



INSTITUT NATIONAL DE L'ENVIRONNEMENT INDUSTRIEL ET DES RISQUES

# Le risque biologique et la méthode d'évaluation du risque

Rapport [final](#)

Ministère de l'Aménagement du Territoire et de  
l'Environnement

*R. BONNARD*

*Unité Evaluation des Risques Sanitaires  
Direction des Risques Chroniques*

15 Novembre 2001

# Le risque biologique et la méthode d'évaluation du risque

Rapport **final**

**MINISTERE DE L'AMENAGEMENT DU TERRITOIRE ET DE  
L'ENVIRONNEMENT**

**15 NOVEMBRE 2001**

**R. BONNARD**

Ce document comporte 70 pages (hors couverture et annexes).

	<b>Rédaction</b>	<b>Vérification</b>	<b>Approbation</b>
<b>NOM</b>	R. BONNARD	A. CIOLELLA	E. VINDIMIAN
<b>Qualité</b>	Ingénieur de la Direction des Risques Chroniques	Responsable de l'Unité Evaluation des Risques Sanitaires	Responsable de la Direction des Risques Chroniques
<b>Visa</b>			

## TABLE DES MATIERES

<b>1. RÉSUMÉ</b>	<b>5</b>
<b>2. GLOSSAIRE</b>	<b>6</b>
<b>3. ACRONYMES</b>	<b>8</b>
<b>4. INTRODUCTION</b>	<b>9</b>
<b>5. LA NATURE DES AGENTS PATHOGÈNES</b>	<b>9</b>
5.1. Les champignons et levures	10
5.2. Les algues	12
5.3. Les helminthes	13
5.4. Les protozoaires	13
5.5. Les bactéries	14
5.5.1. Exemples de bactéries infectieuses	15
5.5.2. Les agents toxiques des bactéries	16
5.5.2.1. Les endotoxines	16
5.5.2.2. Le peptidoglycane	17
5.6. Les virus	17
5.7. Les prions ou agents transmissibles non conventionnels	19
5.8. Les fragments de matériel animal et végétal	21
<b>6. OBJECTIVATION DES RISQUES BIOLOGIQUES DANS LA POPULATION : ÉTAT SANITAIRE ET FAITS MARQUANTS</b>	<b>22</b>
6.1. Les données statistiques sur les pathologies infectieuses	22
6.2. L'accroissement de la susceptibilité de la population	25
6.3. La résistance des germes accrus	26
6.4. Une maladie émergente liée aux installations industrielles et domestiques modernes : la légionellose	27
6.5. Les pathologies respiratoires non infectieuses liés aux agents biologiques	28
6.5.1. Les pathologies allergiques	29
6.5.2. Les pathologies non allergiques	29
6.5.3. Éléments d'information sur la fréquence des pathologies respiratoires non infectieuses dues à des agents biologiques	30

<b>7. LA MÉTHODOLOGIE DE L'ÉVALUATION DES RISQUES : LES SPÉCIFICITÉS LIÉES AU RISQUE BIOLOGIQUE</b>	<b>32</b>
7.1. La caractérisation du site et de l'activité	33
7.2. Identification des dangers	34
7.2.1. La pathogénicité	34
7.2.1.1. Les mécanismes de la pathogénicité	34
7.2.1.2. Le pouvoir pathogène	35
7.2.2. Approche proposée	36
7.2.3. Difficultés liées à l'interprétation des données	36
7.3. Evaluation de l'exposition	37
7.3.1. Difficultés	37
7.3.2. Les méthodes analytiques	38
7.3.2.1. Les analyses dans les milieux environnementaux	38
7.3.2.1.1. Les méthodes de culture	38
7.3.2.1.2. Les méthodes microscopiques	39
7.3.2.1.3. Les méthodes moléculaires	39
7.3.2.1.4. Les méthodes immunologiques	40
7.3.2.2. Les analyses de milieux biologiques	41
7.3.3. Approche proposée	41
7.4. Relation dose-effet	42
7.4.1. Aspects théoriques	43
7.4.2. Données disponibles	45
7.4.3. Difficultés d'évaluation d'une relation dose-effet	46
7.4.4. Approche proposée	47
7.5. Caractérisation du risque	48
7.5.1. Approche	48
7.5.1.1. Eléments complémentaires de réflexion	49
<b>8. LA PRISE EN COMPTE ACTUELLE DU RISQUE MICROBIOLOGIQUE</b>	<b>50</b>
8.1. Le secteur alimentaire	50
8.2. Les eaux de baignade	52
8.3. Le domaine professionnel	52
8.4. Les risques pour la population liés aux déchets et aux effluents	54
8.5. L'air intérieur des bâtiments	58
<b>9. QUELLES SONT LES QUESTIONS QUI NOUS SONT POSÉES ET COMMENT Y RÉPONDRE ?</b>	<b>59</b>
9.1. Réalisation d'évaluation de risques pour de futures installations	59
9.2. Réalisation d'évaluation de risques pour des installations existantes	63
9.3. Réalisation d'évaluations de risque suite à l'apparition de symptômes ou de pathologies diagnostiquées dans la population	63
<b>10. CONCLUSION</b>	<b>64</b>

<b>11. RÉFÉRENCES</b>	<b>66</b>
<b>12. LISTE DES ANNEXES</b>	<b>70</b>

## 1. RESUME

---

Cette étude, consacrée aux risques de nature biologique, vise :

- à définir l'impact des agents biologiques sur la santé de la population,
- à présenter la manière dont le risque biologique est pris en compte actuellement,
- et à proposer une démarche d'évaluation des risques biologiques liés aux sites et aux activités.

Les effets liés aux agents biologiques peuvent être de plusieurs natures : infectieux, toxico-infectieux ou toxiques. Les agents biologiques potentiellement dangereux pour la santé humaine sont présentés par grands catégories : champignons et levures, algues, helminthes, protozoaires, bactéries, virus, prions, fragments de matériel animal et végétal. Quelques éléments concernant leurs caractéristiques de pathogénicité, leur présence et leur devenir dans l'environnement sont rappelés.

Les données disponibles concernant la fréquence des pathologies, notamment en France, présentent de nombreux défauts. Sauf pathologies particulières, il est souvent difficile d'associer une maladie à son agent étiologique. En particulier, les effets à long terme des agents biologiques sont très mal connus. De plus, les données disponibles (relevé des pathologies, isolation de germes) sous-estiment les taux de mortalité et de morbidité. Même si le problème des maladies infectieuses ne présente pas dans les pays développés la même acuité que dans les pays en voie de développement, ces pathologies restent néanmoins d'actualité avec de nouvelles pathologies graves émergentes et d'anciennes qui réapparaissent. En outre, les maladies respiratoires d'origine allergique ou non touchent aussi, dans les pays développés, une fraction élevée de la population.

La méthodologie d'évaluation des risques, telle qu'elle est appliquée pour les agents chimiques ou physiques, est encore peu développée pour les agents biologiques. L'évaluation des risques biologiques présente des difficultés spécifiques à chacune des quatre étapes de la démarche. De plus, les connaissances disponibles sont parcellaires et dispersées, ce qui nécessite à chaque étape un travail bibliographique de collecte, d'analyse et de synthèse des données, dans les domaines de l'épidémiologie, de la physiopathologie, de l'écologie microbienne, de la microbiologie prédictive et de la microbiologie analytique.

Même si faute de connaissances suffisantes, l'habitude à consister jusqu'alors à gérer ce type de risques à travers l'application d'analyses de contrôle et de règles de bonnes pratiques, on note aujourd'hui un intérêt certain pour la démarche d'évaluation des risques biologiques, en particulier dans les domaines agro-alimentaire et de l'eau de distribution. Divers travaux d'évaluation de risque réalisés, en France, dans différents secteurs sont présentés, ainsi que les recherches qui s'y rapportent.

Enfin, compte-tenu de l'état des connaissances, une démarche pour appréhender l'évaluation des risques biologiques liés à des sites ou à des activités est proposée. Elle repose sur la réalisation de dossiers d'évaluation de risques par activité, avant de mener des études sur des sites spécifiques. A ce niveau, la nécessité de générer des données met en évidence le besoin du recours à des spécialistes des disciplines citées précédemment et à des statisticiens.

## 2. GLOSSAIRE

---

Activité de l'eau : L'activité de l'eau d'un matériau se définit comme le rapport entre la pression de vapeur de l'eau du matériau et la pression de vapeur pure. à la même température

Atopie : Prédisposition héréditaire à produire de manière excessive des immunoglobulines de type E, au contact d'allergènes, et de développer des manifestations d'hypersensibilité immédiate comme l'asthme, le rhume des foins, ...

Complément : système enzymatique participant aux réactions antigènes/anticorps et, en particulier, à la destruction des antigènes. Le complément attaque l'antigène lorsque l'anticorps a reconnu celui-ci et s'est fixé sur lui ou lorsqu'il est en contact direct avec la paroi d'un antigène.

Cytokine : Peptide secrétée par les lymphocytes T et les macrophages. Elles ont pour fonction de moduler les réactions immunitaires et de contrôler les activités du système neuroendocrinien (exemple : interférons, interleukines)

Cytométrie : Méthode d'analyse où l'on fait défiler le matériel biologique à analyser dans un jet liquide très fin. Les objets biologiques sont alors monodispersés et illuminés par une source lumineuse excitatrice qui va initier le phénomène de fluorescence : fluorescence naturelle ou artificielle provoquée par un marquage préalable des objets à analyser. Le choix des fluorochromes dépend du type d'information que l'on souhaite obtenir : information sur la constitution de l'ADN, la membrane cellulaire, la physiologie cellulaire,...

Dyspnée : Difficulté à respirer

Eucaryote : Etre vivant dont le matériel génétique de chaque cellule est enfermé dans un noyau limité par une double membrane (champignons, levures, animaux, végétaux)

Gram : Technique de coloration utilisée en bactériologie pour visualiser les bactéries à l'examen microscopique. Cette technique comporte plusieurs étapes (violet de gentiane, lugol, puis bain d'alcool, puis fuschine). Les bactéries dont la coloration première résiste à l'alcool apparaissent violettes et sont dites à gram+, celles qui deviennent roses sont dites à gram-. Cette différence de coloration traduit une différence de structure de la paroi des bactéries

Granulocyte : Polynucléaire

Immunoglobuline : Anticorps. Protéine du sérum sanguin secrétée par les plasmocytes, issus des lymphocytes B. On distingue cinq types d'immunoglobulines : les IgA, les IgD, les IgE, les IgG et les IgM.

Incidence : Nombre de nouveaux cas apparus pendant une période donnée dans une population donnée

Leucocyte : Globules blancs. On distingue les polynucléaires neutrophiles, basophiles et éosinophiles, les monocytes et les lymphocytes

Lymphocyte : Leucocyte de petite taille, caractérisé par un gros noyau et peu de granulation. Les lymphocytes représentent 20 à 30 % des leucocytes du sang et sont responsables des réactions de défense de l'organisme. On distingue les lymphocytes B, qui se développent dans la moelle osseuse et sont responsables de la réponse immunitaire humorale (production d'anticorps), des lymphocytes T, dont la maturation s'effectue dans le thymus et qui sont responsables de la réponse immunitaire de type cellulaire.

Kyste : Forme de résistance que peuvent prendre certains organismes.

**Lyse** : Destruction d'éléments organiques sous l'action d'agents physiques, chimiques ou biologiques

**Macrophage** : Grosse cellule issue des monocytes, ayant la propriété d'ingérer et détruire de grosses particules par phagocytose. Ils sont présents dans tous les tissus et se déplacent sous l'effet de diverses protéines, dont les cytokines. En exposant à leur surface, après les avoir digérées, les protéines étrangères, les macrophages présentent aux lymphocytes T les antigènes contre lesquels ils doivent réagir.

**Mastocyte** : Cellule du tissu conjonctif qui sécrète des substances chimiques (sérotonine, histamine, héparine et de nombreuses enzymes) libérées dans le sang lors d'une réaction antigène-anticorps. Les mastocytes entraînent une dilatation et une augmentation de la perméabilité des vaisseaux sanguins de la peau et un appel de cellules (polynucléaires éosinophiles) intervenant dans le phénomène d'inflammation.

**Médiateur** : Substance chimique par laquelle une cellule exerce ses effets (exemple : l'histamine)

**Mésentérique** : se rapporte à la membrane conjonctive reliant les anses de l'intestin grêle à la paroi postérieure de l'abdomen

**Monocyte** : Gros leucocyte mononucléaire qui se transforme en macrophage après avoir gagné les tissus

**Morbidité** : Nombre de malades dans un groupe donné et pendant un temps donné

**Oocyste** : Forme de résistance de certains parasites, issus d'un cycle de reproduction sexué.

**Parasite** : Organisme animal ou végétal vivant aux dépens d'un autre (appelé hôte), lui portant préjudice, mais sans le détruire

**Polynucléaire** : Globule blanc caractérisé par un noyau à plusieurs lobes et des granulations spécifiques. On distingue trois types de polynucléaires selon la nature des colorants fixés par les granulations : les polynucléaires basophiles (retiennent les colorants basiques), les polynucléaires neutrophiles (retiennent les colorants neutres) et les polynucléaires éosinophiles (retiennent les colorants acides)

**Prévalence** : Nombre de cas dans une population donnée, à un moment donné

**Procaryote** : Être vivant dépourvu de noyau cellulaire (bactéries, cyanobactéries)

**Saprophyte** : Qui vit dans l'organisme mais sans être pathogène

**Spirométrie** : Technique de mesure qui consiste à mesurer les volumes expirés des poumons, soit après un effort maximal, soit après un effort

**Symbiotique** : Qualifie l'association réciproquement profitable entre deux organismes vivants

**Taux d'attaque** : Nombre de cas rapporté au nombre de personnes exposées.

**Taux de mortalité** : Probabilité de décès pour un individu ayant développé la pathologie.

### 3. ACRONYMES

---

ADEME : agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie.

ADN : acide désoxyribonucléique.

AFSSA : agence française de sécurité sanitaire.

ARNr : acide ribonucléique ribosomal.

ATNC : agent transmissible non conventionnel.

CAREPS : centre Rhône-Alpes d'épidémiologie et de prévention sanitaire.

CEMAGREF : centre national du machinisme agricole et du génie rural des eaux et forêts.

CREDES : centre de recherche et de documentation en économie de la santé.

CSHPF : conseil supérieur d'hygiène publique de France.

CSTB : centre scientifique et technique du bâtiment.

DGS : direction générale de la santé.

DI<sub>50</sub> : dose provoquant une infection pour 50 % de la population.

DMI : dose minimale infectieuse.

ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay.

ENSP : école nationale de santé publique.

ESB : encéphalopathie spongiforme bovine.

ESST : encéphalopathie subaiguë spongiforme transmissible.

EU : endotoxin unit (unité endotoxine).

FAO : food and agriculture organization.

HACCP : hazard analysis critical control point.

FISH : fluorescent in-situ hybridation (hybridation fluorescente in situ).

ICPE : installation classée pour l'environnement.

INED : institut national d'études démographiques.

INRA : institut national de la recherche agronomique.

INSEE : institut national de la statistique et des études économiques.

INSERM : institut national de la santé et de la recherche médicale.

LD<sub>50</sub> : dose provoquant 50 % de mortalité.

LHVP : laboratoire d'hygiène de la ville de Paris.

MCJ : maladie de Creutzfeldt-Jakob.

NPP : nombre le plus probable.

OMS : organisation mondiale de la santé.

PCR : polymerase chain reaction.

UFC : unité formant colonie.

UFP : unité formant plaque.

## 4. INTRODUCTION

---

La loi sur l'air de 1996 a rappelé la nécessité de prendre en compte l'impact sanitaire lors de la réalisation d'une étude d'impact liée à une installation classée. Or pour certaines activités, comme celles liées à l'élevage et l'abattage des animaux ou celles liées au traitement des déchets, les agents dangereux sont principalement de nature biologique.

Parallèlement, dans les bâtiments, à côté des problèmes liés aux relargages de composés chimiques par les matériaux ou à l'émission de polluants liés à l'activité des occupants, de nombreuses publications scientifiques s'intéressent aujourd'hui aux effets sur la santé liés à différents agents de nature biologique (dont les effets en milieu professionnel sont bien connus) pour expliquer la prévalence croissante des rhinites et de l'asthme dans la population, voire la survenue d'effets plus graves encore, dans des bâtiments présentant des problèmes d'humidité.

Dans le domaine des risques chimiques, des guides méthodologiques ont été conçus pour aider les évaluateurs à mener leurs études. Ces guides renvoient notamment aux outils disponibles, qu'ils s'agissent des modèles ou des bases de données toxicologiques et physico-chimiques. Dans le domaine biologique, la démarche d'analyse n'est pas aussi avancée. Les données pour évaluer le risque lié à des expositions environnementales font défaut. De plus, le risque biologique présente de nombreuses spécificités qui empêchent une simple transposition de la méthodologie du domaine chimique au domaine biologique.

L'objet de cette étude est donc de présenter les informations disponibles concernant l'impact sanitaire des agents biologiques et parallèlement l'état de l'art en matière d'évaluation des risques biologiques.

Pour mieux comprendre la problématique, une présentation des agents biologiques et des effets liés à ces agents sera faite. Ensuite, des données statistiques françaises et un certain nombre d'éléments d'appréciation liés à l'impact sanitaire de ces agents seront exposés. Puis les spécificités et les difficultés de la démarche d'évaluation des risques biologiques seront analysées. Les données et les outils sur lesquels il semble nécessaire de s'appuyer pour mener à bien cette démarche seront présentés. La manière dont le risque biologique est pris en compte selon les secteurs d'activités, et les recherches menées pour améliorer cette prise en compte, seront également abordées. Au terme de cette étude, compte-tenu des difficultés spécifiques attachées aux risques biologiques, une démarche pour appréhender l'évaluation de ces risques liés à des sites et à des activités sera proposée.

## 5. LA NATURE DES AGENTS PATHOGENES

---

Les effets pouvant être associés aux microorganismes sont de différents types. En première approche, on distinguera le risque infectieux du risque toxique.

Un agent **infectieux** est un agent capable de se multiplier dans l'organisme hôte. Une infection peut se traduire ou non par une maladie. Si le microorganisme se développe chez l'hôte sans provoquer d'effets délétères, on parle alors d'une infection asymptomatique. La pathogénicité d'un agent infectieux relève de différents facteurs. Selon les cas, l'effet pathogène peut être principalement de type invasif (inflammation ou ulcération des tissus), après colonisation superficielle des tissus ou pénétration plus profonde, ou être lié à la production et à l'action de toxines dans l'organisme hôte. La terminologie semble fluctuante ; certains qualifient spécifiquement ce processus de pathogénicité par l'adjectif toxi-infectieux (Buchanan, 2000).

Le risque **toxique** se rapporte aux effets liés à la sécrétion et à l'excrétion dans le milieu d'un toxine par le microorganisme. C'est le cas par exemple pour certaines bactéries comme *Staphylococcus aureus* qui peut libérer une toxine dans un aliment et provoquer un effet délétère chez le consommateur même si le produit a été chauffé et la bactérie détruite par la cuisson. Dans ce cas, le mécanisme de pathogénicité peut être comparé à celui d'un agent chimique.

Les effets produits peuvent être aigus allant jusqu'à provoquer la mort, chroniques, de nature cancérogène ou encore allergique.

Le champ du risque biologique couvre des risques liés à des agents de nature très différentes : d'organismes multicellulaires comme les champignons à des molécules protéiques comme les prions. On distinguera ainsi :

- **les champignons et les levures,**
- **les algues,**
- **les helminthes,**
- **les protozoaires,**
- **les bactéries,**
- **les virus,**
- **les prions.**
- **les fragments de matériel animal et végétal**

Les agents listés ci-dessus font l'objet d'une présentation succincte rappelant leur nature, leurs caractéristiques de pathogénicité et certains éléments concernant leur présence et leur devenir dans l'environnement. Quelques exemples d'organismes appartenant à chaque groupe et pertinents dans le cas d'une exposition par le biais de l'environnement sont présentés.

## **5.1. LES CHAMPIGNONS ET LEVURES**

Il s'agit d'organismes uni ou pluricellulaires, eucaryotes et qui dépendent pour leur nutrition carbonée de la présence de matière en décomposition. Ils vivent donc en saprophytes, parfois en symbiotiques mais aussi en parasites. Ils se propagent en diffusant des spores. Les moisissures sont des champignons dont les organes de fructification ont une structure nettement filamenteuse.

Certains champignons sont pathogènes pour l'homme. Les sources d'exposition pour l'homme sont multiples car ils peuvent se développer sur de nombreuses sources carbonées : le sol, les végétaux, l'homme, les animaux malades ou porteurs sains, les papiers, ... Les réserves d'eau des humidificateurs peuvent aussi contenir des spores. Les moisissures peuvent être transmises par contact direct avec la peau ou par inhalation lors d'une mise en suspension de ces moisissures dans l'air. La contamination peut également avoir lieu par voie digestive ou par voie invasive (canule, cathéter). Le facteur critique de développement des moisissures est la disponibilité en eau du substrat. L'activité de l'eau doit être comprise entre 0,75 et 0,98 pour de nombreuses espèces.

Ainsi les champignons et levures peuvent :

- provoquer des mycoses,
- avoir des effets de type toxique,
- provoquer des allergies.

Les mycoses sont des développements de champignons sur un tissu, qu'ils lèsent par la sécrétion d'enzymes digestives. Des facteurs liés à la sensibilité de l'hôte (exemple : nouveau-né), à l'existence préalable d'une pathologie (SIDA notamment), à la prise d'un traitement antibactérien ou immunosuppresseur, à un acte chirurgical ou médical favorisent l'apparition de mycoses, dites opportunistes. Par exemple, l'aspergillose invasive nosocomiale, transmise à partir de spores mis en suspension dans l'air, touche 10% des greffés de moelle (CSHPF, 1996) et sa létalité dépasse 80 %, d'après une estimation, en 1990, du réseau de surveillance de l'Assistance Publique de Paris. Le risque de développement de mycoses concerne principalement les individus immunodéprimés.

Contrairement au risque de nature infectieuse, le risque toxique semble pouvoir concerner toute la population.

Concernant la voie d'inhalation, en milieu professionnel et non professionnel, la présence de moisissures a été associée notamment à des troubles respiratoires divers. Ainsi, dans différentes études, la présence de moisissures dans des bâtiments a été significativement associée à des troubles de type irritatifs : congestion nasale avec excrétion, toux persistante, sécrétions montantes, frissons, enrouement. Des troubles non spécifiques ont également été associés aux moisissures : nausées, maux de tête, étourdissement, douleurs articulaires, ... Chez des enfants exposés à des moisissures de bâtiments, un taux d'attaque d'infections respiratoires plus élevé a été constaté. Au travers d'études exposés/non exposés et d'études cas-témoins, un risque d'asthme et de symptômes asthmatiques accru a été associé à l'exposition aux moisissures ou aux habitats humides. Des cas sporadiques d'alvéolites allergiques extrinsèques (voir la description de cette pathologie au paragraphe 6.5.1) dues à *Penicillium* ou à des levures ont été rapportés dans la littérature, dans un contexte d'exposition à l'air intérieur. En milieu professionnel, de nombreuses espèces ont été identifiées comme cause d'alvéolite. Un risque de bronchite chronique pourrait aussi exister (Husman, 2000).

Les effets toxiques et allergiques sont liés à différents types de métabolites. Il peut s'agir de : constituants de la paroi cellulaire :  $\beta$ -(1,3)-glucan allergènes, ou de métabolites secondaires comme les mycotoxines, les composés organiques volatils et les allergènes. L'impact lié à chacun de ces agents toxiques et les mécanismes physiopathologiques sont encore mal connus.

Le  $\beta$ -(1,3)-glucan, composé de la paroi cellulaire du mycélium et des spores possèdent des propriétés inflammatoires. Les effets délétères du  $\beta$ -(1,3)-glucan pourraient être liés à son impact sur les macrophages alvéolaires et la phagocytose, première réponse du système immunitaire (Heederik, 2000, IRAS, 2001, Gehring, 2001).

Les composés organiques volatils produits par les moisissures dans l'air intérieur peuvent provoquer des réactions d'irritation nasales. Mais cet impact sur la santé par rapport aux autres sources de composés volatils dans un bâtiment n'est pas connu pour le moment. Les mélanges de composés produits (alcools, aldéhydes, cétones, esters, aromatiques) sont complexes et dépendent du substrat sur lequel les moisissures se développent.

Les allergènes des moisissures connus sont des glycoprotéines solubles dans l'eau. Mais peu d'allergènes produits par les moisissures ont aujourd'hui été purifiés et reconnus. Les allergies aux moisissures sont plus fréquentes chez les enfants que chez les adultes.

Les spores de moisissures à fortes concentrations ( $5.10^8$  à  $3.10^9$  spores/m<sup>3</sup>) provoquent des alvéolites allergiques extrinsèques (notamment chez les professionnels). A plus faibles concentrations, des effets allergiques peuvent apparaître chez les sujets atopiques.

Les mycotoxines peuvent être produites par de nombreuses espèces de moisissures. Les mycotoxines sont localisées dans le mycélium et dans les spores. Elles peuvent être ingérées, inhalées mais aussi absorbées par la peau car la plupart sont liposolubles. Toutes les mycotoxines n'ont vraisemblablement pas été identifiées. De même, l'ensemble des effets qu'elles peuvent produire ne sont pas connus. Ce sont les effets par voie d'ingestion qui sont le mieux connus. Néanmoins, ces métabolites apparaissent déjà comme des agents potentiellement dangereux pour la santé par les différentes voies. Presque toutes ont un effet immunosuppresseur (Oswald, 2000).

A titre d'exemples, on citera :

- les aflatoxines sécrétées par les aspergillus. Certaines sont des cancérigènes certains chez l'homme,
- les toxines de l'ergot sécrétées par *Claviceps purpurea* : neurotoxine provoquant les effets connus sous le nom de Feu de Saint-Antoine,
- les trichothecenes sont mutagènes et inhibent la synthèse protéique. A doses élevées, des effets cytotoxiques ont été mis en évidence en particulier sur les cellules du système immunitaire. A faibles doses, ces mycotoxines sont des irritants de la peau et un effet sur la réponse immunitaire des mammifères apparaît. Des effets sur la production des hématies et des plaquettes, sur la coagulation, le rythme cardiaque, la pression sanguine ont aussi été reportés.

(voir aussi la synthèse des données disponibles sur les biocontaminants de l'air intérieur en annexe D)

## 5.2. LES ALGUES

A l'exception des algues bleues-vertes (cyanobactéries), il s'agit d'organismes eucaryotes. La plupart sont unicellulaires. Elles sont responsables de goûts et de mauvaises odeurs dans les eaux de boisson. Certaines peuvent produire des neurotoxines pouvant être à l'origine d'intoxication chez l'homme via la consommation de poissons et de crustacés.

Quant aux cyanobactéries, elles produisent des exotoxines provoquant des empoisonnement chez les animaux venant s'abreuver dans des retenues d'eau où il y a eu multiplication foisonnante de ces algues. Au niveau humain, ces toxines peuvent provoquer des gastro-entérites, lorsque qu'elles sont absorbées avec les eaux d'alimentation. Des dermatites de contact lors de baignades en eau douce ont également été relevées. Dans des conditions particulières, des effets plus graves peuvent apparaître. Au Brésil, une épidémie d'atteintes aiguës du foie est survenue dans un centre de dialyse. Parmi, les 131 patients traités du 13 au 20 Février 1996 dans ce centre , 116 ont connu des troubles de la vision, des nausées et des vomissements. Par la suite, 100 patient ont eu une atteinte aiguë du foie et 76 d'entre eux sont morts. Le foie de 52 des personnes décédées a fait l'objet d'analyse et le principal facteur incriminé dans ces décès est l'exposition par voie intraveineuse aux microcystines (microcystin-YR, microcystin-LR et microcystin-Ar) : toxines hépatotoxiques sécrétées par des cyanobactéries (Carmichael, 2001).

Certaines cyanobactéries possèdent également des endotoxines au niveau de leur paroi pouvant être la cause d'épidémie de gastro-entérites, suite à l'ingestion d'eau contaminée par ce composé.

La contamination des eaux peut être liée à une multiplication de cyanobactéries dans des réservoirs d'eau à ciel ouvert ou à la contamination des eaux souterraines par des eaux usées traitées ou non (Leclerc, 1989).

### 5.3. LES HELMINTHES

(d'après Ann O' Fel, 1992)

Il s'agit de vers parasites. Ces parasites ont, pour certains, un cycle de développement complexe avec passage ou non dans le milieu extérieur et passage par un ou plusieurs hôte. L'hôte définitif est celui qui abrite le parasite à l'état adulte, les hôtes intermédiaires sont les organismes vivants qui possèdent la ou les formes larvaires ou asexuées du parasite.

Les helminthes comprennent :

- les cestodes (exemple : *Tænia saginata*, parasite banal en France touchant 0,5 % de la population en âge de manger de la viande de bœuf. Le cycle de développement est le suivant : les œufs sont rejetés dans les selles et déposés sur le sol. L'œuf ingéré par un bovin se transforme en larve enkystée (nommée cysticerque) dans un muscle. La contamination humaine a lieu par ingestion de viande peu cuite. Le cysticerque évolue en vers adulte dans l'intestin humain),
- les trématodes (exemple : *Schistosoma mansoni* est l'agent de la bilharziose pour laquelle la contamination a lieu par contact avec des eaux douces par passage de larves à travers la peau. Des mollusques servent d'hôtes intermédiaires où la larve évolue et se multiplie),
- et les nématodes (exemple : *Ascaris lumbricoides*. Les œufs sont rejetés dans les selles humaines. Dans le milieu extérieur, l'œuf évolue en œuf embryonné, si les conditions de température sont adéquates. La contamination de l'homme a alors lieu par ingestion de fruits et légumes souillés. Dans certains pays tropicaux, le pourcentage de population parasitée peut avoisiner 100 %. L'ascaridiose peut dégénérer en occlusion intestinale chez les enfants).

### 5.4. LES PROTOZOAIRE

Ce sont des organismes unicellulaires eucaryotes. Sauf exception, chaque cellule est indépendante. Leur taille varie de quelques microns à quelques millimètres mais la plupart des espèces ne dépassent pas quelques centaines de microns. Un certain nombre sont pathogènes pour l'homme. Ils peuvent former des structures résistantes dans l'environnement appelés kystes ou oocystes. La mise à sec, la chaleur, le froid, le manque de nourriture, la composition chimique du milieu font partie des facteurs qui conduisent à l'enkystement. Ces kystes ou oocystes restent viables plusieurs mois à plusieurs années. Le retour à des conditions favorables induit rapidement le phénomène inverse.

Parmi les protozoaires, on distingue les Rhizopodes, les Flagellés, les Sporozoaires et les Ciliés. Pour chacun de ces groupes on peut citer quelques espèces pathogènes pour l'homme et transmises via l'environnement (voir en Annexe A une liste plus étendue).

Pour les rhizopodes, on citera :

- *Naegleria fowleri* que l'on trouve naturellement dans le sol et les eaux. Les kystes peuvent être transportés par voie aérienne. La transmission à l'homme se fait lors de baignade en eaux douces ou en piscines. Cette espèce peut provoquer des méningo-encéphalites amibiennes primaires. Il s'agit d'une pathologie rare mais gravissime (Bard, 1995),
- *Acanthamoeba* présente dans les sols, les eaux et la poussière d'habitation. Elle peut provoquer des encéphalites amibiennes granulomateuses chez les sujets immunodéprimés et des lésions de l'œil chez les porteurs de lentilles (Bard, 1995),
- *Entamoeba histolytica* transmis par l'eau et les aliments, est responsable de la dysenterie amibienne et d'abcès hépatiques. Dans le monde, on évalue le nombre de morts liés à ce parasite à plus de 100000 par an. Dans les pays tempérés, la pathogénicité est plutôt latente (prévalence de cas infestés 4% aux USA) mais elle peut aussi évoluer en amibiase viscérale au pronostic sévère (ANN'OFEL, 1992).

Pour les Flagellés, on citera :

- *Giardia lamblia* qui est l'agent le plus souvent identifié dans les épisodes épidémiques liés à l'eau aux Etats-Unis. La prévalence de cette infection est comprise entre 2 et 5% dans les pays industrialisés. Cet agent provoque des diarrhées et un état nauséux.

Pour les sporozoaires, on citera,

- *Cryptosporidium parvum* qui est transmis à l'homme par l'eau, les aliments souillés par les fèces des bovins. Cet agent provoque des diarrhées. La prévalence de cette infection est élevée (1 à 3% en Europe et aux Etats-Unis. Les symptômes sont relativement bénins chez les personnes immunocompétentes. En revanche, l'évolution de l'infection chez les personnes immunodéprimées et notamment les malades du SIDA en fait une maladie grave, puisqu'elle se transforme en diarrhée chronique entraînant déshydratation et perte de poids importante pouvant conduire à la mort (taux de létalité chez les malades du SIDA lors d'épisodes épidémiques liés à l'eau d'alimentation : 50 %) (Haas, 1999),
- *Cyclospora* est un agent transmis par l'eau et les aliments. L'homme semble être le seul porteur. Il provoque des gastro-entérites. La prévalence de cette infection est mal connue. Des épisodes épidémiques ont été identifiés.

## 5.5. LES BACTERIES

Ce sont des organismes procaryotes. De nombreux genres et espèces de bactéries sont répertoriés.

Leur pathogénicité peut être liée à la libération de toxines ou à leur caractère invasif.

Certaines produisent des spores très résistants à la chaleur et pouvant survivre longtemps dans l'environnement. De nombreuses bactéries pathogènes pour l'homme infectent à la fois les hommes et les animaux. Certaines bactéries pathogènes pour l'homme sont capables de se multiplier dans l'environnement, même si la plupart ne survivent pas longtemps dans le sol ou l'eau.

### 5.5.1. Exemples de bactéries infectieuses

Parmi les bactéries les plus communes, infectieuses, pathogènes pour l'homme et transmises par l'environnement, on citera<sup>1</sup> (voir en Annexe A une liste plus étendue) :

- les Enterobacteriaceae avec les bactéries suivantes :
  - salmonelles : aux USA, il s'agit de la deuxième cause de gastro-entérites. On y estime entre 2 et 5 millions par an le nombre de salmonelloses, la sévérité des cas étant très variable ;
  - shigelles. Plus virulentes que les salmonelles, elles sont facilement transmises de personnes à personnes, par les aliments et par l'eau ;
  - *Escherichia coli*. Il s'agit d'une espèce vivant dans le tube digestif de l'homme et des animaux à sang chaud de manière commensale. Pourtant 4 types sont pathogènes pour l'homme : les entéropathogènes (EPEC), les entérotoxigènes (ETEC), les entéroinvasives (EIEC) et les entérohémorragiques (EHEC) qui peuvent induire le syndrome urémique hémolytique (anémie hémolytique avec insuffisance rénale). Ce dernier est mortel dans 10 % des cas chez les jeunes enfants et les personnes âgées. L'incidence du syndrome urémique hémolytique est inférieur à 1/100 000 cas par an en France, chez les enfants de moins de 15 ans. Chez les jeunes enfants de moins de 2 ans, ce taux est de 2,8/100 000 par an (Bulletin épidémiologique annuel).
  - *Campylobacter* est la cause de gastro-entérites la plus communément identifiée aux U.S.A. et en Europe avec un taux de mortalité de 0,1 %. Cette bactérie peut aussi produire des effets de type chronique comme l'arthrite ou une paralysie neuromusculaire aiguë, appelée syndrome Guillain-Barré.
- *Vibrio cholerae* provoque le choléra, qui se caractérise par un diarrhée aqueuse engendrant une déshydratation extrême qui peut entraîner une mort rapide en l'absence de traitement. Le choléra persiste sous forme endémique dans les pays pauvres et des cas isolés sont régulièrement décrits en Europe et aux Etats-Unis, souvent liés à l'ingestion de crustacés contaminés. En France, 37 cas de choléra ont été déclarés en 1987.

---

<sup>1</sup> les bactéries citées ci-dessus ne sont pas définies de manière précise, en faisant systématiquement référence au genre, à l'espèce et au sérotype. Le but ici est d'illustrer à partir de quelques exemples les bactéries les plus souvent impliquées dans les pathologies humaines. Dans certains cas, seuls certains sérotypes d'une même espèce sont pathogènes, dans d'autres cas plusieurs espèces le sont.

- *Listeria monocytogenes* est une bactérie communément isolée dans l'environnement. Les épisodes infectieux mettent en cause les aliments comme le fromage, le lait, le chou. Elle entraîne chez les personnes immunodéprimées des céphalées, de la fièvre et différents degrés de paralysie. Chez le nouveau-né elle donne lieu à des méningo-encéphalites, ainsi que des infections oculaires, cutanées, septicémiques et endocardiques. Pour les infections in utero, le taux de mortalité est élevé (de 33 à 100%) (Haas, 1999). En France, l'incidence actuelle est de 0,3 cas pour 100000 habitants soit environ 200 cas par an. Le nombre de cas tend à diminuer avec 5 à 60 morts dénombrés par an (bulletin épidémiologique annuel).
- Légionelles : voir paragraphe 6.4

### 5.5.2. Les agents toxiques des bactéries

Certaines bactéries sécrètent des toxines qui peuvent être inhalées, ingérées ou entrées en contact cutané avec la peau ou les muqueuses. Les effets sont alors liés uniquement à l'exposition au composé chimique.

Il peut s'agir de métabolites libérés dans un aliment par une bactérie. On citera les exemples de :

- *Staphylococcus aureus* dont le réservoir est habituellement humain et qui produit une entérotoxine. Il s'agit d'une cause fréquemment reconnue de toxi-infections alimentaires,
- *Clostridium botulium* produisant une neurotoxine et entraînant des toxi-infections graves pouvant aller jusqu'à la paralysie motrice et atteindre les muscles respiratoires. Le réservoir est ubiquitaire. Une vingtaine de cas de botulisme serait recensé en France par an.

Il peut s'agir d'allergènes. Ainsi, les actinomycètes thermophiles produisent des allergènes responsables d'alvéolite allergique extrinsèque (voir la description de cette pathologie au paragraphe 6.5.1). Les quelques cas d'alvéolite allergique extrinsèque reliés à un problème d'air intérieur ont mis en cause des actinomycètes. Le compostage, les stockages de matériaux végétaux comme le foin et le grain favorisent le développement de ces germes (Dutkiewicz, 1997).

Il peut s'agir de composants de la paroi cellulaire des bactéries : les effets des endotoxines sont bien connus. D'autres composants sembleraient aussi posséder des effets délétères. C'est le cas des peptidoglycanes.

#### 5.5.2.1. Les endotoxines

(d'après Squinazi, 1993, Deschamps, 1994, Heederik, 1997, Heederik, 2000)

Ce sont des constituants de la membrane extérieure des bactéries gram-. Les endotoxines sont des composés de protéines, de lipides, et de lipopolysaccharides. Les effets biologiques des endotoxines sur l'homme sont liés aux lipopolysaccharides et en particulier à un phosphoglycolipide, nommé lipide A, de composition constante parmi les différentes espèces de bactéries.

Pour être active, les endotoxines doivent être libérées dans le milieu. Cela arrive lorsque la bactérie meurt ou lorsqu'elle se multiplie intensément.

Les matériaux végétaux, les fécès animaux contaminés par des bactéries constituent une source d'exposition importante aux endotoxines, via les poussières organiques. Leurs effets ont été clairement établis. Ces expositions peuvent provoquer un syndrome pseudo-grippal, une oppression thoracique, une toux sèche, une hyperactivité bronchique, une dyspnée, une diminution des fonctions respiratoires (volume expiratoire maximal par seconde). Les études épidémiologiques et expérimentales suggèrent également la possibilité de bronchite chronique et d'une réduction de la fonction pulmonaire. Par ailleurs, les endotoxines apparaissent comme un cofacteur aggravant de certaines pathologies respiratoires allergiques ou non.

Le mode d'action des endotoxines, au niveau biologique, est dû à l'activation des macrophages, qui augmentent leur activité bactéricide et cytolytique et sécrètent des médiateurs, qui agissent de manière séquentielle ou indépendante pour initier ou amplifier une réponse immune spécifique ou non. En fonction de la dose d'exposition, les effets peuvent être bénéfiques ou non. A doses élevées, la libération dans le sang de puissants médiateurs conduit à une fièvre élevée, une hypertension, une coagulation intravasculaire disséminée pouvant aller jusqu'au choc léthal.

La présence d'endotoxine a été identifiée dans de nombreux milieux. Squinazi rapportent dans différents milieux professionnels ou non, les ordres de grandeurs suivants : industries du coton : 70 à 5620 ng/m<sup>3</sup>, porcheries : 13000 ng/m<sup>3</sup>, stations d'épuration : 0,6 à 310 ng/m<sup>3</sup>, bâtiments mal aérés : 20 ng/m<sup>3</sup>, bâtiments avec humidificateurs : 100 à 390 ng/m<sup>3</sup>, poussières de maison : 0,02 à 20 ng/mg de poussières.

#### 5.5.2.2. Le peptidoglycane

Le peptidoglycane est un composant de la paroi cellulaire des bactéries gram+. Le peptidoglycane peut aussi être trouvé, mais en plus faible quantité chez les bactéries gram-.

Les données toxicologiques concernant ce composant sont encore peu nombreuses.

Toutefois, une étude de Zhiping (citée dans Heederik, 2000) a montré qu'à partir de trente-huit sujets en bonne santé exposés à de la poussière de porcherie, la concentration en lipopolysaccharide a été associée à l'augmentation d'interleukine-6 (médiateur produit par les macrophages) et à certains symptômes respiratoires, mais que seule la concentration en peptidoglycane a été positivement associée à la température corporelle trois heures après exposition, et à la concentration en granulocytes et leucocytes dans le sang. La paroi cellulaire des bactéries gram+ comporte plusieurs autres composants qui pourraient influencer sur les cellules des voies respiratoires : le muramyl dipeptide, l'acide teichoïque.

(voir aussi la synthèse des données disponibles sur les biocontaminants de l'air intérieur en annexe D).

### 5.6. LES VIRUS

Ce sont des entités particulières qui se situent entre les cellules vivantes et les macromolécules. Ne possédant ni noyau, ni capacité de synthèse, ce sont des parasites obligatoires d'une cellule vivante dont ils détournent à leur profit les systèmes enzymatiques, énergétiques et de synthèse (cours de virologie générale, Schwartzbrod). Les virus ne sont constitués que d'une molécule d'ADN (acide désoxyribonucléique) ou d'ARN (acide ribonucléique) entourés d'une capsid (coque protéique). Certains sont recouverts en outre d'une enveloppe lipoprotéique.

Les virus sont relativement spécifiques d'un hôte. Il existe des virus adaptés à chaque type d'hôtes (animaux, homme, plantes, champignons, algues, bactéries).

Les virus importants en terme de santé humaine sont les virus entériques transmis à l'homme par voie fécale-orale et les virus respiratoires, transmis par inhalation d'aérosols ou après contact des agents présents sur des objets inanimés. Certains virus peuvent être transmis par les deux voies.

Les virus entériques (polio, écho, coxsackie) peuvent produire des maladies très diverses : paralysie, méningites, hépatite, myocardie, conjonctivites, maladies respiratoires, ... Les virus coxsackie apparaissent comme les agents transmis par l'eau qui peuvent provoquer le plus de types de pathologies différentes. Coxsackievirus de type B est reconnu comme l'agent viral provoquant le plus de maladies du cœur. Il semble également que les infections à coxsackie puisse être reliée au développement par la suite d'un diabète insulino-dépendant (Haas, 1999).

Parmi les virus transmis par les eaux, on citera aussi :

- le virus de l'hépatite A, transmis par voie fécale-orale 5 % des cas sont symptomatiques chez les enfants de moins de cinq ans, en revanche, 75 % des cas le sont chez les adultes. Or avec l'amélioration des conditions d'hygiène dans les pays développés, la prévalence des anticorps a fortement baissé chez les jeunes. Ce fait pourrait induire des conséquences pathologiques plus importantes dans la population en cas d'épidémie,
- le virus de Norwalk provoquant 33 à 65 % des gastro-entérites non bactériennes. Aux USA, il s'agit du virus le plus souvent associé à des épisodes épidémiques liés à l'eau ou l'alimentation,
- le virus de l'hépatite E peu commun dans les pays développés mais caractérisé par un taux de mortalité de 17 à 33 % chez les femmes enceintes. Les porcs pourraient constituer un réservoir de cet agent,
- les adénovirus causent des pathologies variées conjonctivites, gastro-entérites, infections respiratoires parfois mortelles. Les épisodes épidémiques liés aux adénovirus dans des collectivités aux Etats-Unis sont nombreux. Les taux d'attaque sont élevés, allant jusqu'à 70 %, de même que les transmissions secondaires. La sévérité des effets est liée à l'état du système immunitaire des individus. Des épisodes épidémiques dévastateurs ont été relevés chez des personnes immunodéprimées avec des taux de mortalité allant de 50 à 60 %,
- les rotavirus responsables de nombreuses gastro-entérites infantiles.

Enfin, certains virus ont des propriétés oncogènes et sont évoqués pour expliquer les excès de cancers observés dans certaines professions.

## 5.7. LES PRIONS OU AGENTS TRANSMISSIBLES NON CONVENTIONNELS

Le terme "prion" (contraction de Proteinaceous Infectious particule" a été créé par S. Prusiner, pour désigner les agents non conventionnels responsables des encéphalopathies subaiguës spongiformes transmissibles (ESST), maladies du système nerveux central qui peuvent être héréditaires, sporadiques ou infectieuses, mais toujours mortelles. En effet, selon l'hypothèse la plus généralement acceptée, l'agent infectieux serait une protéine, isoforme d'une protéine normale présente chez l'individu sain, c'est-à-dire une protéine qui a la même composition que la protéine normale mais une conformation spatiale différente. Cette protéine anormale a aussi été appelée "protéinase résistant protein" (PrP), car elle est résistante à l'action de la protéinase K, enzyme normalement capable de détruire et donc d'éliminer dans l'organisme les protéines lorsqu'elles ne sont plus utiles. Cette résistance à la protéinase K explique que les prions, qui ne peuvent plus être éliminés, s'accumulent dans le cerveau et conduisent lentement à sa destruction. La forme anormale (désignée par PrP-res pour signifier résistante à la protéinase K) conduirait par interaction avec les molécules normales (désignée par PrP-sen pour signifier sensible à la protéinase K) à une modification de la forme de ces dernières et les transformerait en PrP-res. Cette transformation en chaîne a lieu au sein des neurones et entraîne leur destruction.

Les prions induisent des maladies humaines et animales, transmissibles au sein de la même espèce et entre espèces différentes. Les ESST humaines rassemblent le Kuru, la maladie de Creutzfeldt-Jakob (MCJ), le Syndrome de Gerstmann-Straüssler-Scheinker, l'Insomnie fatale familiale et, de façon plus incertaine, la maladie d'Alpers. Chez l'animal, on peut citer par exemple la tremblante du mouton, l'encéphalite transmissible du vison et l'encéphalite subaiguë spongiforme bovine ("maladie de la vache folle").

Ces maladies ont aussi une dimension génétique, expliquant qu'il existe une certaine barrière d'espèce dans la transmission des agents transmissibles non conventionnels (ATNC) responsables des ESST et, que la susceptibilité à développer ce type de maladie est différente d'un individu à l'autre. En effet, la PrP-sen est synthétisée sous l'action d'un gène. Chez l'homme, ce gène se trouve sur le chromosome 20. Or tous les formes familiales de MCJ sont associées à des mutations du gène de la PrP. Quant aux autres formes de MCJ (forme sporadique, liée à la prise d'hormone de croissance ou nouveau variant de la maladie de Creutzfeldt-Jakob), la majorité des individus qui en est atteinte présente une homozygotie au niveau du codon 129 du gène codant pour cette protéine (CNRS).

Ces agents infectieux sont particulièrement résistants à de nombreux traitements physiques et chimiques (congélation, dessiccation, chaleur humide jusqu'à 130°C, chaleur sèche au-delà, ultrasons, UV, radiations ionisantes, éthanol, formaldéhyde).

Concernant l'origine de l'épidémie de l'ESB, plusieurs hypothèses sont avancées, notamment :

- le franchissement de la barrière d'espèce par l'agent de la tremblante du mouton par l'intermédiaire des farines animales,
- ou la présence spontanée de l'agent de l'ESB chez le bovin amplifiée, par le recyclage des carcasses bovines en farines animales.

Plusieurs résultats expérimentaux semblent aujourd'hui confirmer le fait que le nouveau variant de la MCJ est dû à l'exposition à l'agent de l'encéphalite spongiforme bovine (ESB). Le risque semble lié à une exposition par voie orale, par l'ingestion de matériel contaminé.

Concernant la transmissibilité, elle dépend de trois paramètres : la dose infectante, la voie d'infection et la barrière d'espèce (INRA).

La dose infectante est fonction de la quantité de tissu infecté et de son titre infectieux. En phase clinique, c'est le cerveau qui présente le titre infectieux le plus élevé. L'effet cumulé d'une exposition répétée n'est pas connu.

Expérimentalement les voies d'inoculation peuvent être hiérarchisées en fonction de leur efficacité à transmettre la maladie. L'ordre décroissant suivant peut être donné : intracérébrale, intraveineuse, intrapéritonéale, sous-cutanée et orale. Chez la souris, il faut une dose 200 000 fois supérieure pour transmettre l'ESB par voie orale que par voie intracérébrale.

Lorsque la maladie est transmise d'une espèce à l'autre, une diminution très importante de l'efficacité de la transmission et une augmentation de la durée d'incubation est observée. Ainsi les doses infectantes nécessaires au franchissement des barrières d'espèces sont très supérieures à celles assurant la contamination au sein d'une même espèce. Le passage par voie orale de l'ESB a été mis en évidence naturellement pour des espèces d'antilopes et de fauves, ainsi que chez le chat. Expérimentalement, la transmission par voie orale a pu être démontrée sur d'autres espèces, telles que le vison, la souris, le mouton et la chèvre. Concernant le porc et la volaille, aucune transmission par voie orale n'a pour l'instant été constatée mais l'agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA) indique que des conclusions définitives ne peuvent pour l'instant être tirées, compte tenu des données scientifiques peu nombreuses.

Une gramme de tissu nerveux contaminé suffit à transmettre la maladie par voie orale à un autre bovin. La relation dose-effet pour l'homme n'est pas connue, même si des hypothèses ont été effectuées par différents auteurs (DNV Technica, 1997, Gale, 1998).

La confirmation du diagnostic de la maladie ne peut être portée aujourd'hui qu'après la mort, par analyse de prélèvements tissulaires, en général de cerveau. Il s'agit soit d'un diagnostic, soit histologique, soit expérimental (consistant à essayer de transmettre la maladie à la souris par inoculation du tissu suspect par voie intracérébrale), soit par test biochimique (visant à mettre en évidence la protéine anormale par électrophorèse ou réaction immunologique).

Mais les connaissances concernant les prions sont encore faibles, notamment en ce qui concerne leur devenir dans l'environnement.

Pour la tremblante du mouton, il peut y avoir transmission horizontale de la maladie (transmission d'un individu à l'autre dans le troupeau). Des cas de tremblante dans un troupeau pâturant une prairie précédemment utilisée par des animaux malades sont apparus. Une expérience a montré que l'agent de la tremblante du hamster restait infectieux après trois ans passés dans la terre et que certains acariens du fourrage pourraient constituer un réservoir d'infection pour la tremblante du mouton. En revanche concernant l'agent de l'ESB, rien n'est démontré concernant son excrétion par les bovins et sa présence dans le sol. Jusqu'alors l'agent infectieux n'a pas été mis en évidence dans les fécès, la viande et le lait bovin atteints d'ESB.

## 5.8. LES FRAGMENTS DE MATERIEL ANIMAL ET VEGETAL

(d'après indoor Air Quality, 1995)

Les allergènes portés par de nombreux fragments de matériel animal et végétal sont capables de provoquer des réactions allergiques. Concernant les végétaux, de nombreux pollens issus de la végétation extérieure sont connus pour provoquer des allergies. Toutefois quelques plantes d'intérieur (papyrus, staphyphimium, Ficus benjamina) ont également été reconnues comme pouvant provoquer des allergies par leurs pollens. Des particules de fleurs fraîches ou séchées (Gypsophiles) peuvent aussi créer une sensibilité.

Quant aux allergènes d'origine animale, les trois principales sources sont les acariens, les blattes et les animaux domestiques.

- Les allergènes d'acariens ont été identifiés dans la plus grande partie du monde. Leur nombre est variable selon les lieux et les saisons. L'humidité est le facteur critique de développement des acariens. Ils se nourrissent des desquamations de la peau humaine ou/et des moisissures poussant sur ces desquamations. Leur nombre varie de 10 à 1000 par gramme de poussières. Les principaux allergènes des acariens sont Der p I, Der p II, Der f I, Der m I. Les concentrations en allergènes d'acariens peuvent aller de 10 à 30 0000 ng/g de poussières. La prévalence de la sensibilisation aux acariens dans la population générale est de 10 %. La prévalence de la sensibilité aux allergènes d'acariens est comprise entre 45 et 85 % dans la population asthmatique. Chez des patients sensibilisés, des concentrations en antigènes Der p supérieures à 2µg/g de poussières peuvent entraîner des réactions asthmatiques (ce qui correspondrait à 100 acariens par gramme de poussières). De même, une exposition précoce, chez des nourrissons, à des concentrations supérieures à 10 µg/g peut conduire au développement d'un asthme ultérieurement. Les acariens seraient responsables de 70 % des asthmes allergiques de l'enfant (CSTB, 1999).
- Trois espèces de blattes survivent dans nos régions : *Blattella germanica*, *Blattella orientalis* et *Periplaneta americana* (principalement dans les DOM-TOM). En plus d'être des vecteurs de maladies infectieuses, elles peuvent induire des manifestations allergiques respiratoires et cutanées car elles produisent de nombreux composés allergéniques. Les principaux sont : Bla g I et Bla g II. La prévalence de la sensibilisation aux blattes varie suivant les auteurs de 14 à 60 % ; ces résultats dispersés sont à rattacher aux différences dans les techniques diagnostiques et à l'hétérogénéité des populations étudiées : la sensibilisation aux blattes varie beaucoup d'une communauté urbaine à l'autre et d'un quartier à l'autre, elle est plus importante quand les conditions socio-économiques sont mauvaises (CSTB, 1999, [www.allergienet.com](http://www.allergienet.com)).
- Dans les pays occidentaux, l'allergène de chat est celui qui est le plus fréquemment responsable de sensibilisation après celui des acariens. Barbee et al. (rapporté dans Blay, 1999) ont montré que 25 % de la population générale étaient sensibilisés à l'allergène de chat. D'autres auteurs trouvent que ce chiffre est de 15 %. Quand à l'exposition, elle concernerait 20 à 30 % de la population. L'allergène majeur du chat est Fel d 1. Fel d 1 est associé à de fines particules qui restent longtemps en suspension dans l'air. Il a été trouvé une relation entre l'exposition aérienne à Fel d 1 et le développement d'une sensibilisation vis-à-vis des allergènes du chat. Les allergènes du chat peuvent aussi être présents dans les habitations où il n'y a pas de chat. Un taux de Fel d I supérieur à 8 µg/g de poussière serait suffisant pour déclencher une gêne chez un individu sensibilisé (Blay cité sur [www.allergienet.com](http://www.allergienet.com), Blay, 1999).

Par ailleurs, les phénomènes de cosensibilisation entre les différentes espèces de mammifères existent, ce qui peut s'expliquer par des homologies structurales et fonctionnelles entre les différentes molécules d'allergènes majeurs de ces animaux.

## **6. OBJECTIVATION DES RISQUES BIOLOGIQUES DANS LA POPULATION : ETAT SANITAIRE ET FAITS MARQUANTS**

---

Au niveau mondial, 50 % de la mortalité chez les enfants et les adultes jeunes sont liés aux maladies infectieuses. 90 % des décès sont liés à six maladies ou types de pathologies. Il s'agit (Peter Thorne, Course on biological agents, Utrecht, Netherlands, September 10-12 2001) :

- des infections respiratoires aiguës provoquant 3,5 millions de morts par an,
- du SIDA avec 2,2 millions de morts par an,
- des maladies diarrhéiques avec 2,2 millions de morts par an,
- de la tuberculose causant 1,5 millions de morts par an,
- de la malaria produisant 1,1 million de morts par an,
- et de la rougeole avec 0,9 million de morts par an.

En France et dans les pays développés, l'impact des maladies infectieuses est bien sûr moins dramatique. Ce chapitre a pour but de rassembler l'ensemble des éléments qualitatifs et quantitatifs permettant de définir l'impact des agents biologiques sur la population française.

### **6.1. LES DONNEES STATISTIQUES SUR LES PATHOLOGIES INFECTIEUSES**

Il existe différentes sources d'informations sur l'état de santé de la population française.

Certaines pathologies font l'objet d'une déclaration obligatoire. Ces déclarations sont collectées par les médecins inspecteurs de santé publique. D'autres pathologies peuvent faire l'objet de déclarations dans le cadre d'un réseau de médecins sentinelles. Il s'agit alors d'un cadre facultatif et parfois local. Par ailleurs, les centres nationaux de référence collectent les données microbiologiques sur les prélèvements analysés, ce qui permet de connaître l'incidence des agents et de les caractériser. On peut aussi citer les statistiques de morbidité hospitalière, les statistiques des caisses d'assurance de maladies (sur les maladies professionnelles, les affections de longue durée), les registres de morbidité sur certaines pathologies comme le cancer, les statistiques des structures de soins spécialisées, les résultats d'enquêtes et d'études d'organismes de recherche.

#### **Mortalité attribuable aux pathologies infectieuses**

Les causes de mortalité en France font l'objet de plusieurs bases de données :

- SCORE (<http://www.fnors.org/Score>),
- la base de données du site de l'INED (<http://www-deces.ined.fr>),
- et la base de données de Vallin et Meslé (<http://matisse.ined.fr>).

Ces bases de données sont constituées à partir des données de l'institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM) sur les causes de décès.

La base de donnée SCORE (base de données d'indicateurs de santé établie par les observatoires régionaux de santé) précise les causes de mortalité selon les 15 catégories correspondant à la liste S9 de l'INSERM. D'après ces données, la mortalité par maladies infectieuses et parasitaires représente 2 % des causes de mortalité chez les plus de 15 ans.

La base de donnée de l'institut national d'études démographiques (INED) et celle de Vallin et Meslé définissent les causes de décès de manière plus précise. Les causes retenues regroupent les rubriques détaillées de la Classification Internationale des Maladies, Traumatismes et Causes de Décès. Les dernières données disponibles datent de 1994. On peut en déduire que le taux de mortalité<sup>2</sup> par maladies infectieuses et parasitaires est de 22,5 cas pour 100 000 habitants par an, soit 2,5 % des causes de mortalité toutes classes d'âge confondues.

Mais cette classification internationale ne laisse pas nécessairement apparaître la cause des pathologies et des décès qui peuvent s'en suivre (l'origine microbienne d'une pathologie aux conséquences chroniques, par exemple, n'est pas repérée). De même, de nombreuses maladies microbiennes apparaissent dans d'autres chapitres que celui consacré aux maladies infectieuses. Par exemple, les infections respiratoires aiguës (rhume, bronchite, angine, ...) d'une part, et les pneumonies infectieuses et les gripes d'autre part, apparaissent dans le chapitre maladie respiratoire. Ces deux catégories d'infections représentent respectivement 0,2 % et 2,9 % des décès. Aussi, il est difficile de réaliser la synthèse et d'estimer le pourcentage global des décès ayant pour origine une infection microbienne. D'après le site Internet de la faculté de médecine de Tours, ce pourcentage s'élèverait à 10 %.

D'après toutes ces estimations, les maladies infectieuses restent une cause de mortalité relativement faible dans la population de notre pays. Toutefois, les taux de mortalité par maladies infectieuses dans les classes jeunes sont plus élevés. D'après la base de données de l'INED, le nombre de décès par maladies infectieuses et parasitaires chez les moins de un an est de 29 cas pour 100 000, soit 5,8 % des causes de décès dans cette tranche d'âge. Par ailleurs, 4,3 % des causes de décès chez les 1 à 4 ans seraient liées aux infections pulmonaires et 4,3 % de décès supplémentaires seraient liés à des infections généralisées chez ce groupe. En terme de nombre d'années de vie perdues, l'impact est donc plus important.

Toutefois, ces taux de mortalité ne reflètent pas l'incidence de ces maladies dans la population et leur coût économique.

### **Morbidité attribuables aux maladies infectieuses**

Pour définir le taux de morbidité lié à ces maladies, on peut s'appuyer sur le relevé des cas de maladies à déclaration obligatoire réalisé par les services déconcentrés du ministère chargé de la santé.

Les maladies suivantes font l'objet d'une déclaration obligatoire : le botulisme, la brucellose, le choléra, la diphtérie, les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes, les infections à méningocoque, la listériose, la légionellose, le paludisme autochtone, la poliomyélite, le SIDA, les toxi-infections alimentaires, la tuberculose, le tétanos, la peste, la variole, la fièvre jaune, la rage, le typhus exanthématique et les fièvres hémorragiques africaines.

---

<sup>2</sup> Dans le paragraphe 6.1, le taux de mortalité est défini comme le nombre de décès rapporté à la population.

Pour l'ensemble de ces maladies, le taux d'incidence de morbidité global est de 14,8 cas par an pour 100 000 personnes, les taux d'incidence les plus élevés étant ceux de la tuberculose : 9,7/100 000, du SIDA : 2,8/100 000, des légionelloses : 1,0/100 000 et des infections à méningocoques : 1/100 000.

On peut également se reporter aux enquêtes réalisées depuis 1960, par l'INSEE en collaboration avec le CREDES (centre de recherche et de documentation en économie de la santé). Ces enquêtes reposent sur la morbidité déclarée par la population, données qui sont contrôlées et validées par une équipe de médecins. La classification des maladies est la même que celle citée précédemment. On peut relever, parmi les données fournies par grands types de pathologies, les taux de prévalence de morbidité suivants, d'après l'enquête de 1991 : maladies infectieuses et parasitaires : 3,6 %, maladies de l'appareil respiratoire (toutes affections confondues) : 15,6 %, maladies de la peau : 10,9 %.

Certaines de ces pathologies sont de courte durée. Ainsi les maladies ORL et les maladies infectieuses et parasitaires sont les maladies qui apparaissent le plus fréquemment en cours d'enquête. L'analyse réalisée par l'ORS d'Ile de France montre que parmi les pathologies apparaissant en cours d'enquêtes, dans 36 % des cas il s'agit de maladies ORL et dans 16 % des cas de maladies classées comme infectieuses et parasitaires. Durant les trois mois d'enquêtes réalisés, l'incidence des rhino-pharyngites a été de 51% chez les Franciliens.

Aux Etats-Unis, on estime entre 67 et 257 millions le nombre de maladies diarrhéiques par an toutes causes confondues (Archer, 1985 dans Haas, 1999), soit de 0,25 à 1 cas par an et par personne. En France, une étude réalisée pendant neuf mois, sur un panel de volontaires de la population générale en milieu rural (desservi par une eau de boisson conforme aux critères de qualité microbiologique), donne une incidence 0,2 cas de gastro-entérites (définies comme un épisode de diarrhées d'une durée d'au moins 2 jours, accompagné d'au moins un autre signe "objectif" comme des vomissements ou de la fièvre) par an et par personne et 2, 8 cas par an et par personne de troubles digestifs aigus (définis comme des troubles généraux pouvant être des douleurs abdominales, des nausées, des vomissements ou des diarrhées) (Gofti, 2001).

Ces données tendent à montrer une fréquence importante dans la population de pathologies considérées comme bénignes, qui au total ont vraisemblablement un coût économique et sanitaire élevé.

Enfin, il faut souligner que les chiffres sur la mortalité et la morbidité sous-estiment la réalité. En effet, pour certaines de ces infections qui sont de courte durée, il n'y a pas nécessairement consultation d'un médecin par les malades, le diagnostic n'est pas toujours posé, la cause microbienne d'une affection notamment dans le cas de séquelles chronique n'est pas toujours identifiée, un test adéquat n'est pas nécessairement réalisé pour identifier le germe.

Ainsi, malgré la vaccination et les progrès de l'hygiène, les maladies infectieuses restent néanmoins d'actualité. De nouvelles pathologies émergent (par exemple, le SIDA, le nouveau variant de la maladie de Creutzfeldt-Jacob), d'autres semblent se développer (par exemple la légionellose, comme indiqué dans le sous-paragraphe suivant), d'anciennes pathologies reviennent en force (par exemple, la tuberculose). Parmi les explications invoquées pour expliquer ces phénomènes, il y a la plus grande sensibilité de la population. Ce phénomène important à prendre en compte en terme de santé publique sera développé ci-dessous. Parallèlement, l'apparition des germes multirésistants doit également être considérée. Enfin, l'impact sanitaire des expositions aux agents biologiques sur les maladies respiratoires de type allergique ou asthmatique est encore mal connu dans la population générale. Mais l'incidence de ces pathologies dans la population rend nécessaire une meilleure connaissance de l'impact des bioaérosols sur la santé des populations.

## 6.2. L'ACCROISSEMENT DE LA SUSCEPTIBILITE DE LA POPULATION

Parmi les sous-groupes de population sensibles, C. Haas et al. (1999) définissent les femmes enceintes, les personnes âgées, les nouveaux-nés et les malades immunodéprimés. En prenant comme personnes âgées, les plus de 65 ans et pour le groupe des malades immunodéprimés, les patients en hôpitaux et en centres de soins, les cancéreux non hospitalisés, les patients ayant fait l'objet d'une greffe d'organes et les malades atteints du SIDA, l'auteur estime globalement que le pourcentage de personnes sensibles dans la population américaine en 1991 est proche de 20 %. Sachant d'une part, que les 2/3 de cette population sensible correspondent aux personnes âgées et sachant d'autre part, que la population française est plus âgée que la population américaine, on peut estimer, en s'appuyant sur les critères définis par Haas, que le pourcentage de personnes sensibles dans la population française est vraisemblablement encore plus élevé et pourrait correspondre à près d'un quart de la population totale. De plus, la proportion de personnes sensibles tend à augmenter du fait du vieillissement de la population et de l'amélioration des techniques médicales qui permettent la prise en charge des maladies de plus en plus lourdes et de personnes de plus en plus fragiles (grands prématurés).

Or, pour ces différents groupes de population sensibles, il y a non seulement un risque supérieur de morbidité et de mortalité liés aux agents pathogènes, mais également la possibilité d'apparition d'effets sévères liés à des agents dits «opportunistes».

A titre d'exemples,

- le taux de mortalité relié à des épidémies d'hépatites E est compris entre 2 et 3 % dans la population générale alors que chez les femmes enceintes, ce taux est de 10 % et peut atteindre 40 %,
- chez les personnes âgées, les taux de mortalité rapportés pour certains pathogènes entériques sont 10 à 100 supérieurs à ceux observés dans la population générale,
- les infections virales à Cocksackie pendant la grossesse peuvent induire une transmission à l'enfant in utero, lors de l'accouchement ou peu après l'accouchement. Dans 41 cas documentés, où le virus a eu un effet mortel sur les nouveaux-nés, seule la moitié des mères présentait des symptômes et pour la plupart d'entre elles, ces symptômes étaient de faible intensité,

- *Cryptosporidium* peut provoquer des diarrhées, des douleurs abdominales, de la fièvre et des nausées. Chez les personnes immunocompétentes, l'infection est limitée et résolue relativement rapidement. En revanche, chez les malades du SIDA, l'infection prend un caractère chronique, conduit à une déshydratation et une malnutrition et peut provoquer la mort. Dans certaines épidémies, les taux de mortalité chez les malades du SIDA ont été supérieurs à 50 %. Suite à l'épidémie de Milwaukee en 1993, liée à une contamination importante de l'eau de distribution par *Cryptosporidium parvum*, un taux d'attaque de 45 % et un taux de mortalité de 68 % ont été relevés dans la population sidéenne.

### 6.3. LA RESISTANCE DES GERMES ACCRUS

L'usage d'antibiotiques provoquent sur les germes une pression de sélection. Les germes sensibles meurent et favorisent ainsi la croissance des germes non sensibles qui n'ont plus de compétiteurs. Les bactéries peuvent acquérir ce caractère de résistance par mutation spontanée ou par transmission de matériels génétiques à partir d'une autre bactérie.

En l'an 2000, l'OMS a publié un rapport indiquant que le phénomène croissant de la pharmacorésistance risquait d'entraîner une érosion des progrès accomplis par la médecine au cours des dernières décennies.

Le rapport décrit en effet "comment la quasi-totalité des grandes maladies infectieuses commencent lentement mais sûrement à résister aux médicaments disponibles".

En Estonie, en Lettonie et dans certaines parties de la Fédération de Russie et de la Chine, plus de 10% des malades de la tuberculose présentent des souches qui résistent aux deux antituberculeux les plus puissants. A Paris, 50 % des otites ne peuvent plus être traitées par la pénicilline. Quant aux infections nosocomiales, les phénomènes de résistance sont fréquents. Ainsi *Staphylococcus aureus* et les entérocoques posent de nombreux problèmes notamment en milieu hospitalier. En France, *Staphylococcus aureus* est résistant dans 30 % des cas à la méthicilline. Au Japon, un cas d'infection à *Staphylococcus aureus* est apparu résistant, y compris à la vancomycine, dernier antibiotique qui se montrait encore efficace contre ce germe.

Par ailleurs, les coûts de traitement peuvent s'en trouver largement affectés. Par exemple, le traitement d'un cas de tuberculose polychimiorésistante est cent fois plus élevé que le coût du traitement d'un cas non résistant.

Dans les pays riches, l'utilisation abusive des médicaments est soulignée. En santé humaine, des médicaments sont souvent prescrits sans que le malade en ait vraiment besoin. Par ailleurs, 50 % de la production d'antibiotiques serviraient à traiter les animaux malades, à promouvoir la croissance du bétail et de la volaille ou à débarrasser les cultures d'organismes nuisibles. Or on sait que la forte utilisation d'antibiotiques dans les élevages est déjà à l'origine de la sélection de plusieurs bactéries pathogènes pour l'homme et résistantes aux médicaments habituellement utilisés en médecine humaine. C'est le cas par exemple d'un sérotype de salmonelles responsables de diarrhées et de septicémies.

Or le développement de nouvelles classes d'antibactériens demande beaucoup de temps et d'argent. L'institut Pasteur indique qu'aucune classe d'antibiotiques nouvelle n'a été découverte depuis 20 ans, d'où la crainte face à une perte rapide d'efficacité des médicaments actuels et la définition de principes pour une utilisation raisonnée des antimicrobiens par l'OMS.

#### **6.4. UNE MALADIE EMERGENTE LIEE AUX INSTALLATIONS INDUSTRIELLES ET DOMESTIQUES MODERNES : LA LEGIONELLOSE**

(d'après Squinazi, 2001)

Les légionelles sont des bactéries gram-, que l'on trouve à l'état naturel dans les eaux douces et les sols. On les trouve aussi dans les composts et les boues d'épuration. Il existe 43 espèces répertoriées et 64 sérogroupes.

Les légionelles sont à l'origine de la légionellose et de la fièvre de Pontiac.

- La légionellose est une pneumopathie aiguë grave qui nécessite l'administration rapide d'antibiotiques adaptés. Elle touche principalement les personnes fragilisées : personnes âgées, alcoolo-tabagiques, immunodéficients, insuffisants respiratoires chroniques. Elle présente une létalité élevée, comprise entre 15 et 20 %. 80 % des légionelloses sont dues au séro groupe 1 de Legionella pneumopila ;
- La fièvre de Pontiac est une forme bénigne correspondant à un syndrome pseudo-grippal, guérissant spontanément en 2 à 5 jours.

La légionellose est une maladie à déclaration obligatoire. En l'an 2000, 610 cas ont été déclarés en France, qui se sont accompagnés de 92 décès. Depuis 1996, le nombre de cas déclarés augmente. Cette augmentation est vraisemblablement due, en partie, à un meilleur taux de déclaration, suite à une circulaire de la DGS en 1997 qui visait à une surveillance renforcée de la légionellose. Mais les spécialistes estiment aussi que l'incidence de la maladie augmente dans la population. En fait, le nombre de cas diagnostiqués est estimé entre 1 000 et 1 500 par an.

La transmission à l'homme se fait par inhalation de fines gouttelettes (inférieures à 5 µm) d'eau contaminée par des légionelles. Il semble que ce soit la seule voie d'exposition pour l'homme.

Les légionelles peuvent proliférer dans l'eau stagnante à une température comprise entre 25°C et 43°C. Leur développement dans les circuits d'eau chaude est favorisé par les dépôts minéraux et organiques, la présence de certains matériaux comme le caoutchouc, le chlorure de vinyle, le polyéthylène ou le silicone qui favorisent la formation d'un biofilm. Elles peuvent aussi survivre et se développer dans certaines amibes. Ces amibes produisant des kystes, où les légionelles peuvent se retrouver en nombre important, fournissent une forme de protection aux légionelles qui peuvent ainsi résister à des conditions défavorables telle la chloration.

Les légionelles contaminent facilement les réseaux de distribution d'eau chaude sanitaire des lieux collectifs. Dans une enquête menée en région parisienne, 70 % des équipements collectifs de distribution d'eau chaude contenaient des légionelles. Les circuits d'eaux chaudes industrielles, les groupes frigorifiques utilisés en climatisation, en froid industriel ou commercial, les appareils individuels d'humidification de l'air, les bains bouillonnants, les équipements de thérapie respiratoire par aérosols, les installations de balnéothérapie et de thermalisme, les dispositifs de douches, les fontaines décoratives sont autant d'installations et de dispositifs favorables au développement des légionelles et pouvant conduire à une contamination de l'homme.

La plus forte épidémie de légionelloses date de 1999. Elle a eu lieu aux Pays-Bas, lors d'une exposition florale et est due à l'eau des fontaines décoratives. 181 personnes ont été atteintes par la légionellose et 21 décès ont été dénombrés.

Plusieurs épidémies ou cas groupés ont été observées dans des immeubles collectifs, des hôpitaux ou des hôtels. En 1998, lors de la coupe du Monde de football, une vingtaine de cas de légionelloses sont apparus à Paris. Une étude épidémiologique a été menée et semble mettre en cause une tour d'aéro-refroidissement (Decludt, 1999).

Les causes de contamination les plus communes semblent être en effet les douches et les tours d'aéro-refroidissement du secteur tertiaire. Les tours d'aéro-refroidissement constituent les dispositifs refroidissement des bâtiments et de diverses installations. Certaines de ces tours évacuent la chaleur vers l'extérieur en pulvérisant l'eau chaude en fines gouttelettes dans un flux d'air circulant à contre-courant grâce à un ventilateur. Cette circulation forcée de l'air provoque l'entraînement d'un aérosol de gouttelettes sur une distance pouvant atteindre plusieurs centaines de mètres. Ces aérosols peuvent alors pénétrer à l'intérieur d'immeubles par le biais des fenêtres ou des prises d'air d'aération ou atteindre des lieux de rassemblement de personnes à l'extérieur.

L'infectiosité et la virulence des légionelles, bactéries ubiquitaires et opportunistes ne sont pas connues. Aucune dose minimale infectante n'a été définie. Toutefois, dans les cas où l'origine de la contamination probable a été retrouvée, il semble que l'eau contenait plus de  $10^5$  légionelles par litre.

Pour lutter contre la légionellose, des mesures de gestion ont été mises en place à travers plusieurs textes de la Direction Générale de la Santé et du Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement. La circulaire du Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement datée du 23 avril 1999 concerne ainsi la conception, l'implantation, l'entretien et la maintenance des installations de réfrigération ou de compression relevant de la nomenclature des installations classées et disposant d'un système de refroidissement par pulvérisation d'eau dans un flux d'air. Pour une concentration en légionelles supérieure à  $10^5$  UFC/l l'installation de refroidissement doit être immédiatement stoppée, le niveau à atteindre ne devant pas dépasser 1000 UFC/l.

#### **6.5. LES PATHOLOGIES RESPIRATOIRES NON INFECTIEUSES LIES AUX AGENTS BIOLOGIQUES**

Les agents responsables de ces pathologies peuvent avoir une origine animale, végétale, bactérienne ou fongique comme indiqué dans le chapitre 5.

Selon le mécanisme inflammatoire mis en jeu, il peut s'agir de pathologies respiratoires allergiques ou non allergiques. Dans le premier cas, les symptômes inflammatoires sont dus à une réaction immune spécifique mettant en jeu des anticorps (IgE, IgG), dans le second cas, il s'agit de réactions non spécifiques. En pratique, il n'est pas toujours facile de faire une distinction entre ces deux mécanismes, car les symptômes sont souvent similaires.

Après avoir dressé une typologie de ces pathologies, les éléments disponibles permettant d'appréhender l'impact de ces pathologies dans la population seront présentés.

### 6.5.1. Les pathologies allergiques

L'allergie peut se définir comme des symptômes aigus ou chroniques, dus à des agents auxquels le sujet allergique s'est préalablement sensibilisé. L'allergie à un agent est donc toujours précédée par une phase de sensibilisation qui peut prendre plusieurs mois à plusieurs années. L'ensemble de la population exposée à un allergène ne développe pas nécessairement de sensibilisation vis-à-vis de cet allergène. De même, tous les individus sensibilisés ne présentent pas de symptômes allergiques. En fonction du type de réponse immunitaire mis en jeu, on distingue 4 types d'allergies.

Les pathologies respiratoires allergiques les plus communes : l'asthme allergique et la rhinite allergique correspondent au type I. Elles sont dues à une production d'IgE spécifiques de l'allergène. Ces IgE se fixent sur les mastocytes. La réaction allergique est due à une dégranulation des mastocytes et une libération de substances médiatrices inflammatoires, en présence d'allergènes. Dans un deuxième temps, il y a activation des oesinophiles, particulièrement abondants chez les sujets allergiques, qui libèrent aussi des substances médiatrices inflammatoires.

La rhinite allergique est due à une inflammation des muqueuses de l'appareil respiratoire et de la conjonctive. La rhinite allergique se traduit par des éternuements, la congestion et l'écoulement nasal, des démangeaisons, un larmoiement et des yeux rouges.

L'asthme allergique est une inflammation chronique des voies respiratoires qui induit des épisodes récurrents de sifflements, d'essoufflement, d'oppression thoracique et de toux. L'asthme est associé à une limitation du débit respiratoire variable et à une réactivité bronchique accrue vis-à-vis de nombreux stimuli.

Une troisième pathologie respiratoire allergique peut se développer dans le cas d'expositions massives à des microorganismes. Il s'agit de l'alvéolite allergique extrinsèque. L'alvéolite allergique extrinsèque suppose également une phase de sensibilisation mais elle repose sur un autre mécanisme immunologique que l'asthme et la rhinite allergique. Ce mécanisme est pour l'instant partiellement connu et les IgG. y jouent un rôle particulier. L'alvéolite allergique extrinsèque présente une forme aiguë, subaiguë et une forme chronique. La forme aiguë se caractérise par de la fièvre et des frissons, des manifestations pulmonaires, comme une oppression thoracique, une dyspnée et une toux. Les symptômes durent d'un à plusieurs jours. Dans le cas d'expositions récurrentes, il peut y avoir perte de poids et la dyspnée peut devenir progressivement continue. Dans la forme subaiguë, cela peut se traduire par une détérioration sévère de la fonction respiratoire, avec fatigue et perte de poids. La forme chronique correspond vraisemblablement aux séquelles sur le long terme des formes précédentes. Il s'agit alors d'une inflammation et d'une détérioration des tissus pulmonaires pouvant se traduire par une fibrose. Il s'agit donc d'une pathologie grave pouvant présenter des effets non réversibles.

### 6.5.2. Les pathologies non allergiques

Ces pathologies ne nécessitent pas de phase de sensibilisation et ne mettent pas en jeu d'anticorps spécifiques. Contrairement aux réactions de type allergique, ces pathologies peuvent apparaître chez la plupart des individus soumis à une exposition élevée d'agents en cause, même si des différences entre le niveau de sensibilité de chacun existent.

Les agents en cause sont des constituants de bactéries, de champignons et parfois de certaines plantes (voir chapitre 5). Les cellules de l'organisme mises en jeu sont les macrophages et les neutrophiles et le système du complément. Il s'agit en fait d'une réponse immunitaire normale permettant de protéger l'hôte des infections. A faibles doses, le système immunitaire est stimulé, permettant l'afflux de cellules de défense et la production de réactifs qui contribuent à la destruction microbienne au site de l'infection. A doses élevées, la libération dans le sang de cytokines et de métabolites puissants produit des symptômes respiratoires aigus.

Les effets produits sur la santé peuvent prendre la forme d'un asthme non allergique, de symptômes irritatifs, du syndrome des poussières toxiques, de bronchite chronique ou d'obstruction bronchique, sachant que ces différentes pathologies peuvent survenir en même temps dans un même environnement et se recouvrent aussi partiellement dans leur symptomatologie.

Les symptômes irritatifs correspondent à une toux sèche, une irritation des yeux, du nez et de la gorge. Ces symptômes ressemblent à ceux de la rhinite allergique.

L'asthme non allergique recouvre les mêmes symptômes que l'asthme allergique, sans toutefois une hyperréactivité persistante et sans mobilisation importante des oesinophiles.

Le syndrome toxique des poussières organiques se caractérise par de la fièvre, des frissons, une toux sèche, une oppression thoracique, des douleurs musculaires et articulaires et une sensation de malaise général. Les symptômes apparaissent de 4 à 10 heures après l'exposition et disparaissent spontanément les jours suivants. Suite à des expositions répétées, un phénomène d'adaptation peut apparaître, les symptômes n'apparaissant plus que lors d'une exposition forte inhabituelle ou une réexposition après éviction. Dans le cadre d'exposition professionnelle, on parle parfois de "fièvre du lundi matin", lors de la reprise des symptômes suite à l'éviction du week-end. Les symptômes du syndrome toxique des poussières sont assez similaires à ceux de l'alvéolite allergique extrinsèque mais ils sont généralement moins sévères, ils ne sont pas irréversibles et ils relèvent d'un mécanisme immunitaire différent. Les expositions nécessaires pour engendrer un syndrome toxique des poussières organiques sont généralement supérieures à celles pouvant engendrer un asthme non allergique. Comme pour l'asthme non allergique, les endotoxines jouent un rôle important dans la survenue de ces effets, mais ce ne sont pas nécessairement les seuls agents en cause : les mycotoxines, d'autres composés fongiques, des composés végétaux interviennent peut-être également.

La bronchite chronique se définit comme une toux et des expectorations durant plus de trois mois, pendant deux ans ou plus. Dans les faits, il peut y avoir un recouvrement important entre les symptômes de la bronchite chronique et ceux de l'asthme.

L'obstruction bronchique correspond à la limitation du débit respiratoire et est mesurée par spirométrie.

### **6.5.3. Eléments d'information sur la fréquence des pathologies respiratoires non infectieuses dues à des agents biologiques**

Une étude récente intitulée "European Community Health Survey" a été menée dans onze pays européens sur la prévalence des allergies respiratoires. Les prévalences de ces maladies ont été recensées dans quatre centres français. Tunon de Lara et al. (1999) rapportent les prévalences instantanées et cumulées de l'asthme et la prévalence de rhinite allergique pour plusieurs sous-groupes de populations dans une étude sur la ville de Bordeaux :

Tableau 1 : Prévalence des manifestations allergiques - Etude sur la ville de Bordeaux

(%)	enfants de 6-7 ans	adolescents 13-14 ans	adultes 20-44 ans
asthme prévalence instantanée	4,9	7,7	4,6
asthme prévalence cumulée	9,3	14,5	10,9
rhinite allergique	25,7	53,6	30,2

La prévalence instantanée correspond à la fraction de la population souffrant ou ayant souffert de manifestations asthmatiques durant l'année précédant l'enquête. La prévalence cumulée correspond à la fraction de la population ayant souffert de manifestations asthmatiques au moins une fois durant sa vie.

Au-delà de ces pourcentages élevés, il faut également noter une augmentation de la fréquence de l'asthme dans la population, puisqu'en 1992 la prévalence cumulée moyenne était de 8,9 % contre 5,4 % en 1982 et 3,3 % en 1968.

Quant à l'asthme d'origine professionnelle, il est devenu la plus fréquente des maladies respiratoires professionnelles dans les pays industrialisés (Smolik, 2001). Pourtant, les données concernant son incidence sont peu fiables. Les statistiques de déclaration sous-évaluent son incidence réelle (Sari-Minodier, 1999). D'après les données de l'observatoire des asthmes professionnels, 48,6 % des asthmes professionnels sont liés à un agent biologique.

Concernant les asthmes et rhinites allergiques, Douwes et al. (dans IRAS, 2001) soulignent que le risque professionnel pourrait encore augmenter du fait des nouveaux produits issus de la biotechnologie. Ainsi, l'utilisation d' $\alpha$ -amylase purifiée dans l'industrie boulangerie s'est accompagnée d'une augmentation des réactions allergiques chez les boulangers.

L'alvéolite allergique extrinsèque est une pathologie moins commune. Les professions les plus touchées sont les agriculteurs (on parle souvent de poumon du fermier) et tous les professions exposées à des poussières organiques contenant des moisissures ou des actinomycètes à des concentrations élevées (industries du compostage, des céréales, du champignon, élevage d'oiseaux, ...). Des cas sporadiques ont aussi été rapportés dans un contexte d'exposition par l'air intérieur, notamment suite à l'utilisation d'humidificateurs domestiques ultrasoniques.

Les industries où le risque d'asthme non allergique existe sont nombreuses (par exemple l'industrie textile, l'agriculture, les industries agro-alimentaires, les industries du déchets). La prévalence des ces symptômes pourrait atteindre 50 % de la population exposée (d'après Schenker et al. rapporté dans IRAS, 2001). Parmi ces individus, une proportion est susceptible de développer une obstruction chronique des voies respiratoires.

Le syndrome toxique des poussières organiques peut apparaître dans les environnements où la poussière organique est présente en concentration importante, en particulier, là où elle est fortement contaminée par des microorganismes (agriculture, industries céréalières, industries agro-alimentaires, industries textiles, stations d'épuration, élevages). Dans certains milieux très contaminés, tels que les élevages de porcs et de volaille, des prévalences supérieures à 10% ont été rapportées (Dalphin, 2001). Le syndrome toxique des poussières organiques peut aussi apparaître dans des locaux possédant des humidificateurs ou de systèmes d'air conditionné fortement contaminés par des microorganismes. Il peut donc concerner les personnels de bureaux (on parle de "fièvre des humidificateurs") ou les industries nécessitant une humidité contrôlée (par exemple l'imprimerie).

Le risque de bronchite chronique chez les agriculteurs est élevé. A partir d'études menées dans le Doubs, Dalphin (2001) donne, selon les secteurs agricoles et les caractéristiques de la population, des prévalences de bronchite chronique allant de 5 à 50 % et un risque relatif par rapport aux groupes contrôles allant de 2 à 10. Les autres secteurs où les travailleurs sont sujets à ce risque sont l'industrie céréalière, l'industrie du coton, de l'alimentation animale, ... Des premiers résultats d'études montrent également une association entre l'exposition à l'air intérieur et des symptômes de bronchites chroniques (Husman, 2000).

Pour finir, on rappellera que dans les pays occidentaux, la population passe la majeure partie de son temps à l'intérieur de bâtiments (80 % du temps en moyenne). Or, on parle souvent de "syndrome des bâtiments malsains", se traduisant par des rhinites, des migraines, des irritations oculaires et cutanées. 20 % des employés de bureau seraient exposés au syndrome des bâtiments malsains. D'après l'OMS, 30 % des immeubles neufs ou rénovés peuvent être atteints par ce syndrome. Les causes (facteurs physiques, chimiques ou biologiques) n'ont pas été clairement identifiées. Elles sont vraisemblablement multifactorielles.

Toutes les pathologies respiratoires non infectieuses ne se sont en effet pas dus à un agent biologique. Mais compte tenu du pourcentage de la population concernée par ce type de pathologie, tous facteurs tendant à accroître le nombre de personnes qui en sont atteintes ou à aggraver l'état de santé de celles-ci a un impact sanitaire important.

## **7. LA METHODOLOGIE DE L'EVALUATION DES RISQUES : LES SPECIFICITES LIEES AU RISQUE BIOLOGIQUE**

---

L'évaluation des risques biologiques procède par quatre étapes, comme dans le cadre des risques chimiques :

- la caractérisation du site et de l'activité,
- l'évaluation des expositions,
- l'évaluation de la toxicité,
- la caractérisation du risque.

Pratiquement, pour une évaluation des risques liés à un site et aux activités conduites sur ce site, ces étapes doivent être précédées par une étude des caractéristiques du site.

## 7.1. LA CARACTERISATION DU SITE ET DE L'ACTIVITE

Cette étape consiste à définir, en fonction des conditions du site et des modalités de l'activité :

- les sources d'agents dangereux et les activités dangereuses pour la santé humaine,
- les cibles exposées,
- les voies de transfert et d'exposition.

Il s'agit donc :

- de définir les étapes du process et les produits ou sous-produits issus de l'activité qui peuvent être dangereux. Par exemple, dans une station d'épuration, on peut identifier plusieurs produits comme les refus de dessablage, de dégrillage, les aérosols générés par le bassin de boues activées, les boues et les eaux usées traitées et rejetées ;
- d'identifier les populations exposées en fonction de leur mode d'exposition et de leur sensibilité potentielle, évaluée en fonction de leur âge et de leur état de santé (par exemple, on s'attachera à relever l'existence de centres hospitaliers ou centres de convalescence) ;
- de définir l'environnement et les aménagements sur le site qui peuvent favoriser ou non le transfert de certains germes dans les milieux d'exposition (par exemple, la pente du terrain peut favoriser le ruissellement d'effluents vers une rivière) ;
- de définir les conditions physiques qui peuvent favoriser la présence, la survie, voire le développement des microorganismes. L'humidité, la température, les rayonnements ultra-violets, la présence de nutriments, la présence ou l'absence d'oxygène, la présence ou l'absence d'une flore compétitive sont des paramètres importants. Ainsi, dans le cas des moisissures, l'humidité relative est un facteur important de développement. En fonction des genres et des espèces, leur résistance est variable. Selon l'activité de l'eau, différents espèces pourront être retrouvées dans l'environnement étudié.

Comme pour l'évaluation du risque chimique, cette étape de caractérisation du site permet de définir les hypothèses de base de l'évaluation des risques. Toutefois, en terme de voies de transfert et d'exposition, des éléments supplémentaires entrent en ligne de compte.

En plus, des voies d'exposition traditionnelles : ingestion, inhalation et contact cutané, le risque lié à la voie trans-cutanée devra parfois être considéré. C'est notamment, le cas pour les travailleurs de certaines industries, comme celles des déchets, où les coupures induisent une voie d'exposition supplémentaire.

Par ailleurs, le transfert du microorganisme du réservoir à la cible peut parfois être complexe et passé par l'intermédiaire d'objets inertes. Par exemple, les études tendent à montrer que la contamination des individus par le virus respiratoire syncytial (responsable d'infections des voies respiratoires profondes chez les jeunes enfants) et les rhinovirus (responsables de rhino-pharyngites) se fait souvent par le contact des mains avec des objets contaminés puis auto-inoculation des membranes conjonctives et nasales. De même, les contaminations croisées entre des aliments dans une cuisine montrent le rôle d'objets mal nettoyés (couteau, table) dans la transmission des germes pathogènes d'un aliment à un autre.

Dans le cas du risque microbiologique, il faut également s'attacher au rôle joué par les réservoirs vivants (animaux ou hommes) qui constituent une source de contamination. Ces réservoirs peuvent avoir un rôle simplement passif (permettant la dispersion des germes : par exemple, le rat porteur de puces, elles-mêmes infectées par le virus de la peste) ou un rôle actif (permettant en plus la multiplication des germes pathogènes en leur sein).

Enfin, dans le cas des risques de nature infectieuse, les transmissions secondaires peuvent être un élément important. Il s'agit en fait de la transmission d'un agent pathogène d'un individu en contact avec le milieu contaminé étudié à d'autres personnes, non exposées à ce milieu, et cela via différentes voies. Ainsi, une personne exposée à une source infectieuse dans le cadre de son travail peut, dans un deuxième temps, contaminer sa famille.

## **7.2. IDENTIFICATION DES DANGERS**

L'objectif est d'identifier les agents microbiens dangereux pour la santé et les différents effets associés à ces agents. Pour comprendre les problèmes spécifiques posés par le champ microbiologique en matière d'identification des dangers, un rappel de quelques notions concernant la pathogénicité des agents microbiens est présenté.

### **7.2.1. La pathogénicité**

#### **7.2.1.1. Les mécanismes de la pathogénicité**

Les effets peuvent être de nature infectieuse ou toxique.

Le processus infectieux procède par les étapes suivantes : le contact ou l'incorporation de cellules viables par l'hôte, l'adhésion de ces cellules en des sites spécifiques qui leur permettent de résister aux mécanismes naturels de nettoyage (toux, mouvement de l'intestin), éventuellement la pénétration des tissus adjacents puis la multiplication dans les cellules ou les tissus. Ce processus invasif peut être prédominant et suffisant pour provoquer des altérations cellulaires ou tissulaires, objectivées par des signes cliniques (c'est le cas pour *Shigella*, les salmonelles non typhiques, *Campylobacter*, *Yersina enterocolitica*). Mais les effets pathogènes peuvent aussi être souvent liés à la production de toxines in vivo (c'est le cas pour *Vibrio cholerae*, *E. coli* entérotoxigènes). Dans le cas des maladies transmises par l'eau et les aliments, il s'agit principalement de toxines protéiques. La production de ces toxines a lieu sur le site de multiplication des microorganismes. Elles peuvent être excrétées par les microorganismes ou libérées lors de la lyse de ces microorganismes (par exemple pour *Salmonella typhi*).

Les effets toxiques sont liés à l'exposition à des toxines présentes dans l'environnement et produites par des microorganismes. C'est l'exposition à la toxine qui produit l'effet et non la présence du microorganisme. Ainsi, *Staphylococcus aureus* peut être à l'origine de troubles digestifs parfois violents, en produisant dans les aliments, une entérotoxine thermostable, même si la bactérie a été détruite par la chaleur avant consommation de l'aliment.

Certains agents microbiens peuvent bien sûr agir selon plusieurs mécanismes induisant des réponses différentes de l'hôte.

### 7.2.1.2. Le pouvoir pathogène

Après contact avec un microorganisme, les conséquences peuvent être :

- l'absence d'infection (pas de germe détecté dans les prélèvements humains réalisés),
- une infection sans symptôme de maladie (infection asymptomatique). Dans ce cas, l'hôte infecté excrète néanmoins le germe infectieux et peut disséminer l'infection,
- un effet de type aigu, qui peut être d'intensité variable, de léger à sévère, voire entraîner la mort.
- un effet de type chronique

Campylobacter, bactérie entérique, peut par exemple entraîner, à la fois, des effets aigus, sous forme de gastro-entériques, et des effets chroniques, comme une paralysie neuromusculaire, dite syndrome de Guillain-Barré.

En terme d'effets, il est donc important de distinguer le caractère infectieux d'un germe, c'est-à-dire sa capacité à coloniser un organisme hôte, de sa virulence, qui correspond à la capacité d'induire des troubles cliniques chez l'hôte infecté.

**Par ailleurs, le pouvoir pathogène est la résultante de l'action d'un microorganisme et de la réceptivité de l'organisme hôte.** Ainsi, certains agents microbiens considérés comme des agents pathogènes redoutables, tels que le méningocoque responsable de la méningite cérébro-spinale ou salmonella *typhi*, agent de la fièvre typhoïde, peuvent être hébergés par un hôte sans occasionner le moindre trouble. On parle alors de porteurs sains. A l'inverse, certains microorganismes, naturellement saprophytes ou appartenant à la flore normale de l'individu peuvent se manifester comme pathogènes, lorsque les mécanismes de défense de l'hôte sont diminués.

Cette observation a deux conséquences majeures :

- 1. Une simple classification des microorganismes en microorganismes pathogènes d'un côté et microorganismes saprophytes de l'autre n'est pas possible.** Toutefois, par convention, on distingue habituellement les microorganismes pathogènes spécifiques, produisant des effets spécifiques chez l'homme bien portant, des microorganismes, dits pathogènes opportunistes, provoquant des troubles divers chez un sujet réceptif, aux défenses immunitaires amoindries (Leclerc, 89).
- 2. Les effets d'un agent peuvent différer en fonction de la personne, voire en fonction de la population exposée, selon son statut immunitaire.**

Comme indiqué précédemment, les populations sensibles montrent des taux d'attaque et une sévérité des effets bien plus élevés que la population générale (voir paragraphe 6.2). A contrario, certains individus dans une population peuvent présenter une immunité acquise. Selon le type d'agent, cette immunité peut durer toute la vie de l'individu ou au contraire être de courte durée (c'est le cas pour le virus de Norwalk).

D'une population à une autre, le statut immunitaire (c'est-à-dire ici, l'état sanitaire, le niveau d'infection endémique) peut être différent. Cela peut avoir pour conséquence de rendre difficile une extrapolation des données épidémiologiques issues d'une population en un lieu, à une autre population en un autre lieu.

### **7.2.2. Approche proposée**

L'évaluation du risque sur un site nécessite la recherche préalable des effets et des agents dangereux, auxquels la population exposée peut être soumise.

Dans le domaine biologique, les agents dangereux (bactéries, virus, parasites, prions, champignons, levures, toxines) sont innombrables. Leurs concentrations et occurrences sont variables dans le temps (par exemple variabilité saisonnière). De plus, les populations sont exposées à des agents microbiologiques potentiellement dangereux et un certain niveau d'infection existe dans la population, en dehors de toutes activités polluantes particulières.

Ces trois éléments associés au fait que certains germes peuvent apparaître comme des agents pathogènes opportunistes rendent impossible la définition d'une liste exhaustive d'agents biologiques dangereux dans le cadre d'une évaluation des risques microbiologiques.

La sélection des agents et des effets à prendre en compte dans l'évaluation des risques passe par un travail qui doit se baser sur l'épidémiologie, l'étude des cas cliniques et la microbiologie environnementale.

Les conditions environnementales définissent les possibilités de survie, voire de multiplication d'un germe. Ainsi, les connaissances sur l'écologie microbienne vont permettre de savoir si le milieu et les voies d'exposition sont compatibles avec la réalisation d'un contact entre un individu et un agent microbien (exemple : le cycle parasitaire de tel helminthe peut-il se réaliser ?).

Mais, c'est avant tout les données épidémiologiques et le relevé des cas cliniques, qui vont permettre de sélectionner les agents à prendre en compte dans l'évaluation de risque. Dans le cadre d'une activité ou suite à un type d'exposition, le relevé d'effets sévères ou l'augmentation de l'incidence d'une maladie liée à une activité ou à un type d'exposition, par ailleurs endémique, doit conduire à prendre en compte le ou les agents microbiens associés ou encore des germes indicateurs auxquels le niveau de risque peut être corrélé (ainsi dans le cadre des baignades, les streptocoques fécaux se sont révélés être des bons indicateurs des troubles digestifs).

### **7.2.3. Difficultés liées à l'interprétation des données**

Les données bibliographiques, permettant d'identifier les effets dangereux pour la santé et les agents microbiens associés, peuvent présenter plusieurs limites, qui doivent être repérées.

Faute d'un relevé parfait des cas pathologiques, le nombre de cas, y compris dans le cadre d'une toxi-infection collective est toujours sous-estimée, en particulier parce que les individus ne consultent pas nécessairement un médecin, parce que certains cas sont asymptomatiques et parce qu'il n'y a pas forcément de prélèvement clinique ou de test spécifique réalisé.

Sur un plan qualitatif, seuls les effets aigus, apparaissant rapidement après l'exposition, sont associés à une exposition particulière. Le plus souvent, les effets chroniques ne sont pas reconnus et documentés.

Dans le cadre d'études épidémiologiques, l'utilisation des informations collectées peut poser problème. En effet, selon les études, la définition des cas peut reposer sur le relevé de la symptomatologie (exemple : maux de tête, diarrhée) sans identification de l'agent en cause, sur un diagnostic clinique ayant révélé la présence d'un germe ou sur l'identification d'anticorps chez le malade, qui peuvent en fait correspondre à une exposition récente ou plus ancienne. La signification de ces différents critères n'est pas la même, ce qui rend délicat la comparaison de différentes études.

### **7.3. EVALUATION DE L'EXPOSITION**

Le but de l'étape d'évaluation des expositions est d'estimer les concentrations et les doses d'expositions aux agents pathogènes. L'approche utilisée est principalement basée sur la mesure : mesure dans les milieux environnementaux, mesure chez l'hôte-récepteur. Compte tenu des limites liées à la métrologie, il peut également être fait recours à la modélisation, en s'appuyant sur les données de la microbiologie prédictive.

#### **7.3.1. Difficultés**

L'occurrence et la concentration des microorganismes sont variables dans le temps (variations journalières et saisonnières) et dans l'espace, limitant la signification de mesures ponctuelles réalisées dans les milieux environnementaux. La source de contamination peut elle-même être variable. Ainsi, la charge en microorganismes pathogènes pour l'homme des eaux usées rejetées dans une station d'épuration peut dépendre de l'état sanitaire de la population au moment de la campagne de mesure.

La forte hétérogénéité dans la répartition spatiale des germes pose des problèmes en terme d'interprétation des résultats de mesure. En effet, les microorganismes (en particulier les particules comme les virus) ont tendance à s'agglomérer. Dans le cas d'une eau à échantillonner, on peut soit réaliser un échantillon global d'un litre, soit prélever 100 échantillons de 10 ml. Dans le premier cas, on obtiendra, par exemple, une concentration de 10 virus par litre d'eau, dans le second cas, il est vraisemblable que beaucoup d'échantillons contiendront 0 germes et que ceux qui en contiendront, en auront plus d'un. On comprend alors que la prise d'un seul échantillon global conduit à (Gale, 1996) :

- une sous-évaluation du risque pour les germes peu infectieux. Avec une consommation d'un volume réduit, quelques personnes arriveront malgré tout à atteindre la dose minimale infectante,
- et une sur-évaluation du risque pour les germes très infectieux. Moins de personnes consommeront en fait la dose minimale infectante lors d'une seule prise.

Par ailleurs, la recherche de germes pathogènes est souvent longue, coûteuse et peu adaptée. En effet, les germes pathogènes sont souvent présents en concentration très faible par rapport à l'ensemble de la flore présente. Bien que viables et pouvant être infectieux, ils peuvent être difficilement cultivables. Leur mise en évidence et leur dénombrement peut alors être difficile, peu significatif et peu reproductible. Dans le domaine sanitaire, ces difficultés ont souvent conduit à rechercher des germes indicateurs, dont la mesure est mieux maîtrisée et plus adaptée à l'analyse en routine.

## 7.3.2. Les méthodes analytiques

### 7.3.2.1. Les analyses dans les milieux environnementaux

Pour l'eau, il peut être nécessaire de prélever de grands volumes et par conséquent de reconcentrer les germes sur un filtre ou de les adsorber sur un support puis de les extraire. Pour les milieux solides, les microorganismes sont, soit prélevés directement par contact ou bien extraits. Pour l'air trois, types de préleveurs existent : les préleveurs à impaction, les préleveurs à filtre et les préleveurs à piégeage liquide.

Les éléments à prendre en compte concernant la technique d'échantillonnage sont la représentativité de l'échantillon constitué, le type d'analyse pouvant être réalisée sur l'échantillon obtenu et les performances de l'échantillonneur en terme de récupération de germes.

Quant aux techniques d'analyse, elles sont relativement nombreuses. A côté des méthodes traditionnelles de culture ou des méthodes basées sur l'observation microscopique, de nouvelles techniques s'appuyant sur la génétique moléculaire et l'immunologie sont apparues. Chacune de ces méthodes possède des avantages et des inconvénients.

Une brève description des principaux types de méthodes est présentée ci-dessous.

#### 7.3.2.1.1. Les méthodes de culture

Traditionnellement, l'isolement d'un microorganisme se fait par méthode de culture et le taux de récupération des agents peut être faible et variable.

La culture cellulaire reste la technique la plus courante pour l'analyse des bactéries. L'ensemencement peut se faire sur milieux liquides ou solides. Sur milieu solide, l'ensemencement se fait par mise en culture d'une membrane ayant servi à filtrer et concentrer un échantillon liquide, par étalement en surface ou par incorporation en gélose. Différents milieux de culture existent pour sélectionner les bactéries pathogènes. L'identification des espèces peut se faire par différents tests immunochimiques. Le dénombrement se fait de manière directe par comptage des colonies formées sur milieu solide (il s'exprime alors en unités formant colonies : UFC) ou par définition du nombre le plus probable (NPP) en milieu liquide. Pour l'application de cette technique, plusieurs dilutions sont réalisées pour chaque échantillon à analyser et pour chaque dilution, plusieurs tubes sont ensemencés (généralement de 3 à 5). La réplification des microorganismes est constatée par la production d'une turbidité, d'un acide ou d'un gaz dans le tube. Le nombre de tubes positifs est alors compté pour chaque dilution et des tables permettent d'estimer le nombre de microorganismes dans l'échantillon original.

Pour les virus, la méthode de culture se fait sur des cellules d'origine humaine ou de cellules provenant de primate. La sélection d'une lignée de cellules doit être spécifique du type de virus étudié. La présence de virus conduit à la destruction des cellules et à l'apparition de plaques ou de zones claires. Le nombre de virus est supposé correspondre au nombre de plaques (le dénombrement est exprimé en UFP : unité formant plaques). Cette technique est la seule capable de prouver le caractère infectieux des virus.

Concernant les parasites, une méthode de culture a été développée pour *Cryptosporidium* sur des cellules d'adénocarcinomes. Le processus infectieux est détecté par observation des différentes phases du cycle par immunofluorescence. Un dénombrement par l'approche du nombre le plus probable est utilisé. Cette approche est une alternative au test d'infectiosité sur animaux.

L'analyse des pathogènes dans l'environnement peut nécessiter de nombreuses étapes (prélèvement, concentration, purification, réplification, identification et quantification). La technique de culture et donc une méthode lente.

Par ailleurs, les inconvénients des méthodes de culture sont liés au fait que les microorganismes ne se développent pas forcément sur les milieux de culture. Une certaine proportion de microorganismes peuvent être viables et pourtant être incapables de se multiplier sur un milieu de culture, du fait notamment du stress subi dans l'environnement. Par conséquent ces microorganismes non cultivables conduisent à une sous-estimation des concentrations de cellules viables et potentiellement pathogènes.

Dans le cas des virus, la culture sur lignées de cellules peut prendre de quelques jours à plusieurs semaines avant qu'il y ait apparition d'effets cytopathogéniques. Certains virus peuvent aussi se reproduire sans avoir d'effet cytopathogénique. De plus, les substances présentes dans les échantillons peuvent avoir un effet toxique sur les cellules.

#### 7.3.2.1.2. Les méthodes microscopiques

L'observation microscopique directe ou en utilisant des colorants fluorescents pour améliorer la visibilité (épifluorescence) est possible.

Pour les parasites, il s'agit de la méthode la plus employée.

L'observation microscopique s'est enrichie de nouvelles techniques. Ainsi, l'utilisation d'anticorps marqués par des agents fluorescents, l'utilisation de sondes génétiques et de la cytométrie permet le comptage et l'identification rapide des microorganismes. Ces techniques apportent de la spécificité à l'analyse microscopique, en permettant de dépasser le dénombrement des cellules totales, et des bactéries gram- et gram+ après coloration.

Toutefois, la spécificité des anticorps n'est pas toujours parfaite. Dans le cas de la détection des parasites, les anticorps disponibles ne se lient pas qu'aux espèces spécifiques de l'homme. De plus, la viabilité des kystes ne peut pas être évaluée par cette technique et il n'existe pas d'anticorps disponible pour tous les germes pathogènes pour l'homme.

Pour les virus, le recours au microscope électronique est nécessaire. Seules des quantités importantes de virion peuvent être observées ( $10^5$ ). Cette approche permet de mettre en évidence des virus non cultivables sur des cultures cellulaires, d'identifier certains virus après une étape de culture cellulaire, mais elle ne permet pas d'affirmer le caractère infectieux de ces virus.

La principale limite de l'analyse microscopique classique est liée au fait que l'ensemble des entités est dénombré, sans que l'on puisse distinguer les cellules mortes des cellules viables, voire d'un certain nombre de débris présents dans l'échantillon. Il y a donc surestimation des concentrations d'exposition et une variabilité relativement importante des résultats.

#### 7.3.2.1.3. Les méthodes moléculaires

Ces techniques sont basées sur la détection du matériel moléculaire de la cellule des microorganismes.

L'hybridation fluorescente in situ (FISH en anglais) est une technique qui utilise des sondes oligonucléaires qui sont complémentaires et s'hybrident à des séquences d'acide ribonucléique ribosomal (ARNr). L'ARNr est composé de séquences constantes et de séquences variables qui permettent l'identification de taxons à différents niveaux : groupes, genres, espèces. L'hybridation est réalisée sur des cellules intactes et le marquage par des colorants fluorescents permet la détection par microscopie épifluorescente. Récemment, l'analyse quantitative de bioaérosols par cette technique et l'usage de la cytométrie a été utilisée. La limite d'application de cette technique aux bioaérosols semble être liée au nombre d'ARNr dans les cellules, dont la concentration dans la cellule est beaucoup plus faible que pour des cellules cultivées se présentant en phase de croissance logarithmique (IRAS, 2001).

La PCR (ou polymérase chain reaction) est une technique consistant à amplifier la présence d'acide désoxyribonucléique (ADN) dans un échantillon pour en faciliter la détection. Cette amplification est faite en introduisant des séquences primaires complémentaires et spécifiques de la chaîne d'ADN que l'on souhaite amplifier. En quelques heures, l'ADN cible peut être multiplié de  $10^6$  à  $10^{10}$  et la présence d'un microorganisme précis détecté. En effet, il est possible d'introduire des séquences primaires, spécifiques à l'espèce ou au sérotype recherché, pour permettre la multiplication de l'ADN du seul microorganisme auquel on s'intéresse. Cette méthode est qualitative mais des approches pour en faire une méthode quantitative semble possible. Le principal intérêt de cette méthode est la rapidité et la précision de l'identification. Quelques heures suffisent à identifier la présence d'un sérotype pathogène particulier. Toutefois, des substances présentes dans l'échantillon de départ peuvent inhiber les réactions et un prétraitement des échantillons peut s'avérer nécessaire.

De plus, pour ces deux méthodes, il n'est pas possible de déterminer la viabilité des microorganismes.

#### 7.3.2.1.4. Les méthodes immunologiques

Elles reposent sur une association spécifique d'un antigène avec un anticorps.

Plusieurs techniques existent :

La technique ELISA. Elle consiste à détecter un antigène en le liant à un anticorps spécifique, lui-même fixé sur un support. Un deuxième anticorps lié à une enzyme est utilisé pour la détection. L'ensemble anticorps-enzyme vient se fixer sur l'antigène. Puis, mise en présence de son substrat, l'enzyme fixée, catalyse une réaction, dont le suivi permet de connaître la quantité d'antigène retenu et présent dans l'échantillon initial.

La technique RIA est basée sur le même principe. Mais l'enzyme est remplacée par un marquage radiologique.

Les limites de ces techniques sont liées à la plus ou moins grande spécificité des anticorps utilisés par rapport à l'agent recherché, aux liaisons non spécifiques qui peuvent avoir lieu entre les anticorps et des débris de l'échantillon.

### 7.3.2.2. Les analyses de milieux biologiques

Les mesures d'indicateurs biologiques peuvent aussi constituer de précieux éléments d'information. Par rapport à des prélèvements environnementaux qui donnent une image ponctuelle de l'exposition, ils peuvent offrir une image plus large de l'exposition dans le temps. Par exemple, la recherche d'anticorps permet de mettre en évidence une exposition passée à l'antigène correspondant. La recherche d'immunoglobulines de type IgE permet de mettre en évidence une sensibilisation à un allergène donné (à condition que l'allergène correspondant ait été identifié et soit disponible pour mener ce type de test). La réalisation de lavements de nez est une technique également employée par des équipes de chercheurs de différents pays d'Europe du Nord, pour vérifier si les symptômes dont se plaignent les travailleurs est plutôt d'origine toxique (liés aux endotoxines par exemple) ou de type allergique. Dans le premier cas, l'analyse des prélèvements montrera une prédominance de neutrophiles, dans le second une prédominance d'oesinophiles.

### 7.3.3. Approche proposée

Pour chaque situation, il sera nécessaire d'avoir une réflexion sur :

- le type d'entité à mesurer : agents pathogènes, germes indicateurs, germes totaux, germes viables, cultivables, métabolites,
- le mode d'échantillonnage à appliquer : milieux à échantillonner, fréquence et volume des échantillons,

en fonction :

- du danger identifié,
- du milieu d'exposition étudié (la mise en culture de microorganismes provenant d'un milieu aqueux donne de meilleur résultat que dans le cas de microorganismes issus du sol),
- de l'application ou non de procédés de traitement (qui vont modifier les capacités de cultures des germes et le rapport entre germes pathogènes et germes indicateurs de contamination),
- des performances des techniques analytiques (sensibilité, spécificité, et du taux de reviviscence),
- et des moyens disponibles.

### L'importance du choix des germes mesurés

Les indicateurs bactériens de contamination fécale ont été largement utilisés pour surveiller la qualité des eaux. Pourtant, il semble qu'un certain nombre d'épisodes épidémiques liés à la consommation d'eau aujourd'hui soient liés à des germes d'une autre nature : Cryptosporidium, Giardia, virus, pour lesquels le suivi des indicateurs traditionnels n'est pas totalement satisfaisant. Ainsi, entre 1984 et 1992, toutes les épidémies de cryptosporidiose liées à l'eau de boisson aux Etats-Unis ont eu lieu avec des eaux sans présence d'indicateurs bactériens.

Par exemple, pour estimer des expositions aux moisissures dans l'air, on peut s'intéresser à différents éléments : le nombre total de spores, le nombre de spores cultivables, le nombre de spores selon les espèces, ou encore aux composés cellulaires comme l'ergostérol, les polysaccharides extracellulaires, le  $\beta$ -(1,3)-glucan et certains allergènes, ou encore aux métabolites comme les mycotoxines, les composés organiques volatils et certains allergènes. Chacun de ces indicateurs et chacune des techniques permettant de les quantifier possèdent ces avantages et ces inconvénients (Pasanen, 2000).

### **L'importance du plan d'échantillonnage**

Une véritable estimation quantitative de l'exposition par la métrologie nécessite en fait la conception d'un échantillonnage adapté à travers une pré-étude qui permettra de connaître les caractéristiques de variabilités spatiales et temporelles. Une étude statistique visera à définir la distribution des microorganismes dans le milieu. La concentration des germes dans les milieux peut être représentée par la loi de Poisson, la loi Binomiale négative, la loi Lognormal-Poisson, la loi Gaussienne Inverse. Ces trois dernières distributions permettent de prendre en compte une variabilité du milieu en plus de la variabilité dans l'échantillon. En fonction de leurs paramètres, elles donnent des probabilités plus élevées pour les faibles et les forts dénombrements de germes. Ce travail est important pour évaluer correctement le niveau et la fréquence des expositions. Il permet de prendre en compte les effets d'agglomérats de germes, qui comme on l'a vu, peuvent être déterminants en terme de risque.

Faute de pouvoir réaliser ce travail statistique, seul un contrôle des expositions par des mesures répétées à différents moments de la journée, de la semaine, de la saison, visant à vérifier que les expositions maximales ne dépassent pas un seuil "tolérable", peut avoir un sens, ce seuil tolérable étant défini à travers une méta-analyse des données de la littérature sur les concentrations dans les milieux et les effets associés.

### **La place de la modélisation**

L'évaluation des expositions peut, dans certains cas, nécessiter un travail de modélisation pour estimer les concentrations finales de germes pathogènes dans le milieu d'exposition. Il peut, par exemple, s'agir d'évaluer la teneur résiduelle en virus, au point de captage d'une nappe souterraine contaminée par des lixiviats de décharge. Les différentes étapes de transfert peuvent alors être représentées par des fonctions et des paramètres. Dans ce cas, les données de la microbiologie prédictive pourront apporter des informations sur les taux de décroissance d'un microorganisme en fonction des conditions environnementales. Malheureusement, les données nécessaires pour estimer le devenir des germes pathogènes dans l'environnement sont souvent limitées. Seuls quelques domaines comme la réduction des microorganismes dans l'eau par des désinfectants, l'inactivation par les hautes températures dans les aliments et la recroissance bactérienne liée à une élévation de température lors d'un défaut de stockage semblent avoir été étudiés de manière plus importante et pouvoir fournir des données de paramétrage plus abondantes.

## **7.4. RELATION DOSE-EFFET**

L'objectif de cette étape est de définir une relation entre le niveau d'exposition aux microorganismes et la probabilité d'occurrence de développer un effet délétère.

### 7.4.1. Aspects théoriques

Là encore, il est important de distinguer les germes infectieux des germes dont le caractère toxique est lié à la production d'une toxine dans l'environnement. Dans ce cas, en fonction des propriétés de cette toxine, il est parfois possible de définir un seuil d'effet. Par exemple, Buchanan et al (2000) indique une concentration minimale de  $10^5$  CFU *Staphylococcus aureus* par gramme d'aliments pour que la quantité de toxine produite et présente dans l'aliment puisse induire un effet délétère. Le DECOS (Dutch Expert Committee on Occupational Standards) a proposé une valeur limite de 50 EU/m<sup>3</sup> pour les endotoxines (IRAS, 2001).

Concernant les germes infectieux, les relations dose-effet ont été pendant longtemps décrites par des valeurs ponctuelles comme :

- la dose minimale infectante (DMI), nombre minimal de germes administrés<sup>3</sup> pour induire une infection :
- la dose provoquant une infection pour 50% de la population (DI<sub>50</sub>),
- la dose provoquant 50% de mortalité (LD<sub>50</sub>) (Buchanan et al, 2000).

Plus récemment, des modèles ont été développés pour définir l'ensemble de la courbe relation dose-effet. Le plus souvent, l'effet pris en compte semble être l'apparition d'une infection.

En reprenant la dénomination donnée par Haas et al. (2000), on peut distinguer les modèles "empiriques" des modèles "mécanistiques". Dans les deux cas, ces modèles sont calibrés en les confrontant à des données expérimentales obtenues sur des animaux ou des hommes volontaires, ou grâce à des données épidémiologiques.

#### Les modèles empiriques

Les modèles empiriques reposent sur l'hypothèse d'un seuil de tolérance ou d'une dose minimale infectante pour chaque individu vis-à-vis d'un germe infectieux. Pour une exposition à une dose supérieure à ce seuil de tolérance, l'infection va se déclencher. Pour une exposition à une quantité de germes inférieure, il n'y aura pas d'infection chez l'individu considéré. La distribution des seuils de tolérance est représentée par une fonction de densité de probabilité. Un des modèles les plus étudiés suppose que ce seuil de tolérance est distribué selon une fonction lognormale. La probabilité P de développer une infection suite à une exposition à une quantité de germes s'écrit alors :

$$P = \frac{1}{\sqrt{2} * \pi} \int_{-\infty}^Z \exp\left(-\frac{z^2}{2}\right) dz$$

$$\text{avec } Z = \frac{\ln N - \mu}{\sigma}$$

N : dose d'exposition

μ : moyenne géométrique

σ : écart-type géométrique

---

<sup>3</sup> Dose administrée : dose entrant en contact avec les surfaces d'échange de l'organisme et disponible pour une éventuelle absorption

## Les modèles mécanistiques

Les modèles mécanistiques considèrent que la probabilité de développer une infection dépend d'une part de la quantité de germes avec laquelle l'hôte entre en contact et de la fraction de ces germes qui va effectivement atteindre un site d'infection. L'infection est alors le résultat de deux processus séquentiels.

Soient :

$P_1(j/d)$  : la probabilité pour un individu d'entrer en contact avec une quantité  $j$  de germes à partir d'un milieu induisant une exposition à une dose moyenne  $d$  (qui peut être le produit d'un volume et d'une densité),

$P_2(k/j)$  : la probabilité que  $k$  germes survivent, permettant d'initier une infection chez l'hôte, pour une quantité  $j$  de germes avec laquelle l'hôte est entré en contact,

si on considère ces deux processus comme indépendants et si  $k_{\min}$  est le nombre minimal de germes nécessaires dans l'organisme-hôte pour déclencher une infection, alors la probabilité de développer une infection pour une dose moyenne d'exposition  $d$ , peut s'écrire :

$$P(d) = \sum_{k=k_{\min}}^{\infty} \sum_{j=k}^{\infty} P_1(j/d) * P_2(k/j) \quad 4$$

A partir de là, de nombreuses formulations mathématiques peuvent être écrites en fonction des hypothèses retenues.

Concernant la distribution des microorganismes dans le milieu (et notamment dans le milieu aqueux) et donc la forme de  $P_1$ , l'hypothèse la plus classiquement retenue est celle d'une distribution de Poisson, mais comme on l'a vu dans le paragraphe 7.3.3, il en existe d'autres.

Concernant  $P_2$ , la principale hypothèse à définir concerne la valeur de  $k_{\min}$ . Deux théories existent : celle de l'action indépendante et celle de l'action coopérative. Dans le premier cas, on considère qu'un seul germe survivant dans l'organisme hôte suffit à déclencher une infection, c'est-à-dire  $k_{\min}=1$ . Dans le second cas, on considère au contraire que le déclenchement de l'infection nécessite l'existence de plusieurs germes, c'est-à-dire  $k_{\min}>1$ . L'hypothèse la plus fréquemment retenue est celle de l'hypothèse indépendante. En effet contenu des possibilités de multiplication des germes, la possibilité pour un microorganisme seul, d'initier une infection ne peut être exclue, même si cette probabilité est faible.

Cette hypothèse conduit à la définition du modèle exponentiel de la forme suivante :

$$P(d) = 1 - \exp(-rd) = 1 - \exp\left(-\frac{d}{k}\right)$$

avec  $r$  : constante correspondant à la probabilité de survie d'un microorganisme dans l'organisme

---

<sup>4</sup>  $K_{\min}$  ne correspond pas à la notion de dose minimale infectante citée dans la littérature, qui, elle, se rapporte à une dose d'exposition.

Un autre modèle dérivé de celui-ci est également très utilisé : le modèle béta-Poisson. Dans ce cas, la capacité de survie du pathogène dans l'hôte est représentée par une distribution de probabilité pour tenir compte du caractère variable de ce paramètre. La formulation mathématique finale est la suivante :

$$P(d) = 1 - \left(1 + \frac{d}{\beta}\right)^{-\alpha} \quad \text{ou} \quad P(d) = 1 - \left(1 + \frac{d}{N_{50}} \left(2^{\frac{1}{\alpha}} - 1\right)\right)^{-\alpha}$$

avec  $\alpha$  et  $\beta$  : paramètres de la fonction béta permettant de représenter la capacité de survie du microorganisme,

et  $N_{50}$  ( $DI_{50}$ ) : la dose d'exposition  $d$  conduisant à une probabilité d'infection de 50 %.

Les données expérimentales tendent à montrer une meilleure adéquation des modèles basés sur l'hypothèse de l'action indépendante que ceux basés sur l'hypothèse de l'action coopérative. Actuellement, la tendance est donc de privilégier les relations dose-effet basées sur les hypothèses d'absence de seuil et d'action indépendante, qui se caractérise par une extrapolation de type linéaire aux faibles doses.

#### 7.4.2. Données disponibles

Différentes publications proposent des relations dose-effet pour différents microorganismes (Haas, 83 ; Regli et al, 91 ; Haas, 93 ; Haas et al, 94 ; Eisenberg et al, 98 ; Coleman et al, 98 ; Gofti, 99, Holcomb et al., 99, Latimer et al, 2001). Néanmoins, le nombre de germes pour lesquels une équation mathématique décrivant une relation dose-effet a été définie est relativement faible (voir annexe C).

D'après le tableau récapitulatif présenté par Haas (2000), le modèle exponentiel s'adapte aux données obtenues sur les virus et les protozoaires (*Giardia* et *Cryptosporidium*). Toutefois, pour les virus, le faible nombre d'individus dans les différents cas d'étude donne peu de puissance aux tests statistiques réalisés. Concernant les bactéries entériques (*Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio*, *Campylobacter*), c'est le modèle Béta-poisson qui est en adéquation avec les données disponibles.

Par ailleurs, dans sa publication de 1983, Haas a testé trois types de modèles avec 9 jeux de données obtenues sur des pathogènes de la voie hydrique. Les pathogènes, objets de cette étude étaient les bactéries *Shigella* et *Salmonella*, les virus polio et échovirus et l'amibe : *Entamoeba coli*). Les modèles testés étaient les modèles lognormal, exponentiel et béta-poisson. Le modèle béta-poisson n'a pu être rejeté dans 7 cas sur 9, le modèle lognormal dans 5 cas sur 9 et le modèle exponentiel dans 3 cas sur 9. Lorsque plusieurs de ces modèles s'adaptaient aux données, la  $DI_{50}$  obtenue par les différents modèles étaient comparables. En revanche aux faibles doses, le niveau de risque obtenu avec le modèle béta-poisson était supérieur au risque obtenu avec le modèle lognormal.

En fait, aux faibles doses, les résultats peuvent différer de plusieurs ordres de grandeur. Gale (1998) illustre cela par un calcul de risque lié à l'ingestion d'eau contaminé par l'agent de l'ESB. Dans ce cas, le manque de connaissance ne permet pas de trancher de manière définitive entre le modèle exponentiel, supposant l'absence de seuil, et le modèle lognormal. Pourtant entre les deux modèles, il y a une différence de vingt ordres de grandeur dans l'estimation du risque ( $1,5 \cdot 10^{-8}$  d'excès de risque annuel lié à la consommation d'eau contre  $2,7 \cdot 10^{-28}$ ).

Des doses minimales infectantes (DMI) ou des doses infectieuses à 50 % (DI<sub>50</sub>) : peuvent également être recueillies au fil de la littérature (voir annexe C). D'une manière générale, ces données montrent une infectiosité des virus et des protozoaires 10 à 1 000 fois supérieures à celles des bactéries.

Au-delà du caractère infectieux, l'estimation du risque devrait prendre en compte la virulence et le pouvoir mortel d'un microorganisme. La virulence se définit comme la capacité d'un microorganisme à provoquer un effet délétère chez un sujet infecté. Il s'agit donc de la probabilité de développer une pathologie pour un sujet infecté. Quant au taux de mortalité, il correspond à la probabilité de décès pour un individu ayant développé la pathologie associée au microorganisme étudié.

Ces paramètres sont plus ou moins bien documentés dans la littérature, en fonction des données statistiques disponibles. A titre d'exemple, on donne pour la famille des entérovirus des chiffres allant de 1 à 97 %. Un tableau en annexe C présentent les taux de mortalité estimés pour un certain nombre de germes.

#### **7.4.3. Difficultés d'évaluation d'une relation dose-effet**

Les modèles présentés ci-dessus, basés sur des données expérimentales ou épidémiologiques ont malheureusement une représentativité limitée aux conditions auxquelles ils se rapportent. En fait, les relations doses-réponses dépendent à la fois de l'agent pathogène, de l'hôte et des conditions de l'exposition.

Ainsi, l'effet pathogène va dépendre du sérotype et de la souche étudiés. De plus, la virulence des souches de laboratoire est généralement différente de celle des souches naturelles.

Le statut immunitaire et l'âge vont conditionner la réponse. Or les études expérimentales servant à définir ces modèles doses-réponses sont faites, soit sur des volontaires sains, soit sur des animaux. Une relation établie sur des hommes sains ne peut donc pas être appliquée à une autre sous-population, telle que des femmes âgées. Cela implique également un manque d'information concernant les germes qui ne sont dangereux que pour les populations sensibles.

Les conditions de l'exposition (contamination par un aliment, par de l'eau, contenu de l'estomac de l'hôte au moment de l'exposition, présence d'une microflore indigène chez l'hôte,...) vont également être déterminantes.

Par ailleurs, les germes dangereux pour la vie (donc importants en terme sanitaire) ne sont bien sûr pas testés.

Concernant les études épidémiologiques, leurs limites sont de deux types. D'une part, elles sont liées au manque d'information entourant le recueil des données (qui n'a pas été fait dans l'optique de définir une relation dose-effet). D'autre part, le pourcentage d'immunité acquise dans une population via une exposition préalable peut modifier la réponse observée à une exposition donnée. Il peut alors être difficile d'extrapoler les résultats obtenus à partir des effets observés sur une population, dans une zone géographique, à une population, d'une autre zone géographique, dont le cadre de vie est différent.

Cette difficulté d'extrapoler les données en dehors de leur cadre de définition a conduit certains chercheurs à proposer des modèles basés sur la représentation mathématique des phénomènes en jeu. Ainsi Buchanan et al. (2000) propose un modèle en trois phases, pour évaluer les taux de morbidité et de mortalité associés à une contamination alimentaire. Ce modèle prend en compte l'effet de l'acidité gastrique sur la survie des germes pathogènes, la probabilité d'attachement d'un germe sur la paroi intestinale et la probabilité de mortalité ou d'un état morbide selon le statut immunitaire, après colonisation par le germe.

#### **7.4.4. Approche proposée**

Aucune base de données n'existe sur les relations dose-effet, comme celles que l'on peut trouver pour les substances chimiques. La recherche bibliographique des données s'impose donc en prenant en compte les différentes sources de données disponibles : études expérimentales sur volontaires sains, études expérimentales sur animaux modèles, études épidémiologiques, menées à l'occasion ou non d'épidémies.

Pour prendre en compte les différentes sources de variabilité présentées dans le paragraphe précédent, les données disponibles, recueillies dans des conditions variées doivent être analysées, ajustées pour les rendre comparables et synthétisées par une approche statistique. Ce type de travail est long, spécifique et peut être complexe. Mais il a l'avantage de donner un caractère plus général à la relation dose-effet générée, en prenant en compte des conditions environnementales diverses (zones géographiques diverses) et un effectif de population important, aux caractéristiques variées. A partir de diverses publications d'études épidémiologiques, l'Institut de Veille Sanitaire (INVS, 2000) a ainsi réalisé une méta-analyse permettant de définir une relation dose-effet entre le risque de troubles digestifs et la teneur en coliformes totaux, en coliformes fécaux et en streptocoques fécaux dans les eaux de baignade. Malheureusement, les données disponibles ne sont pas toujours suffisantes pour réaliser ce type de travail.

D'une manière générale, en l'absence de données pour bâtir une relation dose-effet généralisée, prenant en compte les différentes sources de variabilité, il est important d'opérer un choix dans les données se basant sur les conditions les plus représentatives de la situation à évaluer en terme de souches, de classes de population, de conditions d'exposition.

Dans l'établissement d'une relation dose-effet, il est aussi important de se baser sur les connaissances que l'on a des mécanismes biologiques mis en jeu, de nombreux modèles pouvant être en adéquation aux données obtenues dans le domaine observable et présenter, néanmoins, de grandes divergences aux faibles doses.

Finalement, quand plusieurs relations dose-effet ont pu être établies, et après application de ces critères de choix, l'évaluateur de risque peut être amené à comparer les résultats obtenus à partir de ces différentes alternatives, voire à utiliser la technique de calcul Monte-Carlo, en prenant en compte les intervalles de variation des paramètres du modèle pour tenter d'évaluer les incertitudes issues de la définition de la relation dose-effet.

Il faut aussi noter que faute de données spécifiques, la comparaison des mécanismes de pathogénicité est parfois utilisée pour extrapoler les modèles doses-réponses obtenus à partir d'un germe pour évaluer les risques liés à un autre germe.

Enfin, dans certains cas, une meilleure caractérisation des expositions peut éviter d'avoir à utiliser des modèles d'extrapolation aux faibles doses. Lorsque les germes pathogènes sont présents dans le milieu sous forme d'agglomérats, les individus tendent à être exposés, soit à de fortes doses, soit à des doses nulles. L'estimation du niveau de risque revient alors à évaluer la proportion d'individus exposés à des doses élevées et à utiliser les données doses-réponses disponibles dans le domaine ("facilement") observable.

## 7.5. CARACTERISATION DU RISQUE

Cette étape consiste à synthétiser les données toxicologiques et les données d'exposition et à les intégrer sous la forme d'une expression qualitative ou quantitative du risque. Au delà, du niveau de risque, la nature et la sévérité des effets doivent être présentées. Les incertitudes entourant l'expression du risque doivent être explicitées.

### 7.5.1. Approche

Compte tenu des incertitudes importantes existant, tant sur les données toxicologiques que sur les données d'exposition, le résultat obtenu doit être caractérisé pour préciser sa signification. En effet,

- selon le cas et les données disponibles, le résultat peut constituer une limite maximale, "un chiffre enveloppe" obtenu au travers d'une approche qui se voudrait systématiquement majorante, le but étant alors de montrer l'existence d'un risque négligeable ou tolérable, malgré l'accumulation d'hypothèses majorantes,
- dans d'autres cas, il nécessite d'être encadré par un "intervalle d'incertitude" défini en faisant varier les hypothèses d'entrée. Comme dans le cas du risque chimique, cette estimation peut-être semi-quantitative ou quantitative, c'est-à-dire de type probabiliste.

Outre cette estimation des incertitudes passant par la comparaison des résultats obtenus en fonction des hypothèses d'entrée, il peut être utile de comparer le niveau de risque estimé aux données statistiques disponibles concernant la prévalence ou l'incidence des pathologies.

Cette comparaison avec les données épidémiologiques disponibles peut aider à relativiser le résultat obtenu (estimation qui peut avoir été faite de manière volontairement majorante), voire dans un deuxième temps à valider ou à invalider et ajuster les hypothèses de calcul adoptées.

Ainsi, Haas (1994) a comparé la relation dose-effet définie par Edwards pour *Cryptosporidium parvum* à partir d'un essai réalisé sur des volontaires sains, et les données épidémiologiques recueillies lors de l'épidémie de Milwaukee par l'eau de boisson. Cette épidémie qui s'est déroulée en Mars 1993 a fait 400000 malades. Elle est due à un défaut de traitement de l'eau de distribution. La relation dose-effet établie de manière expérimentale a permis de calculer a posteriori que la concentration d'oocystes dans l'eau de boisson devait être comprise entre 0,42 et 4,5 par litre, durant l'épisode épidémique. Les analyses réalisées lors de l'épidémie ont montré :

- des concentrations inférieures (0,025 oocystes par litre) à partir de 8 échantillons prélevés au robinet,
- des concentrations concordantes à partir de glaçons réalisés avec cette eau de distribution, à condition d'émettre un facteur de perte de 90 %, suite au phénomène de congélation-décongélation (0,79 oocystes par litre d'eau après correction).

Les différences constatées sont analysées comme pouvant être dues à une variabilité spatiale et temporelle importante de la présence des microorganismes dans l'eau, à une faible efficacité de détection des analyses réalisées ou à une infectiosité et morbidité plus élevées de l'espèce impliquée dans l'épidémie de Milwaukee que celle étudiée expérimentalement ou encore à une sensibilité plus grande de la population

La comparaison des résultats de l'épidémiologie avec ceux de l'évaluation des risques conduit donc à un processus itératif, grâce auquel peu à peu, il est possible d'améliorer le contenu des études d'évaluation des risques. De même, les résultats de la surveillance des pathologies mis en place sur les sites doivent permettre un retour d'information utile à l'amélioration des études.

La réalisation d'évaluation des risques microbiologiques conduit à faire avancer la production des connaissances.

#### 7.5.1.1. Eléments complémentaires de réflexion

Un des éléments qui reste très difficile à évaluer, c'est le risque infectieux pour la communauté. Les niveaux de risque calculés (s'ils peuvent être calculés) se rapportent à un individu isolé. La prise en compte des transmissions secondaires dans une communauté paraît difficile à estimer, à moins de disposer de données sur les taux d'attaque secondaires à partir d'épidémies.

Aux Etats-Unis,  $10^{-4}$  infection par an et par personne a souvent été avancé comme le niveau de risque tolérable liée à la consommation d'eau de boisson. Ce niveau maximal est remis en cause et considéré comme irréaliste par certains (Haas, 1996). En effet, les estimations des Centers for Disease Control and Prevention indiqueraient qu'à l'heure actuelle, le nombre total de troubles pathologiques liés à l'eau de distribution serait de plusieurs millions de cas par an aux Etats-Unis, soit un taux annuel de maladie de 1%. Le critère de  $10^{-4}$  paraît alors inapproprié et hors de portée. L'auteur considère un objectif de  $10^{-3}$  infection par an et par personne (voire plus élevé) comme plus adapté. Il est de plus suggéré que cet objectif sanitaire, à traduire en un objectif de traitement, pourrait se doubler de mesures consistant, par exemple, à approvisionner les sous-populations les plus vulnérables avec une ressource de très haute qualité sanitaire.

Toutefois, il paraît peu approprié de parler d'un niveau de risque d'infection tolérable unique. Comme on l'a vu précédemment, les effets pathologiques d'une infection peuvent avoir des conséquences multiples : il peut s'agir de troubles gastro-entérites légers, d'effets chroniques, voire cancérogènes et/ou mortels. La gravité des effets attendus suite à une infection est donc un élément tout aussi important à renseigner qu'un niveau d'excès de risque chiffré ou un nombre de cas attendus d'infections.

Finalement, le mérite de l'évaluation des risques, même en l'absence d'une quantification ultime du niveau de risque, est de permettre la prise en compte de l'aspect sanitaire dans la conduite d'un projet. Elle conduit à se poser les bonnes questions concernant les usages à protéger et à rechercher les bonnes pratiques à appliquer pour limiter les expositions et donc les risques. Les mesures de gestion visent alors à limiter ou supprimer l'exposition, donc le risque. Il reste vrai, néanmoins, que la difficulté de quantification, plus grande encore pour les risques biologiques que pour les risques chimiques, peut rendre délicate la communication autour de ce type d'étude.

## **8. LA PRISE EN COMPTE ACTUELLE DU RISQUE MICROBIOLOGIQUE**

---

L'évaluation des risques microbiologiques peut servir à :

- estimer le risque lié à un produit ou à une situation en cas de dysfonctionnement ou non, afin de définir si des mesures doivent être mises en place,
- identifier des priorités d'action en ciblant les situations présentant le plus de risque,
- définir des objectifs de qualité pour les ressources et les objectifs d'efficacité de traitement nécessaires pour les atteindre,
- identifier les points de contrôle pour surveiller l'apparition d'un risque par l'identification d'étapes-clés dans un process,
- aider à définir les mesures à mettre en place (restrictions d'usage, traitements complémentaires, éviction).

Dans ce chapitre, le niveau de développement de l'évaluation des risques biologiques et la place occupée par cette démarche en tant qu'outil de gestion des risques biologiques sont brièvement décrits, selon différents secteurs ou domaines d'activités, en s'attachant plus particulièrement à la situation française. Les activités des organismes intervenant dans ce domaine sont présentées.

### **8.1. LE SECTEUR ALIMENTAIRE**

Plusieurs instances internationales ont publié des textes concernant l'évaluation des risques microbiologiques pour les produits alimentaires.

- Ainsi, l'Organisation Mondiale du Commerce (OMC), dans son accord sur les mesures de protection sanitaire et phytosanitaire, privilégie l'évaluation des risques microbiologiques comme outil pour élaborer des normes, directives et recommandations pour la salubrité des aliments.
- En 1998, le comité du Codex Alimentarius sur l'hygiène alimentaire (CCFH) a produit un document intitulé "Principles and guidelines for the conduct of microbiological risk assessment".
- L'International Life Sciences Institut, section Risk Science, (ILSI RSI) a rédigé, en 1996, un rapport intitulé " A conceptual framework for assessing the risks of humans disease following exposure to pathogens". Ce rapport a été révisé en l'an 2000 pour couvrir le domaine de l'eau et des aliments.
- Enfin au niveau européen, une coopération scientifique sur les questions alimentaires (SCOOP) a été mise en place en 1996 pour faire un inventaire des pratiques en matière d'évaluation des risques microbiologiques dans les différents pays. D'après Klapwijk (2000), les conclusions du rapport remis à la commission en 1999 indiquaient que l'évaluation des risques microbiologiques se développait rapidement en Europe, plusieurs pays mettant en place les équipes nécessaires et recherchant les informations disponibles. Pourtant très peu d'études d'évaluation de risque complètes avaient été réalisées à ce jour. L'Europe est en retard par rapport aux USA et au Canada dans le domaine. Le rapport mettait en évidence les manques et soulignait les besoins de recherche dans ce domaine.

Klapwijk n'a relevé que cinq publications relatives à des évaluations de risques complètes (Brown et al, 1998, Cassin et al, 1998, Food and Drug Administration, 1999, Notermans et al., 1997, US Department of Agriculture Food Safety and Inspection Service, 1998). Par ailleurs, des travaux sont menés au niveau de l'OMS et de la FAO pour évaluer les risques liés à des pathogènes dans certains aliments (risque lié aux Salmonelles dans les œufs et le poulet grillé, risque lié à *Listeria monocytogenes* dans les aliments prêts à consommer, et appel à candidature depuis 2001 pour travailler sur *Campylobacter jejuni* dans le poulet grillé et *Vibrio* dans les fruits de mer).

Malgré tout, c'est pour les produits alimentaires et l'eau de distribution que l'on trouve les études d'évaluation de risques les plus abouties, avec des approches quantitatives des risques.

Dans le domaine de l'eau, les premières études semblent datées du début des années 90. On notera notamment les travaux de Regli (1991), de Rose (1991), de Haas (1993), de Teunis (1997) et de Rusin (1997) visant à quantifier les risques liés à la consommation. Ces publications sont principalement d'origine américaine.

En France, l'évaluation des risques microbiologiques reste peu développée concernant la contamination des eaux. On notera la finalisation récente d'une thèse (Leila Gofiti-Laroche, 2001) qui visait à construire des fonctions doses-réponses pour certains virus et protozoaires pathogènes transmis par voie hydrique, à partir de données environnementales. Le projet intitulé EMIRA (Epidemiology and microbial risk assessment) a été réalisé au laboratoire de santé publique de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Grenoble. Ce travail a montré, pour la population étudiée une association entre la morbidité digestive et la présence, d'une part d'ARN d'astrovirus, et d'autre part de kystes de *Giardia* dans l'eau de distribution. Une relation dose-effet a été construite pour *Giardia*. Après ajustement, elle est en concordance avec la relation dose-effet existante et définie par Rendtoff par une approche expérimentale.

En matière de contrôle, ce sont les laboratoires départementaux agréés qui sont chargés de réaliser les analyses microbiologiques. En plus du contrôle bactériologique traditionnel des eaux, ces laboratoires ont développé des savoir-faire analytiques légèrement différents d'un département à un autre, en terme de germes et de matrices analysés.

Concernant le domaine alimentaire, l'AFSSA mène différents travaux. Elle a coordonné l'étude européenne, citée ci-dessus, sur l'utilisation de l'évaluation du risque microbiologique dans le domaine alimentaire. Elle mène de nombreux travaux épidémiologiques et dispose ainsi de nombreuses informations intéressantes à prendre en compte pour évaluer les risques microbiologiques. Elle centralise les données de surveillance épidémiologique, comme par exemple le suivi de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes des bovins, des porcs et des volailles. Elle réalise des enquêtes d'épidémiologie descriptive, des études d'épidémiologie analytique (exemple : étude cas/témoins pour définir les facteurs de risque des syndromes hémolytiques et urémiques dans les exploitations agricoles, en collaboration avec l'INVS), ainsi que des travaux de modélisation faisant appel aux biomathématiques et aux biostatistiques (par exemple : modélisation de la diffusion du virus de la fièvre aphteuse ou des maladies contagieuses). L'AFSSA produit aussi des données sur les consommations alimentaires de la population française, données nécessaires pour évaluer les expositions, et mène des études quantitatives du risque comme l'analyse du risque *Salmonella* sur les cordons bleus de dinde servis en restauration, en collaboration avec l'École Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort.

En terme de gestion, la maîtrise du risque dans le domaine alimentaire passe souvent par l'application de la démarche dite "HACCP" pour "hazard analysis critical control point". Il s'agit d'une méthode qui consiste à identifier le ou les dangers spécifiques à la consommation d'un produit alimentaire, à les évaluer et à établir les mesures préventives pour les maîtriser à travers l'identification des points critiques. On voit bien alors l'aide que peut apporter l'évaluation quantitative des risques microbiologiques à la fois pour estimer les risques, mais aussi identifier les points critiques et aider à définir des mesures de contrôle.

## **8.2. LES EAUX DE BAIGNADE**

De nombreuses études épidémiologiques ont été menées sur le risque infectieux lié à la pratique de la baignade en eau de mer et en eau de rivière. L'existence de ces données sur les effets a permis à l'INVS et au Centre Rhône Alpes d'Epidémiologie et de Prévention Sanitaire (CAREPS) de définir quels étaient les indicateurs fécaux les plus prédictifs du risque de gastro-entérites et d'établir à partir de ceux-ci une relation dose-effet. Le risque associé à différents niveaux de contamination des eaux de baignade a alors été calculé.

On notera également l'étude réalisée par Denis Bard et Françoise Siclet, intitulée « Amibes libres et santé publique », publiée en 1995 et visant à évaluer les risques pour la santé humaine liés aux amibes libres. Pour cela une étude exhaustive des connaissances scientifiques disponibles a été réalisée, portant à la fois sur les données humaines (épidémiologie, clinique) et expérimentales, sur l'écologie et les problèmes de mesure des amibes libres dans les milieux. Ce travail a abouti à un essai d'estimation du niveau de risque de survenue de méningo-encéphalite amibienne primaire en fonction de la concentration de *Naegleria fowleri* dans les eaux douces. Bard et Siclet ont mis en évidence qu'il s'agissait d'un risque faible et montrer les nombreuses incertitudes entourant l'expression de ce danger (possibilité d'une transmission par les poussières, facteurs déclenchant les effets cliniques, relation dose-effet chez l'homme).

## **8.3. LE DOMAINE PROFESSIONNEL**

En France, près de 1 travailleurs sur 10 est concerné par les risques biologiques, d'après l'enquête SUMER 94 du ministère chargé du travail, sur la "surveillance des risques professionnels".

Dans le domaine professionnel, on distingue les activités où l'utilisation d'agents biologiques est délibérée (certains laboratoires de recherche, les industries des biotechnologies, les industries de la dépollution) des activités où l'exposition est potentielle (travail en milieu de soin, en laboratoire d'analyses biologiques, agriculture et industries agro-alimentaires,...).

Concernant les risques professionnels liés à des agents biologiques, la réglementation est issue de la directive européenne n°90/679/CEE, modifiée par la directive n°93/88/CEE. Ces textes ont été transposés en droit français par le décret n°94-352 du 4 Mai 1994, qui fixe les règles d'évaluation et de prévention du risque microbiologique.

L'article R. 231-61-1 de ce texte classe les agents pathogènes en quatre groupes en fonction de la gravité de la maladie provoquée, du pouvoir épidémiogène de l'agent biologique, de l'existence d'une prophylaxie ou d'un traitement efficace.

- Le groupe 1 comprend les agents biologiques non susceptibles de provoquer une maladie chez l'homme ;
- Le groupe 2 comprend les agents biologiques pouvant provoquer une maladie chez l'homme et constituer un danger pour les travailleurs ; leur propagation dans la collectivité est peu probable ; il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficace ;
- Le groupe 3 comprend les agents biologiques pouvant provoquer une maladie grave chez l'homme et constituer un danger sérieux pour les travailleurs ; leur propagation dans la collectivité est possible, mais il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficace ;
- Le groupe 4 comprend les agents biologiques qui provoquent des maladies graves chez l'homme et constituent un danger sérieux pour les travailleurs ; le risque de leur propagation dans la collectivité est élevé ; il n'existe généralement ni prophylaxie, ni traitement efficace.

Un arrêté complémentaire (voir annexe B) définit la liste des agents biologiques des groupes 2,3 et 4 conformément aux définitions ci-dessus.

Ce classement ne s'applique qu'aux microorganismes susceptibles de provoquer une pathologie infectieuse, les autres risques de type allergique ou toxique ne sont pas pris en compte dans ce classement. En fonction de ce classement, des mesures de confinement sont prescrites pour prévenir les risques de dissémination.

L'article R. 231-62 du même décret indique qu' "afin de procéder à l'évaluation des risques et de prendre en charge les mesures de prévention et de protection qui en résultent (...), le chef d'établissement doit déterminer la nature, la durée et les conditions de l'exposition des travailleurs pour toute activité susceptible de présenter un risque d'exposition à des agents biologiques". Cette évaluation doit tenir compte de l'ensemble des effets, y compris des effets allergisants et toxiques.

Telle qu'explicitée dans une brochure destinée aux professionnels et disponible sous internet ([www.inrs.fr/indexnosdoss.html](http://www.inrs.fr/indexnosdoss.html)), cette évaluation des risques consiste en :

- un recueil de données :
  - qualitatives concernant les réservoirs de germes présents, les modes de transmission possibles, les postes où l'exposition est possible, les barrières présentes permettant de limiter l'exposition,
  - et chiffrées sur le nombre de personnes exposées, la durée de l'exposition par rapport au temps de travail, etc,...
- et une analyse des données pour permettre de hiérarchiser les différents problèmes à résoudre, de réfléchir à l'efficacité des mesures de prévention existantes, de mettre en place d'autres mesures et d'établir une liste des travailleurs exposés.

Il s'agit donc d'une caractérisation de l'activité et d'une identification des dangers afin de mettre en place les mesures de prévention et de surveillance médicale des personnels exposés, prévues par la réglementation. Il ne s'agit pas d'une évaluation quantitative des risques, ni des expositions. Il n'existe d'ailleurs pas de valeurs limites réglementaires d'exposition professionnelle à des agents biologiques, en France.

Concernant les travaux réalisés sur les agents infectieux, il existe essentiellement quelques d'études qualitatives se rapportant à des mesures de germes dans les effluents issus de stations d'épuration et aux données épidémiologiques relevées à partir des travailleurs (CEMAGREF, 1983, Ministère chargé de la Santé). Ces études montrent évidemment l'existence d'un risque potentiel, compte-tenu de la charge en pathogènes que peuvent contenir ces effluents. En revanche, d'après ces études, le risque effectif pour le personnel des stations d'épuration apparaît faible (le seul élément mis en évidence étant l'augmentation de troubles gastro-intestinaux mineurs chez les personnels récemment embauchés et une réponse immunitaire plus élevée, bien que rarement significative statistiquement par rapport aux non exposés). Les données restent pourtant limitées. Aussi, l'INRS projette de mener une étude sur l'évaluation de l'exposition professionnelle des travailleurs des eaux usées.

Les effets toxiques et allergisants de certains agents semblent avoir été plus étudiés, notamment dans les pays de l'Europe du Nord. Ces divers travaux vont aboutir à la définition de valeurs limites d'exposition. Ainsi, aux Pays-Bas, une valeur limite pour les endotoxines devrait voir prochainement le jour. Sur la base de données scientifiques, une valeur limite pourrait aussi être fixée pour les allergènes du blé, et peut-être pour des allergènes du latex et pour l' $\alpha$ -amylase d'origine fongique.

En France, concernant les travaux de recherche en cours, on notera qu l'INRS mène un projet en collaboration avec le laboratoire d'hygiène et de recherche en santé publique de la Faculté de médecine de l'Université Henry Poincaré de Nancy, visant à développer des méthodes et protocoles de mesurage des microorganismes dans l'air.

#### **8.4. LES RISQUES POUR LA POPULATION LIES AUX DECHETS ET AUX EFFLUENTS**

Là encore, peu de résultats quantitatifs sur le risque lié à des activités de déchets, d'élevage ou de traitement de divers effluents d'origine biologique semblent exister.

Les quelques données épidémiologiques concernant les populations habitant autour de stations d'épuration ne semblent pas mettre en évidence d'effets.

On notera une étude d'évaluation des risques réalisée par Haas (1996) qui, en combinant les hypothèses majorantes, tente de calculer le risque de contamination viral de la ressource en eau par des lixiviats de décharges. Ce type d'approche entièrement basée sur des données de la littérature scientifique concernant le devenir des virus dans l'environnement et les relations dose-effet est intéressante en terme de démarche. L'étude montre l'existence d'un risque faible. Toutefois, les incertitudes dans une approche de ce type restent très élevées.

Gale (1998) a aussi évalué le risque d'infection humaine par l'agent de l'ESB par consommation d'eau de distribution. Les hypothèses influençant le plus le résultat sont liées à la dispersion de l'agent dans la ressource en eau et le type de relation dose-effet retenues.

Au niveau français, sur ce type de problématique, on peut citer les travaux réalisés par l'Ecole de Santé Publique (ENSP), le CAREPS et l'Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie (ADEME).

L'ENSP, à travers les mémoires d'Ingénieur du Génie Sanitaire, a par exemple, participé à la réalisation du volet sanitaire d'une station d'épuration (LEFTAH, 1999). D'autres études y sont menées permettant de générer des données utiles pour mener des évaluations de risques. Le risque biologique est aujourd'hui un des pôles de recherche affichés par l'ENSP. Actuellement, l'ENSP est chargée par la Direction Générale de la Santé, de réaliser une caractérisation des expositions aux légionelles dans les hôpitaux et les établissements de thermalisme.

L'ADEME, à travers sa filière valorisation, fait réaliser des études sur le risque lié à la valorisation des boues et des déchets. En 2001, une étude bibliographique a été menée sur le risque biologique lié au compostage des déchets. L'étude a été réalisée par le CAREPS. Le Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement a chargé l'ENSP d'évaluer le risque chimique.

L'AFSSA mène également des travaux de recherche dans ce domaine, notamment concernant le devenir de l'agent de l'ESB dans l'environnement.

En matière d'expertise, certains cabinets de consultants réalisent aussi des dossiers d'étude d'impact pour les installations classées pour l'environnement (ICPE) et ont été amenés à prendre en compte le risque biologique. Toutefois, d'après quelques entretiens, la démarche ne semble pas très avancée.

Concrètement, face aux risques, l'approche adoptée jusqu'alors, à consister à gérer les situations potentiellement à risque à travers l'application de règles de bonnes pratiques. Deux exemples sont présentés ci-dessous avec les problèmes résiduels qu'ils présentent : celui de l'épandage des boues de stations d'épuration des eaux usées urbaines et celui des déchets issus de bovins.

**Exemple 1 : La gestion de l'épandage des boues de stations d'épuration des eaux usées urbaines**

Le document du CSHPF de 1997 intitulé "Risques sanitaires liés aux boues d'épuration des eaux usées urbaines", présente les principaux pathogènes présents dans ces boues, les voies d'exposition, les doses minimales infectieuses et les concentrations de germes dans les boues par grandes catégories de germes. Toutefois, en l'absence d'éléments plus précis, il n'y a pas d'estimation du niveau de risque, ni des niveaux d'exposition. Les principes de gestion recommandés reposent sur l'énonciation de conditions d'utilisation de ces boues.

Ainsi, un plan d'épandage respectant les règles et les bonnes pratiques doit être réalisé. Des mesures veillant à protéger les ressources en eau et l'exposition des individus doivent être respectées (exemple : interdiction d'épandre des boues à moins de 200 mètres des cours d'eau, des puits, des forages ou des lieux de baignade).

En fait, deux catégories de boues sont considérées : les boues traitées et hygiénisées et les boues traitées mais non hygiénisées. Pour les premières, les restrictions d'usage sont limitées. En revanche, il est interdit de cultiver des produits maraîchers ou des produits consommés crus et en contact avec le sol, ou de mener des activités de sport ou de loisirs sur des terrains ayant reçu des boues non hygiénisées depuis moins de douze mois.

Les boues traitées et hygiénisées sont des boues pour lesquelles les trois types d'agents pathogènes : Salmonella, Entérovirus et œufs d'helminthes viables ne sont pas détectables. Compte-tenu de l'impossibilité de vérifier de manière permanente, ce critère de conformité, il est en fait prévu que ce critère soit vérifié lors de la phase d'étude d'un procédé de traitement des boues, en vue de son agrément, et lors de la phase de réception d'une installation nouvelle dans une station d'épuration. Cette vérification doit être complétée en routine par un contrôle des coliformes thermotolérants en sortie de filière (pour évaluer les phénomènes de recroissance ou de recontamination), le suivi d'indicateurs d'efficacité de traitement (exemple : taux de matières organiques) et par la tenue d'un carnet sanitaire des installations portant mention des dysfonctionnements.

Quant aux boues traitées et non hygiénisées, il s'agit de boues, qui sans atteindre les caractéristiques des boues hygiénisées, ont subi un traitement ayant pour objet d'améliorer leur stabilité et de réduire les nuisances qui leur sont associées.

D'une manière générale, l'approche retenue consiste donc à définir des contraintes limitées sur les traitements à appliquer, de veiller au bon fonctionnement des installations par des procédures simples et de contrôler les expositions par la limitation de l'utilisation des boues.

En 2001, un groupe de travail sur les boues sous la responsabilité de la Direction Générale de la Santé (DGS) et de l'AFSSA a été réactivé pour faire le point des connaissances acquises sur la qualité des boues et les recommandations qui peuvent en découler. Le risque biologique n'y fait pas l'objet de débats particuliers, compte tenu des mesures de bonnes pratiques et de surveillance retenues, à l'exception du risque lié à la présence du prion. En effet, cet agent pose problème en terme de gestion, dans le cas du raccordement d'un abattoir recevant des bovins à une station d'épuration traitant des effluents urbains.

**Exemple 2 : La gestion des risques liés à l'agent de l'ESB et les problèmes actuellement relevés**

Globalement, les risques liés à l'agent de l'ESB sont gérés en France par une classification distinguant deux types de matériaux : les matières à haut risque et les matières à faible risque.

Les matières à haut risque regroupent :

- les cadavres (animaux morts sur exploitation, animaux abattus des troupeaux dans lesquels a été identifié un cas d'ESB, animaux abattus d'urgence pour maladie ou pour cause d'accident)
- les saisies sanitaires,
- les matériels à risque spécifié, c'est-à-dire :
  - la moelle épinière et le crâne, y compris la cervelle et les yeux, pour tous les bovins, ovins et caprins de plus de douze mois,
  - les amygdales pour tous les bovins quel que soit l'âge et pour les ovins et les caprins de plus de douze mois,
  - la rate pour tous les bovins, caprins et ovins quel que soit l'âge,
  - les intestins et le thymus, y compris les graisses mésentériques pour tous les bovins quel que soit l'âge),
- les bovins de plus de trente mois non testés,
- les animaux atteints d'ESB.

Ces matières à haut risque correspondent à la fois à certains déchets présentant un risque avéré (animaux malades de l'ESB) et à d'autres déchets pour lequel le risque est seulement potentiel (animaux non testés par exemple).

Les matières à faible risque sont les déchets animaux autres que ceux énumérés dans la liste ci-dessus.

L'ensemble de ces matières à haut risque est éliminé par incinération. Actuellement, en France, cette incinération n'est pas directe, elle passe d'abord par une transformation de ces déchets en farine et en graisses dans des établissements de transformation à haut risque. Les graisses sont, semble-t'il, utilisées pour l'essentiel sur leur lieu de production comme combustible. En revanche, les farines sont acheminées vers des centres d'incinération, ce qui induit des étapes de transport et éventuellement de stockage.

Quant aux matières à faible risque, elles sont transformées dans des établissements à faible risque agréés. Les produits obtenus font alors l'objet d'un traitement d'inactivation (133°C pendant 20 minutes sous trois bars de pression). Les graisses obtenues sont utilisées en lipochimie, en savonnerie, en cosmétique ou comme combustibles. Les farines, depuis l'arrêté du 14 novembre 2000 ne sont plus utilisés en alimentation animale. Les débouchés alternatifs concernent les matières fertilisantes, le reste devant faire l'objet d'incinération. Les quantités importantes à incinérer, dépassant les capacités actuelles d'incinération, nécessitent le recours à de nouveaux sites de stockage. Dans ce contexte, le transport et le stockage des farines doit se faire dans des conditions telles qu'elles ne nuisent pas au voisinage, qu'elles n'entraînent pas de lixiviat ou d'envol, qu'elles n'attirent pas les rongeurs qui pourraient disséminer la maladie. Des prescriptions particulières ont été définies à travers un cahier des charges et des clauses techniques à respecter qui, d'après l'AFSSA sont en mesure de prévenir le risque sanitaire, si elles sont respectées.

Toutefois certaines situations peuvent encore poser problème en matière de gestion. Dans son rapport d'Avril 2001, l'AFSSA a en effet passé en revue les situations qui étaient de nature à pouvoir constituer un risque à travers une dissémination dans l'environnement.

En premier lieu, il apparaît qu'hormis les eaux de process issues des centres d'équarrissage, des informations précises manquent concernant les eaux de lavage et les eaux de ruissellement. Un état des lieux en cours de réalisation, portant sur le devenir des effluents liquides issus d'installations où sont traités ou stockés des déchets animaux, laisse apparaître que certains rejets d'effluents sans filtration, ni traitement d'inactivation peuvent être rejetés dans le milieu naturel, en amont de point de captages ou de zones de cultures. L'AFSSA recommande de procéder à une analyse du risque lié à ces rejets pour chaque installation traitant des déchets animaux d'origine ruminant, de procéder à l'examen des méthodes disponibles permettant l'élimination des effluents en assurant la sécurisation du risque ESST et de traiter ces effluents de manière adaptée avant rejet dans le milieu naturel.

Quant aux boues issues du traitement des eaux, elles ont tendance à concentrer les ATNC, qui ont un caractère hydrophobe. Aussi un devenir identique à celui des déchets animaux est recommandé. Actuellement les boues provenant du traitement des effluents et eaux de lavage issus du haut risque sont incinérées. Leur épandage est interdit depuis l'arrêté du 17/8/98. Celles provenant du traitement des matières à faible risque, en revanche peuvent être épandues.

Concernant l'utilisation des farines animales comme matières fertilisantes et supports de culture, l'AFSSA souligne que la situation n'apparaît pas clairement maîtrisée ; la composition des matières fertilisantes et des composts est mal connue ; l'origine des déchets animaux incorporés est difficilement contrôlable, alors même que l'interdiction des farines dans l'alimentation animale pourrait conduire à ce que soit développé l'usage de celles-ci comme matières fertilisantes. Plusieurs projets d'arrêtés concernant les matières fertilisantes sont en cours de préparation.

D'une manière générale, l'AFSSA a constaté que la maîtrise des mesures mises en place pour assurer la distinction entre matière à haut risque et à faible risque n'est pas parfaite. Par ailleurs les produits à faible risque n'étant plus valorisables en alimentation animale, cela pourrait conduire les opérateurs à porter une moindre attention au tri des matières premières et cela alors que les dispositions de sécurisation au regard des risques environnementaux reposent sur ce tri. Pour assurer une meilleure maîtrise du devenir des déchets et des sous-produits issus de ces déchets, l'AFSSA propose une classification des déchets qui reposerait sur leur origine : "ruminants ou non ruminants", ce qui permettrait de maintenir certains usages de déchets animaux hors ruminants et faciliterait la sécurisation et l'élimination des déchets provenant des ruminants.

### **8.5. L'AIR INTERIEUR DES BATIMENTS**

Le laboratoire d'Hygiène de la Ville de Paris (LHVP) et le Centre Technique du Bâtiment (CSTB) ont réalisé, en 1999, un état des connaissances sur l'évaluation des risques sanitaires liés aux bâtiments, à la demande du Ministère du Logement. Cette étude n'a pas encore été publiée.

D'après Stetzenbach, cité dans cette étude, les biocontaminants seraient responsables de 35 à 50 % des problèmes de santé liés aux bâtiments.

Le document passe en revue les connaissances concernant l'impact sur la santé des bactéries, des champignons et moisissures, des virus, des allergènes dans l'air intérieur.

Il apparaît que les sources de contamination commencent à être mieux connues. Les connaissances concernant les moisissures, les endotoxines, les allergènes animaux sont qualifiées de fragmentaires et les connaissances concernant les bactéries, les virus et les mycotoxines notablement insuffisantes. Le document indique aussi qu'il existe un déficit important de connaissances concernant les expositions attribuables à l'air intérieur et les caractéristiques du patrimoine bâti. Il insiste sur la nécessité de mieux connaître les niveaux de concentration dans les micro-environnements intérieurs, les caractéristiques de la ventilation, les budgets espaces-temps et de prendre en compte en particulier le cas des populations sensibles (personnes âgées, malades, enfants en bas âge) passant plus de temps à l'intérieur des habitations.

Une évaluation des risques globale liée à l'air intérieur n'est donc pas possible. Toutefois, les pathologies liées à l'air intérieur sont classées en fonction de leur impact sanitaire, en prenant en compte la gravité de la pathologie et le nombre de personnes atteintes. Ce classement allant de 1 à 3 attribue l'impact le plus fort aux pathologies suivantes : la tuberculose, la coqueluche, les méningites, la diphtérie, les infections virales, les manifestations allergiques ORL et l'asthme.

Par ailleurs, en terme d'évaluation, il est indiqué qu'il n'existe pas de valeur limite d'exposition, basée sur les effets sur la santé, hormis pour les allergènes d'acariens et de chat. Toutefois, en se fondant sur les niveaux observés dans les milieux, il est possible de donner des fourchettes de valeurs acceptables en matière de contamination globale dans les environnements intérieurs pour les populations bactérienne et fongique.

Concernant les travaux de recherche, on citera le CSTB, qui évalue le comportement des matériaux face à une contamination microbienne et cherche à identifier les facteurs permettant d'en maîtriser la prolifération et les Hôpitaux de Strasbourg, qui réalisent des mesures d'allergènes dans les environnements intérieurs et apportent des données intéressantes sur les niveaux d'exposition.

En matière d'expertise, le LHVP assure des enquêtes sanitaires dans l'habitat, les locaux professionnels et ceux des collectivités. Il recherche à la fois les microorganismes bactériens, virologiques, fongiques et les allergènes. Quant à l'Institut Pasteur, au-delà de son activité de recherche, a une activité de prestataire d'analyses. Il est capable de réaliser des mesures sur toutes matrices. Sa maîtrise des techniques d'analyses récentes lui donne un avantage de spécificité et de rapidité pour la détection et l'identification de tous pathogènes par rapport aux autres laboratoires.

## **9. QUELLES SONT LES QUESTIONS QUI NOUS SONT POSEES ET COMMENT Y REpondRE ?**

---

Face au risque de nature biologique, trois types de situations peuvent se présenter à l'INERIS.

Pour des besoins réglementaires (réalisation du volet sanitaire des études d'impact ou aide à la mise en place d'une réglementation), il peut être demandé de réaliser des évaluations de risques biologiques a priori, c'est-à-dire concernant une installation ou un procédé industriel futur.

Il peut également être demandé d'évaluer les risques pour des installations ou des procédés déjà existants pour connaître le risque actuel ou passé et permettre aux gestionnaires de définir des priorités d'action. La question qui nous est posée par le bureau des biotechnologies, de l'agriculture et de l'agro-alimentaire concernant les boues des stations d'épuration des abattoirs de bovins relève de ce type de situation.

Enfin, dans certains cas, qui risquent de devenir de plus en plus fréquents (compte-tenu de la sensibilité du public face aux problèmes sanitaires), une demande d'étude peut surgir d'une plainte émise suite à l'apparition de symptômes ou même d'une pathologie diagnostiquée chez des travailleurs ou des individus fréquentant des bâtiments publics ou privés.

A partir des enseignements issus de cette étude de l'état de l'art, des éléments pour traiter ces trois types de situations sont présentés ci-dessous.

### **9.1. REALISATION D'EVALUATION DE RISQUES POUR DE FUTURES INSTALLATIONS**

Ici, la réponse à apporter repose sur l'approche développée dans le chapitre 7.

Compte tenu du manque de connaissances et des spécificités liées au risque microbiologique concernant :

- la multiplicité des germes auxquels les populations peuvent être exposées,
- l'absence de bases de données consultables sur :
  - l'infectiosité et la virulence des germes,
  - le devenir de ces germes dans l'environnement (résistance, recroissance en fonction des facteurs environnementaux),
- la variabilité de la réponse d'un individu à un autre (statut immunitaire),
- la variabilité des sources de pollution,
- la multiplicité et la complexité des voies d'exposition possibles,

l'évaluation du risque microbiologique lié à un projet particulier à caractère industriel ou artisanal nécessite, dans un premier temps, un important travail bibliographique de recherche, d'analyse et de synthèse des données préexistantes.

Ces données concernent les disciplines suivantes :

- l'épidémiologie,
- la pathogénie,
- l'écologie microbienne,
- la microbiologie prédictive,
- la microbiologie analytique.

La sélection des agents à prendre en compte dans l'évaluation des risques passe en effet par un travail qui doit se baser sur l'écologie microbienne, la connaissance du mode de transmission des microorganismes, l'épidémiologie et l'étude des cas.

La définition des relations dose-effet s'appuiera sur :

- la lecture des études épidémiologiques, menées à l'occasion ou non d'épidémies,
- l'analyse des cas cliniques,
- l'analyse des données endémiques,
- les études sur volontaires sains,
- les études sur animaux de laboratoire,
- l'étude des mécanismes de pathogénicité.

L'évaluation de l'exposition nécessite une recherche bibliographique approfondie, concernant l'occurrence et les concentrations des microorganismes dans les milieux, et dans le domaine de la microbiologie prédictive pour définir les paramètres de la modélisation de l'exposition.

Les données épidémiologiques doivent aussi être recherchées et analysées pour confronter les résultats obtenus au terme de l'évaluation à ceux observés dans la réalité.

Enfin, dans le cas d'une future installation, la métrologie servira d'instrument de surveillance. Or à chaque fois que l'on aura recours à la mesure, il sera nécessaire d'avoir une réflexion technique et économique pour concevoir une campagne de métrologie adaptée et en interpréter correctement les résultats. En effet, il est nécessaire de prendre en compte :

- le caractère hétérogène des microorganismes dans le milieu (dans le temps et dans l'espace),
- la signification du type d'analyses réalisées (nombre d'organismes dénombrés pouvant être différents du nombre d'organismes viables ou cultivables),
- la représentativité des germes témoins de contamination par rapport aux germes effectivement pathogènes.

Par ailleurs, la recherche d'informations dans la littérature, concernant les concentrations de germes dans les différents milieux est un élément d'interprétation intéressant pour comparer l'exposition liée à l'activité par rapport aux expositions ubiquitaires. En l'absence de relation dose-effet, la comparaison des concentrations (évolution dans le temps des résultats obtenus dans un milieu, comparaison des mesures réalisées simultanément dans deux environnements comme la teneur en spores et la répartition des espèces de moisissures entre l'extérieur et l'intérieur) est le seul moyen de caractériser la situation étudiée.

Ce n'est qu'après avoir récolté l'ensemble des informations décrites ci-dessus que l'on peut chercher à évaluer le risque lié à un site spécifique. Or la diversité et la quantité des informations à collecter est peu compatible avec le temps et les moyens disponibles pour constituer le volet sanitaire d'une installation spécifique. L'évaluation du risque microbiologique lié à un projet particulier passe donc par une évaluation du risque lié au type d'activité, les caractéristiques d'un site particulier ne permettant que de moduler ou de préciser les éléments de l'évaluation des risques.

Sur un site donné, il s'agira alors d'identifier les spécificités en terme :

- d'environnement (exemple perméabilité de l'aquifère),
- d'aménagement (exemple présence d'une rivière),
- de process,
- et de populations,

pour préciser les modes et les voies d'exposition et en tenir compte dans l'estimation des doses d'exposition, si les connaissances disponibles le permettent (par exemple : la modulation de la valeur d'un coefficient de partage d'une particule virale dans le sol, en fonction du type de sol).

Finalement, la réalisation d'une évaluation de risque microbiologique pourrait présenter trois niveaux.

- Le premier niveau d'information consisterait à présenter de manière générique les effets (voire les risques, si la littérature existante apporte des éléments de quantification en terme de fréquence des pathologies) associés à l'activité. Il s'agit là d'une étude non spécifique à un site, mais relative à un type d'activités, ayant pour but de rechercher, d'analyser et de synthétiser les données disponibles sur les effets relevés pour ce type d'activités, sur les agents en cause et sur l'incidence de ces effets.

- Un deuxième niveau d'information pourrait être obtenu par la comparaison de l'installation étudiée à d'autres installations ayant fait l'objet d'analyses antérieures sur les effets et les risques observés. Il peut s'agir d'une comparaison de process pour savoir si les étapes du process, les sources d'exposition sur le site étudié vont dans le sens d'une plus forte ou d'une plus faible exposition par rapport aux cas décrits précédemment.
- Enfin, dans un troisième temps, une approche reposant sur des hypothèses d'exposition et de modélisation peut être tentée. A partir du schéma conceptuel d'exposition (défini en fonction du process et en fonction des agents dangereux sélectionnés et de leur devenir dans l'environnement), un essai de quantification de l'exposition, voire du risque peut être réalisé. Cette approche repose nécessairement sur un grand nombre d'hypothèses concernant à la fois la source d'exposition (niveau de contamination, occurrence des pathogènes), le devenir dans l'environnement de l'agent (croissance, décroissance, taux d'abattement, facteur de bioconcentration dans un milieu,...), son caractère infectieux et pathogène (caractère viable, relations dose-effet, virulence, sensibilité de l'hôte). Même si la démarche ne peut pas être menée jusqu'au bout, la comparaison du niveau d'exposition estimé permet une comparaison aux données de la littérature et une discussion du risque, en fonction des hypothèses testées.

A notre connaissance, ce type d'estimation aboutissant à une quantification du niveau de risque a été réalisé dans quelques cas. L'étude de Haas (1996), citée précédemment a ainsi cherché à montrer l'absence de risque lié à la consommation d'eau d'une nappe par les lixiviats générés par une décharge. Il a pris pour mener ces calculs un ensemble d'hypothèses majorantes combinant, pour l'évaluation des risques, des données relatives à un virus en concentration importante dans les fèces avec des données sur la relation dose-effet d'un autre virus moins concentré, mais connu pour être plus pathogène : le virus polio.

La prise en compte d'hypothèses majorantes cumulant plusieurs éléments défavorables, en l'absence de connaissance ou dans le cas de données incertaines ou possédant une forte variabilité, permet de définir un niveau de risque.

On citera également l'étude réalisée par DNV Technica en 1996, pour le compte de l'agence de l'environnement britannique visant à estimer les risques pour la populations liés aux prions pouvant être rejetés dans l'environnement, via les déchets et les effluents bovins.

Dans l'état des connaissances actuelles, les niveaux de risque calculés dans les évaluations de risque peuvent rarement être considérés comme reflétant un niveau de risque réel. Mais dans des domaines très incertains, où la métrologie est difficile, voire impossible, ce type d'approche majorante peut s'avérer être un élément utile de discussion sur lequel faire reposer la gestion.

Dans tous les cas et quel que soit le niveau d'approche qui aura pu être mené, l'évaluation du risque devrait conduire à la définition de recommandations pour limiter les expositions et donc le risque, et la proposition d'un système de surveillance sur le long terme, pour éviter des dérives et des risques croissants au cours du temps.

## **9.2. REALISATION D'EVALUATION DE RISQUES POUR DES INSTALLATIONS EXISTANTES**

La démarche à adopter est la même que celle décrite ci-dessous.

Toutefois, l'estimation des expositions peut aussi se faire sur site par utilisation de la métrologie. Cela suppose d'établir une stratégie d'échantillonnage adaptée aux milieux d'exposition, à partir d'une pré-étude qui permettra de définir les caractéristiques de la variabilité spatio-temporelle. En l'absence de ce travail, des mesures répétées dans le temps à différents moments et prenant en compte les facteurs pouvant influencer l'exposition (par exemple, le redémarrage d'un climatiseur) peuvent être réalisées pour rechercher les expositions maximales. Faute de représentativité temporelle, ces résultats peuvent servir à définir l'exposition de manière majorante.

En l'absence de relation dose-effet et d'une quantification possible des risques, la comparaison des mesures obtenues dans les milieux d'exposition avec celles obtenues pour d'autres installations, et répertoriées dans la littérature, permet (avec toutes les limites que ce type de comparaison peut avoir) de situer l'installation étudiée.

## **9.3. REALISATION D'EVALUATIONS DE RISQUE SUITE A L'APPARITION DE SYMPTOMES OU DE PATHOLOGIES DIAGNOSTIQUEES DANS LA POPULATION**

Dans ce cas, l'étude va viser à identifier si les symptômes exprimés ou/et les pathologies diagnostiquées sont liés à l'environnement des personnes concernées, qu'ils s'agissent de l'environnement créé par une activité industrielle ou au sein d'un bâtiment. Dans ce type de situations, on considère, en effet, que si un lien causal peut être mis en évidence entre la présence d'un agent dans l'environnement et un effet chez un individu, il y a également un risque pour les autres personnes exposées.

Les difficultés rencontrées dans ce genre d'études sont liées au fait que les symptômes, voire les pathologies diagnostiquées sont rarement spécifiques d'un agent précis (il peut s'agir par exemple de troubles gastro-intestinaux ou d'asthme) et que les causes peuvent être multifactorielles. Par conséquent, l'établissement d'un lien causal entre un agent et un effet va reposer sur la collecte d'une ensemble d'informations, qui toutes ensemble, pourront constituer un faisceau d'éléments probants. Il s'agira d'informations issues :

- d'une part d'enquêtes,
- et d'autre part de mesures à la fois dans l'environnement et sur des prélèvements biologiques.

Une enquête de terrain devra rassembler le maximum d'informations sur la nature du process, sur l'historique du bâtiment (exemple : inondations passées) et aussi des informations visuelles sur l'état du bâtiment (traces de moisissures sur les murs, sous les tapisseries,...). La recherche visuelle de l'existence de moisissures apparaît au professionnel de la réhabilitation comme l'approche la plus efficace pour ce type de problème. Pour eux, les mesures dans l'air sont à mettre en place en dernier recours.

Une enquête auprès du personnel, ou des occupants permettra de relever le type de symptômes, leur prévalence dans la population exposée, les antécédents, la fréquence, le moment d'apparition de ces symptômes et leurs durées. Tous ces éléments sont importants pour mieux cerner la pathologie (dans le cas, par exemple, de crises asthmatiques, l'agent causal est-il de type allergénique ou bien toxique ) et pour orienter les investigations vers le type d'agents à rechercher dans l'environnement.

Le rôle des prélèvements biologiques peut être illustré par une étude faite par Douwes dans une déchetterie. Celui-ci a fait réaliser des lavements de nez chez des travailleurs exposés et chez des travailleurs non exposés. Chez les exposés, les prélèvements réalisés à la fin de la journée de travail montraient une augmentation du nombre de neutrophiles par rapport à ceux réalisés avant la prise de poste, tandis que les prélèvements réalisés chez les non exposés montraient des taux inférieurs en neutrophiles, taux qui par ailleurs restaient stables avant et après la journée de travail. Par cette approche, il a donc été possible de mettre en évidence l'effet biologique produit par l'environnement de travail.

Enfin, concernant les prélèvements environnementaux, il est indispensable de savoir quel type d'agents rechercher a priori. Mais, il faut aussi être conscient qu'il n'est pas possible de mesurer tous les agents potentiellement pathogènes (de nombreuses mycotoxines restent par exemple à identifier) et que l'absence ou la présence à une faible concentration d'agents pathogènes lors d'un prélèvement ponctuel ne prouvent pas l'absence de problèmes, la variabilité des agents dans l'environnement étant grande et le mode de prélèvements imposant des temps de prélèvement courts, notamment dans l'air.

## 10. CONCLUSION

---

L'émergence de (nouvelles) pathologies, la réémergence de pathologies anciennes, la forte prévalence des affections respiratoires, la sensibilité accrue du public vis-à-vis de l'impact sanitaire des activités humaines et le rejet de plus en plus marqué des risques non consentis sont autant de raisons qui conduisent à un besoin de prise en compte et d'estimation du risque biologique.

L'évaluation des risques biologiques est une discipline encore très peu développée par rapport à l'évaluation des risques chimiques. Dans le domaine de l'agro-alimentaire, la démarche commence toutefois à se formaliser sous l'égide d'organismes internationaux et quelques études d'évaluation quantitative du risque ont été réalisées ou sont en cours de réalisation. En dehors du domaine agro-alimentaire et de celui de l'eau de distribution, il ne semble exister aucun document méthodologique. Les seules études d'évaluation quantitative de risque existantes sont celles réalisées pour l'agence de l'environnement du Royaume-Uni (DNV Technica, 1996) sur les risques liés à la propagation de l'ESB dans l'environnement et quelques publications américaines illustratives du mode de calcul d'un risque microbiologique.

L'évaluation des risques biologiques présente des spécificités et des difficultés particulières. Les connaissances disponibles sont à la fois parcellaires et dispersées. Pour évaluer les risques biologiques liés à un site particulier, il est donc indispensable de réaliser en amont un important travail bibliographique pour regrouper, analyser et rendre utilisables les données existantes concernant un domaine d'activité particulier.

Le travail nécessite des compétences à la fois dans les domaines de l'épidémiologie, de la physiopathologie, de l'écologie microbienne, de la microbiologie analytique, des statistiques et de la modélisation. L'objectif est en effet à la fois de collecter les données existantes directement utilisables (exemple : relation dose-effet) mais aussi d'en construire de nouvelles à partir des données de la littérature ou à partir d'études menées sur site (exemples : construction d'une relation dose-effet à partir d'études épidémiologiques, construction de distributions statistiques des concentrations de germes dans un milieu à partir de données analytiques, définition d'un plan d'échantillonnage adapté en terme de type de germes indicateurs, de volumes à prélever, d'échelle de temps et d'espace).

Dans le domaine des risques biologiques, les étapes, de génération de données scientifiques et d'évaluation des risques restent intimement mêlées. En l'état actuel des données disponibles, au niveau de l'étape de conception de dossier d'évaluation de risque par activités, il est indispensable, en plus de généralistes, de disposer des compétences de spécialistes dans les domaines cités ci-dessus.

## 11. REFERENCES

---

- ADEME, Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, ENSP, Ministère de l'agriculture et de la pêche, Les germes pathogènes dans es boues résiduaires des stations d'épuration urbaines, Connaître pour agir, Guides et cahiers techniques, 1994
- AFSSA, Les risques sanitaires liés aux différents usages des farines et graisses d'origine animale et aux conditions de leur traitement et de leur élimination, Avril 2001
- Ann O' Fel, Parasitologie, Mycologie, Maladies parasitaires et fongiques, Association Française des Professeurs de Parasitologie, 5<sup>e</sup> édition, 1992
- Bard D., Siclet F., Amibes libres et santé publique, Editions ENSP, 1995, ISBN 2 85952 751 6
- Buchanan R.L., Smith J.L., Long W., Microbial risk assessment : dose-response relations and risk characterization, International journal of food microbiology, 58, 159-172, 2000
- Carmichael W.W., Azevedo S.M.F.O., An J.S., Molica R.J.R., Jochimsen E.M., Lau S., Rinehart K.L., Shaw G.R., Eaglesham G.K., Human fatalities from cyanobacteria : chemical and biological evidence for cyanotoxins, Environmental health perspectives, Vol. 109, Number 7, 2001
- Cemagref, Risques sanitaires susceptibles d'être encourus par les personnels travaillant sur les stations de traitement des eaux résiduaires, Etude bibliographique, 1983
- CNRS, Les prions : doutes et réalités, Actualités scientifiques, [www.auteuil.cnrs-dir.fr/SDV/prions.html](http://www.auteuil.cnrs-dir.fr/SDV/prions.html)
- Coleman, M. Marks H., Topics in dose-response modelling, Journal of food protection, Vol. 61 n°11, 1998, 1550-1559
- CSHPF, section de l'évaluation des risques de l'environnement sur la santé, Pollution atmosphérique à l'intérieur des bâtiments : sources, expositions et risques sanitaires, Analyse bibliographique des études françaises (1983-1993), Lavoisier, Tech& Doc, 1996
- CSHPF, section des eaux, Risques sanitaires liés aux boues d'épuration des eaux usées urbaines, Ministère du travail et des affaires sociales, Direction générale de la santé, Lavoisier, Tech& Doc, 1998
- CSTB, LHVP, Risques sanitaires et Bâtiments, Etat des connaissances, Avril 1999
- Dalphin J.C., La pathologie respiratoire en milieu agricole, Actes du congrès ISBE, Biocontaminants de l'air intérieur, Effets sur la santé et prévention, Dijon, 15 Juin 2001
- De Blay F., Krieger P., Les allergies aux principaux mammifères domestiques et leur traitement, [www.allergonet.com/EnvironFS.htm](http://www.allergonet.com/EnvironFS.htm), 1999
- De Blay F., Les allergènes de l'air intérieur : animaux domestiques, acariens, blattes, Actes du congrès ISBE, Biocontaminants de l'air intérieur, Effets sur la santé et prévention, Dijon, 15 Juin 2001
- Decludt B., Guillotin L., Van Gastel B., Dubrou S., Jarraud S., Perrocheau A., Carlier D., Reyrolle M., Capek I., Ledrans M., Etienne J., Foyer épidémique de légionelloses à Paris en Juin 1998, Bulletin épidémiologique hebdomadaire, n°21/1999
- Deschamps S., Momas I., Festy B., Quelques aspects du risque professionnel lié à l'inhalation d'endotoxines, Archives des maladies professionnelles, Vol. 55, n°5, 1994, 327-333

- DNV Technica, Overview of risks from BSE via environment pathways for the Environment Agency, 1997
- Dutkiewicz J., Bacteria and fungi in organic dust as potential health hazard, *Ann. Agric. Environ. Med.*, Vol. 4, 1997, 11-16
- European Commission, Health & Consumer protection directorate, First report on the harmonisation of risk assessment procedures, Part 1, 2000
- Gale P., Development in microbiological risk assessment models for drinking water - a short review, *Journal of applied bacteriology*, 81, 403-410, 1996
- Gale P., Young G., Stanfield G., Oakes D., Development of a risk assessment for BSE in the aquatic environment, *Journal of applied microbiology*, 84, 467-477, 1998
- Gale P., Quantitative BSE risk assessment : relating exposures to risk, *Applied microbiology*, 27, 239-242, 1998
- Gerhing U., Douwes J., Koch A., Bischof W., Fahlbusch B., Richter K., Wichmann H-E, Heinrich J.,  $\beta$ -(1-3)-glucan in house dust of german homes : housing characteristics occupant behavior, and relations with endotoxins, allergens, and molds, *Environmental health perspectives*, Vol. 109, Number 2, 2001
- Gofti-Laroche L., Evaluation du risque microbiologique hydrique : validation épidémiologique des fonctions dose-réponse du risque viral et parasitaire - Etude E.MI.RA., Thèse, 2001, Université Joseph Fourier - Grenoble I - Faculté de Médecine
- Haas C.N., Estimation of risk due to low doses of microorganisms : a comparison of alternative methodologies, *American journal of epidemiology*, Vol. 118, n°4
- Haas C.N., Rose J.B., Gerba C.P., Regli S., Risk assesement of virus in drinking water, *Risk analysis*, Vol. 13, n°5, 1993, 545-552
- Haas C.N., Reconciliation of microbial risks models and outbreak epidemiology : The case of the Milwaukee outbreak, *Proceefings of the annual conference AWWA*, 5-9 June 1994
- Haas C.N., Acceptable microbial risk, *Journal AWWA*, Vol. 1996, Vol.88, n°12
- Haas C.N., Anotai J., Engelbrecht R.S., Monte Carlo assessment of microbial risk associated with landfilling of fecal material, *Water environment Reseach*, Vol 68, Number 7, Nov/Dec 1996
- Haas C.N., Rose J.B., Gerba C.P., Quantitative microbial risk assessment, 1999
- Heederik D., Douwes J., Towards an occupational exposure limit for endotoxins ?, *Ann. Agric. Environ. Med.*, Vol. 4, 1997, 17-19
- Heederik D., Douwes J., Wouters I., Doekes G., Organic dusts : beyond endotoxin, *Inhalation toxicology*, 12 (supplement 3), 2000, 27-33
- Husman T., Health effects of microbes, *Proceedings of healthy buildings*, Vol.3, 2000
- ILSI, A conceptual framework to assess the risks of human disease following exposure to pathogens, *Risk analysis*, Vol. 16, n°6, 1996
- ILSI, A revised framework for microbial risk assessment, *Workshop report*, 2000
- Indoor air quality - A comprehensive reference book - Editors : M. Maroni, B. Selfert ant T. Lindvall, Amsterdam, 1995
- INRA, Le point sur la vache folle, [www.inra.fr/Internet/Produits/dpenv](http://www.inra.fr/Internet/Produits/dpenv)

IRAS, Biological agents in the work and home environment : exposure assessment and health risk evaluation, International short course, September 10-12, 2001, Utrecht, Netherlands

InVS, Bulletin épidémiologique annuel, [www.invs.sante.fr/bea](http://www.invs.sante.fr/bea)

InVS, Critères microbiologiques de qualité des eaux de baignade, Evaluation des risques en vue de la révision des normes européennes, Février 2001

Klapwijk P.M., Jouve J-L, Stringer M.F., Microbiological risk assessment in Europe : the next decade, International journal of food microbiology, 58, 2000, 223-230

Leclerc H., Mossel D.A.A., Microbiologie, le tube digestif, l'eau et les aliments, Doin, 1989

Leftah N., Faisabilité du volet sanitaire des études d'impact. Cas des dossiers de stations d'épuration : intérêt et limite de la démarche d'évaluation des risques, Mémoire de fin d'études, formation des ingénieurs du génie sanitaire, ENSP, 1999

Ministère chargé de la Santé, Direction régionale des Affaires Sanitaires et Sociales d'Ile de France, Impact des polluants atmosphériques sur la santé du personnel d'une station d'épuration d'eaux résidiaires, 1988

OMS, Les progrès de la médecine menacés par la pharmacopée, Communiqué de presse, 2000-41

Oswald I., Mycotoxines et immunotoxicité, ARET-Actualités, décembre 2000

Pasanen A-L., Evaluation of indoor fungal exposure, Proceedings of healthy buildings, Vol. 3, 2000

Regli S., Rose J.B., Haas C.N., Gerba C.P., Modeling the risk from giardia and viruses in drinking water, Journal AWWA, November 1991, 76-84

Robbins C.A., Swenson L.J., Neally M.L., Gots R.E., Kelman B.J., Health effects of mycotoxins in indoor air : a critical review, Applied occupational and environmental hygiene, Vol. 15 (10), 2000, 773-784

Rose J.B., Gerba C.P., Use of risk assessment for developments of microbial standards, Water science and technology, Vol 24, n°2, 1991, 29-34

Rusin P.A., Rose J.B., Haas C.N., Gerba C.P., Risk assessment of opportunistic bacterial pathogens in drinking water, Rev. Environ. Contam. Txicol., 1997, 152, 57-83

Sari-Minodier I., Dutau H., Charpin D., Epidémiologie de l'asthme professionnel, [www.allergonet.com/Articles](http://www.allergonet.com/Articles), 1999

Schwartzbrod J., Cours de virologie générale, Formation I.G.S, ENSP, 1994

Seuri M., Pasanen A-L., Kokotti H., Two examples on assessment of health risks in damp/mould problem buildings, Risk assessment in relation to indoor air quality, European collaborative action, Urban air, indoor environment and human exposure, European commission, Joint research center, Report n°22, 2000

Smolik H.J., Pathologies allergiques d'origine professionnelle, Actes du congrès ISBE, Biocontaminants de l'air intérieur, Effets sur la santé et prévention, Dijon, 15 Juin 2001

Squinazi F., Les endotoxines bactériennes, Séminaire "Risques biologiques", INRS Vandoeuvre, les 29 et 30 Juin 1993

Squinazi F., Legionella et légionelloses, Actes du congrès ISBE, Biocontaminants de l'air intérieur, Effets sur la santé et prévention, Dijon, 15 Juin 2001

Teunis P.F.M., Medema G.J., Kruidenier L. et Havelaar A.H., Assessment of the risk of infection by Cryptosporidium or Giardia in drinking water from a surface water source, Water research , 31, 1333-1346

Trout, Bioaerosol lung damage in a worker with repeated exposure to fungi in a water damaged building, 2001

Tunon de Lara JM., Taytard A., Epidémiologie des maladies allergiques, [www.allergonet.com/EpidemioFS.htm](http://www.allergonet.com/EpidemioFS.htm), 1999

## 12. LISTE DES ANNEXES

---

<b>Repère</b>	<b>Désignation précise</b>	<b>N°pages</b>
A	Liste de microorganismes d'importance sanitaire transmis par l'environnement	2
B	Annexe de l'arrêté du 18 Juillet 1994 fixant la liste des agents biologiques pathogènes selon les groupes 2,3 et 4	17
C	Eléments sur les relations dose-effet	2
D	Les biocontaminants de l'air intérieur	14

**ANNEXE A**

*Tableau 2 : Liste de quelques protozoaires d'importance sanitaire transmis par l'environnement (à partir de Haas, 1999)*

<b>Groupe</b>	<b>Espèce</b>	<b>Effets pathologiques</b>	<b>Voies de transmission</b>
Amibes	<i>Entamoeba histolytica</i>	Diarrhée, abcès intestinaux	Eau, aliments
	<i>Naegleria fowleri</i>	Méningo-encéphalite primaire	Eau, baignade
	<i>Acanthamoeba</i> sp.	Méningo-encéphalite, lésions de l'oeil, lésions respiratoires et lésions de la peau	Eau, aérosols
Flagellés	<i>Giardia lamblia</i>	Diarrhée	Eau, aliments
Ciliés	<i>Balantidium coli</i>	Diarrhée	Eau
Sporozoaires	<i>Isopora</i> sp.	Diarrhée	Eau ?
	<i>Cryptosporidium parvum</i>	Diarrhée	Aliments, eau, objets
	<i>Toxoplasma gondii</i>	Infection congénitale, trouble fébrile, encéphalite	Aliments, eau, objets
	<i>Cyclospora</i>	Diarrhée	Eau, aliments

Tableau 3 : Liste de quelques bactéries d'importance sanitaire transmises par l'environnement (à partir de Haas, 1999)

Espèce	Pathologie	Voies de transmission
<i>Leptospira interrogans</i>	Lesptospirose	Eau (urine)
<i>Campylobacter jejuni</i>	Gastroentérite	Eau, aliments
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Surinfections, suppurations, infections urinaires	Eau, aliments, air
<i>Legionella pneumophila</i>	Légionellose	Air
<i>Brucella abortus</i>	Brucellose	Aliments, air
<i>Brucella melitensis</i>	Brucellose	Aliments, air
<i>Brucella suis</i>	Brucellose	Air
<i>Bordella pertussis</i>	Coqueluche	Air
<i>Francisella tularensis</i>	Tularémie	Aliments, eau, contact direct, insectes
<i>Escherichia coli</i>	Infections opportunistes, diarrhée	Eau, aliments
<i>Enterobacter aerogenes</i>	Infections opportunistes	Eau, aliments
<i>Shigella dysenteriae</i>	Dysenterie	Eau, aliments
<i>Salmonella typhi</i>	Fièvre typhoïde	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Pneumonie	Sol, eau, aliments
<i>Proteus mirabilis</i>	Infection urinaire	Sol, eau, aliments
<i>Serratia marcescens</i>	Infections opportunistes	Contact direct des muqueuses avec l'agent infectieux
<i>Yersina enterocolita</i>	Gastroentérite	Eau, aliments
<i>Vibrio cholerae</i>	Choléra	Eau, aliments
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	Gastroentérite	Fruits de mer
<i>Haemophilus influenzae</i>	Infections des voies respiratoires et méningites sévères des voies respiratoires	Air
<i>Coxiella burnetti</i>	Fièvre Q	Air, aliments
<i>Chlamydia psittaci</i>	Psittacose	Air
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	Pneumonie atypique	Air
<i>Staphylococcus aureus</i>	Intoxication alimentaire Infection cutanée	Aliments contact direct

<b>Espèce</b>	<b>Pathologie</b>	<b>Voies de transmission</b>
<i>Streptococcus pyogenes</i>	Pharyngite, infections cutanées	Contact direct
<i>Bacillus anthracis</i>	Anthrax	Air, eau, aliments, sol
<i>Clostridium botulinum</i>	Intoxication alimentaire	Aliments
<i>Clostridium perfringens</i>	Gangrène gazeuse, Intoxication alimentaire	Aliments, sol
<i>Listeria monocytogenes</i>	Méningite	Aliments, air
<i>Corynebacterium diphtheria</i>	Diphthérie	Air
<i>Actinomyces israelii</i>	Actinomycosis	Air, sol
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Tuberculose	Aliments, air, eau
<i>Mycobacterium avium</i>	Maladie pulmonaire, maladie disséminée chez les immunodéprimés	Aliments, eau

## ANNEXE B

Liste des agents biologiques pathogènes selon les groupes 2,3 et 4

[HTTP://WWW.CNRS.FR/SDV/OGMCLASSI2.HTML](http://www.cnrs.fr/sdv/ogmclassi2.html)

## Classification des agents biologiques pathogènes des groupes 2, 3 et 4

[Les bactéries](#)

[Les virus](#)

[Les parasites](#)

[Les champignons](#)

**Tableau A - Les bactéries**

Agent biologique	Classe	Symbole -1
Actinobacillus actinomycetemcomitans	2	
Actinomadura madurae	2	
Actinomadura pelletieri	2	
Actinomyces gerencseriae	2	
Actinomyces israelii	2	
Actinomyces pyogenes	2	
Actinomyces spp	2	
Arcanobacterium haemolyticum (Corynebacterium haemolyticum)	2	
Bacillus anthracis	3	
Bacteroides fragilis	2	
Bartenolla bacilliformis	2	
Bartonella quintana (Rochalimaea quintana)	2	
Bartonella (Rochalimea) spp	2	
Bordetella bronchiseptica	2	

Bordetella parapertussis	2	
Bordetella pertussis	2	V
Borrelia burgdorferi	2	
Borrelia duttonii	2	
Borrelia recurrentis	2	
Borrelia spp	2	
Brucella abortus	3	
Brucella canis	3	
Brucella melitensis 1	3	
Brucella suis	3	
Burkholderia mallei (Pseudomonas mallei)	3	
Burkholderia pseudomallei (Pseudomonas pseudomallei)	3	
Campylobacter fetus	2	
Campylobacter jejuni	2	
Campylobacter spp	2	
Cardiobacterium hominis	2	
Chlamydia pneumoniae	2	
Chlamydia trachomatis	2	
Chlamydia psittaci (souches aviaires)	3	
Chlamydia psittaci (souches non aviaires)	2	
Clostridium botulinum	2	T
Clostridium perfringens	2	
Clostridium tetani	2	T, V
Clostridium spp	2	
Corynebacterium diphtheriae	2	T, V
Corynebacterium minutissimum	2	
Corynebacterium pseudotuberculo sis	2	
Corynebacterium spp	2	
Coxiella burnetti	3	
Edwardsiella tarda	2	
Ernania sennetsui (Rickettsia sennetsui)	2	

Ehrlichia spp	2	
Eikenella corrodens	2	
Enterobacter aerogenes cloacae	2	
Enterobacter spp	2	
Enterococcus spp	2	
Erysipelothrix rhusiopathiae	2	
Escherichia coli (à l'exception des souches non pathogènes)	2	
Escherichia coli, souches cytotoxiques. (par exemple : O157:H7 ou O103)	3	T (*)
Flavobacterium meningosepticu m	2	
Fluoribacter bozemanai (Legionella)	2	
Francisella tularensis (type A)	3	
Francisella tularensis (type B)	2	
Fusobacterium necrophorum	2	
Gardnerella vaginalis	2	
Haemophilus ducreyi	2	
Haemophilus influenzae	2	V
Haemophilus spp	2	
Helicobacter pylori	2	
Klebsiella oxytoca	2	
Klebsiella pneumoniae	2	
Klebsiella spp	2	
Legionella pneumophila	2	
Legionella spp	2	
Leptospira interrogans icterohemorrhagia e	2	V
Leptospira interrogans (autre s sérotypes)	2	
Listeria monocytogenes	2	
Listeria ivanovii	2	
Morganella morganii	2	

Mycobacterium africanum	3	V
Mycobacterium avium/intracellulare	2	
Mycobacterium bovis (à l'exception de la souche BCG)	3	V
Mycobacterium chelonae	2	
Mycobacterium fortuitum	2	
Mycobacterium kansasii	2	
Mycobacterium leprae	3	
Mycobacterium malmoeense	2	
Mycobacterium marinum	2	
Mycobacterium microti	3	(*)
Mycobacterium paratuberculosis	2	
Mycobacterium scrofulaceum	2	
Mycobacterium simiae	2	
Mycobacterium szulgai	2	
Mycobacterium tuberculosis	3	V
Mycobacterium ulcerans	3	(*)
Mycobacterium xenopi	2	
Mycoplasma caviae	2	
Mycoplasma hominis	2	
Mycoplasma pneumoniae	2	
Neisseria gonorrhoeae	2	
Neisseria meningitidis	2	V
Nocardia asteroides	2	
Nocardia brasiliensis	2	
Nocardia farcinica	2	
Nocardia nova	2	
Nocardia otitidiscaviarum	2	
Pasteurella multocida	2	
Pasteurella spp	2	
Peptostreptococcus anaerobius	2	
Plesiomonas shigelloides	2	
Porphyromonas spp	2	

Prevotella spp	2	
Proteus mirabilis	2	
Proteus penneri	2	
Proteus vulgaris	2	
Providencia alcalifaciens	2	
Providencia rettgeri	2	
Providencia spp	2	
Pseudomonas aeruginosa	2	
Rhodococcus equi	2	
Rickettsia akari	3	(*)
Rickettsia canada	3	(*)
Rickettsia conorii	3	
Rickettsia montana	3	(*)
Rickettsia typhi (Rickettsia mooseri)	3	
Rickettsia prowazekii	3	
Rickettsia rickettsii	3	
Rickettsia tsutsugamushi	3	
Rickettsia spp	2	
Salmonella arizonae	2	
Salmonella enteritidis	2	
Salmonella typhimurium	2	
Salmonella paratyphi A,B,C	2	V
Salmonella typhi	3	V(*)
Salmonella (autres variétés sérologiques)	2	
Serpulina spp	2	
Shigella boydii	2	
Shigella dysenteriae (type 1)	3	T (*)
Shigella dysenteriae (autre que le type 1)	2	
Shigella flexneri	2	
Shigella sonnei	2	
Staphylococcus aureus	2	
Streptobacillus moniliformis	2	
Streptococcus pneumoniae	2	
Streptococcus pyogenes	2	
Streptococcus suis	2	
Streptococcus spp	2	

Treponema carateum	2	
Treponema pallidum	2	
Treponema pertenue	2	
Treponema spp	2	
Vibrio cholerae (y inclus El Tor)	2	
Vibrio parahaemolyticus	2	
Vibrio spp	2	
Yersinia enterocolitica	2	
Yersinia pestis	3	V
Yersinia pseudotuberculosis	2	
Yersinia spp	2	

Tableau B - Les virus

Agent biologique	Classe	Symbole -1
<b>Adenoviridae</b>	2	
<b>Arenaviridae :</b>		
- Complexe de la chorioméningite lymphocytaire-Lassa (arénavirus ancien monde) :		
Virus Lassa	4	
Virus de la chorioméningite lymphocytaire (souches neurotropes)	3	
Virus de la chorioméningite lymphocytaire (autres souches)	2	
Virus Mopeia	2	

- Autres complexes de la chorioméningite lymphocytaire- Lassa	2
- Complexe Tacaribe (arénavirus nouveau monde) :	
Virus Guanarito	4
Virus Junin	4
Virus Sabia	4
Virus Machupo	4
Virus Flexal	3
- Autres complexes Tacaribe	2
<b>Astroviridae</b>	2
<b>Bunyaviridae :</b>	
Virus Bunyamwera	2
Virus Oropouche	3
Virus de l'encéphalite de Californie	2
Hantavirus :	
Hantaan (fièvre hémorragique avec syndrome rénal)	3
Virus Séoul	3
Virus Puumala	2
Virus Prospect Hill	2
Autres Hantavirus	2
Nairovirus :	
Virus de la fièvre hémorragique de Crimée/Congo	4

Virus Hazara	2	
Phlébovirus :		
Fièvre de la vallée du Rift	3	V
Fièvre à phlébotomes	2	
Virus Toscana	2	
Autres Bunyavirus connus comme pathogènes	2	
Virus Germiston	2	
Virus Sin Nombre (anciennement Muerto Canyon)	3	
Virus Belgrade (également appelé Dobrava)	3	
Virus Bhanja	2	
<b>Caliciviridae</b> :		
Norwalk Virus	2	
<b>Autres Caliciviridae</b>	2	
<b>Coronaviridae</b>	2	
<b>Filoviridae</b> :		
Virus Ebola	4	
Virus de Marbourg	4	
<b>Flaviviridae</b> :		
Encéphalite d'Australie (encéphalite de la vallée de Murray)	3	
Encéphalite à tiques d'Europe centrale	3	V (*) (a)
Absettarov	3	V (a)
Hanzalova	3	V (a)
Hypr	3	V (a)
Kumlinge	3	V (a)
Virus de la dengue types 1-4	3	
Virus de l'hépatite C	3	(*)

Virus de l'hépatite E	3	(*)
Virus de l'hépatite G	3	(*)
Encéphalite B japonaise	3	V
Maladie de la forêt de Kyasanur	3	V
Louping ill	3	(*)
Fièvre hémorragique d'Omsk	3	V
Powassan	3	
Rocio	3	
Encéphalite verno estivale russe	3	V (a)
Encéphalite de Saint-Louis	3	
Wesselsbron	3	(*)
West Nile	3	
Fièvre jaune	3	V
Autres Flavivirus connus pour être pathogènes	2	
<b>Hepadnaviridae :</b>		
Virus de l'hépatite B	3	V (*)
Virus de l'hépatite D (delta)	3	V (*) (b)
<b>Herpesviridae :</b>		
Cytomégalovirus	2	
Virus d'Epstein-Barr	2	
Virus du cercopitheque type 1 (virus B du singe)	3	
Virus de l'herpès humain, types 1 et 2	2	

Herpesvirus hominis 7	2	
Herpesvirus hominis 8	2	
<b>Varicellovirus</b>	2	
Virus lymphotrope B humain (HBLV HHV 6)	2	
<b>Orthomyxoviridae :</b>		
Virus grippal (influenza) types A, B et C	2	V (c)
<b>Orthomyxoviridae</b> transmis par les tiques :		
virus Dhori et Thogoto	2	
<b>Papovaviridae :</b>		
Virus BK et JC	2	
Papillomavirus humain	2	
<b>Paramyxoviridae :</b>		
Virus de la rougeole	2	V
Virus des oreillons	2	V
Virus de la maladie de Newcastle	2	
Virus parainfluenza, types 1 à 4	2	
Virus respiratoire syncytial	2	
<b>Parvoviridae :</b>		
Parvovirus humain (B 19)	2	
<b>Picornaviridae :</b>		
Virus de la conjonctivite aiguë hémorragique (AHC)	2	
Virus Coxsackie	2	
Virus Echo	2	

Virus de l'hépatite A (hépatovirus)	2	V
Virus poliomyélique	2	V
Rhinovirus	2	
<b>Poxviridae :</b>		
Virus de la variole du buffle	2	(d)
Virus de la variole bovine	2	
Virus de la variole de l'éléphant	2	(e)
Virus du nodule des trayeurs	2	
Virus du Molluscum contagiosum	2	
Virus de la variole du singe	3	V
Virus Orf	2	
Virus de la variole du lapin	2	(f)
Virus de la vaccine	2	
Virus de la variole (majeure et mineure)	4	V
Virus de la variole blanche	4	V
Virus Tana et Yaba	2	
<b>Reoviridae :</b>		
Coltivirus	2	
Rotavirus humains	2	
Orbivirus	2	
Reovirus	2	
<b>Retroviridae :</b>		
Virus de l'immunodéficience humaine	3	(*)
Virus de leucémies humaines à cellules T (HTLV), types 1 et 2	3	(*)
Virus SIV	3	(*) (g)
<b>Rhabdoviridae :</b>		
Virus de la rage	3	V (*)
Virus de la stomatite vésiculeuse	2	
<b>Togaviridae :</b>		
<b>Alphavirus :</b>		
Encephalomyélite équine Est-américaine	3	V

Virus Everglades	3	(*)
Virus Mayaro	3	
Virus Mucambo	3	(*)
Virus Ndumu	3	
Virus O'nyong-nyong	2	
Virus de la rivière Ross	2	
Virus de la forêt de Semliki	2	
Virus Sindbis	2	
Virus Tonate	3	(*)
Encéphalomyélite équine du Venezuela	3	V
Encéphalomyélite équine Ouest-américaine	3	V
Autres Alphavirus connus	2	
Rubivirus (virus de la rubéole)	2	V
<b>Toroviridae</b>	2	
<b>Virus non classés :</b>		
Virus d'hépatites non encore identifiés	3	(*)
Morbillivirus équin	4	
<b>Agents non classiques associés avec les encéphalopathies spongiformes transmissibles (EST) :</b>		
Maladie de Creutzfeldt-Jakob	3	(*)
Variante de la maladie de Creutzfeldt-Jakob	3	(*)
Encéphalopathie spongiforme bovine (ESB) et autres EST animales associées	3	(*) (h)
Syndrome de Gertsman-Str'ussler-Scheinker	3	(*)
Kuru	3	(*)

**Lexique propre aux virus :**

- a) : encéphalite à tiques.
- b) : la vaccination contre le virus de l'hépatite B protégera les travailleurs contre le virus de l'hépatite D (delta) dès lors qu'ils ne sont pas affectés par le virus de l'hépatite B.
- c) : uniquement en ce qui concerne les types A et B.
- d) : deux virus peuvent être identifiés sous cette rubrique, celui de la variole du buffle et une variante du
- e) : variante de la variole bovine.
- f) : variante de la vaccine.

simienne. Par mesure de précaution, un confinement de niveau 3 est recommandé pour les travaux exposant à ces rétrovirus.

responsables d'autres EST animales. Néanmoins, les mesures de confinement des agents classés dans le groupe de risque 3b(\*) sont recommandées par précaution pour les travaux en laboratoire, à l'exception des travaux en laboratoire portant sur un agent identifié de tremblante du mouton, pour

**Tableau C - Les parasites**

Agent biologique	Classe	Symbole -1
Acanthamoeba castellani	2	
Ancylostoma duodenale	2	
Angiostrongylus cantonensis	2	
Angiostrongylus costaricensis	2	
Ascaris lumbricoides	2	A
Ascaris suum	2	A
Babesia divergens	2	
Babesia microti	2	
Balantidium coli	2	
Brugia malayi	2	
Brugia pahangi	2	
Capillaria philippinensis	2	
Capillaria spp	2	
Clonorchis sinensis	2	
Clonorchis viverrini	2	
Cryptosporidium parvum	2	
Cryptosporidium spp	2	
Cyclospora cayetanensis	2	
Dipetalonema streptocerca	2	
Diphyllobothrium latum	2	
Dracunculus medinensis	2	
Echinococcus granulosus	3	(*)

Echinococcus multilocularis	3	(*)
Echinococcus vogeli	3	(*)
Entamoeba histolytica	2	
Fasciola gigantica	2	
Fasciola hepatica	2	
Facilopsis buski	2	
Giardia lamblia (Giardia intestinalis)	2	
Hymenolepis diminuta	2	
Hymenolepis nana	2	
Leishmania brasiliensis	3	(*)
Leishmania donovani	3	(*)
Leishmania ethiopica	2	
Leishmania mexicana	2	
Leishmania peruviana	2	
Leishmania tropica	2	
Leishmania major	2	
Leishmania spp	2	
Loa loa	2	
Mansonella ozzardi	2	
Mansonella perstans	2	
Naegleria fowleri	3	
Necator americanus	2	
Onchocerca volvulus	2	
Opisthorchis felineus	2	
Opisthorchis spp	2	
Paragonimus westermani	2	
Plasmodium falciparum	3	(*)
Plasmodium (humain et simien) spp	2	
Sarcocystis sui hominis	2	
Schistosoma haematobium	2	
Schistosoma intercalatum	2	
Schistosoma japonicum	2	
Schistosoma mansoni	2	

Schistosoma mekongi	2	
Strongyloides stercoralis	2	
Strongyloides spp	2	
Taenia saginata	2	
Taenia solium	3	(*)
Toxocara canis	2	
Toxoplasma gondii	2	
Trichinella spiralis	2	
Trichuris trichiura	2	
Trypanosoma brucei brucei	2	
Trypanosoma brucei gambiense	2	
Trypanosoma brucei rhodesiense	3	(*)
Trypanosoma cruzi	3	
Wuchereria bancrofti	2	

Tableau D - Les champignons

Agent biologique	Classe	Symbole -1
Aspergillus fumigatus	2	A
Blastomyces dermatitidis (Ajellomyces dermatitidis)	3	
Candida albicans	2	A
Candida tropicalis	2	
Cladophialophora bantiana (anciennement Xylophypha bantiana, Cladosporium bantianum ou trichoïdes)	3	
Coccidioides immitis	3	A
Cryptococcus neoformans var. neoformans (Filobasidiella neoformans var. neoformans)	2	A
Cryptococcus neoformans var. gattii (Filobasidiella bacillispora)	2	A
Emmonsia parva var. parva	2	
Emmonsia parva var. crescens	2	

Epidermophyton floccosum	2	A
Fonsecaea compacta	2	
Fonsecaea pedrosoi	2	
Histoplasma capsulatum var. capsulatum (Ajellomyces capsulatus)	3	
Histoplasma capsulatum duboisii	3	
Madurella grisea	2	
Madurella mycetomatis	2	
Microsporium spp	2	
Neotestudina rosatii	2	
Paracoccidioides brasiliensis	3	
Penicillium marneffeii	2	A
Scedosporium apiospermum (Pseudallescheria boydii)	2	
Scedosporium prolificans (inflatum)	2	
Sporothrix schenckii	2	
Trichophyton nubrun	2	
Trichophyton spp	2	

### (1) Lexique général

(\*) Accolé à certains agents biologiques pathogènes du groupe 3, cet astérisque indique qu'ils peuvent présenter un risque d'infection limité car ils ne sont normalement pas infectieux par l'air.

A : Agent biologique pathogène qui peut avoir des effets allergisants.

T : Agent biologique qui est susceptible de produire des toxines.

V : Un vaccin efficace est disponible.

spp : Cette mention (species) signifie qu'il est fait référence aux autres espèces qui sont connues pour être pathogènes chez l'homme.

**ANNEXE C**

*Tableau 4 : Relations dose-effet d'agents pathogènes (tirées de Haas, et al., 1999)*

<i>microorganismes</i>	<i>loi</i>	<i>paramètres</i>
Poliovirus	Loi exponentielle	K = 109,87
Rotavirus	Loi béta-poisson	N <sub>50</sub> = 6,17 ; α = 0,2531
Virus de l'hépatite A <sup>a</sup>	Loi exponentielle	K = 1,8229
Adénovirus 4	Loi exponentielle	K = 2,397
Echovirus 12	Loi exponentielle	K = 78,3
Coxsachievirus <sup>b</sup>	Loi exponentielle	K = 69,1
Salmonelles <sup>c</sup>	Loi béta-poisson	N <sub>50</sub> = 23600 ; α = 0,3126
<i>Salmonella typhi</i>	Loi béta-poisson	N <sub>50</sub> = 3,6.10 <sup>6</sup> ; α = 0,1086
<i>Shigella (dysenteria et flexnerii)</i>	Loi béta-poisson	N <sub>50</sub> = 1120 ; α = 0,2100
<i>Escherichia coli</i> <sup>d</sup>	Loi béta-poisson	N <sub>50</sub> = 8,6.10 <sup>7</sup> ; α = 0,1778
<i>Campylobacter jejuni</i>	Loi béta-poisson	N <sub>50</sub> = 896 ; α = 0,145
<i>Vibrio cholerae</i>	Loi béta-poisson	N <sub>50</sub> = 243 ; α = 0,25
<i>Entamoeba coli</i>	Loi béta-poisson	N <sub>50</sub> = 341 ; α = 0,1008
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Loi exponentielle	K = 238
<i>Giardia lamblia</i>	Loi exponentielle	K = 50,23

a : dose en grammes de fécès

b : espèces B4 et A21 agrégées

c : espèces pathogènes non thyphoïdes

d : espèces non entérohémorragiques

Tableau 5 : Dose minimale infectieuse pour quelques agents pathogènes

<i>Microorganismes Echovirus 12</i>	<i>Dose minimale infectieuse 17</i>
Virus de Norwalk	10-100
<i>Pseudomonas aerugina</i>	$2 \cdot 10^8$
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	$10^{-5}$
Giardia	10-100
Cryptosporidium	30-1000

Tableau 6 :  $DI_{50}$  pour quelques bactéries

Bactérie	Hôte	Voies d'exposition	Dose médiane : $DI_{50}$
Acinétobacter	Souris	Intrapéritonéale	$10^6-10^8$
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Homme	Orale	$10^7-10^8$
<i>Légionella pneumophila</i>	Cobaye	Aérosol	< ou = $10^2$
<i>Mycobactérium avium</i>	Souris	Orale	$10^8$
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Homme	Orale	$10^{10}$

Tableau 7 : Taux de mortalité associés à différents agents pathogènes dans la population générale

<i>Microorganismes</i>	<i>Taux de mortalité (%)</i>
Virus de l'hépatite A	0,6
Virus de l'hépatite E	2-3
Coxsackievirus A	0,12-0,5
Coxsackievirus B	0,6-0,94
Echovirus	0,27-0,29
Rotavirus	0,01
Salmonelle	0,1
Shigelle	0,2
Légionelle	15-20
Leptospire	2-5
Listéria <i>monocytogenes</i>	17-33
<i>Escherichia coli</i> 0157:H7	0,2
<i>Campylobacter jejuni</i>	0,1
<i>Giardia lamblia</i>	0,1
<i>Cryptosporidium parvum</i>	0,1

**ANNEXE D**

**LES BIOCONTAMINANTS DE L'AIR INTERIEUR**

## TABLE DES MATIERES

<b>1</b>	<b>INTRODUCTION</b>	<b>2</b>
<b>2</b>	<b>LES MATÉRIAUX D'ORIGINE ANIMALE</b>	<b>2</b>
2.1	Les allergènes d'acariens	3
2.2	Les blattes	3
2.3	Les animaux domestiques	4
2.3.1	Le chat	4
2.3.2	Le chien	4
2.3.3	Les rongeurs	5
<b>3</b>	<b>LES BACTÉRIES</b>	<b>5</b>
3.1	Les bactéries gram-	6
3.2	Les bactéries gram+	8
3.3	Les actinomycètes	9
<b>4</b>	<b>LES MOISSURES</b>	<b>9</b>
4.1	Le $\beta$ -(1,3)-glucan	11
4.2	Les composés organiques volatils	12
4.3	Les mycotoxines	12
4.4	Les allergènes d'origine fongique	13
<b>5</b>	<b>LES VIRUS</b>	<b>14</b>

### 13. INTRODUCTION

---

Les particules biologiques aériennes ou déposées sont souvent dénommées de manière générique : poussières organiques.

On distingue d'une part les microorganismes (bactéries, virus, champignons microscopiques) et d'autre part les métabolites de ces microorganismes (composés de la paroi cellulaire, métabolites).

Pour qu'il y ait formation d'un aérosol microbien, il faut :

- un réservoir vivant ou inerte (habitants du logement, animaux, eaux stagnantes),
- des conditions physiques, chimiques et biologiques favorisant la survie et la croissance des microorganismes,
- une dissémination des biocontaminants par perturbation du milieu (perturbations mécaniques, nettoyage des matériaux contaminés, ventilation)

D'après Stretzenbach, les biocontaminants seraient responsables de 35 à 50% des problèmes de santé liés aux bâtiments. Les effets pour la santé peuvent être des maladies infectieuses et contagieuses, des effets toxiques, des allergies et des cancers.

Une synthèse de données concernant les différents contaminants des environnements intérieurs et pouvant être responsables de pathologies respiratoires est présentée ci-dessous. Ces données sont principalement issues de :

- CSTB, LHVP, Risques sanitaires et Bâtiments, Etat des connaissances, Avril 1999 (étude non publiée),
- et Indoor air quality - A comprehensive reference book - Editors : M. Maroni, B. Selfert and T. Lindvall, Amsterdam, 1995.

### 14. LES MATERIAUX D'ORIGINE ANIMALE

---

Platts-Milles et al. (cités dans CSTB, 1999) ont réalisé une synthèse des études récentes d'exposition aux principaux allergènes animaux. Ils indiquent qu'entre 17 et 48% de la population est affecté par des pathologies allergiques. Rance (cités dans CSTB, 1999) a publié, en 1994, une étude sur la sensibilisation des enfants aux pneumoallergènes, en France. En dessous de 3 ans, le taux d'enfants sensibilisés est de 13,6% (dont 9,5% aux allergènes d'acariens). Après 3 ans, 82% des enfants présentent des tests cutanés positifs, dont 92% ont des sensibilisations respiratoires. La répartition des sensibilisations est la suivante :

- 40 % sont sensibles aux acariens
- 22 % aux pollens,
- 20 % aux phanères d'animaux,
- 10 % aux moisissures.

Au cours de ces dernières années, il apparaît que la part des allergènes domestiques dans les pathologies respiratoires allergiques représentent une part de plus en plus importante.

#### 14.1. LES ALLERGENES D'ACARIENS

Ils ont été identifiés dans la plus grande partie du monde. Leur nombre est variable selon les lieux et les saisons. L'humidité est le facteur critique de développement des acariens. Les conditions environnementales influent sur la distribution des espèces présentes.

Ils se nourrissent des desquamations de la peau humaine ou/et des moisissures poussant sur ces desquamations.

Leur nombre varie de 10 à 1000 par gramme de poussières. Toutefois, le niveau d'allergènes d'acariens n'est pas corrélé au nombre d'acariens dans la poussière. En effet, les individus morts conservent leurs propriétés allergiques. Par conséquent le niveau d'allergènes dans l'environnement intérieur ne suit pas les mêmes variations saisonnières que celles du nombre d'acariens dans la poussière. Les concentrations d'allergènes dans la poussière sont elles aussi très variables. Elles peuvent aller de 10 à 300000 ng/g de poussières. Les allergènes des acariens sont portés par de grosses particules, qui ne restent pas longtemps en suspension dans l'air.

Les espèces d'acariens les plus importantes dans la poussière de maison sont :

- Dermatophadoides *pteronysinus*
- Dermatophadoides *farinae*,
- Dermatophadoides *microceras*,
- Euroglyphus *maynei*,

On trouve également des espèces appartenant aux genres Acarus, Lepidoglyphus et Tyrophagus notamment, dans la poussière des habitats humides.

Les principaux allergènes (Der p I, Der p II, Der f I, Der f II et Der m II), correspondant aux trois premières espèces sont aujourd'hui bien caractérisées. Der p I, Der f I et Der m I sont d'origine fécale.

Une étude sur 5000 adultes volontaires, sains et âgés de 18 à 65 ans a montré une prévalence de sensibilisation aux acariens de 9%. Dans la population asthmatique, la prévalence de la sensibilité aux allergènes d'acariens est comprise entre 45 et 85 %. Blay indique que 70% des asthmes de l'enfant sont liés aux allergènes d'acariens. Il existe une relation entre l'exposition et la sensibilisation et entre l'exposition et l'apparition de symptômes.

Des niveaux provisoires d'exposition pouvant conduire à une sensibilisation aux allergènes d'acariens ont été définis. Dans le cas d'exposition chronique, le niveau défini pour Der p 1 est de 2 µg/g de poussières (ce qui correspondrait à 100 acariens par gramme de poussières). De même, chez des patients sensibilisés, l'asthme est associé à des taux d'antigènes supérieurs à 2 µg/g de poussières.

#### 14.2. LES BLATTES

Il existe 3000 espèces de blattes, qui sont principalement tropicales. Trois espèces survivent dans nos régions : *Blattella germanica*, *Blattella Orientalis* et *Periplaneta americana* (principalement dans les DOM-TOM).

Les blattes sont des vecteurs de maladies infectieuses mais elles peuvent aussi induire des manifestations allergiques respiratoires et cutanées. Elles produisent de nombreux composés allergéniques. Les principaux sont : Bla g I et Bla g II. Les allergènes de blattes sont portés par des particules ayant un diamètre supérieur à 10 µm.

La prévalence de la sensibilisation aux blattes varie suivant les auteurs de 14 à 60 % ; ces résultats dispersés sont à rattacher aux différences dans les techniques diagnostiques et à l'hétérogénéité des populations étudiées : la sensibilisation aux blattes varie beaucoup d'une communauté urbaine à l'autre et d'un quartier à l'autre, elle est plus importante quand les conditions socio-économiques sont mauvaises ([www.allergienet.com](http://www.allergienet.com)). Bla g I est un allergène majeur chez les enfants asthmatiques.

L'augmentation de l'exposition s'accompagne d'une augmentation de la prévalence de la sensibilisation et d'une aggravation de l'asthme.

### **14.3. LES ANIMAUX DOMESTIQUES**

#### **14.3.1. Le chat**

Dans les pays occidentaux, l'allergène de chat est celui qui est le plus fréquemment responsable de sensibilisation après celui des acariens. Barbee et al. (rapporté dans Blay, 1999) ont montré que 25 % de la population générale étaient sensibilisés à l'allergène de chat. D'autres auteurs trouvent que ce chiffre est de 15%.

L'allergène majeur du chat est Fel d 1. Les principales sources en sont les glandes sébacées et la salive. Cependant les glandes anales en contiendraient également de grandes quantités.

Fel d 1 est associé à de fines particules qui restent longtemps en suspension dans l'air. 40% des allergènes de chat sont portés par des particules possédant un diamètre inférieur à 1 µm.

Il a été trouvé une relation entre l'exposition aérienne à Fel d 1 et le développement d'une sensibilisation vis-à-vis des allergènes du chat.

Ces allergènes se logent principalement dans les moquettes et les tapis (des concentrations supérieures à 5000 µg/g de poussières ont été trouvés). Les allergènes du chat peuvent aussi être présents dans les habitations où il n'y a pas de chat. Bien évidemment les habitats qui possèdent un chat renferment, en moyenne, plus de Fel d I (21,9 µg/g de poussière) que ceux qui ont, dans le passé, possédé un chat (5,2 µg/g) et que ceux qui n'ont jamais possédé de chat (3,1 µg/g) (Brempt et al. cité sur [www.allergienet.com](http://www.allergienet.com)). Mais il existe d'énormes variabilités suivant les logements. Dans des salles de classe marseillaises, des concentrations de 0,1 à 4,5 µg/g ont été mesurées.

Une concentration de Fel d 1 inférieure à 1 µg/g de poussière ne présenterait qu'un risque faible de sensibilisation, une concentration comprise entre 1 et 8 µg/g présenterait un risque modéré de sensibilisation, tandis qu'un taux supérieur à 8 µg/g de poussière serait suffisant pour déclencher une gêne chez un individu sensibilisé (Blay cité sur [www.allergienet.com](http://www.allergienet.com)).

#### **14.3.2. Le chien**

La prévalence de la sensibilisation au chien varie de 3 à 14 % dans une population non sélectionnée. Dans une population d'enfants asthmatiques, la prévalence de sensibilisation atteint 40%.

L'allergène majeur du chien est Can f 1. La principale source est le pelage, mais Can f 1 a aussi été dosé dans la salive et dans la peau. 20% des allergènes sont portés par des particules de diamètre inférieur à 5 µm.

Les niveaux les plus élevés ont été retrouvés dans les tapis et canapés entre 10 et 1000 µg/g de poussières. Des concentrations comprises entre 17 et 28 µg/g de poussières ont été mesurées dans des salles de classe.

Des réactions croisées ont été trouvées entre les allergènes du chat et ceux du chien.

### 14.3.3. Les rongeurs

Le principal allergène de la souris est Mus m 1, présent dans la salive, les follicules pileux et l'urine. Le mâle sécréterait quatre fois plus d'allergènes que la femelle. Des concentrations comprises entre 230 et 2960 pg/m<sup>3</sup> ont été mesurées dans des maisons de Harlem.

Le rat produit les allergènes suivants : Rat n IA et Rat n IB. 30 % de ces allergènes sont associés à des particules possédant un diamètre inférieur à 5 µm.

Chez le cobaye, les principaux allergènes sont Cav p 1 et Cav p 2, issus du pelage. 40 % de ces allergènes sont portés par des particules d'un diamètre inférieur à 0,8 µm. Dans l'air autour des cages, des concentrations comprises entre 1 et 70ng/m<sup>3</sup> ont été mesurées.

Les allergies aux rongeurs chez les personnels de laboratoire sont fréquentes.

## 15. LES BACTERIES

---

Dans l'habitat, la principale source de bactéries dans l'air est liée aux occupants, qu'il s'agisse des hommes ou des animaux.

Le surpeuplement et le déficit d'air neuf sont des facteurs favorisant la transmission des agents infectieux. Les systèmes de ventilation peuvent aussi remettre en suspension des bactéries dans l'air.

On distingue :

- les bactéries survivant mal en dehors de leur hôte et qui nécessitent un contact inter-humain direct pour être transmis par voie respiratoire (exemples : méningocoque, streptocoque hémolytique, pneumocoque, Haemophilus *influenza*, bacille tuberculeux),
- des bactéries dotées d'une plus grande résistance dans le milieu et pouvant donc être véhiculées à plus longue distance (exemples : légionelles, mycobactéries atypiques, staphylocoques).

Les genres les plus abondants dans l'air intérieur des habitations sont les Microcoques (avec *Micrococcus luteus*), les Staphylocoques (avec *Staphylococcus epidermis*), les Bacillus et dans certains cas, les Pseudomonas. De nombreuses autres bactéries sont aussi trouvées, notamment des actinomycètes.

Les concentrations de bactéries dans l'air intérieur peuvent varier de manière importante dans un même local, selon les moments. L'activité dans le local est un facteur important de cette variabilité.

Les concentrations de bactéries dans l'air intérieur sont généralement plus élevés qu'à l'extérieur. Nevalainen (cité dans Indoor Air Quality, 1995) a dénombré de 0 à 12000 bactéries viables par m<sup>3</sup> dans l'air intérieur, parallèlement à une étendue de 0 à 3000 bactéries dans l'air extérieur. Des bactéries sont aussi trouvées sur les surfaces et associées aux auréoles des moisissures.

Bien qu'il soit impossible de définir une valeur limite d'exposition aux bactéries en suspension dans l'air, fondée sur les risques pour la santé, une fourchette de valeurs acceptables peut être définie au vu des données de la littérature. Pour Mouilleseaux et al. (cités dans CSTB, 1999), 1000 UFC/m<sup>3</sup> dans des bureaux climatisés pourrait constituer un seuil au-dessus duquel la qualité de l'air serait mauvaise. Nevailanen et Reparen proposent un seuil supérieur égal à 4500 UFC/m<sup>3</sup>.

En dehors du pouvoir infectieux de certaines d'entre-elles, les bactéries peuvent également avoir un effet toxique ou allergique. En fonction de l'effet et de l'agent mis en cause, on présentera ci-dessous le cas des bactéries gram-, celui des bactéries gram+ non ramifiées et celui des actinomycètes (bactéries gram+, ramifiées).

### **15.1. LES BACTERIES GRAM-**

Les bactéries gram- produisent des endotoxines, constituants de leur membrane cellulaire. Les endotoxines sont composées de protéines, de lipides, et de lipopolysaccharides. Les effets biologiques des endotoxines sur l'homme sont liés aux lipopolysaccharides et en particulier à un phosphoglycolipide, nommé lipide A, de composition constante parmi les différentes espèces.

Pour être actives, les endotoxines doivent être libérées dans le milieu. Cela arrive lorsque la bactérie meurt ou lorsqu'elle se multiplie intensément.

Les matériaux végétaux, les fèces animaux contaminées par des bactéries constituent une source d'exposition importante aux endotoxines par les poussières organiques. Les expositions professionnelles dans le domaine agricole et les industries agro-alimentaires sont donc fréquentes et élevées et leurs effets ont été clairement établis. Ces effets concernent aussi d'autres industries.

#### **Effets sur la santé**

Ainsi, Deschamps et al. (1994) ont fait une revue des effets des endotoxines en milieux professionnels.

Ils indiquent que dans l'industrie du coton et d'autres fibres, les symptômes de toux, d'irritation peuvent évoluer vers une gêne respiratoire permanente. Ainsi la byssinose, reconnue comme maladie professionnelle, correspond à des symptômes de fièvre, d'oppression thoracique, de toux sèche, de bronchite, d'hyperactivité bronchique. Dans cette industrie, il a été démontré que les altérations de la fonction respiratoire sont liées à la quantité d'endotoxines dans l'air et pas à l'empoussièrage lui-même.

Dans les industries alimentaires, certains personnels se plaignent de toux, d'irritation de la muqueuse nasale, d'oppression thoracique et de dyspnée. 65% des sujets présentent une baisse du volume expiratoire maximal par seconde.

Dans les stations d'épurations, 30 à 50 % des professionnels présentent quelques heures après la reprise de leur travail, des accès aigus de malaise, des frissons, de la fièvre et une oppression thoracique, les symptômes disparaissant en 24 heures.

Chez les personnels travaillant dans des bureaux avec climatiseurs ou humidificateurs un syndrome pseudo-grippal peut être observé. Cette réaction peut concerner 40 à 50% d'une population exposée. Les symptômes disparaissent en 24 heures, toutefois certains patients décrivent une oppression thoracique associée à une toux chronique. On parle de fièvre des humidificateurs ou fièvre du lundi. Ce phénomène serait dû à la croissance du taux d'endotoxine dans les humidificateurs le week-end, lorsqu'ils sont arrêtés. Mais dans certains cas (moins de 1% de la population exposée), il peut y avoir développement d'une alvéolite allergique caractérisée par une fièvre prolongée, un amaigrissement important et des infiltrats pulmonaires.

Bien que les symptômes provoqués ne soient pas spécifiques, le rôle des endotoxines dans l'apparition des symptômes a été démontré puisque des essais d'inhalations d'aérosols d'endotoxines par des volontaires sains conduisent à l'observation des mêmes d'effets (symptômes pseudo-grippaux, fièvre, toux, oppression thoracique et diminution du volume expiratoire maximale par seconde). Les études épidémiologiques et expérimentales suggèrent également la possibilité de bronchite chronique et d'une réduction de la fonction pulmonaire. Par ailleurs, les endotoxines apparaissent comme un cofacteur aggravant de certaines pathologies respiratoires allergiques ou non (Squinazi,1993). Le niveau de réponse dépend aussi de facteurs génétiques et de l'histoire personnelle d'exposition des individus. Les individus atopiques réagissent à des niveaux d'exposition plus faibles que les sujets non atopiques. Le mode d'action des endotoxines au niveau biologique est dû à leur activation des macrophages qui augmentent alors leur activité bactéricide et cytolytique et sécrètent des médiateurs qui agissent de manière séquentielle ou indépendante pour initier ou amplifier une réponse immune spécifique ou non. En fonction de la dose d'exposition, les effets peuvent être bénéfiques ou non. A faibles doses, le système immunitaire est stimulé, permettant l'afflux de cellules de défense et la production de réactifs qui contribuent à la destruction microbienne au site de l'infection. A doses élevées, la libération dans le sang de puissants médiateurs conduit à une fièvre élevée, une hypertension, une coagulation intravasculaire disséminée pouvant aller jusqu'au choc léthal.

### **Niveaux d'exposition**

La présence d'endotoxine a été identifiée dans de nombreux milieux. Squinazi rapportent dans différents milieux professionnels ou non, les ordres de grandeurs suivants : industries du coton : 70 à 5620 ng/m<sup>3</sup>, porcheries : 13000 ng/m<sup>3</sup>, stations d'épuration : 0,6 à 310 ng/m<sup>3</sup>, bâtiments mal aérés : 20 ng/m<sup>3</sup>, bâtiments avec humidificateurs : 100 à 390 ng/m<sup>3</sup>, poussières de maison : 0,02 à 20 ng/mg de poussières (Squinazi, 1993). Dutkiewicz (1997) donne un intervalle de valeurs allant de 0,1 à 10<sup>6</sup> ng/m<sup>3</sup> selon les milieux professionnels.

## Méthodes d'analyse

Les mesures de ces polluants sont effectués à partir de prélèvements de poussière en suspension dans l'air et analyse par le test LAL<sup>5</sup> (Limulus amoebocyte lysat). Il s'agit d'un test aujourd'hui très sensible (limite de sensibilité de 5 pg/m<sup>3</sup>). Ce test permet de mesurer la fraction d'endotoxines biologiquement disponibles. La corrélation entre les effets aigus produits par et les niveaux d'endotoxines mesurés est bonne. Les mesures doivent être rapportés à un étalon. Les différences entre les endotoxines des différentes espèces de bactéries rend nécessaire l'expression des résultats en fonction de l'activité. Pour cela on utilise un étalon, il s'agit généralement d'*E. coli* et les résultats de mesure sont alors exprimés en EU (Endotoxin Unity).

Concernant l'échantillonnage et l'extraction, il n'y pas de procédures standardisées.

## Relation doses-effets

Les données de relation doses-effets existent et des limites d'exposition ont été proposées. Palchak donne une valeur limite de 30 ng/m<sup>3</sup> en moyenne pour 8 heures. Des niveaux d'expositions sans effet par inhalation ont été calculés à partir d'études expérimentales d'exposition. Ils vont de 170 à 9 ng/m<sup>3</sup> (soit approximativement 1700 à 90 EU/m<sup>3</sup>). Les niveaux sont les mêmes pour des effets respiratoires aigus et des effets chroniques (Heenderik, 2000). Le comité d'experts néerlandais sur les limites d'exposition professionnelles a recommandé en première approche une valeur limite d'exposition professionnelle sur 8 heures de 50 EU/m<sup>3</sup> définie à partir d'une étude expérimentale de bonne qualité réalisée sur des individus de la population générale en utilisant des endotoxines issues de poussières de coton. Un facteur de sécurité de 2 a été retenu pour tenir compte de certains groupes de travail à risque et de certains effets pulmonaires chroniques qui pourraient apparaître à des niveaux plus faibles que les effets aigus. Toutefois, suite aux négociations entre les différentes parties, la valeur réglementaire qui devrait être adoptée aux Pays-Bas est de 200 EU/m<sup>3</sup>.

### 15.2. LES BACTERIES GRAM+

Les bactéries gram+, non filamenteuses apparaissent comme prédominantes dans les poussières d'origine animale. Leur pathogénicité est moins bien connue que celle des bactéries gram-.

La paroi cellulaire des bactéries gram+ comporte plusieurs composants qui pourraient influencer sur les cellules des voies respiratoires : le muramyl dipeptide, l'acide teichoïque, le peptidoglycane.

Les données toxicologiques concernant ces composés sont encore peu nombreuses.

---

<sup>5</sup>Le LAL est réalisé à partir du sang ou hémolymphe d'un animal marin le *Limulus polyphemus* ou *Xyphosura polyphemus* communément appelé limule ou crabe fer à cheval. Le sang du limule est extrêmement sensible à la présence de bactéries Gram négatif. La coagulation du sang en réponse au contact avec des bactéries Gram négatif protège l'animal de l'infection par ces bactéries.

L'effet pro-inflammatoire du peptidoglycane commence à être montré. Une étude de Zhiping (citée dans Heederik, 2000) a montré qu'à partir de trente-huit sujets en bonne santé exposés à de la poussière de porcherie, la concentration en lipopolysaccharide a été associée à l'augmentation d'interleukine-6 (médiateur produit par les macrophages) et à certains symptômes respiratoires, mais que seule la concentration en peptidoglycane a été positivement associée à la température corporelle trois heures après exposition, et à la concentration en granulocytes et leucocytes dans le sang. Le peptidoglycane peut aussi être trouvé, mais en plus faible quantité chez les bactéries gram-.

Le peptidoglycane est mesuré dans l'air et dans les poussières à partir de la mesure d'acide muramique, marqueur spécifique du peptidoglycane.

### 15.3. LES ACTINOMYCETES

Ce sont des bactéries gram+ filamenteuses, ramifiées communément rencontrées dans le sol. Elles sont présentes aussi dans les composts d'origine animales et végétales, dans les fourrages, les céréales. Elles sont aussi fréquentes en milieu hydriques et le traitement des eaux usées par aération favorisent leur multiplication.

Les actinomycètes thermophiles produisent des allergènes responsables d'alvéolites allergique

## 16. LES MOISSURES

---

Il existe 600 genres et au moins 70000 espèces. Environ cinquante genres peuvent se manifester dans l'habitat.

Les espèces principalement trouvées dans l'air intérieur appartiennent aux genres *Cladosporium*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Eurotium* et *Wallenia*. *Stachybotrys chartarum* et *Aspergillus versicolor* sont des espèces souvent associées à des problèmes de bâtiments. *Penicillium* est commun dans l'habitat, y compris dans les environnements propres. Il devient plus abondant à l'intérieur qu'à l'extérieur lorsque les bâtiments présentent des problèmes. *Aspergillus* est commun dans les bâtiments présentant des problèmes.

Les moisissures à l'intérieur de l'habitat ont pour source l'extérieur. En fonction des conditions à l'intérieur, elles vont pouvoir se développer plus ou moins. Les spores peuvent rester viables longtemps (jusqu'à douze ans pour *Aspergillus* et *Penicillium*)

Les moisissures peuvent utiliser des sources de nutriments carbonées de nature très diverse.

Le facteur critique de développement des moisissures est la disponibilité en eau du substrat. Le besoin est différent selon les espèces. Pour la plupart, l'activité de l'eau nécessaire varie de 0,75 à plus de 0,98. Dans l'habitat, la condensation superficielle mais aussi interstitielle (dans les pores du béton, du plâtre), les ponts froids, une isolation insuffisante ou une ventilation inadéquate va favoriser le développement de moisissures.

Le nombre d'unités formant colonies dans l'air intérieur va de moins de 10 à 20000, voire 400000 par m<sup>3</sup> dans des cas exceptionnels. Dans les poussières, les concentrations vont de 10<sup>2</sup> à 10<sup>6</sup> CFU par gramme.

## Effets sur la santé

Sous les climats tropicaux, les mycoses cutanées et pulmonaires sont des maladies pouvant avoir une issue fatale. Sous nos climats, les maladies infectieuses dues aux moisissures concernent les personnes immunodéprimées. Ainsi, *Pneumocystis carinii*, présent dans le poumon des bien-portants sans causer de maladie semble être la première cause de mortalité chez les malades du SIDA.

D'autres types de pathologies ont été associées aux moisissures.

Ainsi, la présence de moisissures dans les bâtiments a été significativement associée à des troubles de type irritatif dans plusieurs études : congestion nasale avec excrétion, toux persistante, sécrétions montantes, frissons, enrouement. Des troubles tels que nausées, maux de tête, étourdissements, douleurs articulaires,... ont également été associés aux moisissures. Un taux d'attaque d'infections respiratoires plus élevé chez des enfants exposés à des moisissures de bâtiments a été constaté. Un risque d'asthme et de symptômes asthmatiques accru a été associé à l'exposition aux moisissures ou aux habitats humides au travers d'études exposés/non exposés et d'études cas-témoins. Quelques cas d'alvéolites dues à *Penicillium* ou à des levures ont été rapportés dans la littérature. Le syndrome des poussières organiques semble apparaître fréquemment dans les cas d'exposition aux moisissures. Enfin le risque de bronchite chronique a aussi été associé aux bâtiments endommagés par l'eau.

## Méthodes analytiques

Il n'y a pas de méthode d'analyse standardisée.

Aujourd'hui, pour évaluer les expositions aux moisissures dans l'air intérieur, on procède à une enquête de type épidémiologique, une inspection des locaux et des mesures de spores totaux ou de spores cultivables avec identification des moisissures.

Le nombre de spores et de particules fongiques viables peut ne représenter que 1 à 2% du nombre total de particules fongiques.

Un autre problème de la mise en culture des spores de moisissures est lié au fait que cette technique peut donner une image non représentative de la contamination de l'environnement, compte tenu de l'utilisation d'un substrat et de conditions de culture différentes.

Il y a aussi une grande variabilité dans le temps du nombre de spores revivifiables en fonction de l'activité dans l'habitat, des conditions environnementales.

Des mesures sont souvent réalisées sur les poussières déposées pour des facilités de prélèvements et parce que elles seraient plus représentatives d'exposition sur le long terme. Pourtant il existe des différences marquées entre la composition en espèces et le pourcentage de spores cultivables retrouvés dans les échantillons d'air et de poussières. Ainsi, certains spores présentant une texture collante se remettent difficilement en suspension dans l'air.

Les niveaux de concentrations trouvés dans la littérature sont donc rarement comparables.

D'après le LHVP, pour un diagnostic de la qualité de l'environnement intérieur, il est important d'avoir une approche qualitative basée sur l'identification des espèces pathogènes, pour mettre en évidence celles qui ont un potentiel toxique ou allergique. Il est également pertinent de comparer la composition d'échantillons prélevés à l'extérieur de ceux prélevés à l'intérieur. Le calcul du ratio de concentration entre l'extérieur et l'intérieur permettant de s'affranchir de certaines limites de l'échantillonnage et de l'analyse.

Pasanen (2000) passe en revue l'ensemble des techniques de prélèvement et d'analyses aujourd'hui utilisées pour évaluer les expositions aux moisissures. Au-delà du dénombrement des spores, il est possible de mesurer les métabolites des moisissures par des méthodes chimiques, moléculaires et immunologiques. L'auteur passe en revue les avantages et inconvénients de la recherche de chacun de ces métabolites et des techniques associées.

### **Relations doses-effets**

Il n'y a pas de relation doses-effets établie pour les moisissures.

Compte-tenu des sources de variabilité dans les mesures environnementales réalisées, les seuils proposés, pour caractériser un environnement intérieur ne posant pas de problème pour la santé, sont aussi variables. Certains auteurs ont choisi 1000 UFC/m<sup>3</sup> comme seuil tolérable, d'autres considèrent que pour 300 UFC/m<sup>3</sup>, des effets suffisamment importants sont encore observés. Dagmar Schmidt-Etkin indique que la flore doit être qualitativement analogue à l'intérieur et à l'extérieur et pour l'American Academy of Pediatrics, les concentrations à l'intérieur doivent être inférieures d'un facteur 2 à celles mesurées à l'extérieur.

Les métabolites produits par les moisissures et dont le potentiel pathogène est connu sont présentés ci-dessous.

#### **16.1. LE $\beta$ -(1,3)-GLUCAN**

Le  $\beta$ -(1,3)-glucan est un composé de la paroi cellulaire du mycélium et des spores. Il s'agit d'un polymère de glucose de poids moléculaire variable et présentant un taux de ramification également variable. Le glucan peut représenter jusqu'à 60% de la paroi cellulaire de moisissures, parmi lequel le  $\beta$ -(1,3)-glucan représente la majeure partie. Le  $\beta$ -(1,3)-glucan est aussi présent chez certaines bactéries, chez la plupart des plantes supérieures et de nombreuses plantes inférieures.

Des concentrations de  $\beta$ -(1,3)-glucan comprises entre 0,4 et 80 ng/m<sup>3</sup> ont été mesurées dans des centres de soin et dans des sous-sols. Dans des bureaux, les concentrations mesurées étaient inférieures à 0,55 ng/m<sup>3</sup>.

Les propriétés inflammatoires du  $\beta$ -glucan libre ont été démontrées.

Le  $\beta$ -(1,3)-glucan peut stimuler le système réticulo-endothélial, activer les neutrophiles, les macrophages, le complément et peut-être les éosinophiles, conduisant à une augmentation de la résistance aux infections et de l'action antitumorale. Il peut aussi induire une activation des lymphocytes T dans des essais sur animaux. Le glucan pourrait avoir des effets délétères par son impact sur les macrophages alvéolaires et la phagocytose, première réponse du système immunitaire.

Les mécanismes biologiques impliqués dans les effets respiratoires restent néanmoins à clarifier. Certaines études suggèrent que les propriétés toxicologiques du  $\beta$ -(1,3)-glucan pourraient être liées à son degré de ramification.

Différentes études épidémiologiques suggèrent des effets, tels que la toux, des irritations de la gorge et du nez, des démangeaisons de la peau, liés au niveau de  $\beta$ -(1,3)-glucan dans l'air intérieur. Des essais d'exposition à un aérosol de  $\beta$ -(1,3)-glucan pendant quatre heures ont montré une légère augmentation des symptômes d'irritation du nez et de la gorge, et une petite diminution du volume expiratoire de pointe pour une concentration de 210 ng/m<sup>3</sup>, immédiatement après exposition et trois heures après exposition. (Heenderik, 2000). Enfin, une relation entre le fait d'occuper un bâtiment présentant des concentrations élevées de  $\beta$ -(1,3)-glucan et la prévalence de symptômes inflammatoires a été rapportée.

Pourtant, aucune valeur seuil d'exposition n'a pu être définie pour l'instant.

## **16.2. LES COMPOSES ORGANIQUES VOLATILS**

Les moisissures produisent, en phase de croissance, des mélanges complexes de composés volatiles : alcools, cétones, esters, aldéhydes, aromatiques et hydrocarbures divers. Les composés produits dépendent du substrat sur lequel ils se développent. Le principal composé volatil produit par les moisissures dans un environnement humide est l'éthanol.

Les composés organiques volatiles produits par les moisissures provoquent des réactions d'irritation nasales comme peuvent le faire les autres sources de composés volatiles dans l'air intérieur. Ils ont un pouvoir synergique avec les toxines.

Leur impact sur la santé par rapport aux autres sources de composés volatils dans un bâtiment n'est pas connu pour le moment.

## **16.3. LES MYCOTOXINES**

Elles sont produites par de nombreuses moisissures et sont localisées dans le mycélium et dans les spores. Ces sont des molécules ayant une masse moléculaires supérieure à 200 mais beaucoup plus petites que les allergènes. La viabilité des spores n'est pas nécessaire pour que la toxicité des mycotoxines s'expriment.

La production de mycotoxines dépend des espèces, des cycles diurnes et nocturnes, des cycles saisonniers et du substrat sur lequel elle pousse, qui peut être différent, du milieu de culture de laboratoire.

*Aspergillus versicolor*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Cephalosporium*, *Chaetonnium* et *Stachybotrys* sont connus pour produire des mycotoxines. Une espèce de moisissure peut produire plusieurs mycotoxines différentes et plusieurs espèces de moisissures peuvent produire la même molécule de mycotoxines.

Elles peuvent être inhalées ou absorbées par la peau car la plupart sont liposolubles.

De nombreux effets peuvent être produits par les mycotoxines. Ainsi à doses très élevées, les trichothecenes sont mutagènes et inhibent la synthèse protéique. A doses élevées, des effets cytotoxiques ont été mis en évidence en particulier sur les cellules du système immunitaire. A faibles doses, ces mycotoxines sont des irritants de la peau et un effet sur la réponse immunitaire des mammifères apparaît. Des effets sur la production des hématies et des plaquettes, sur la coagulation, le rythme cardiaque, la pression sanguine ont aussi été rapportés.

Des essais expérimentaux sur animaux ont montré que les trichothecenes étaient 20 à 50 fois plus dangereux par inhalation que par injection intraveineuse. Les trichothecenes produites par *Stachybotrys atra* et *Fusarium spp.*, de même que la patuline et l'acide pénicillique produits par de nombreuses espèces de *Penicillium* sont des toxiques aigus des macrophages alvéolaires. Avec *Stachybotrys*, des symptômes tels que des rhumes récurrents, des maux de gorge, des rhinites, des maux de tête, de la fatigue, des diarrhées, des dermatites, des troubles neuromusculaires ont été rapportés chez l'homme.

Presque toutes les mycotoxines ont un effet immunosuppresseur.

Toutefois les effets pathogènes ont été démontrés à de fortes doses d'exposition et pour des conditions correspondant à certaines expositions professionnelles. Malgré les cas rapportés suite à des expositions dans des bâtiments présentant des moisissures, les études épidémiologiques menées pour évaluer les effets liés aux mycotoxines et de moisissures contenant des mycotoxines dans l'air intérieur ne semblent pas encore apporter pas des preuves irréfutables (Robbins, 2000).

Concernant la cancérogénicité, il n'existe pas de preuve par voie respiratoire. Les données épidémiologiques sur ce sujet manquent ou sont contradictoires alors que le caractère cancérigène chez l'homme de certaines mycotoxines par ingestion a été prouvé. Enfin, quelques éléments de preuves préliminaires indiqueraient une association possible entre mycotoxines et malformations (Husman,2000).

#### **16.4. LES ALLERGENES D'ORIGINE FONGIQUE**

Peu d'allergènes produits par les moisissures ont aujourd'hui été purifiés et reconnus.

Les allergènes des moisissures connus sont des glycoprotéines solubles dans l'eau

On sait que les genres *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* et *Penicillium* occasionnent des rhinites et de l'asthme chez les sujets atopiques.

La fréquence des allergies aux moisissures est moindre que celles liés à d'autres allergènes respiratoires. Toutefois, les allergies aux moisissures sont plus fréquentes chez les enfants que chez les adultes

Les spores de moisissures à fortes concentrations ( $5.10^8$  à  $3.10^9$  spores/m<sup>3</sup>) provoquent des alvéolites allergiques extrinsèques (notamment chez les professionnels). A plus faibles concentrations, des effets allergiques peuvent apparaître chez les sujets atopiques, et des effets non allergiques peuvent affecter la fonction respiratoire, suite à un endommagement des macrophages alvéolaires.

## **17. LES VIRUS**

---

---

Il existe peu de données sur la transmission des virus dans les environnements intérieurs, même si l'on sait qu'une meilleure isolation des habitations entraîne une diminution du renouvellement d'air et une augmentation des pathologies virales.

Différents types de virus peuvent être transmis par voie aérienne : virus Influenza, Paramyxovirus, Rhinovirus, Adénovirus, Coronavirus. Il s'agit de virus enveloppés, fragiles dont la transmission se fait à une distance restreinte (on parle de transmission de personne à personne). Dans certains cas, la transmission par les conduites d'aération est possible.

D'une manière générale, on considère que la lutte contre les autres nuisances dans les bâtiments permet d'éviter le développement de terrains favorables aux infections virales.



**Fin du Complément non destiné au client**