

Pourquoi la microbiologie a-t-elle un intérêt en environnement ?

Docteur Fabien Squinazi
Médecin biologiste
Membre correspondant de
l'Académie Nationale de Pharmacie

Cette séance ne traite pas :

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

Les milieux de l'environnement

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

Une diversité de micro-organismes

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



Une diversité de micro-organismes

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

Une diversité de micro-organismes

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

Le classement des agents biologiques

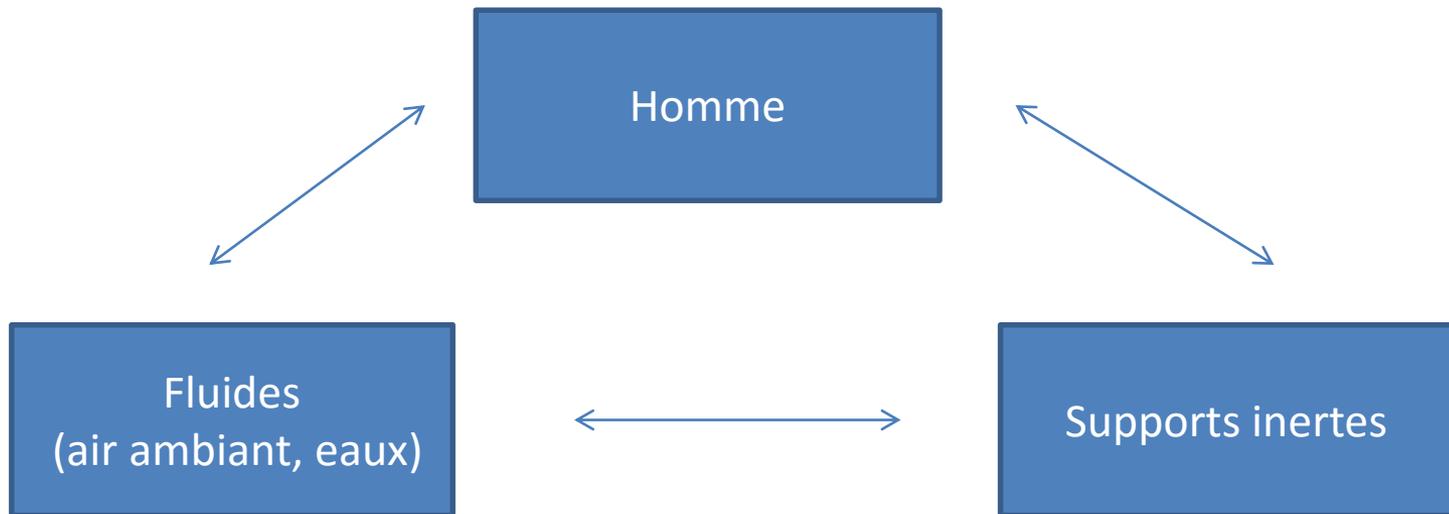
	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4
Susceptible de provoquer une maladie chez l'homme	non	oui	grave	grave
Constitue un danger pour les travailleurs	-	oui	sérieux	sérieux
Propagation dans la collectivité	-	peu probable	possible	élevée
Existence d'une prophylaxie ou d'un traitement efficace	-	oui	oui	non

Micro-organismes de l'environnement

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

Sources et transferts des micro-organismes

- Transferts par bioaérosol ou contact direct



La voie aérienne

Contamination – amplification - diffusion

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

Les réservoirs vivants

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



Gouttelettes de Pflügge

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

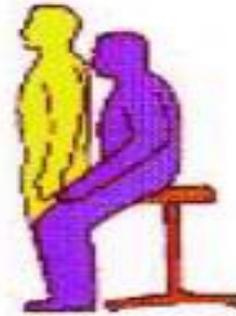
NOMBRE DE PARTICULES DE PLUS DE 0,3 μm EMISES PAR MINUTE SELON L'ACTIVITE DES INDIVIDUS



100.000



1.000.000



2.500.000



5.000.000



10.000.000



15.000.000

La voie par contact direct

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

Conséquences de la présence des micro-organismes

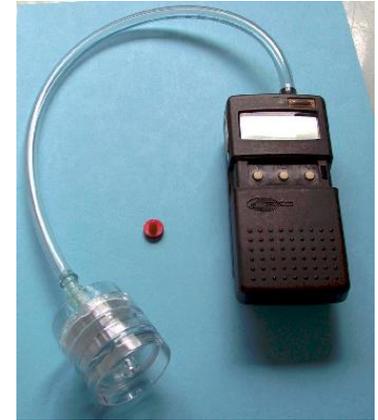
- Si la plupart de micro-organismes de l'environnement sont considérés comme inoffensifs, voire bénéfiques pour la fabrication de produits
- D'autres, moins nombreux, peuvent avoir des impacts technico-économiques ou humains
 - dégradation des supports
 - effets indésirables pour la santé humaine

Les modes d'exposition

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

Prélèvements pour le contrôle de l'aérobiocontamination

- La filtration :
 - air aspiré au travers d'une membrane microporeuse (0,8 μm)
 - débit réglé : 40 à 130 L/min
 - pas de coupure granulométrique
 - manipulation délicate des membranes
 - atmosphère humide incompatible
 - courte durée de prélèvement



Prélèvements pour le contrôle de l'aérobiocontamination

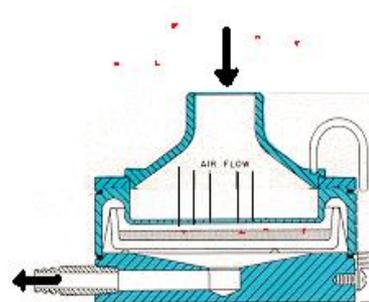
- L'impacteur centrifuge (ex RCS) :
 - particules projetées par la force centrifuge d'une hélice sur le milieu nutritif
 - débit : 40 à 100 L/min
 - maniable, autonome, tête autoclavable, limite les colonies envahissantes
 - mauvaise collecte des particules $< 3,8 \mu\text{m}$
 - recyclage de l'air prélevé
 - courte durée de prélèvement



Prélèvements pour le contrôle de l'aérobiocontamination

- L'impacteur à crible(s)
 - air prélevé accéléré à travers les orifices d'un crible ; particules impactées sur une ou plusieurs géloses
 - débit 28,3 L/min (ex. Andersen) à 100 L/min
 - collection selon la granulométrie des particules
 - courte durée de prélèvement
 - table de correction

Impacteurs à cribles



Prélèvements pour le contrôle de l'aérobiocontamination



Le piégeage en milieu liquide selon un mode « cyclonique »

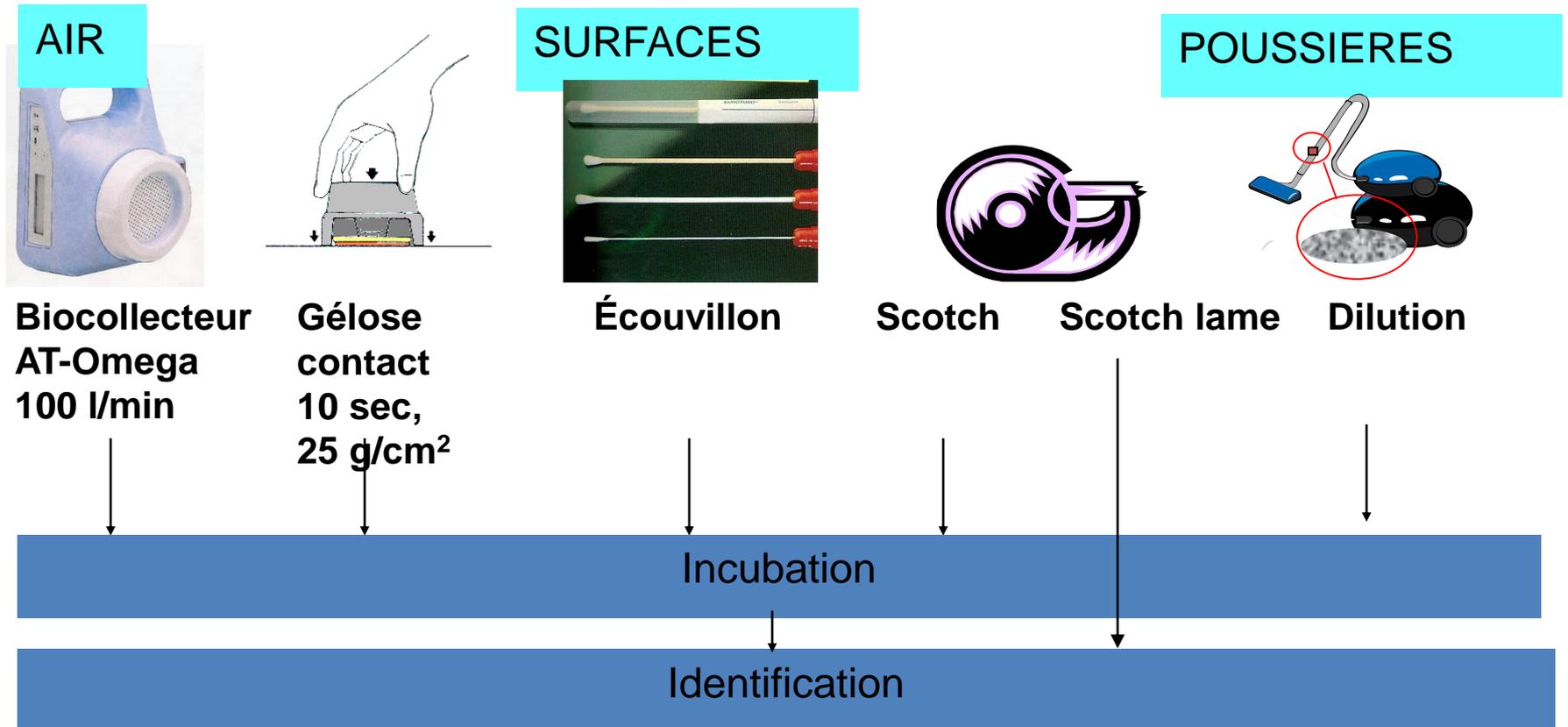
- débit : 100 – 800L/min
- air aspiré entraîné dans un mouvement tourbillonnant à l'intérieur d'un cône
- les particules biologiques sont centrifugées sur les parois humides et récupérées dans le cône dans un échantillon liquide
- cultures et/ou analyses rapides (PCR, cytométrie, endotoxines, glucanes)

Développements de la collecte en milieu liquide

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

Bactéries et Moisissures

Prélèvements et analyses



Les indicateurs microbiens

- Critères de choix :
 - **spécificité** : retrouvé de manière constante dans le milieu étudié et doit coexister avec les germes pathogènes
 - **sensibilité** : isolé en même temps que les germes pathogènes et même précéder leur apparition ; il doit être en plus grand nombre qu'eux
 - **résistance** : plus résistant aux agents désinfectants que les germes pathogènes
 - **facilité d'identification** : facile à isoler, rapidement identifiable par des tests simples
 - **la relation avec l'épidémiologie** : sa nature et sa concentration doivent être en rapport avec la probabilité d'apparition d'une infection dans la population

Les indicateurs de contamination d'origine humaine

- Les germes témoins de contamination fécale
 - *Escherichia coli*
 - entérocoques intestinaux
 - Les germes témoins de contamination cutanéomuqueuse
 - Staphylocoques (*Staphylococcus aureus*)
 - Flore bactérienne revivifiable (DTB)
- reflets du taux d'occupation, de l'activité, de la propreté des locaux et des installations de traitement d'air

Les indicateurs de contamination environnementale

- Flore mycélienne revivifiable (DTM) de l'air et des supports inertes
 - reflet de l'efficacité de la filtration d'air, humidité à l'intérieur des locaux, présence de plantes
- Bactéries à Gram négatif dans l'eau du réseau intérieur de distribution (*Legionella sp.*, *Pseudomonas sp.*, mycobactéries atypiques)
 - reflet d'un dysfonctionnement des installations de production et de distribution d'eau

Perspectives

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

Focus sur 4 milieux environnementaux

- Habitat et développement de moisissures
 - *Stéphane Moularat, CSTB*
- Expositions microbiennes liées aux piscines
 - *Françoise Enkiri, LHVP*
- Systèmes de climatisation et expositions microbiennes
 - *Sylvie Parat, Air & Bio, Chambéry*
- Diversité des micro-organismes dans les réseaux de distribution d'eau
 - *Professeur Jean-Claude Block, Université de Lorraine*