

# Pollution bactérienne autour des installations d'élevages intensifs d'animaux de rente

Période : février 2010 à août 2010

Anne OPPLIGER

Institut universitaire romand de Santé au Travail, Université de Lausanne et Genève. – Lausanne

Mots clés : **Bioaérosols, Contamination aéroportée, Élevage de porcs, Élevage de vaches laitières, Endotoxines, Pollution environnementale**

Les élevages intensifs d'animaux de rente, en particulier ceux de bovins et de porcins sont nombreux en France et sont concentrés dans certaines régions (Bretagne, Normandie, Massif central, Alpes, Pyrénées). Au total, on dénombre environ 20 millions de bovins répartis dans 280 000 exploitations et 25 millions de porcs répartis dans 30 000 exploitations. Ceci représente en moyenne 70 vaches/exploitation et 830 porcs/exploitation. De telles densités d'animaux réunis sur des surfaces de taille minimale, génèrent d'énormes quantités de déchets organiques, notamment de matières fécales qui contiennent une grande diversité de bactéries, pouvant parfois être pathogènes pour l'humain. Une partie de ces bactéries sont des bactéries gram négatif (entérobactéries) dont les parois contiennent des endotoxines<sup>(1)</sup>. Ces endotoxines sont connues pour causer des problèmes respiratoires ou des problèmes toxiques (ODTS)<sup>(2)</sup>, lorsqu'elles sont inhalées (Cole, Todd, Wing; 2000). Jusqu'à présent, plusieurs études se sont attachées à évaluer l'exposition à ces bioaérosols<sup>(3)</sup> à l'intérieur des élevages d'animaux (vaches, chevaux, porcs, poules) et ont démontré la présence d'importantes concentrations de bactéries et d'endotoxines aéroportées. Cependant, très peu d'études ont estimé la dispersion de ces bioaérosols à l'extérieur des installations d'élevages. En 2008, une étude américaine avait caractérisé les bactéries aéroportées retrouvées dans, et autour, d'une douzaine d'exploitations porcines. Cette étude avait été discutée dans le cadre d'une note d'actualité scientifique précédente (BVS 9). Aujourd'hui, ces mêmes auteurs nous livrent des résultats concernant l'exposition aux endotoxines dans et autour de ces mêmes élevages de porcs (Ko *et al.*, 2010). Une autre équipe de recherche chinoise a estimé la dispersion d'*Escherichia coli* dans l'environnement immédiat d'exploitations porcines (Yuan, Chai, Miao; 2010). Cette bactérie, appelée aussi coliforme, fait partie de la flore intestinale normale de tous les animaux à sang chaud (mammifères et oiseaux). Sa mise en évidence dans certains milieux, notamment l'eau, est utilisée comme indicateur de contamination fécale. Finalement, une autre étude vient de paraître concernant les concentrations en endotoxines au cours de l'année, à proximité de stabulations ouvertes de vaches laitières (Dungan, Leytem, Bjerneberg; 2010). Ce sont ces trois articles qui sont analysés ci-dessous.

## Identification par ERIC-PCR de la dispersion d'*Escherichia coli* dans les élevages de porcs

Yuan W, Chai TJ, Miao ZM. ERIC-PCR identification of the spread of airborne *Escherichia coli* in pig houses. *Sci Total Environ*. 2010; 408: 1446-1450.

### Analyse

Cet article a pour but d'évaluer la dispersion des bactéries fécales de porcs aux alentours immédiats de quatre élevages intensifs (110-216 porcs) en Chine, en utilisant comme indicateur *Escherichia coli* (*E. coli*). La collecte des bactéries aéroportées s'est faite par impaction d'air sur des géloses nutritives sélectives pour bactéries gram-négatif. Après incubation durant 24-48 h à 37 °C les colonies suspectes ont été identifiées à l'aide de tests enzymatiques et les *E. coli* ont ensuite subi un génotypage moléculaire de type ERIC-PCR<sup>(4)</sup> afin de déterminer leur similarité génétique avec des *E. coli* isolés des matières fécales des porcs présents dans l'élevage. Les prélèvements d'air intérieur et extérieur ont été répétés pour chacune des 4 exploitations

à 5 reprises et à différentes distances de l'exploitation. Les distances suivantes ont été explorées : 10 et 50 mètres en amont<sup>(5)</sup> (avant que le vent dominant n'ait balayé l'exploitation) et 10, 50, 100, 200 et 400 mètres en aval<sup>(5)</sup> (sous le vent ayant balayé l'exploitation). Les résultats nous montrent que la concentration moyenne d'*E. coli* à l'intérieur des élevages est de 26 CFU (colonie formant unité)/m<sup>3</sup> d'air. Cette concentration est 13 et 26 fois plus élevée que la concentration moyenne extérieure observée respectivement à 10 mètres et 50 mètres en amont de l'installation. Pour ce qui concerne les concentrations moyennes d'*E. coli* observées en aval du site, elles sont de 15, 6, 3 et zéro CFU à respectivement 10, 50, 100 et 400 mètres du site. Il apparaît donc que la concentration aéroportée d'*E. coli* ne diminue que d'un facteur 2 entre l'intérieur et l'extérieur immédiat (10 m) et d'un facteur 5 à une distance de 50 m en aval. Il faut parcourir une distance de 400 mètres pour ne plus observer d'*E. coli*. Les analyses génétiques montrent, pour la plupart des souches analysées, une similarité de plus de 90 % entre les souches de l'intérieur et les souches de l'extérieur. Ceci démontre que les bactéries rencontrées à l'extérieur des

exploitations proviennent bel et bien des matières fécales des animaux de ces exploitations.

### Commentaire

Cette étude démontre au moyen d'une analyse spatiale que les élevages intensifs de porcs sont une source importante de contamination aérienne de bactéries d'origine fécale. L'exposition à ces bactéries, pouvant parfois être des pathogènes, représente un risque potentiel pour la santé des travailleurs et pour la santé des gens habitant dans le voisinage direct situé en aval de ces installations. Ceci est d'autant plus préoccupant que les porcs peuvent être porteurs de souches bactériennes résistantes aux antibiotiques et colonisant très facilement le tractus respiratoire l'humain (SRAM = *Staphylococcus* résistant à la méthicilline) (voir BVS 10).

### Niveau d'endotoxines dans les élevages de porcs utilisant différentes techniques de traitement des déchets

Ko G, Simmons Iii OD, Likirdopulos CA, Worley-Davis L, Williams CM, Sobsey MD. Endotoxin levels at swine farms using different waste treatment and management technologies. *Environ Sci Technol.* 2010; 44: 3442-3448.

### Analyse

Dans cette étude menée aux États-Unis, les auteurs ont estimé la dispersion dans l'environnement des endotoxines aéroportées émises par des élevages intensifs de porcs. L'influence des techniques de gestion et de traitement des déchets des exploitations sur les émissions d'endotoxines dans l'environnement a été étudiée. Dix-sept élevages de porcs ont été investigués. La taille de ces élevages allait de 1 600 à 7 200 têtes. Au total, 236 échantillons d'air ont été collectés entre avril 2002 et août 2004, avec entre 2-7 prélèvements par élevage.

Pour chaque exploitation, des prélèvements sont réalisés (i) à la sortie de la ventilation de la halle d'élevage, (ii) sous le vent balayant la cuve de stockage des déchets, (iii) à environ 150 m de l'installation en aval du vent (sous le vent) et (iv) à 150 m de l'installation en amont (le vent n'ayant pas encore balayé l'installation). L'air prélevé sur des filtres en PVC (polychlorure de vinyl) est analysé pour le dosage des endotoxines par la méthode classique enzymatique du test de Limule-Améboocytes-Lysat (LAL-test).

Les résultats montrent que les concentrations moyennes d'endotoxines aéroportées varient beaucoup d'une exploitation à l'autre et qu'elles sont significativement environ 3 fois plus élevées 150 mètres en aval de l'exploitation (65 UE/m<sup>3</sup>) que 150 mètres en amont. Les concentrations mesurées directement à la sortie de la ventilation des exploitations sont en moyenne de 385 UE/m<sup>3</sup>, soit 16 fois plus que celles observées en amont. Les auteurs mettent aussi en évidence une corrélation positive entre les concentrations d'endotoxines et celle des bactéries

cultivables aéroportées (résultats montrés dans une étude précédente (BVS 9)). Ceci démontre que la source d'émission des endotoxines doit effectivement provenir des bactéries générées à l'intérieur des exploitations. Des facteurs environnementaux, tels que la vitesse du vent (corrélation positive), l'humidité relative et la température (corrélation négative) influencent aussi significativement les concentrations extérieures en endotoxines alors que le niveau de radiation solaire n'a pas d'influence. Finalement, en comparant les concentrations en amont avec celles retrouvées en aval (ratio), les auteurs ont tenté d'estimer l'efficacité des diverses technologies de traitement des déchets utilisées (9 méthodes différentes de séparation des éléments solides avec divers processus physiques ou biologiques). Il s'avère ainsi que 5 types de traitement ont une efficacité supérieure aux autres pour diminuer l'émission d'endotoxines alors que 2 autres ont une efficacité très médiocre.

### Commentaire

Il est très dommage que les résultats concernant l'exposition aux endotoxines n'aient pas été couplés avec ceux de l'étude publiée précédemment (Ko *et al.*, 2008) par les mêmes auteurs et faite dans les mêmes exploitations et qui concernaient l'exposition aux bactéries et champignons aéroportés. Il aurait pu en ressortir une étude plus complète de l'exposition à toutes les nuisances biologiques aéroportées avec une mise en évidence beaucoup plus claire des facteurs influençant ces émissions de nuisances biologiques. Le problème est que les techniques les plus efficaces pour diminuer la présence de bactéries gram-négatif (voir BVS 9) ne sont pas celles qui sont le plus efficaces pour diminuer les émissions d'endotoxines. Il apparaît donc que la technologie de traitement utilisée peut soit réduire significativement l'aérosolisation des contaminants fécaux, soit réduire l'émission d'endotoxines. La nécessité de trouver une technologie qui diminue tous les bioaérosols est souhaitable.

Mais les résultats montrent à nouveau que la pollution bactérienne et, dans ce cas précis, l'exposition aux endotoxines autour des élevages intensifs d'animaux est significative. La présence d'habitation (généralement une ferme familiale) à côté de telles installations expose de manière chronique les habitants, y compris les enfants et/ou les personnes âgées, à des doses non négligeables d'endotoxines (> 50 unités d'endotoxines à 150 mètres en aval). En effet, d'autres études ont démontré que l'exposition chronique à des niveaux d'endotoxines situés entre 50-100 UE/m<sup>3</sup> pouvait causer des problèmes respiratoires (Castellan *et al.*, 1987; Zock *et al.*, 1998). Les résultats concernant l'influence des technologies de traitement des déchets sont surprenants, puisqu'ils ne reflètent pas ceux obtenus pour les bactéries. Ainsi, l'effet des technologies de traitement devrait être étudié de manière plus approfondie, en essayant de comparer des élevages ayant encore plus de points en commun.

## Estimation des endotoxines aéroportées, dans des élevages intensifs de vaches laitières, au cours de l'année

Dungan RS, Leytem AB, Bjorneberg DB. Year-long assessment of airborne endotoxin at a concentrated dairy operation. *Aerobiologia*. 2010; 26 : 141-148.

### Analyse

Dans cette étude, à nouveau menée aux USA, un suivi mensuel (d'avril 2008 à mars 2009) de l'exposition aux endotoxines en amont et en aval d'une stabulation ouverte de vaches laitières a été fait. L'exploitation investiguée contenait 10 000 vaches. Les prélèvements d'air pour analyser les concentrations d'endotoxines ont été faits chaque mois à deux reprises (première série de prélèvements au jour J puis deuxième série de prélèvements au jour J+2) et ceci à trois endroits différents du site : a) directement en amont (5 mètres du site), b) en aval à 5 mètres et c) en aval à 200 mètres. Pour chaque endroit, 2 prélèvements ont été faits, un le matin (de 8-12 h) et l'autre l'après-midi (de 13-17 h). Au total c'est donc 144 mesures d'endotoxines qui ont été faites.

Les résultats montrent qu'en moyenne, les concentrations d'endotoxines sont six fois plus élevées à 5 mètres en aval qu'à 5 mètres en amont du site (169/28,5 UE/m<sup>3</sup> air, respectivement) et qu'à 200 mètres en aval on trouve encore des concentrations d'endotoxines de 72 UE/m<sup>3</sup> d'air. Tout comme dans l'article 2, les auteurs ont observé une corrélation positive entre les concentrations moyennes en endotoxines et la vitesse du vent. En revanche, l'influence des autres facteurs environnementaux (température, humidité et radiation solaire) sur les concentrations en endotoxines ne montre pas de résultats homogènes entre les différents sites mesurés (amont ou aval).

### Commentaire

Malheureusement, les détails concernant le temps de présence des vaches à l'intérieur du site, la litière utilisée, ou le type de traitement des déchets pratiqué, ne sont pas donnés. Des tests statistiques plus élaborés auraient pu être présentés. Par exemple une analyse multivariée, prenant en compte tous les facteurs environnementaux, aurait été tout à fait pertinente pour expliquer la variance des concentrations d'endotoxines. Néanmoins, les résultats présentés sont en parfait accord avec ceux présentés dans les deux autres articles analysés et démontrent une fois de plus que les niveaux de pollutions environnementales par des endotoxines sont loin d'être négligeables autour des exploitations d'élevages intensifs d'animaux.

### CONCLUSION GÉNÉRALE

Chacun de ces trois articles démontre qu'une émission de bactéries et d'endotoxines se fait dans l'environnement immédiat des élevages intensifs d'animaux (porcin ou bovin). Cette pollution bactérienne diminue assez rapidement avec la distance puisque vers 400 mètres en aval des exploitations on ne rencontre plus de bactéries aéroportées provenant de ces installations. En revanche, la distance qu'il faut pour ne plus observer d'endotoxine n'a pas été directement investiguée, puisqu'à 150-200 mètres on mesure encore des concentrations relativement élevées d'endotoxines aéroportées (> 50 UE/m<sup>3</sup>). Ceci s'explique par le fait que les bactéries sont fragiles (sensibles aux rayonnements UV, à la température élevée, à une faible humidité) (Benbough, 1967) et donc peu capables de rester viables sur des longues distances. En revanche, elles peuvent libérer des endotoxines issues des fragments de leur paroi. Les endotoxines sont très résistantes à la chaleur et sont aussi plus légères que les bactéries, donc plus facilement aéroportées.

On peut conclure de ces études qu'il faudrait éviter de construire des installations d'élevages intensifs d'animaux près des habitations, notamment au milieu des villages. La mise en place d'un système de climatisation retenant les micro-organismes pourrait aussi être une solution pour les élevages clos de très grande taille, mais l'enjeu économique n'est pas anodin et l'entretien de telles installations dans des environnements très poussiéreux n'est peut-être pas réalisable.

### Lexique

- (1) Endotoxine : ce sont des substances toxiques. Elles font partie de la membrane des bactéries Gram-négatives. Elles sont constituées de protéines, lipides et lipopolysaccharides (LPS). Ces LPS sont responsables de la plupart des effets biologiques des endotoxines, notamment de la propriété immunogène (faculté d'être reconnu comme étranger par l'organisme, et de provoquer une réaction immunitaire). D'autre part, les endotoxines sont très connues pour leurs effets pyrogéniques (provoquant de la fièvre). Les endotoxines sont libérées lors de la multiplication des bactéries et lors de leur lyse. Une simple stérilisation qui tue les bactéries laissera intactes les endotoxines.
- (2) ODTs : Organic Dust Toxic Syndrome. Ce syndrome de poussière organique toxique est caractérisé par l'apparition de symptômes grippaux de courte durée (fièvre, toux, douleurs musculaires) environ 24 heures après une exposition aux endotoxines.

- (3) Bioaérosols: particules d'origine organique en suspension dans l'air, telles que les virus, bactéries, champignons ainsi que leurs dérivés: les endotoxines et les mycotoxines.
- (4) ERIC-PCR: l'amplification de fragments d'ADN bactérien par PCR (Polymerase Chain Reaction) est faite avec des amorces permettant l'amplification de séquences répétées (ERIC-PCR pour Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus). Les amplicons obtenus sont de tailles différentes selon les souches et ils seront séparés par électrophorèse en gel. L'analyse de ces amplicons permet de réaliser des dendrogrammes et d'estimer les coefficients de similarité (parenté) entre les différentes souches analysées.
- (5) Aval/amont: sont utilisés dans ces analyses pour « sous le vent », « dans le vent ».

**Murayama M, Kakinuma Y, Maeda Y et al.** Molecular identification of airborne bacteria associated with aerial spraying of bovine slurry waste employing 16S rRNA gene PCR and gene sequencing techniques. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2010; 73: 443-447.

*Étude de la diversité bactérienne observée à l'extérieur, lors d'épandage de lisier dans les champs. Les résultats ne mettent pas en évidence de bactéries pathogènes pour l'Homme par voie d'inhalation.*

**Wultsch G, Haas D, Galler H et al.** Bioaerosol emissions in a poultry litter burning plant. *Aerobiologia.* 2010; 26: 63-73.

*Les auteurs de cette étude montrent qu'il existe aussi une forte émission de bioaérosols lors de la combustion de la litière ayant servi pour l'élevage de poulets. Des prélèvements à l'extérieur n'ont pas été faits.*

## Publications de référence

**Benbough JE.** Death mechanisms in airborne *Escherichia coli*. *J Gen Microbiol.* 1967; 47: 325-333.

**Castellan RM, Olenchock SA, Kinsley KB et al.** Inhaled endotoxin and decreased spirometric values. An exposure-response relation for cotton dust. *N Engl J Med.* 1987; 317: 605-610.

**Ko G, Simmons OD, Likirdopulos CA et al.** Investigation of bioaerosols released from swine farms using conventional and alternative waste treatment and management technologies. *Environ Sci Technol.* 2008; 42: 8849-8857.

**Zock JP, Hollander A, Heederik D et al.** Acute lung function changes and low endotoxin exposures in the potato processing industry. *Am J Ind Med.* 1998; 33: 384-391.

### Revue de la littérature

**Cole D, Todd L, Wing S.** Concentrated swine feeding operations and public health: a review of occupational and community health effects. *Environ Health perspect.* 2000; 108: 685-699.

## Autres publications identifiées

**Chinivasagam HN, Tran T, Maddock L et al.** The aerobiology of the environment around mechanically ventilated broiler sheds. *J Appl Microbiol.* 2010; 108: 1657-1667.

*Article montrant que l'émission aéroportée de Staphylococcus sp autour des élevages de poulets se fait jusqu'à une distance de 400 m.*

**Fahlgren C; Hagstrom A; Nilsson D et al.** Annual variations in the diversity, viability, and origin of airborne bacteria. *Appl Environ Microbiol.* 2010; 76: 3015-3025.

*Cette étude reporte une analyse de la communauté bactérienne faite dans un environnement non professionnel*

**Haas D, Unteregger M, Habib J et al.** Exposure to Bioaerosol from Sewage Systems. *Water Air Soil Pollut.* 2010; 207: 49-56.

*Évaluation de la charge bactérienne et fongique à l'intérieur et à l'extérieur (5 mètres) de 3 stations d'épuration des eaux usées. Une faible contamination fongique est observée à l'extérieur.*

## Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Bioaerosol, Biological risks, Concentrated dairy operation, Endotoxin, Occupational health, Swine confinement houses.