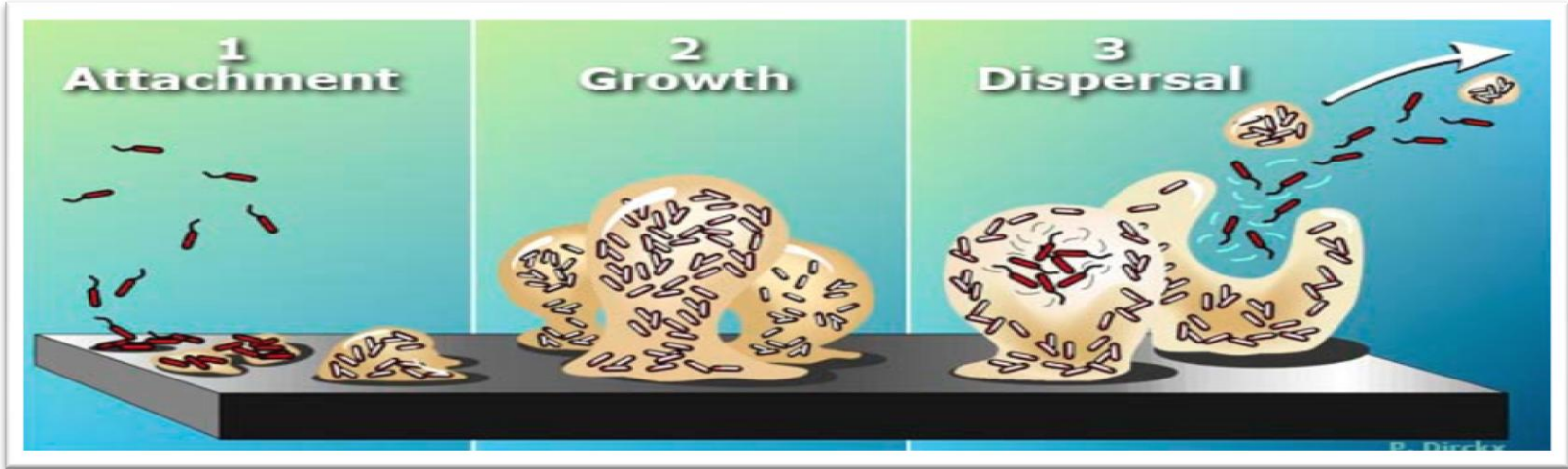
La présence de micro-organismes indésirables au robinet

- **4 causes majeures :**
 - traitement insuffisant de la ressource
 - contamination accidentelle lors du transport en réseaux
 - multiplication dans le réseau (biofilm et sédiments), en particulier dans les réseaux intérieurs privés
 - contamination au point d'usage

Une flore microbienne diversifiée

- virus, bactéries, protozoaires, fungi
 - soit transportés par l'eau, en particulier les micro-organismes d'origine fécale,
 - soit se multipliant dans les unités de production et de transport d'eau, en particulier les micro-organismes d'origine environnementale (*Mycobacteria*, *Legionella*...)
- diverses pathologies
 - gastro-entérites
 - otites externes
 - légionellose
 - infections à mycobactéries

Le biofilm des réseaux d'eau



Conséquences → dégradation de la qualité de l'eau

- organoleptique (goût, odeur)
- microbiologique (*Legionella sp.*, *Mycobacterium sp.*, *Pseudomonas sp.* et autres bacilles à Gram négatif oxydase positive, flore aérobie mésophile, entérobactéries,...)

Les obligations réglementaires

Indicateur bactérien	Limite de qualité	Référence de qualité
<i>Escherichia coli</i>	0/100 mL	
entérocoques intestinaux	0/100 mL	
bactéries coliformes		0/100 mL
bactéries sulfito-réductrices y compris les spores		0/100 mL
flore aérobie revivifiable à 22°C et 36°C		rapport de 10 / valeur habituelle
flore aérobie revivifiable à 22°C et 36°C (établissements de santé)		100 UFC/mL 10 UFC/mL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (établissements de santé)		< 1 UFC/100 mL
<i>Legionella pneumophila</i> (eau chaude et réchauffée) établissements recevant du public	< 1 000 UFC/L non détectée (personnes à risque)	

En conclusion

- une multiplicité des expositions humaines aux micro-organismes dans nos milieux de vie
- une nécessité d'un suivi temporel des niveaux de contamination des milieux (choix d'indicateurs pertinents)
- une étude des microbiomes environnementaux par des outils biomoléculaires (ADN ou ARN des cellules microbiennes) : influence des interventions techniques ou des comportements humains

L' Académie recommande :

- d'intégrer (ou d'intensifier selon les cas), dès la conception des installations, la formation des professionnels aux enjeux des risques santé-environnement
- de sensibiliser au bon respect des règles d'hygiène, d'entretien et de fonctionnement des installations techniques
- de renforcer l'enseignement sur l'expologie aux micro-organismes dans les cursus universitaires