

Exposition aux bactéries pathogènes : cas de la pluie et du sable de plage

Période : janvier 2012 à mars 2012

Mohamed Amine BOUKERB* et Benoit COURNOYER**

* Université Claude Bernard Lyon 1 – UMR CNRS 5557 Écologie Microbienne, Équipe Bactéries Pathogènes Opportunistes et Environnement – Villeurbanne

** CNRS – UMR CNRS 5557 Écologie microbienne, Équipe Bactéries pathogènes opportunistes et environnement – Villeurbanne

Mots clés : Bactéries indicatrices de contamination fécale, Bactéries pathogènes, Eaux pluviales, Eaux récréatives, Évaluation des risques, Qualité des eaux littorales, Qualité microbiologique, Sable de plage

L'Homme est exposé quotidiennement à une grande diversité de micro-organismes. Certains de ces micro-organismes peuvent provoquer des infections suite, entre autres, à une ingestion, inhalation, piqûre d'insecte ou une intervention chirurgicale. Pour réduire l'exposition à ces micro-organismes pathogènes, il est essentiel de connaître les sources à l'origine de leur présence dans certains milieux et/ou matrices alimentaires, et de mieux apprécier leur écologie. Ces sources de contaminants microbiologiques peuvent être diffuses ou ponctuelles, et chroniques ou accidentelles (1,2). Parmi les sources diffuses, nous retrouvons les eaux de ruissellement générées par les orages et pouvant véhiculer des micro-organismes en provenance de fèces d'animaux ou de grandes cultures amendées en composts ou boues de stations d'épuration (3). Ces sources peuvent disséminer des agents pathogènes tels que les *Escherichia coli* producteurs de shiga-toxines, responsables de colite hémorragique et/ou de syndrome hémolytique et urémique, ou l'agent étiologique de la leptospirose. Parmi les sources ponctuelles, nous retrouvons divers rejets urbains, industriels, et agricoles. Ces rejets peuvent être fortement contaminés mais sont malgré tout tolérés pour des raisons d'ordre pratique comme la prévention des remontées d'égouts lors de fortes pluies. Ces sources peuvent véhiculer une très grande diversité d'agents pathogènes dont les norovirus responsables de gastro-entérites, les *Legionella pneumophila* pouvant provoquer la légionellose (une pneumopathie), et de nombreuses bactéries pathogènes opportunistes⁽¹⁾ comme les *Pseudomonas aeruginosa* et les *Aeromonas hydrophila*.

Les articles de cette note de synthèse apportent de nouveaux éléments sur les sources et l'écologie de bactéries pathogènes impliquées dans des infections opportunistes. L'article de Kaushik *et al.* (2012) présente des approches originales ayant permis d'estimer la prévalence de bactéries pathogènes opportunistes dans les eaux pluviales en fonction des conditions météorologiques, et d'étudier les corrélations entre leurs concentrations et les activités urbaines. Ces travaux montrent la nécessité de mettre en place des analyses de la qualité microbiologique des eaux pluviales avant leur usage à des fins domestiques ou alimentaires. L'article de Yamahara *et al.* (2012) présente un bilan complet de la répartition d'indicateurs de contamination fécale et de bactéries pathogènes dans les sables de plages californiennes. Ces travaux confirment le rôle majeur des rejets d'eaux usées dans la contamination des plages, mais suggèrent un rôle non négligeable de sources diffuses probablement d'origine animale. Le sable permettrait une bonne survie des bactéries pathogènes, et deviendrait une source de ces micro-organismes pouvant contaminer les eaux de baignade.

Influence de la qualité de l'air sur la composition en bactéries pathogènes de l'eau de pluie native

Kaushik R, Balasubramanian R, de la Cruz AA. Influence of air quality on the composition of microbial pathogens in fresh rainwater. Appl Environ Microbiol 2012; 78: 2813-8.

Résumé

Dans le but d'étudier l'influence de la pollution urbaine sur la qualité microbiologique de l'eau de pluie, les auteurs ont analysé 50 précipitations recensées sur une période d'une année (juin 2009 à mai 2010) à Singapour, en utilisant la technique de PCRq⁽²⁾ (PCR quantitative) pour la quantification de bactéries pathogènes. Les échantillons d'eau de pluie ont été récoltés stérilement et conservés à 4 °C, avant analyse. Le site d'échantillonnage était situé à 67 m d'altitude et à 1 km de la mer. Il a été exposé à des émissions en provenance du trafic automobile, d'industries

chimiques, de centrales électriques, et de raffineries de pétrole. La qualité de l'air au site d'échantillonnage a été évaluée selon l'indice standard de polluants (PSI)⁽³⁾. 50 % des échantillons analysés par PCRq ont été trouvés positifs pour au moins une des bactéries recherchées, dont 42 % pour *Escherichia coli*, 32 % pour *Pseudomonas aeruginosa*, 12 % pour *Klebsiella pneumoniae*, et 2 % pour *Aeromonas hydrophila*. Des concentrations entre la limite basse du seuil de détection (sdd) par PCRq et 10⁴ équivalents génome par 100 mL ont été mesurées pour *E. coli*, entre le sdd et 10³ équivalents génome par 100 mL pour *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae*, et entre le sdd et 33 équivalents génome par 100 mL pour *A. hydrophila*.

Des analyses de la trajectoire des masses d'air et de la répartition des fumées d'incendie de forêts et de tourbes⁽⁴⁾ sur le secteur d'échantillonnage ont été effectuées par photos satellitaires, et reliées aux concentrations en bactéries pathogènes. Durant la

mousson du sud-ouest (juin à septembre 2009), la trajectoire des vents a montré un déplacement des masses d'air survolant les zones de feux de forêt en Indonésie vers le site d'étude. Durant cette période, des valeurs PSI dépassant les 40 (indiquant une pollution significative), et des concentrations élevées en *E. coli*, *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* ont été obtenues. Pendant la mousson du nord-est (décembre 2009 à mars 2010), le site de prélèvement a été soumis à l'influence de masses d'air provenant de la mer de Chine méridionale, et aucun feu de forêt n'a été référencé. L'indice PSI durant cette mousson était inférieur à 40, indiquant une bonne qualité de l'air. Les eaux de pluie récoltées durant cette mousson avaient des concentrations sous le seuil de détection des bactéries pathogènes par PCRq. Cette étude suggère une relation étroite entre indice PSI et niveau de contamination des eaux de pluie par des bactéries pathogènes. Ces résultats montrent la nécessité d'évaluer les niveaux de contamination microbiologique des eaux de pluie avant leur utilisation à des fins domestiques.

Commentaire

Cette étude suggère que les conditions météorologiques joueraient un rôle important dans la dissémination de bactéries pathogènes aérosolisées. De plus, ces bactéries pourraient servir de noyaux de condensation⁽⁵⁾ lors de la formation de gouttes de pluie. Elles pourraient ainsi parcourir de nombreux kilomètres puis contaminer un nouveau territoire lors d'une précipitation. Dans cette étude, la PCRq a été utilisée comme méthode de référence pour quantifier les bactéries des eaux pluviales. Cette méthode a l'inconvénient de quantifier l'ADN ciblé tant sous forme libre (cellules mortes) qu'extrait de cellules viables et parfois non cultivables (4). Les prévalences et concentrations indiquées doivent donc être considérées avec précaution. Le propidium monoazide aurait pu être utilisé pour bloquer les ADN libres avant PCRq, et ainsi restreindre l'amplification aux ADN extraits de cellules intactes (5). Une RT-PCR⁽⁶⁾ quantitative pourrait également être envisagée pour quantifier plus spécifiquement les cellules actives.

Un article des mêmes auteurs complète ce travail sur la détection de bactéries pathogènes dans l'air et l'eau de pluie (6).

Occurrence et persistance de bactéries pathogènes et de micro-organismes indicateurs de contamination fécale dans le sable des plages de la côte californienne.

Yamahara KM, Sassoubre LM, Goodwin KD, Boehm AB. Occurrence and persistence of bacterial pathogens and indicator organisms in beach sand along the California coast. *Appl Environ Microbiol* 2012; 78:1733-45.

Résumé

Les auteurs de cet article se sont intéressés à la qualité microbiologique du sable de plages de la côte californienne (ouest des États-Unis) dans le but d'identifier les sources de pollution de ces plages et d'évaluer les risques d'exposition à

des bactéries pathogènes. Peu de données documentaient, à ce jour, les dangers liés à l'exposition aux agents pathogènes par le biais du sable lors de jeux ou période de détente sur une plage. Les concentrations de certains groupes de bactéries pathogènes, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., et d'indicateurs de contamination fécale (FIB⁽⁷⁾) comme les *Escherichia coli*, les entérocoques intestinaux (EI), Bacteroidales, et coliphages ont été estimées. Des approches cultivables, utilisant des enrichissements et/ou des milieux gélosés, mais également des approches utilisant l'ADN et la PCR quantitative ont été déployées. Les prélèvements analysés lors de cette étude ont été obtenus entre les 16 et 29 octobre 2009, durant une période de moins grande affluence sur les plages californiennes, mais ciblant, entre autres, des sites à haut risque de contamination comme ceux à proximité de déversoirs d'orage⁽⁸⁾ ou de colonies d'oiseaux. Ces travaux ont été complétés par des analyses de persistance des indicateurs et bactéries pathogènes en faisant usage de colonnes de sable. Ces colonnes ont été soumises à des périodes de contact avec de l'eau de mer pour évaluer les remises en suspension de bactéries lors d'une lixiviation, et ainsi estimer les risques de transfert vers les zones de baignade. Des relations entre composition du sable en carbone organique, taille des grains et le dépérissement des populations bactériennes ont été recherchées.

Selon la méthodologie appliquée, des prévalences variables des micro-organismes recherchés ont été obtenues dans les sables échantillonnés. Pour illustrer, des prévalences plus faibles ont été obtenues en PCRq que par approches cultivables pour les salmonelles et *Campylobacter* spp. Les résultats ont montré que 28 % des échantillons étaient positifs pour au moins l'un des groupes d'agents pathogènes suivants : *Salmonella* spp. (15 %), *Campylobacter* spp. (13 %), et *S. aureus* résistants (14 %) ou non (3 %) à la méticilline. Des corrélations significatives et positives entre concentrations des marqueurs du groupe des FIB ont été observées, et également entre le marqueur Bacteroidales et les concentrations en *S. aureus*. Ce dernier résultat suggère que l'Homme serait la source principale des *S. aureus*. Les résultats obtenus à partir de colonnes de sable ont montré un dépérissement des FIB et des groupes de bactéries pathogènes sur une période de 32 jours à 22 °C sans aboutir à une disparition complète sauf pour les *Campylobacter* spp. Les résultats de lixiviation par l'eau de mer des bactéries présentes dans les colonnes de sable ont été variables mais ont indiqué une probable contamination des eaux de baignade lors d'événements de nature similaire en condition naturelle. Ces résultats confortent l'hypothèse d'un rôle important de la teneur en eau sur la persistance de ces micro-organismes dans le sable, et sur leur transfert dans les eaux de baignade.

Commentaire

Le sable semble être un support favorable pour l'installation et la croissance des bactéries pathogènes. Il pourrait apporter une protection contre les rayons solaires et les prédateurs, et contenir des nutriments nécessaires à leur croissance. Cette étude confirme les dangers associés à une mauvaise gestion

des plages, et montre qu'une contamination des sables pourrait exposer les populations de baigneurs sur plusieurs semaines. Plusieurs sources peuvent être à l'origine de la présence de ces micro-organismes dont les déchets fécaux d'origine animale (7). Cette étude montre que des efforts importants sont encore à réaliser dans le développement de méthodologies permettant d'évaluer les concentrations en micro-organismes pathogènes à partir d'une matrice environnementale.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Pour pouvoir améliorer ou élaborer des modèles prédictifs d'évaluation des risques d'infection lors de certaines activités (baignade) ou pratiques (usage domestique des eaux de pluie), il est essentiel d'identifier les sources de micro-organismes pathogènes. Il est également important de comprendre l'écologie de ces micro-organismes au sein des compartiments (colonne d'eau, sable, sol) ou dispositifs (citerne, réseau d'alimentation) qu'ils peuvent contaminer, et ainsi d'identifier les principaux paramètres pouvant exacerber leur virulence ou favoriser leur dépérissement. Les articles de cette note de synthèse présentent, respectivement, des données sur des eaux contaminées par des bactéries pathogènes pouvant exposer des populations humaines en zone urbaine lors d'événements pluvieux, et lors d'activités de baignade, *via* une ingestion, inhalation ou un contact cutané. Les sources à l'origine des contaminations observées semblent être diffuses dans le contexte de l'étude de Kaushik *et al.* (2012) sur les eaux pluviales. Cependant, une relation étroite entre les niveaux de pollutions chimiques et bactériennes a été observée, suggérant une source commune ou des sources fortement liées pour ces deux grands groupes de contaminants. L'étude de Yamahara *et al.* (2012) conforte le rôle majeur des sources de contamination fécale sur la qualité microbiologique des zones de baignade dont les sables de plage. Ces sources semblent être principalement ponctuelles mais chroniques pour de nombreuses zones de baignade en raison de la proximité de déversoirs d'orage. Des sources diffuses liées à des contaminations d'origine animale sont également probables. Ces sources auraient mérité d'être précisées par des marqueurs permettant de différencier l'origine des déchets fécaux. Il est à noter que peu d'études avaient documenté l'importance des mouvements de grandes masses d'air dans la dissémination des agents pathogènes inféodés aux milieux hydriques. Ces mouvements pourraient avoir contribué à la dissémination mondiale de certaines formes pathogènes retrouvées dans les eaux, sans nécessiter un transport *via* un hôte comme certains oiseaux migrateurs ou l'Homme (*via* ses déplacements).

Lexique

- (1) Pathogène opportuniste : micro-organisme pathogène chez des individus présentant un système immunitaire déficient.
- (2) PCR quantitative (PCRq) : méthode d'amplification de l'ADN par une ADN polymérase thermorésistante utilisant des molécules fluorescentes pour détecter l'ADN amplifié et subséquemment estimer la quantité initiale d'ADN présente dans l'échantillon. Des comparaisons sont effectuées avec un ADN de référence pour déduire les quantités d'ADN amplifiés.
- (3) PSI (Polluants Standard Index) : indice standard de polluants utilisé pour l'évaluation de la qualité de l'air. Cet indice est basé sur la mesure du SO₂, NO₂, CO, O₃, et des concentrations en particules de diamètre ≤ 10 µm. Un PSI de plus de 50 indique une pollution moyenne, et, de plus de 100, une pollution forte.
- (4) Tourbe : matière combustible en général noirâtre formée à la suite de l'accumulation sur de longues périodes de matière organique morte, essentiellement des végétaux.
- (5) Noyau de condensation : les bactéries et autres particules présentes dans l'air peuvent former des noyaux de condensation permettant la rotation de la vapeur d'eau et l'accélération du processus de formation de la goutte d'eau.
- (6) RT-PCR : méthode d'amplification de l'ADN à partir d'une matrice initiale d'ARN. L'ARN est transformé en ADN par une transcriptase inverse.
- (7) FIB (bactéries indicatrices de contamination fécale) : bactéries commensales du tube digestif incluant les *E. coli*, entérocoques intestinaux et coliformes fécaux.
- (8) Déversoir d'orage : système de surverse des réseaux d'assainissement unitaires lors de fortes pluies, rejetant un mélange d'eaux usées et pluviales dans un milieu récepteur tel qu'une rivière.

Revue de la littérature

- (1) Chalupka S. Environmental health: an opportunity for health promotion and disease prevention. AAOHN J 2005;53:13-28.

Publications de référence

- (2) Organisation mondiale de la santé (OMS). L'eau, l'assainissement, l'hygiène et la santé. Faits et chiffres. Novembre 2004.
- (3) Heyworth JS, Glonek G, Maynard EJ, *et al.* Consumption of untreated tank rainwater and gastroenteritis among young children in South Australia. Int J Epidemiol 2006;35:1051-8.
- (4) Pommepuy M, Butin M, Derrien A, *et al.* Retention of enteropathogenicity by viable but nonculturable *Escherichia coli* exposed to seawater and sunlight. Appl Environ Microbiol 1996;62:4621-6.

- (5) **Nocker A, Sossa-Fernandez P, Burr MD, et al.** Use of propidium monoazide for live/dead distinction in microbial ecology. *Appl Environ Microbiol* 2007;73:5111-7.
- (6) **Kaushik R, Balasubramanian R.** Assessment of bacterial pathogens in fresh rainwater and airborne particulate matter using Real-Time PCR. *Atmosph Environ* 2012;46:131-9.
- (7) **Bonilla TD, Nowosielski K, Cuvelier M, et al.** Prevalence and distribution of fecal indicator organisms in South Florida beach sand and preliminary assessment of health effects associated with beach sand exposure. *Mar Pollut Bull* 2007;54:1472-82.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :

- n'avoir aucun conflit d'intérêt ;
 avoir un ou plusieurs conflits d'intérêt.

Autres publications identifiées

Heaney CD, Sams E, Dufour AP, et al. Fecal indicators in sand, sand contact, and risk of enteric illness among beachgoers. *Epidemiology* 2012;23:95-106.

Enquête sur les activités des baigneurs pouvant favoriser un contact avec le sable. Une corrélation positive a été observée entre concentrations en FIB dans le sable de plage entrant en contact avec les baigneurs et le risque pour ces derniers de contracter une gastroentérite.

Jeanneau L, Solecki O, Wery N, et al. Relative decay of fecal indicator bacteria and human-associated markers: a microcosm study simulating wastewater input into seawater and freshwater. *Environ Sci Technol* 2012;46:2375-82.

Présentation d'études en microcosme sur le dépérissement des FIB et autres marqueurs de contaminations fécales humaines dont les Bacteroidales, bactériophages, et marqueurs chimiques (caféine, stanols) dans des eaux marines et des eaux continentales.

Pan X, Jones KD. Seasonal variation of fecal indicator bacteria in storm events within the US stormwater database. *Water Sci Technol* 2012;65:1076-80.

Étude comparative des concentrations moyennes en FIB quantifiées pour une série d'évènements de précipitation de 6 régions des États-Unis. Les résultats ont montré une variabilité saison-dépendante, et les plus fortes concentrations en FIB ont été observées durant les périodes estivales.

Shibata T, Solo-Gabriele HM. Quantitative microbial risk assessment of human illness from exposure to marine beach sand. *Environ Sci Technol* 2012;46:2799-805.

Ce travail présente un modèle dose-effet basé sur l'évaluation quantitative des risques microbiens (QMRA) pour l'Homme lors d'un contact avec du sable de plage contaminé.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Fecal indicators, Pathogens, Rainwater, Sand contact.