

anses

agence nationale de sécurité sanitaire
alimentation, environnement, travail



Rencontres
scientifiques
de
l'Anses



Restitution du programme national de recherche environnement santé travail

Microorganismes Dynamiques environnementales et effets sanitaires

Dossier du participant

19

mai 2015

Cité internationale universitaire de Paris
Espace Adenauer
17, bd Jourdan - 75014 Paris

Éditorial

Le poids des maladies transmissibles reste une préoccupation de santé publique. Une flambée épidémique est toujours possible, comme le rappellent régulièrement divers épisodes au niveau européen, tels que l'expansion des épidémies de dengue et de chikungunya, l'apparition du virus de Schmallerberg ou encore la résurgence de la brucellose en Savoie.

De nombreux facteurs sont incriminés : augmentation des échanges à longue distance de marchandises et des flux de voyageurs ; modifications des milieux du fait de l'activité humaine et de l'usage des terres souvent accompagnés d'une perte de biodiversité ; changement climatique avec des répercussions variées, phénomènes de résistances aux antibiotiques et des sociétés vieillissantes plus vulnérables aux maladies infectieuses. Tout ceci fait que des maladies infectieuses sont susceptibles d'émerger ou de se déplacer selon divers facteurs affectant l'écologie de microorganismes pathogènes ou de leurs vecteurs.

Des études récentes de pathogénie d'agents infectieux ont permis d'établir que de nombreux agents interagissent avec d'autres micro-organismes (bactéries, parasites, champignons, virus ou phages) ce qui influence leur adaptabilité et peut modifier leur virulence. Ces considérations ont conduit à définir le pathobiome, concept qui représente l'agent pathogène associé à l'écosystème dans lequel il évolue.

Si la caractérisation des microorganismes et de leurs mécanismes d'action demeurent indispensables pour comprendre la dynamique d'une pathologie ou d'une épidémie, l'action sur d'autres facteurs tels que les modes de vie et d'exposition apparaît tout autant nécessaire à la réduction du risque.

Cette journée sur la dynamique environnementale et effets sanitaires des microorganismes sera l'occasion de mieux comprendre tous ces facteurs. La première session abordera les expositions dans les environnements de travail. Les deuxième et troisième sessions nous permettront de découvrir les dynamiques de contamination de divers écosystèmes par les microorganismes.

Nous aurons également l'honneur de recevoir Cyril CAMINADE, chercheur en épidémiologie et santé publique à la Faculté de santé et sciences de la vie de l'Université de Liverpool, qui nous parlera de l'évolution des maladies vectorielles dans le contexte du réchauffement climatique.

Nous souhaitons que cette journée soit riche en dialogue entre les scientifiques, les évaluateurs de risque, les représentants de pouvoirs politiques et la société pour que les connaissances scientifiques acquises permettent de nous sensibiliser, tous acteurs de nos sociétés mais également qu'elles permettent d'identifier les questions qui restent à ce jour sans réponse.

Marc MORTUREUX
Directeur général de l'Anses

Session 1 - Exposition en milieu de travail à des agents biologiques

Évaluation des expositions à *Chlamydia psittaci*, agent de l'ornithose-psittacose, en milieu professionnel, secteur avicole

Karine LAROUCAU^a ; Virginie HULIN^a ; Fabien VORIMORE^a ; Rachid AAZIZ^a ; Pauline BERNARD² ; Didier CLEVA³ ; Joseph ROBINEAU⁴ ; Sabrina OGER⁵ ; Jacques BERRUCHON⁵ ; Benoît DURAND¹ ; Konrad SACHSE⁶ ; Bertille de BARBEYRAC⁷

¹Université Paris-Est, Anses, Laboratoire de santé animale, LNR pour la chlamydirose aviaire, Maisons-Alfort ; ²École nationale vétérinaire de Nantes, Nantes ; ³Cabinet vétérinaire, L'Oie ; ⁴SAS Breheret, La Poitevineière ; ⁵Hôpital régional, Les Oudairies, La Roche-sur-Yon ; ⁶Université Paris-Est, Anses, Laboratoire de santé animale, Maisons-Alfort ; ⁷Friedrich-Loeffler Institut, OIE Reference Laboratory for Chlamydia, Allemagne ; ⁷Université Bordeaux, CNR Chlamydia, Bordeaux.

Contact : karine.laroucau@anses.fr

Introduction

La psittacose est une zoonose due à *Chlamydia psittaci*. Cette bactérie a été détectée chez plus de 450 espèces d'oiseaux domestiques et sauvages. L'homme peut se contaminer auprès des oiseaux malades ou porteurs sains par contact direct ou inhalation de poussières contaminées par des fientes infectées. Certaines professions telles que les éleveurs et les personnels d'abattoirs sont particulièrement exposées. Chez l'homme, la maladie est le plus souvent bénigne, mais elle peut évoluer vers une pneumopathie atypique sévère, parfois mortelle, si un traitement n'est pas rapidement mis en place. Chez l'animal, la plupart des infections sont asymptomatiques. Dans ce contexte, ce projet avait pour objectif d'apprécier l'exposition à *C. psittaci* en milieu professionnel avicole.

Matériels et méthodes

Le niveau de contamination de l'air ambiant par *C. psittaci* a été analysé dans différents espaces fermés dédiés à l'élevage (couvoirs, bâtiments d'élevage) ou à l'abattage de volailles. Ces données ont été reliées avec le niveau de portage de *C. psittaci* par les animaux/œufs présents lors des investigations. Dans deux abattoirs, le portage de *C. psittaci* a été analysé chez le personnel volontaire en tenant compte des postes occupés et des espèces de volailles manipulées. Les prélèvements collectés dans les zones d'élevage et en abattoir (air, écouillons cloacaux, œufs embryonnés morts) ont été analysés par PCR. Les sérums obtenus à partir des personnes volontaires ont été analysés par immunofluorescence tandis que les écouillons pharyngés ont été analysés par PCR.

Résultats

Les travaux se sont principalement focalisés sur le canard mulard, espèce fréquemment associée à de graves cas de psittacose sur notre territoire. Ainsi, le suivi de 7 lots de canards mulards, de l'éclosion à l'abattage a corroboré le fait que la plupart des lots de canards hébergent *C. psittaci* de façon asymptomatique. Au couvoir, la présence de *C. psittaci* n'a pu être mise en évidence ni à partir des canetons, ni à partir des embryons morts, ni dans les prélèvements d'air, sauf en de rares occasions et toujours à des niveaux très faibles. Ces observations ont été confirmées par les suivis mensuels réalisés au sein de ce même couvoir lors de sessions d'éclosion. Pendant la période d'élevage, les animaux ont été analysés lorsqu'ils étaient manipulés par les professionnels (vaccination, rappels, transferts, gavage...). La présence de *C. psittaci* a été détectée dans tous les lots suivis.

Ce portage asymptomatique expose les professionnels à des charges bactériennes non négligeables, en particulier lors des interventions réalisées dans des espaces clos, comme cela a pu être confirmé par l'analyse des prélèvements d'air. Pendant le gavage et à l'abattoir, peu de lots étaient au final positifs. Ce même constat a été fait lors de suivis ponctuels réalisés dans deux autres abattoirs spécialisés dans l'abattage de canards. Seule la présence de *C. psittaci* a été détectée dans cette filière.

Dans un autre abattoir traitant tout type de volailles à l'exception des canards, des résultats différents ont été obtenus dans le sens où plus de lots positifs ont été identifiés et qu'il s'agissait, à une très large majorité, de lots de poulets ou de dindes infectés par *C. gallinacea*, une espèce récemment décrite. En lien avec le niveau d'excrétion détecté chez les animaux, les prélèvements d'air se sont révélés positifs à différents postes de travail. Le suivi du personnel volontaire de deux abattoirs exposés majoritairement à chacune de ces deux espèces (abattoir de canards/*C. psittaci* vs abattoir de volailles autres/*C. gallinacea*) a permis d'observer une certaine spécificité d'hôte de ces différentes espèces de *Chlamydia*. Un cas suraigu impliquant *C. psittaci* a été diagnostiqué le jour de la mise en place de l'étude dans l'abattoir de canards. Les analyses sérologiques, basées sur la recherche d'anticorps anti-*C. psittaci* tendent à mettre en évidence un plus grand nombre de cas confirmés et probables chez les personnes exposées aux canards que dans l'autre abattoir où seuls des cas possibles ont été identifiés, en corrélation avec les résultats collectés sur les volailles.

Conclusion

Ce projet a permis de confirmer la forte prévalence de *C. psittaci* dans les élevages de canards, sans que des lots fortement excréteurs n'aient été mis en évidence en abattoirs. Les animaux sont la plupart du temps sur les parcours, mais ils doivent être manipulés pour les vaccinations, les transferts, exposant ainsi les personnes à *C. psittaci*, en l'absence de tout signe clinique chez l'animal. Les schémas d'excrétion diffèrent d'un élevage à un autre, d'une bande à l'autre, probablement en lien avec les mesures de nettoyage/désinfection mises en place. Le port d'équipement de protection est la seule mesure de protection disponible à ce jour.

Ce projet a permis de mettre à jour l'importance du portage à *C. gallinacea*, chez les volailles autres que les canards dans la filière avicole. Tandis que le pouvoir zoonotique de *C. psittaci* est avéré, il manque encore des données et des outils spécifiques concernant *C. gallinacea* pour appréhender les éventuels risques associés.

Retombées sur le plan de l'évaluation ou de la gestion des risques sanitaires

Ce projet a permis de confirmer la forte prévalence de *C. psittaci* chez les canards en l'absence de tout signe clinique associé et d'acquérir des données sur une nouvelle espèce émergente, *C. gallinacea*. Cette étude a permis de sensibiliser les responsables et les personnels des élevages et abattoirs suivis. Cette étude reste cependant à poursuivre à une plus large échelle et confirme la nécessité d'engager des travaux pour supprimer ou réduire l'excrétion de *C. psittaci* et *C. gallinacea* chez les volailles afin de réduire, par conséquent, l'exposition des professionnels. Le port d'équipements individuels est vivement recommandé, mais en raison des efforts physiques déployés à certains postes de travail, le port du masque peut s'avérer parfois difficile à respecter.

Projet PNR-EST 2011-110, réalisé entre janvier 2012 et décembre 2013.

Caractérisation de l'excrétion et de la diffusion de *Pneumocystis* dans l'air et quantification de l'exposition des patients et des personnels soignants en milieu hospitalier

Jean MENOTTI¹ ; Solène LE GAL² ; Céline DAMIAN³ ; Emilie FREALLE^{4,5} ; Alexandra EMMANUEL¹ ; Sandrine VALADE¹ ; Chafia BOUCHEKOUK¹ ; Firas CHOUKRI¹ ; Laurence POUUNET¹ ; Claudine SARFATI¹ ; Samia HAMANE¹ ; Magali CHABE⁴ ; Michèle VIRMAUX² ; Nausicaa GANTOIS⁴ ; Eduardo DEI-CAS^{4,5} ; Anne TOTET³ ; Gilles NEVEZ² ; El Moukhtar ALIOUAT¹ ; Francis DEROUIN¹

¹Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité et Hôpitaux universitaires Saint-Louis-Lariboisière-Fernand Widal, AP-HP, Paris ;

²CHU de Brest, Université de Bretagne Occidentale, Brest ; ³CHU d'Amiens, Université de Picardie-Jules Verne, Amiens ; ⁴Centre d'infection et d'immunité de Lille, Institut Pasteur Lille, Université Lille 2, Lille ; ⁵CHU de Lille, Lille.

Contact : jean.menotti@sls.aphp.fr

Introduction

Les champignons du genre *Pneumocystis* sont responsables d'une pneumonie grave, la pneumonie à *Pneumocystis* (PPC), survenant chez des hôtes immunodéprimés. Parallèlement, des colonisations pulmonaires par *Pneumocystis* ont été décrites chez des hôtes immunodéprimés ou immunocompétents. Nous avons récemment obtenu des données quantitatives sur l'excrétion et la diffusion de *Pneumocystis* par un hôte infecté en couplant une technique de collecte de l'air et une technique de PCR en temps réel. Dans ce contexte, notre projet avait pour objectif de répondre aux interrogations qui persistent sur l'excrétion et la diffusion de *Pneumocystis* dans l'air à partir des sujets développant une PPC et des sujets colonisés, afin d'estimer le risque d'exposition des patients susceptibles et des soignants dans l'environnement hospitalier.

Matériels et méthodes

Nous avons quantifié par PCR en temps réel l'excrétion aérienne de *P. carinii* dans l'air environnant de rats Sprague Dawley infectés expérimentalement, parallèlement à la quantification des charges fongiques de *P. carinii* dans les poumons et aux titres d'anticorps sériques spécifiques. Des rats Sprague Dawley indemnes de *Pneumocystis* ont été inoculés par voie intratrachéale à J0, puis suivis pendant 60 jours.

Parallèlement, une étude prospective a été réalisée chez des patients développant une PPC et leurs soignants, ainsi que chez des patients colonisés. Chez les soignants, la colonisation a été dépistée par écouvillonnage nasal et/ou rinçage oropharyngé. Dans la chambre des patients, les prélèvements d'air ambiant ont été réalisés grâce à un biocollecteur d'air à impaction sur milieu liquide (Coriolis μ).

Résultats

Chez les rats Sprague Dawley inoculés par voie intratrachéale, l'ADN de *P. carinii* a été détecté dans les poumons jusqu'à J29 dans 2 expérimentations séparées. Une excrétion aérienne transitoire de *Pneumocystis* a été observée entre J14 et J22 dans la 1^{ère} expérimentation et entre J9 et J19 dans la 2^e expérimentation ; elle était reliée au pic de l'infection pulmonaire. L'augmentation du titre des anticorps anti-*Pneumocystis* a précédé la clairance pulmonaire de *P. carinii* et la cessation de l'excrétion aérienne.

Les prélèvements d'air effectués dans les chambres d'hospitalisation des 27 patients colonisés inclus ont été positifs pour 9 patients. Nous avons ainsi mis en évidence une excrétion et une diffusion dans l'air environnant des patients colonisés par *Pneumocystis*. Le dépistage de colonisation a été réalisé chez 102 soignants contact, en moyenne après 4,5 jours d'exposition avec un patient présentant une PPC.

L'ADN de *P. jirovecii* a été détecté dans l'environnement de la moitié des patients atteints de PPC, avec une persistance de cette excrétion plusieurs jours après l'introduction du traitement par cotrimoxazole. Une colonisation a été retrouvée chez 9 soignants (8,8%) prenant en charge des patients atteints de PPC et une excrétion aérienne du champignon a été mise en évidence chez des soignants colonisés.

Conclusion

Notre étude apporte pour la première fois une preuve directe que *Pneumocystis* est excrété dans l'air au cours d'une primo-infection chez des sujets immunocompétents : l'excrétion aérienne était transitoire et survenait au cours du pic de l'infection dans les poumons des rats. Parallèlement, nous avons mis en évidence également pour la première fois une excrétion aérienne du champignon chez des patients colonisés et des soignants colonisés. Notre étude apporte ainsi des arguments en faveur du rôle des sujets colonisés dans la dissémination de *P. jirovecii* dans l'environnement et de la susceptibilité des sujets contacts non immunodéprimés (soignants notamment) à *P. jirovecii*.

Retombées sur le plan de l'évaluation ou de la gestion des risques sanitaires

Les données que nous avons recueillies en milieu hospitalier devraient avoir un impact direct sur la prise en charge des patients, notamment dans le cadre de la prévention d'une transmission nosocomiale. Elles permettent de justifier les mesures d'isolement en raison de la diffusion de *P. jirovecii* dans l'air et d'ouvrir de nouvelles perspectives vers la maîtrise du risque. La recommandation d'éviter de placer un patient présentant une PPC dans la même chambre qu'un patient immunodéprimé susceptible de développer à son tour une PPC pourrait ainsi être étendue aux patients colonisés par *Pneumocystis* suivant nos résultats montrant que des patients colonisés étaient à l'origine d'une excrétion et d'une diffusion aériennes du champignon.

Projet PNR-EST 2011-53, réalisé entre décembre 2011 et juin 2013.

Impact de l'organisation du travail en réanimation sur le stress et la fatigue du personnel soignant et sur les infections liées aux soins

Gabrielle JONES¹ ; Maëlle SALMON² ; Jordi FERRER³ ; Mounia HOCINE⁴ ; Jérôme SALOMON⁴ ; William DAB⁴ ; Laura TEMIME⁴

¹InVS, Cire Nord, Amiens ; ²Robert Koch Institut, Berlin ; ³Inra, Jouy-en-Josas ; ⁴Conservatoire national des Arts et Métiers, Paris
Contact : laura.temime@cnam.fr

Introduction

Au sein des services de réanimation, les contraintes organisationnelles et la charge de travail importante peuvent avoir un impact à la fois sur la santé physique et psychologique du personnel et sur la santé des patients (infections liées aux soins : ILS). Dans ce contexte, le projet MOTILIS avait pour objectif d'étudier la relation entre l'organisation du travail en réanimation, le stress et la fatigue du personnel soignant et le risque d'infections liées aux soins, en tenant compte des aspects économiques.

Matériels et méthodes

Le lien entre organisation du travail et stress et fatigue perçus par le personnel a été exploré à l'aide d'une étude épidémiologique transversale, réalisée entre janvier et avril 2013 dans 31 services de réanimation adulte de l'AP-HP, auprès de 682 aides-soignants, infirmiers et médecins. L'impact des facteurs organisationnels sur le risque d'ILS a été exploré à l'aide d'un modèle individu-centré de la transmission de pathogènes en réanimation, NosoLink. Couplé à un outil validé (le « Fatigue and Risk Index »), ce modèle a permis de comparer 420 plannings différents pour le personnel d'un service de réanimation. Enfin, les coûts associés aux plannings explorés ont été mis en regard de ceux des infections dans une perspective d'analyse coût-bénéfice.

Résultats

L'enquête épidémiologique de terrain a permis d'identifier les principaux facteurs tant individuels qu'organisationnels favorisant un niveau de stress et de fatigue élevé chez le personnel. Au niveau individuel, le sexe féminin était associé à une augmentation du niveau de stress et de la fatigue du personnel, alors qu'un bon niveau de soutien des collègues et des supérieurs était protecteur. Au niveau organisationnel, le personnel paramédical travaillant dans des services où leur travail est organisé en 2 shifts de 12 heures (par opposition à l'organisation en 3-8) se déclarait plus fatigué et rapportait d'avantage de difficultés de sommeil ; et une affectation tournante des horaires de travail était associée à moins de stress et moins de fatigue que des horaires fixes, notamment chez le personnel travaillant exclusivement de nuit, qui était le plus touché par les difficultés de sommeil et le manque d'énergie.

Le travail de modélisation a mis en évidence une augmentation du risque nosocomial avec la durée hebdomadaire travaillée et avec la durée des shifts effectués (de 8 à 12h). Il suggère également qu'au-delà de la durée de travail, la manière dont les périodes travaillées sont réparties joue un rôle important, les longs blocs de travail consécutifs et les jours de repos isolés conduisant à une augmentation du risque d'ILS.

Enfin, l'analyse coût-efficacité a permis d'évaluer différentes organisations du travail en réanimation par référence à l'organisation la plus fréquente actuellement en France (35h/semaine, 2 shifts de 12h) et a mis en évidence que d'autres organisations pourraient s'avérer plus coût-efficaces, soit parce que nettement moins coûteuses, soit parce que meilleures du point de vue de la santé des patients.

Conclusion

Nos résultats mettent en évidence l'importance d'adopter des approches multifactorielles lorsque l'on veut étudier l'impact des conditions de travail en milieu hospitalier.

Au niveau de la santé du personnel, même en contrôlant les facteurs individuels, les facteurs organisationnels jouent un rôle significatif dans le stress et la fatigue perçus.

Au niveau de la santé des patients, il est indispensable de prendre en compte simultanément les différentes caractéristiques organisationnelles pour prédire le risque de diffusion d'un pathogène dans un service hospitalier.

Retombées sur le plan de l'évaluation ou de la gestion des risques sanitaires

Le modèle mathématique développé constitue un outil technologique utilisable afin d'évaluer l'impact sur le risque nosocomial de l'organisation du travail dans un service hospitalier. Ce modèle a été construit de manière à le rendre le plus flexible et paramétrable possible, ce qui lui permettra d'être réutilisable au-delà de ce projet de recherche.

Par ailleurs, ce projet, qui permet de déterminer des stratégies optimales de contrôle du risque nosocomial via l'organisation du travail des soignants et inclut une analyse coût-bénéfice permettant de prendre en compte les coûts engendrés pour l'hôpital, a des retombées économiques et de santé publique potentiellement importantes.

Projet PNR-EST 2011-69, réalisé entre décembre 2011 et décembre 2014.

Session 2 - Impacts des contaminants environnementaux

Bio-seau de compostage et qualité biologique de l'air intérieur : état des lieux après un an de surveillance

Alexandre NAEGELE¹ ; Gabriel REBOUX^{1,2} ; Laurence MILLON^{1,2} ; Sandrine ROUSSEL^{1,2}

¹UMR/CNRS 6249, Chrono-Environnement, Besançon ; ²Service de parasitologie-mycologie, CHRU Besançon

Contact : alexandre.naegele@univ-fcomte.fr

Introduction

Depuis quelques années, les logements ont vu se banaliser certaines pratiques favorisant l'apparition de niches écologiques pour les microorganismes. Avec l'avènement du développement durable, de nombreuses campagnes de sensibilisation ont vu le jour concernant la réduction des déchets, et le recyclage des déchets organiques ménagés séduit de plus en plus la population.

Leurs conditions de dégradation sont idéales pour la microfaune et l'émergence de particules animales, végétales et microbiologiques (bactéries, actinomycètes, moisissures, virus, parasites, acariens). Lors de l'utilisation du récipient de stockage provisoire (bio-seau), ces microorganismes sont alors susceptibles d'être aérosolisés lors des ouvertures successives et la qualité biologique de l'air pourrait en être altérée.

Matériels et méthodes

Pour caractériser la qualité biologique de l'air des cuisines, des prélèvements d'air et de poussière de 38 logements pratiquant le compostage et de 10 témoins ont été réalisés pendant 12 mois. Ceux-ci, effectués à proximité (0,5 mètre) et à distance (3 mètres) ont été analysés par des méthodes de culture et de biologie moléculaire (PCR quantitative en temps réel) par la recherche de moisissures, bactéries, actinomycètes et acariens. Pour chaque logement, 16 prélèvements ont été réalisés et un questionnaire standardisé a permis de relever les caractéristiques du logement, les pratiques individuelles de compostage ainsi que les habitudes de vie.

Résultats

Une quarantaine d'espèces de moisissures et d'actinomycètes ont été détectées dans l'ensemble des logements et les principaux genres de microorganismes isolés par culture étaient *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium* et *Streptomyces*.

Les concentrations en microorganismes, ainsi que les indices de biodiversité de Shannon, n'étaient pas significativement différents entre les logements pratiquant le compostage domestique et les autres.

L'analyse des prélèvements d'air et de poussières sédimentées a mis en avant une augmentation significative des concentrations en acariens de stockage *Acarus siro* à proximité du bio-seau après un an.

Les concentrations en trois moisissures *Wallemia sebi*, *Aspergillus versicolor* et *Cladosporium sphaerospermum* ont augmenté significativement au niveau des poussières sédimentées à proximité du bio-seau. Cette augmentation était respectivement d'un facteur 12, 25 et 50 après les 12 mois de l'étude.

Le suivi cinétique des microorganismes après 2, 4, 7 et 12 mois a montré une évolution modérée des concentrations. Pour certaines moisissures telles que *Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *C. sphaerospermum* et *Penicillium chrysogenum*, il n'y a pas eu d'accumulation même après un an tandis que pour les autres moisissures (*A. versicolor* et *W. sebi*), les entérobactéries, les acariens de la poussière domestique (*Dermatophagoides spp.*) et les acariens de stockage (*A. siro*), il a été observé une légère augmentation tout au long des 12 mois.

Les concentrations en acariens de stockage, que ce soit à proximité ou à distance du bio-seau, sont corrélées avec les concentrations en *A. versicolor*, *C. sphaerospermum* et *W. sebi*. Il existe une relation entre les acariens et les moisissures au sein des logements.

Conclusion

La biodiversité et les concentrations en microorganismes rencontrées dans les logements pratiquant le compostage ne sont pas différentes des logements qui ne le pratiquent pas. Cependant, cette étude montre que le bio-seau peut être à l'origine d'une contamination de la cuisine en moisissures et acariens, mais que cette contamination reste très limitée dans l'espace. Un nettoyage régulier du bio-seau et des surfaces alentour permettrait de limiter concrètement l'impact du bio-seau. Les analyses montrent également l'importance des acariens de stockage en lien avec la présence du bio-seau et suggèrent un rôle de ceux-ci dans la dissémination des spores de moisissures au sein de notre habitat.

Retombées sur le plan de l'évaluation ou de la gestion des risques sanitaires

L'impact du bio-seau sur la qualité de l'air intérieur est très limité dans l'espace et il reste proche de l'impact de la poubelle traditionnelle.

Cette étude a permis d'apporter de nouvelles connaissances sur les capteurs électrostatiques de poussière (CEP) et leur utilité dans l'étude de notre environnement. Les CEP séduisent car il s'agit de prélèvements simples, transmissibles par courrier et qui permettent de mesurer l'exposition chronique. C'est la première fois que la cinétique des concentrations en organismes dans la poussière déposée sur ces CEP est étudiée. Il n'y a pas une augmentation linéaire des concentrations en organismes en fonction du temps d'exposition des capteurs. Ces organismes sont en interaction et la saison est un facteur qui module la composition de la poussière.

Projet PNR-EST 2011-2012, réalisé entre novembre 2011 et novembre 2013 sous contrat Ademe.

Disparités régionales de la composition microbiologique des logements et risque allergique

Gabriel REBOUX^{1,2} ; Steffi ROCCHI^{1,2} ; Emeline SCHERER^{1,2} ; Sandrine ROUSSEL^{1,2} ; Laurence MILLON^{1,2}

¹UMR/CNRS 6249 Chrono-Environnement, Besançon ; ²Service de parasitologie-mycologie CHRU J. Minjoz, Besançon

Contact : gabriel.reboux@univ-fcomte.fr

Introduction

Différentes pathologies respiratoires ont été reliées à l'exposition à des bio-aérosols. Les allergies (rhinite, conjonctivite, asthme) sont des réponses inflammatoires à l'exposition à un ou plusieurs agents de l'environnement extérieur et intérieur (pollens, acariens, moisissures) qui entraînent une réponse immunitaire exagérée. L'augmentation de la fréquence serait également attribuable à des facteurs génétiques et au trafic automobile. Le coût de l'asthme a été estimé à 3 milliards €/an en Europe et à 15 milliards \$/an aux Etats-Unis. En France, l'asthme concernerait 7 à 10% de la population. Quatre-vingt-cinq pourcent des asthmatiques seraient allergiques aux **acariens**. Vingt-deux millions de personnes seraient asthmatiques aux Etats-Unis et 4,6 millions de ces cas ont été attribués à l'exposition aux **moisissures**.

Matériels et méthodes

A partir de la cohorte ELFE (Etude longitudinale française depuis l'enfance) (n=18 320 nouveau-nés, soit 1 bébé/50 né en 2011 en France), nous avons collecté, pour l'étude EBRA, les poussières de 3 193 chambres de bébé, grâce à des capteurs de poussières (lingette électrostatique stérilisée collée dans un boîtier DVD, exposée 10 semaines avec retour par la poste). La quantification de l'ADN spécifique a été réalisée par qPCR (Quantitative Polymérase Chain Reaction) pour 10 microorganismes : les moisissures (*Alternaria alternata*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Penicillium chrysogenum*, *Stachybotrys chartarum*), 3 groupes de bactéries (Enterobacteries, Mycobacteries, *Streptomyces*) et un acarien : le *Dermatophagoides pteronyssinus*.

Résultats

Le consortium ELFE a fourni plus de 200 variables obtenues à partir de 3 questionnaires (médical, à la maternité, à 2 mois). L'analyse multivariée (ACP) des 3 193 logements vis-à-vis des 10 microorganismes a permis de caractériser 6 profils de logements : (1) un profil très peu contaminé ; (2) un profil peu contaminé par les bactéries ; (3) un profil dominé par les bactéries et *Alternaria* ; (4) un profil dominé par les bactéries et l'acarien ; (5) un profil dominé par les bactéries, *Alternaria* et l'acarien ; (6) un profil dominé par les bactéries et *Alternaria*, toutes à fortes concentrations.

Ces 6 profils sont présents dans toutes les régions de France mais dans des proportions différentes. Le Nord de la France est dominé par le profil très peu contaminé (1), la Bretagne est dominée par les profils bactéries/acarien (4) & bactéries/*Alternaria*/acarien (5), le Sud-Ouest est dominé par le profil (5) et le reste de la France par un profil bactéries/*Alternaria* (3).

Nous avons pu comparer la carte des profils de logements aux données relevant le sifflement pulmonaire (symptôme de l'asthme) de 21 140 enfants de maternelle établie par Delmas en 2012. La fréquence des enfants présentant des sifflements s'accroissait d'Est en Ouest. La zone comportant la proportion la plus importante d'enfants «siffleurs» (à l'Ouest) coïncide à 85% avec la zone des profils 4 et 5.

Une analyse de redondance a montré une augmentation des concentrations de bactéries avec la promiscuité (ratio habitant/m²), une contamination aux moisissures dans les maisons supérieure à celle des appartements, mais avec plus d'*Aspergillus fumigatus* dans les appartements. Enfin, il a été démontré un lien entre la présence d'animaux domestiques et une augmentation des concentrations de moisissures et de *Streptomyces*.

Conclusion

Les cohortes de naissance sont essentielles pour comprendre l'apparition des maladies respiratoires au cours de la vie. Les variables concernant la santé des nouveaux nés feront l'objet d'analyses statistiques (à 2 mois et entre 4-6 ans). Certains d'entre eux développeront inévitablement de l'asthme. Nous pourrions alors comparer la survenue de l'asthme aux types de profils microbiens des logements qu'ils occupaient à la naissance, mais aussi à ceux qu'ils occuperont à 4 ans grâce à une nouvelle campagne de mesure avec un panel accru de 10 nouveaux antigènes (chat, chien, blatte...).

La recherche des causes de la variabilité géographique des profils n'a pas été élucidée par les variables climatiques. D'autres hypothèses comme le mode de vie et l'architecture devront être étudiées.

Retombées sur le plan de l'évaluation ou de la gestion des risques sanitaires

Il est prématuré de conclure sur cette première étape indispensable, même si un lien a pu être établi entre la répartition géographique d'enfants avec des sifflements pulmonaires issus de l'étude Delmas et la présence dominante de 2 des 6 profils microbiologiques des logements. Tout au long de l'étude ELFE, nous tenterons d'établir un lien direct entre la qualité du logement et l'impact sur la santé des enfants de la cohorte EBRA. Selon les théories qui s'affrontent, pour les partisans de la théorie hygiéniste, certains micro-organismes de l'environnement des premiers âges de la vie pourraient protéger l'enfant du risque allergique, alors que d'autres y voient un risque supplémentaire de déclencher des infections respiratoires. Seules les cohortes de naissance pourront donner des réponses.

Projet PNR-EST 10-40, réalisé entre avril 2011 et août 2014.

Du potentiel d'émergence à la survenue de cas de bilharziose urogénitale en Corse du Sud

Pascale PANETIER, Carole CATASTINI

Anses, Maisons-Alfort. Contact : pascale.panetier@anses.fr

Suite au signalement de cas groupés de bilharziose urogénitale autochtone en Corse du sud en mai 2014, l'Anses a été saisie (saisine n° 2014-SA-0119).

Ainsi, à la date du 9 mai 2014, la Direction générale de la santé (DGS) décrivait dans la saisine de l'Anses le contexte dans les termes suivants : « Une situation de cas groupés d'infections à *Schistosoma haematobium* a été signalée fin avril 2014 par l'Institut de veille sanitaire (InVS), après alerte du chef de service de parasitologie-mycologie de Toulouse. Au total, 6 cas ont été confirmés (présence d'œufs à l'examen parasitologique des urines) et 2 cas sont probables (sérologie positive) dans 3 familles françaises qui se sont rendues en vacances en Corse du Sud au cours des étés 2011 et 2013 et qui se seraient baignées dans le même cours d'eau douce, où la transmission locale aurait pu se produire.

La plupart des cas (4/6) sont des enfants. Aucun cas ne rapporte de baignade en eau douce dans une zone endémique répertoriée. Le réseau de parasitologues ANOFEL a permis d'identifier une famille allemande qui compte 6 cas confirmés sur 6 membres et qui rapporte avoir fréquenté le même site de baignade en 2013 ».

La bilharziose est une infection parasitaire tropicale due à des trématodes (vers plats) du genre *Schistosoma*. Elle est transmise à l'Homme (hôte définitif) par des mollusques gastéropodes d'eau douce (bulins) de la famille des *Bulinidae* et des *Planorbidae* (hôte intermédiaire).

Afin d'éclairer l'importance du risque de contamination humaine par *Schistosoma haematobium* en Métropole et de pouvoir dégager rapidement des éléments de maîtrise de ce risque, la DGS a demandé à l'Agence de « réaliser une expertise sur l'écologie du *Bulinus sp* et notamment sur les aspects suivants :

- saisonnalité du cycle du parasite sous les latitudes métropolitaines ;
- possibilités d'identification de l'état parasité des mollusques ;
- spécificité du mollusque *Bulinus* en tant qu'hôte intermédiaire et identification d'autres mollusques hôtes possibles en métropole ;
- facteurs déterminant l'installation d'un foyer géographique et sa possible diffusion ;
- possibilités d'action de lutte contre le mollusque hôte ;
- existence d'autres réservoirs animaux susceptibles d'amplifier le phénomène ;
- persistance du parasite en l'absence d'hôte humain (ou animal) ;
- disponibilité des moyens d'interruption du cycle du parasite par action sur les milieux en dehors d'une action sur l'hôte intermédiaire.

Au-delà de propositions de mesure de gestion faites par l'Anses pour maîtriser le risque de contamination durant l'été 2014¹, notamment l'interdiction de la baignade ou d'autres activités entraînant un contact cutané avec l'eau du Cavu, des questions restaient en suspens dans le cadre de cette expertise demandée en urgence avec un délai de réponse très court. Ces questions portent sur :

- l'existence ou non d'un réservoir animal. En effet, *S. bovis* a été décrit la première fois en Corse en 1929 (Brumpt 1929, 1930). La dernière étude signalant la présence de ce parasite en Corse date de 1962 (Grébillat 1962). Depuis aucun travail n'a été effectué. La présence ou l'absence de bilharziose bovine (*S. bovis*) chez le bétail en Corse de nos jours est à investiguer. De même, la possibilité d'un réservoir faune sauvage en Corse est à étudier.
- la possibilité de foyer de transmission de *S. haematobium* en France continentale. Une enquête malacologique est nécessaire pour identifier les zones de présence/absence du bullin dans les cours et plans d'eau continentaux au regard du peu d'études à ce sujet. La seule présence signalée de bullins date de 1829 (Michaud, 1829 et Dolfus, 1922) et concerne les ruisseaux descendants des montagnes Pyrénéennes entre Collioure et Port-Vendre dans le département des Pyrénées-Orientales. Les baignades autorisées en eaux continentales du pourtour méditerranéen doivent faire l'objet d'une enquête malacologique.

Dans ce contexte, l'Anses finance deux conventions de recherche et développement (CRD) en partenariat avec l'Université de Perpignan *via* domitia et CNRS/Laboratoire « écologie et évolutions des interactions » UMR 5244 et l'Université de Salamanque (Espagne)/Institut de ressources naturelles et d'agrobiologie. Le Laboratoire de santé animale de l'Anses contribue sur le volet bilharziose bovine.

L'Agence est de nouveau saisie par la DGS (saisine 2015-SA-0036) pour étudier les conditions de levée de l'interdiction de baignade dans le Cavu. Les résultats de ces CRD, si disponibles pour tout ou partie au regard du délai contraint pour le traitement de cette saisine, permettront de consolider les recommandations de l'Agence.

¹https://www.anses.fr/sites/default/files/documents/EAUX2014sa0119_0.pdf

Conférence plénière

Modélisation de l'évolution des maladies vectorielles liée au changement climatique

Cyril CAMINADE^{1,2} ; Andy MORSE² ; Matthew BAYLIS²

¹Institute of Infection and Global Health, University of Liverpool, Liverpool ; ²School of Environmental Sciences, University of Liverpool, Liverpool. Contact : cyril.caminade@liverpool.ac.uk

Introduction

L'Organisation mondiale pour la santé (OMS) estime que le réchauffement climatique est une des principales menaces pour la santé humaine et animale. Le réchauffement climatique a déjà un impact direct sur la santé, *via* les événements météorologiques extrêmes, mais peut aussi affecter les maladies vectorielles véhiculées par des insectes, gastéropodes et autres organismes. Les précipitations ont un rôle important pour le développement des gîtes larvaires et la température impacte sur une gamme large de facteurs importants : développement et survie du vecteur, vitesse de répllication du pathogène à l'intérieur du vecteur... Modéliser et comprendre l'impact du réchauffement climatique sur les maladies vectorielles apparaît donc comme un enjeu majeur pour anticiper les risques futurs.

Matériels et méthodes

Cette étude présente les avancées récentes sur la compréhension de l'impact du réchauffement climatique sur les maladies vectorielles en se focalisant sur quelques exemples (paludisme, dengue, chikungunya et fièvre de la vallée du Rift). Des modèles bioclimatiques avec différents degrés de complexité sont pilotés par des observations climatiques et validés en se servant de données cliniques et entomologiques. Ces modèles de maladie sont ensuite pilotés par des simulations du climat futur en se servant d'ensembles de modèles de climat et scénarios climatiques. Cet ensemble de simulations permet de caractériser les points convergents et divergents ainsi que les incertitudes dans l'estimation du risque futur, avant de formuler des recommandations pour les décideurs en santé publique.

Résultats

La fièvre de la vallée du Rift (FVR) est une zoonose qui a un impact désastreux sur la santé animale et humaine en Afrique. Le virus de la FVR est généralement transmis aux animaux par des moustiques (familles *Aedes* et *Culex*), les infections humaines sont principalement liées à la consommation de viande contaminée ou de la manipulation d'animaux ou fœtus infectés. De fortes précipitations suivant une période sèche en fin de saison des pluies (Oct-Nov) précèdent généralement les épidémies majeures de FVR dans le Nord du Sénégal. En extrapolant ces résultats, nous montrons que les conditions climatiques au sud de la Mauritanie sont aussi favorables à la transmission de la FVR, conformément aux observations.

Le paludisme est une maladie parasitaire généralement transmise par des moustiques de la famille *Anopheles*. Les enfants et femmes enceintes sont particulièrement vulnérables au paludisme et la majeure partie des cas se situe en Afrique sub-saharienne. En se servant d'une approche multi-modèle, nous montrons que le risque futur augmente de manière significative sur les zones tropicales d'altitude et diminue dans les zones de plaines tropicales. Ces résultats sont corroborés par des études de terrain récentes conduites au Népal, en Ethiopie, au Kenya et en Colombie.

Le moustique tigre *Aedes albopictus* a été introduit récemment en Europe et se propage dangereusement en France métropolitaine. Il est un vecteur compétent de la dengue et du chikungunya.

En se servant d'un ensemble de modèles, nous montrons que l'aire potentiellement hospitalière pour cette espèce pourrait s'agrandir dans le futur. Ces résultats ont des implications lourdes si les voyageurs revenant infectés de zones tropicales en Europe ne sont pas identifiés par les systèmes de santé publique.

Conclusion

Depuis les dix dernières années, il y a une augmentation constante de publications reliant réchauffement climatique et risque d'émergence de maladies vectorielles infectieuses. Les tendances récentes observées dans les moyennes latitudes, en milieu Arctique et en zone d'altitude tropicale sont plutôt préoccupantes. Cependant, les maladies vectorielles sont des systèmes complexes et de nombreux facteurs entrent en jeu. La globalisation des échanges, le nombre croissant de voyageurs, les tendances démographiques, la résistance aux traitements de certains pathogènes, la résistance des vecteurs aux insecticides et la vulnérabilité des populations sont autant de paramètres à considérer pour estimer le vrai futur des maladies vectorielles infectieuses.

Session 3 - Dynamiques de contaminations environnementales par des agents biologiques

Screening à haut débit des agents pathogènes vectorisés par les tiques en Europe

Lorraine MICHELET¹; Sabine DELANNOY²; Elodie DEVILLERS²; Gérald UMHANG³; Anna ASPAN⁴; Mikael JUREMALM⁴; Jan CHIRICO⁴; Fimme VAN DER WAL⁵; Hein SPRONG⁶; Thomas Peter BOYE PIHL⁷; Kirstine KLITGAARD SCHOU⁷; Rene BØDKER⁷; Patrick FACH²; Sara MOUTAILLER¹

¹UMR BIPAR, Laboratoire de santé animale, Anses/Inra/ENVA, Maisons-Alfort; ²Plateforme IdentityPath, Laboratoire de sécurité des aliments, Anses, Maisons-Alfort; ³Laboratoire de la rage et de la faune sauvage, Anses, Nancy; ⁴Département de bactériologie, SVA, Suède; ⁵Département de bactériologie, CVI, Pays-Bas; ⁶Laboratoire des zoonoses et microbiologie environnemental, Institut national de santé publique et environnement (RIVM), Pays-Bas; ⁷Institut national vétérinaire, DTU, Danemark. Contact : sara.moutailler@anses.fr

A l'échelle mondiale, les tiques transmettent une plus grande variété d'agents pathogènes (bactéries, parasites et virus) comparativement aux autres arthropodes vecteurs. Environ un tiers de ces agents pathogènes sont responsables de zoonoses. Classiquement, la recherche d'agents pathogènes est dépendante de l'espèce de tique collectée : un panel restreint est recherché et ceci en fonction des données existantes quant à la compétence vectorielle de l'espèce de tiques étudiée vis-à-vis des agents pathogènes présents dans la région de collecte.

Le développement d'un outil d'investigation épidémiologique permettant de détecter dans chaque échantillon de tique (individuelle ou en pool), un très large panel d'agents pathogènes zoonotiques (ou non) est indispensable à une meilleure surveillance épidémiologique de ces agents ainsi qu'à la surveillance de l'émergence potentielle de certaines maladies en Europe, au sein de différentes espèces de tiques.

Nous avons développé une puce à PCR temps réel haut débit (BioMarkTM, Fluidigm) ciblant des agents pathogènes (bactéries et parasites) de distribution européenne transmis par les tiques. Cette nouvelle technologie permet de détecter simultanément 48 agents pathogènes dans 48 échantillons, soit 2 304 réactions de PCR temps réel (technologie Taqman) à la fois. Dans un premier temps, nous avons ciblé : (i) 37 agents pathogènes : *Francisella tularensis*, *Coxiella burnettii*, *Candidatus Neoehrlichia mikurensis*, 5 espèces d'*Anaplasma*, 3 espèces d'*Ehrlichia*, 8 espèces de *Borrelia*, 2 espèces de *Bartonella*, 4 espèces de *Rickettsia*, 10 espèces de *Babesia* et 2 espèces de *Theileria*, (ii) 5 espèces de tique : 3 espèces d'*Ixodes* et 2 espèces de *Dermacentor*. La sensibilité de chaque couple d'amorce et sonde a été testée vis-à-vis d'une gamme de dilution d'un échantillon de référence de l'agent pathogène ciblé sur un LightCycler 480. La spécificité a ensuite été testée sur une plaque BioMark.

Nous avons ensuite utilisé ce nouvel outil afin d'effectuer un screening à haut débit de ces 37 agents pathogènes au sein de 7 050 nymphes *Ixodes ricinus* collectées dans 6 sites européens (47 pools de 25 nymphes collectées dans 2 sites en France, aux Pays-Bas et au Danemark ont été testés).

Pour chaque pays, des agents pathogènes attendus (comme différentes espèces de *Borrelia*, *Anaplasma phagocytophilum*), non attendus (comme *Borrelia miyamotoi*) et rares (comme *Bartonella henselae*) ont pu être détectés. De plus *Borrelia spielmanii*, *B. miyamotoi*, *Babesia divergens* et *B. venatorum* ont été détectés pour la première fois au Danemark dans cette étude.

Ce système de puce haut débit représente un nouvel outil d'investigation épidémiologique innovant et puissant pour la surveillance des maladies transmises par les tiques.

De nombreux virus transmis par les tiques étant responsables d'une mortalité et d'une morbidité importantes chez l'homme et les animaux (virus de l'encéphalite à tique, virus de la fièvre hémorragique de Crimée-Congo...), 22 d'entre eux sont en cours d'intégration au sein de cette puce.

Dynamique de la contamination environnementale par la toxoplasmose

Emmanuelle GILOT-FROMONT^{1,2}; Dominique AUBERT³; Marie-Lazarine POULLE³; Cécile GOTTELAND^{2,3}; Marie-Amélie FORIN-WIART³; Emilie DUPUIS³; Maud LELU⁴; Muriel RABILLOUD²; Benjamin RICHE²; Marie-Laure DARDE⁵; Isabelle VILLENA³

¹UMR CNRS 5558, Villeurbanne; ²VetAgro-Sup, Marcy l'Etoile; ³EA 3800, Reims; ⁴NIMBioS, Knoxville, USA; ⁵Inserm UMR1094, Limoges. Contact : emmanuelle.gilotfromont@vetagro-sup.fr

Introduction

La contamination de l'environnement par les parasites de carnivores constitue une source de risque zoonotique. Ces parasites produisent des œufs ou oocystes infestants qui sont déposés au sol avec les fèces de l'hôte définitif et contaminent le sol et l'eau à distance de leur lieu de dépôt. Le protozoaire *Toxoplasma gondii* représente un bon modèle biologique de cette situation. Ce parasite présent partout dans le monde est responsable de la toxoplasmose, un enjeu majeur de santé animale et de santé publique. Ce projet a pour objectif de mieux connaître le niveau de contamination environnementale par *T. gondii* et ses variations spatio-temporelles ainsi que l'identification des principaux facteurs prédisant la contamination, de manière à déboucher sur des propositions de gestion du risque.

Matériels et méthodes

Ce projet fait suite à deux projets précédents qui ont permis la mise au point de méthodes de détection moléculaire des oocystes dans le sol et dans l'eau. Le site d'étude principal comprend deux villages situés dans le département des Ardennes. A l'aide des méthodes précédemment élaborées, nous avons caractérisé la distribution spatiale de la contamination du sol (243 prélèvements) ainsi que la distribution spatio-temporelle de la contamination de l'eau (192 prélèvements) dans ce site. Ces travaux sont complétés par un suivi populationnel et épidémiologique des populations de chats (321 prélèvements) et de rongeurs (710 prélèvements) du même site et par des mesures de contamination du sol dans deux autres sites en régions Rhône-Alpes et Languedoc-Roussillon.

Résultats

Le parasite est fortement présent dans le site principal ardennais : 74% des chats, 4,1% des rongeurs, 43,9% des prélèvements d'eau, 29,2% des prélèvements de sol ont montré la présence de toxoplasmose. Ce dernier résultat constitue la première estimation de la contamination du sol explicitement spatialisée à l'échelle d'une population. L'analyse spatiale montre que l'infection est plus dispersée sur l'ensemble du site que prévu, tant chez les rongeurs que dans le sol.

Chez les rongeurs, la distance à la ferme la plus proche est le déterminant le plus net de l'infection. Cela explique en particulier le fort niveau d'infection chez les rats et dans les zones habitées.

En effet, sur le site étudié, les fermes sont situées au contact des zones habitées et représentent les principales zones fréquentées par les rats. En revanche, la distribution spatiale dans le sol ne coïncide pas avec celle des animaux : dans le site ardennais comme dans les autres communes, la contamination reste forte à distance des habitations. Dans les autres sites, la pente et le couvert végétal ont aussi été montrés comme des prédicteurs du niveau de contamination. Enfin, la contamination de l'eau a été comme attendue : maximale en hiver et minimale en été, ce qui a contribué à valider le schéma temporel que nous proposons. Cependant, ce niveau de contamination dépend également des conditions météorologiques. Les prélèvements sont plus souvent positifs en période de temps sec et chaud.

En complément de ces résultats, le géotypage de souches isolées sur le site ardennais permet d'analyser la structure génétique spatiale fine du parasite. Enfin, les résultats ont fait l'objet d'un modèle dynamique de transmission qui confirme que la disposition des fermes est un déterminant majeur de la distribution de la contamination.

Conclusion

La contamination environnementale par *T. gondii* est très largement répandue en milieu rural. La saison, le paysage local (pentes, végétation) et l'aménagement par l'homme (présence de bâtiments, en particulier fermes permettant l'installation de populations de chats et de rongeurs) sont des facteurs de variation importants. Cependant, le niveau de cette contamination n'est jamais négligeable, y compris loin des fermes ou des habitations. Cette forte dispersion de la contamination peut être liée au comportement des chats et aux capacités de dispersion des oocystes dans l'environnement.

Retombées sur le plan de l'évaluation ou de la gestion des risques sanitaires

Ces travaux montrent que, en milieu rural, les sources de contamination par les oocystes sont nombreuses, qu'elles soient à l'origine de contamination directe (ingestion d'oocystes par contact avec la terre ou avec l'eau, consommation de légumes, etc.) ou indirecte (contamination des hôtes intermédiaires consommés par l'homme). La gestion de ce risque passe en conséquence par des mesures multiples incluant la gestion des populations hôtes (chats, rongeurs) autant que la limitation de l'exposition (biosécurité des élevages et mesures de protection individuelle).

Projet PNR-EST 2009-49, réalisé entre mars 2010 et mars 2014 sous convention Ademe.

Bilan et perspectives du projet CYANTOXCHRO

Benjamin MARIE¹; Isabelle TRINCHET²; Nour KHENFECH²; Hélène HUET^{2,3}; Séverine Le MANACH¹; Boris DEMENOU¹; Qin QIAO²; Charlotte DUVAL¹; Arul MARIE¹; Gérard BOLBACH³; Gilles CLODIC³; Chakib DJEDIAT¹; Cécile BERNARD¹; Marc EDERY¹

¹UMR 7245 MNHN/CNRS molécules de communication et adaptation des micro-organismes, Sorbonne universités, Muséum national d'Histoire naturelle, Paris; ²Laboratoire anatomie oathologique, ENVA, Maison-Alfort; ³Institut de biologie Paris Seine FR 3631, plateforme spectrométrie de masse et protéomique, Institut de biologie intégrative IFR83, Sorbonne Universités, Université Pierre et Marie Curie, Paris. Contact : bmarie@mnhn.fr

Introduction

Un des défis scientifiques et médicaux auxquels doit faire face le secteur de la recherche est celui de l'impact sanitaire des pollutions de l'environnement et des changements globaux. Les écosystèmes aquatiques continentaux fournissent un grand nombre de services écosystémiques et environnementaux. Ils représentent une source vitale d'approvisionnement en eau des populations, ils soutiennent des activités économiques majeures et participent à la qualité de vie des populations environnantes. Les ressources en eaux douces subissent des altérations croissantes dont l'observation d'efflorescences à cyanobactéries toxiques représente l'un des exemples les plus saisissants. Ces efflorescences mettent en péril le fonctionnement des milieux aquatiques et les services qui y sont associés. Or, il est considéré que les changements globaux à venir (changement climatique et occupation des sols) auront, de manière globale, pour conséquence une expansion (spatiale et temporelle) des efflorescences à cyanobactéries, aux conséquences possiblement délétères pour les populations, ainsi que pour l'environnement.

Matériels et méthodes

Le programme de recherche Anses/CYANTOXCHRO est consacré à l'étude de contaminations chroniques des poissons par les cyanobactéries. Ont été conduites, d'une part, des expériences d'une durée d'un mois sur des poissons médaka traités *in vitro* par une des cyanotoxines les plus fréquemment rencontrées, la microcystine-LR (MC-LR), d'autre part, des séjours d'un mois *in situ* de médaka en cage dans un lac présentant des efflorescences saisonnières de *Microcystis* productrices de MCs et également à la collecte de poissons autochtones de différents lacs d'Île-de-France impactés ou non par les cyanobactéries. Ces expérimentations et ces collectes environnementales ont permis de mettre en évidence des atteintes au niveau de plusieurs organes, principalement le foie et les organes reproducteurs, ainsi que des modifications des processus cellulaires et moléculaires induites par la MC-LR, notamment chez les poissons adultes exposés de manière chronique aux toxiques. Des dosages de toxines dans différents organes des poissons ont été menés afin d'apporter des éléments d'information quant à l'évaluation des potentiels risques sanitaires associés à la consommation de poissons par la population.

Résultats

Différentes espèces de poissons exposés de manière naturelle et chronique à des efflorescences de différents genres de cyanobactéries productrices de microcystines ont montré des modifications anatomopathologiques, similaires à celles observées chez les médaka. Pour ces derniers, les résultats les plus originaux concernent notamment la mise en évidence d'effets chroniques reprotoxiques associés aux microcystines. Sans qu'il soit possible d'exclure des effets d'autres composantes du milieu (facteurs confondants), ces observations suggèrent que la production de microcystines puisse avoir des conséquences sur la biodiversité des populations de poissons.

Une autre donnée acquise dans le cadre de ce travail démontre la présence de microcystines dans différents organes de poissons des sites étudiés, notamment les muscles (Trinchet *et al.*, 2013) ce qui suggère l'existence de potentiels risques pour la santé humaine suite à la consommation de ces poissons contaminés.

Enfin, compte tenu 1) de la diversité des espèces de poissons analysées, 2) des sites de campagne de pêche, 3) du nombre d'animaux étudiés, il devient envisageable de proposer une évaluation des risques potentiels des cyanobactéries déductibles pour la santé humaine, en particulier à travers la consommation de poissons contaminés. Toutefois, à l'heure actuelle les données restent insuffisantes pour conclure ou non à la présence d'un risque ; pour cela, un échantillonnage plus vaste et aussi plus ciblé, notamment à différents niveaux de la chaîne trophique, semble maintenant nécessaire. En effet, en comparant les résultats obtenus chez les différentes espèces de poissons étudiées, ces travaux suggèrent que le régime alimentaire des poissons pourrait jouer un rôle prépondérant dans l'accumulation de MCs dans leur chair.

Conclusion

Ces observations suggèrent que la production de microcystines puisse avoir des conséquences sur la biodiversité des populations de poissons. De plus nos données démontrent la présence de microcystines dans les muscles de poissons des sites étudiés, posant ainsi le problème de risques potentiels pour la santé humaine après consommation de poissons contaminés. Enfin, compte tenu, 1) de la diversité des espèces de poissons analysées et du nombre important (93) d'animaux étudiés suggérant des atteintes fréquentes dans les poissons des lacs contaminés, 2) des sites de campagne de pêche très fréquentés par l'Homme pour des usages variés, 3) des effets observés chez les poissons, vertébrés aquatiques dont les réponses toxicologiques présentent des analogies avec celles rencontrées chez les vertébrés supérieurs, il nous paraît utile de souligner l'intérêt d'approfondir l'étude des risques potentiels des cyanobactéries déductibles pour la santé humaine, en particulier, à travers la consommation de poissons contaminés.

Retombées sur le plan de l'évaluation ou de la gestion des risques sanitaires

A l'heure actuelle les données restent encore insuffisantes pour conclure ou non à la présence d'un risque pour la santé humaine, en particulier à travers la consommation de poissons contaminés ; pour cela, un échantillonnage plus vaste et à différents niveaux de la chaîne trophique semble nécessaire. En effet, en examinant les résultats en fonction des espèces de poissons, ces travaux suggèrent que leur régime alimentaire pourrait jouer un rôle prépondérant dans l'accumulation de MCs dans leur chair. En ce qui concerne directement l'Anses, les données obtenues au cours de ce projet renforcent les données publiées en 2006 par l'Afsset : évaluation des risques liés à la présence de cyanobactéries et de leurs toxines dans les eaux destinées à l'alimentation, à la baignade et autres activités récréatives.

Projet PNR-EST 2010-002, réalisé entre décembre 2010 et juillet 2013.

Stabilité spatio-temporelle des souches de *Legionella pneumophila* dans l'environnement

Pierre Le CANN¹ ; Guillaume ROBALDO² ; Jean-François GUÉGAN² ; Sophie JARRAUD³ ; Gilles VERGNAUD^{4,5} ; Christine POURCEL⁴

¹DSET/LERES IRSET Inserm U1085, EHESP, Rennes ; ²UMR MIVEGEC IRD/CNRS/Universités Montpellier I & II, Montpellier ; ³CNR des Legionella, Université de Lyon, Inserm U851, Faculté de médecine, IFR 128, Lyon ; ⁴Université Paris-Sud, I2BC, CNRS, Orsay ; ⁵ENSTA Paris Tech, Palaiseau. Contact : Pierre.Lecann@ehesp.fr

Introduction

Les légionelles sont des bactéries à Gram – présentes naturellement dans les milieux humides. Elles sont responsables de pneumopathies sévères appelées légionelloses qui se contractent par inhalation d'aérosols contaminés provenant principalement des réseaux d'eau chaude sanitaire et des tours aéro-refrigérantes. Le nombre de cas de légionellose en France reste stable avec environ 1 200 cas déclarés chaque année.

L'objectif du projet a consisté à essayer de comprendre la circulation des souches de légionelles dans l'environnement sur une période de 12 ans. Pour ceci, la méthode de typage par MLVA, méthode fiable, reproductible, rapide et peu coûteuse a été utilisée permettant de valider son intérêt pour analyser les conditions environnementales d'émergence des épidémies de légionellose.

Matériels et méthodes

Pour étudier l'évolution spatio-temporelle des *Legionella pneumophila*, plus de 1 200 souches collectées depuis 2000 dans le cadre du suivi sanitaire des eaux du département d'Ille-et-Vilaine dans la région rennaise ont été analysées par la méthode de typage moléculaire MLVA pour « Multiple Variable Number of Tandem Repeat Analysis ». Dans le protocole automatisé, douze locus sont amplifiés simultanément et le typage d'une souche ne requiert ainsi qu'une seule réaction d'amplification PCR et une analyse par électrophorèse capillaire.

Les données ont été récupérées sous forme de tableaux, importées dans la suite logicielle BioNumerics et analysées par clustering pour comprendre la répartition spatiotemporelle des groupes de souches en relation avec les conditions physico-chimiques du réseau.

Résultats

Mille deux cent cinquante-huit souches environnementales collectées entre 2000 et 2012 dans le département d'Ille-et-Vilaine et cinq souches cliniques collectées pendant les épidémies de légionellose de 2000 et 2006 ont été analysées. Les résultats montrent une stabilité des souches de *Legionella pneumophila* à la fois dans l'espace et dans le temps. En effet, dans le réseau d'eau chaude de l'agglomération rennaise, on retrouve une souche majoritaire (appartenant au ST59) présente sur tous les points investigués et ceci depuis 2000, représentant 77% des isolats. Cette souche n'a jamais été impliquée dans une épidémie de légionellose en France. Par contre, dans les tours aéro-refrigérantes, on retrouve une autre souche, faisant partie du groupe Paris (ST1), qui elle, a été retrouvée dans plusieurs épidémies, mais pas dans les épidémies de Rennes. Dès que l'on change d'agglomération et de système d'alimentation en eau, on retrouve une autre souche majoritaire.

Une analyse en composante principale (ACP) réalisée sur les paramètres physico-chimiques confirme l'existence d'une saisonnalité et une corrélation des légionelles (présence et concentration) avec le fer et le chlore libre. Une sensibilité diminuée au chlore de la souche « Rennes » a été vérifiée expérimentalement par rapport à une souche de laboratoire. L'analyse révèle aussi que cette souche est ubiquiste et se complaît dans des conditions environnementales, ici physico-chimiques moyennes sur l'ensemble du réseau.

Conclusion

La colonisation de l'ensemble du réseau d'eau de la ville de Rennes par des souches d'un seul complexe clonal de *Legionella pneumophila* a été mise en évidence. La présence de la souche majeure appelée « Rennes », identifiée sur une période de 10 ans, n'a pas été associée aux cas épidémiques. Grâce à l'utilisation d'une méthode rapide et automatisée de typage haut débit, le génotype des légionelles a été déterminé sous la forme d'un code. Ceci facilite la comparaison des souches entre les laboratoires ouvrant la voie à des études épidémiologiques à grande échelle. L'analyse de la corrélation avec les facteurs physico-chimiques n'a pas permis de dégager d'association nette. Au contraire, il semble que la souche « Rennes » se soit adaptée aux conditions du réseau d'eau de la ville de Rennes.

Retombées sur le plan de l'évaluation ou de la gestion des risques sanitaires

Cette étude montre que le réseau d'eau d'une ville peut être colonisé par un nombre limité de souches particulièrement bien adaptées aux conditions physico-chimiques locales et qu'il est important de maintenir la concentration de ces souches à des titres faibles pour éviter des risques sanitaires. Ceci peut être effectué par une surveillance des lieux fréquentés par le public, avec plus d'analyses légionelles pendant la période estivo-automnale, période favorable à leur prolifération.

La présence constante des légionelles dans le réseau d'eau de la ville incite aussi à recommander d'être très vigilant sur le niveau de chlore résiduel présent dans le réseau et la pression hydraulique pour maintenir leur concentration dans les réseaux à un niveau sanitaire suffisant.

Projet PNR-EST 2010-075, réalisé entre mars 2011 et janvier 2014.

Partenaires du PNR-EST

