

# Rejets urbains : risques sanitaires et écologiques

## Apports de la microbiologie et de l'écotoxicologie : approches prospectives

*Benoit COURNOYER, UCBL Lyon 1/EVL/CNRS*  
*Yves PERRODIN, ENTPE / L.S.E.*

## Partie I :

# Risques sanitaires liés aux agents infectieux des RUTP

*Benoit Cournoyer, CNRS*



## Contexte des rivières impactées par des "rejets urbains"

- Quels agents pathogènes dans les rejets?
- À quelles concentrations? Dose infectante atteinte?
- Persistance des agents pathogènes dans le milieu?
- Effet sur l'état écologique?
- Rôle dans l'évolution des clones épidémiques?



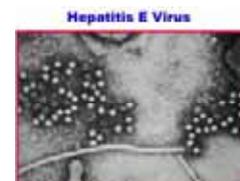
## Principaux dangers – infections d'origine hydrique

- quels agents infectieux?
- virus (environ 7%)
- Une dizaine d'espèces

Pathologies:



gastro-entérite  
- astrovirus, calicivirus/  
**norovirus**, **entérovirus**,  
Rotavirus, **adenovirus (rhinite)**



Hépatite A et E  
- Inflammation  
du foie

## Principaux dangers – infections d'origine hydrique

– quels agents infectieux?

➤ protozoaires (environ 40%)

- Une dizaine d'espèces

Pathologies:



gastro-entérite  
- *Cryptosporidium*,  
*Giardia duodenalis*,  
*Entamoeba histolytica*



méningo-encéphalite  
amibienne (rare)  
- *Naegleria fowleri*



toxoplasmose  
- *Toxoplasma gondii*  
(développement fœtal  
perturbé)

## Principaux dangers – infections d'origine hydrique

– quels agents infectieux?

➤ bactéries (environ 40% mais 70% des hospitalisations)

- Une quinzaine d'espèces

Pathologies:



gastro-entérite  
- *Shigella*, *Salmonella*  
*Aeromonas hydrophila*,  
*E. coli* 0157:H7



otite, pneumopathies  
- *P. aeruginosa*,  
- *B. cepacia*, *S. maltophilia*  
- *S. aureus*



infections  
cutanées  
- *P. aeruginosa*  
- *Aeromonas* sp.

## Principaux dangers – infections d'origine hydrique

– quels agents infectieux?

➤ bactéries (environ 40%)

- Pathologies plus rares:



Légionellose

- *Legionella pneumophila*

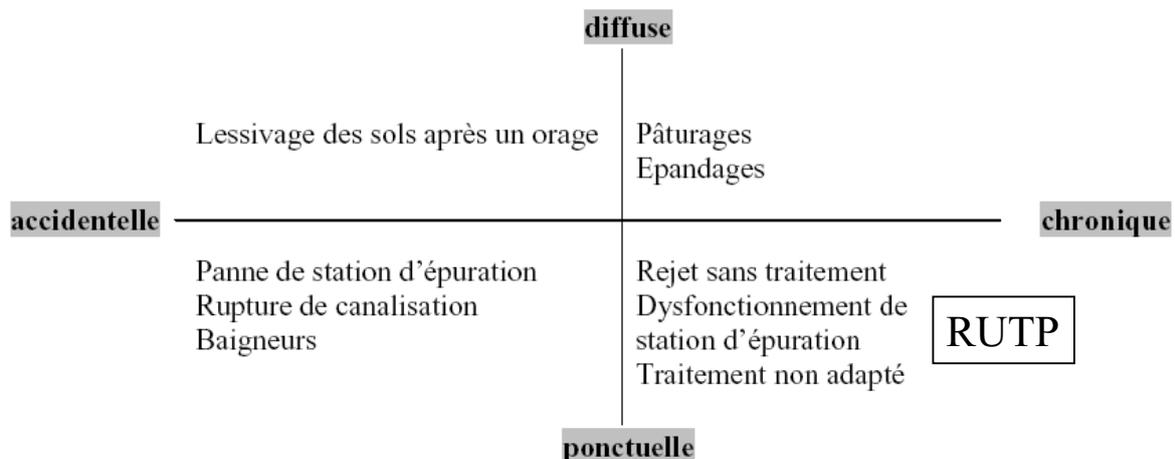


Leptospirose

- *Leptospira interrogans*  
(insuffisance rénale aiguë, atteinte neurologique et hémorragies)

## Principaux dangers – infections d'origine hydrique

– les sources:



RAMBAUD – Mémoire de l'Ecole Nationale de la Santé Publique – 2004

## Principaux dangers – infections d'origine hydrique

### – les principales sources sur l'OTHU

#### ➤ ponctuelles et chroniques:

- contaminations fécales, urines, vomissements
- expectorations, mucus

e. g. 1: déversoir d'orage, effluents de

STEP, effluents de lagunes, effluents de bassin de rétention, baigneurs, animaux

e. g. 2: eaux de ruissellement de voiries, site agricole



#### ➤ diffuses et chroniques

- rejets agricoles, biocénose – plantes, invertébrés, etc...

4

## Principaux dangers – infections d'origine hydrique

### – quelques chiffres importants:

-10 à 35% des individus sont émetteurs d'agents pathogènes

Organismes	quantité dans les selles	période de rejet	dose infectante	
<i>Shigella</i>	10 <sup>6</sup> per gram	30 days	<5 × 10 <sup>2</sup> /ID <sub>50</sub>	Makintubee et al., 1987; DuPont, 1988
<i>Escherichia coli</i> O157	10 <sup>8</sup> per gram	7–13 days	Not known <sup>a</sup>	Pai et al., 1984
<i>Cryptosporidium</i>	10 <sup>6</sup> –10 <sup>7</sup> per gram	1–2 weeks	132/ID <sub>50</sub>	Casemore, 1990; DuPont et al., 1995
<i>Giardia</i>	3 × 10 <sup>6</sup> per gram	6 months	25/ID <sub>25</sub>	Rendtorff, 1954; Feachem et al., 1983

virus = 10<sup>10</sup> particules par gramme

4



## Principaux dangers – infections d'origine hydrique

### – types d'exposition

- contact / blessures
- ingestion
- inhalation / particules en suspension

### – populations à risque

- résidents à proximité des cours d'eau
- agriculteurs
- utilisateurs des cours d'eau à des fins récréatives
- enfants
- individus fragiles: CF, immuno-déprimés, etc

4



## Bilan Rhône-Alpes:

- Prévalence de *Leptospira interrogans* chez les rongeurs
- Prévalence de *Toxoplasma gondii* chez les chats et dans les sols
- Prévalence de *Legionella pneumophila* dans les TAR, sources thermales
- Prévalence de *Naegleria fowleri* – cours d'eau soumis aux rejets de centrale nucléaire
- Prévalence d'*E. coli* dans les sols agricoles

❖ peu ou pas de données sur les bassins-versants en milieu urbain/péri-urbain

- quelques bilans pour les sites de baignades:  
*E. coli* et entérocoques intestinaux (bio-indicateurs)
- Peu ou pas de données sur les agents pathogènes?



## Eaux de baignade

MIRIBEL-PLAGE DES EAUX BLEUES  
Département : RHONE / Commune : VAULX-EN-VELIN

<http://baignades.sante.gouv.fr/editorial/fr/accueil.html>



### 100 ml Détails du prélèvement du 13/08/2009

Paramètre	Résultat	Valeur limite impérative*	Valeur limite guide**
Coliformes totaux /100ml	46	10000	500
Streptocoques fécaux /100ml	30	-	100
Escherichia coli / 100ml	30	2000	100

+4% GE

Deux études utilisées pour estimer les risques de gastro-entérite (GE):

- Kay et al. 1994. milieux marins (Royaume-Uni)
- Wiedenman et al., 2006. eaux douces (Allemagne)

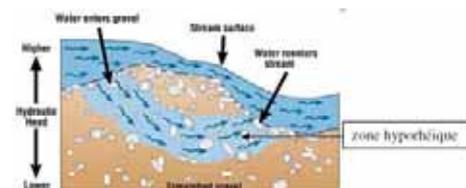
>100 *E. coli* ou > 25 entérocoques intestinaux / 100 ml  
= augmentation de l'incidence des GE

Mais, pas de données sur les agents étiologiques et autres pathologies



## Objectifs opérationnels du projet

- Estimer les dangers d'infection selon le type de rejet et les quantités déversées
- Identifier les compartiments contaminés ou colonisés
- Définir des règles permettant de limiter les expositions
- Proposer des indicateurs





## Objectifs scientifiques du projet

- Étudier l'écologie des agents infectieux
  - dynamiques spatio-temporelles
    - . paramètres physico-chimique, variations saisonnières
    - . flux hydriques
    - . géo-morphologie
  - interactions avec les autres espèces (effet sur l'état écologique)
- Étudier l'adaptation aux contraintes environnementales
  - acclimatation et multiplication: notion de population adaptée et clones dominants
  - sélection de variants génétiques / nouveaux dangers



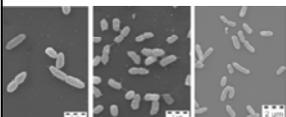
## Projet ANR INVASION

- inter-équipes OTHU (2009-2013)

(LEM, HH CEMAGREF, LSA U. Lyon 1, LSE-ENTPE, EVS U. Lyon 2, BMGeo)

### Modèles d'étude

- Rivière Chaudanne (Grézieu-la-Varenne)
- Bactéries pathogènes



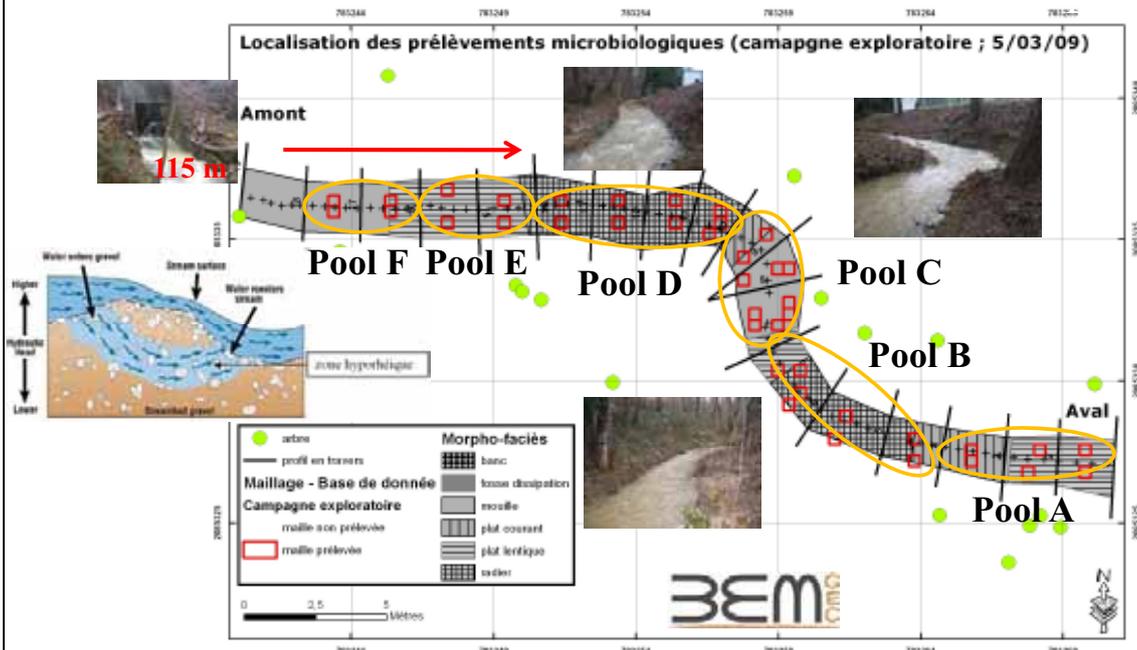
*Pseudomonas aeruginosa*, *EC* et *EI*  
*Burkholderia* du complexe *cepacia*  
*Aeromonas hydrophila*, *A. caviae*  
*Shigella* spp., *Salmonella*,  
*Listeria* spp., *Campylobacter jejuni*



crue Fev-2009

## Analyses exploratoires du site aval

- 6 groupes d'échantillons pour chaque matrice (benthique, 0-10 cm, et hyporhéique, -30 cm)



## Analyses exploratoires

- 47 échantillons – site DO: eaux usées (15), eaux DO (2), écouillons DO (30)
- 151 échantillons – site aval :
  - 41 sédiments benthiques
  - 41 eaux benthiques
  - 3 eaux de surface
  - 33 sédiments hyporhéiques
  - 33 eaux hyporhéiques

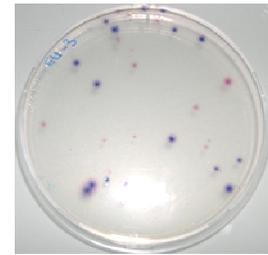


- ✓ Méthodes d'isolement et dénombrement = milieux gélosés
- ✓ Méthodes d'identification = tests phénotypiques ou ADN
- ✓ Méthodes de typage = PFGE et MLST (ADN)

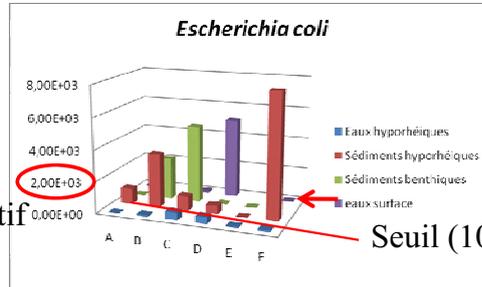


# Escherichia coli

- ❖ DO – rejets  
> 10<sup>3</sup> UFC / 100 ml
- ❖ Aval DO



Milieu Rose-Gal BCIG



seuil impératif

Seuil (100 UFC/100ml)

UFC/100mL d'eau ou UFC/g de sédiment



## Conclusions:

- valeurs seuils dépassées pour les eaux (hors période de rejets)
- populations élevées dans les sédiments / **persistance probable**

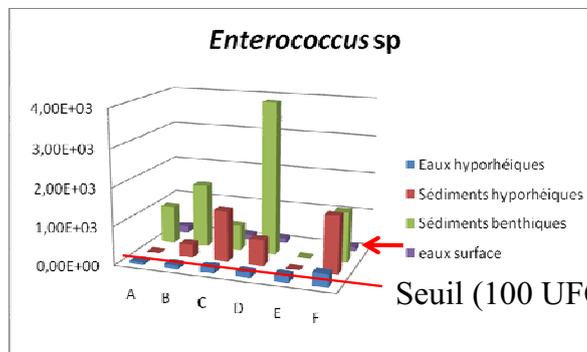


# Entérocoques intestinaux

- ❖ DO  
À faire
- ❖ Aval DO



Milieu Slanetz + TTC, puis enterosel



Seuil (100 UFC/100ml)

UFC/100mL d'eau ou UFC/g de sédiment



## Conclusions:

- populations élevées dans les sédiments / **persistance probable**
- 10 à 10<sup>2</sup> CFU/100mL d'eau de surface (bonne qualité?)

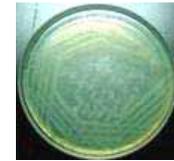


# *Pseudomonas aeruginosa*

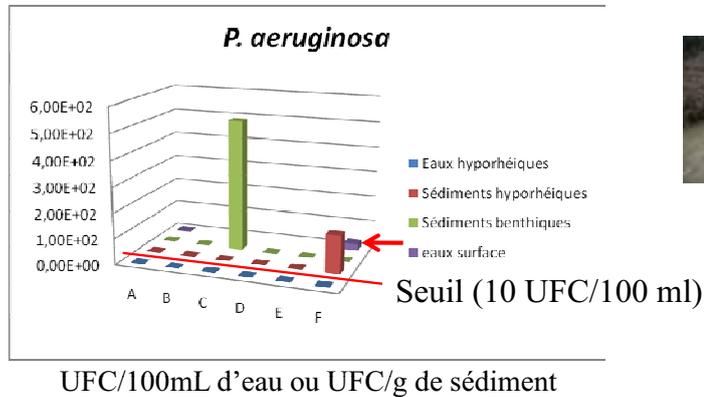
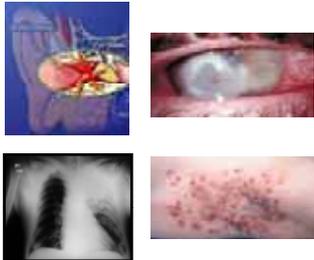
## ❖ DO et eaux usées

-détECTION de populations significatives  
(140 isolats)

## ❖ Aval DO



Milieu PAB-CN

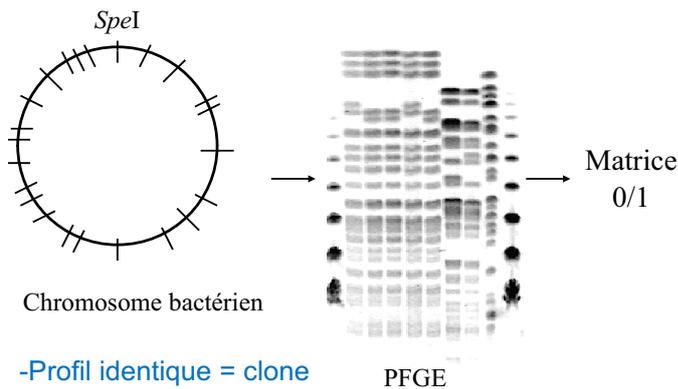


### Conclusions:

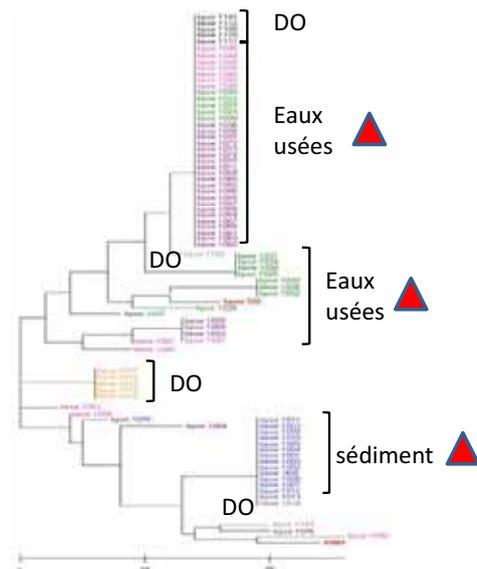
- populations élevées pour quelques sédiments / **persistance probable**



# *Pseudomonas aeruginosa*



-Profil identique = clone  
- moins de 7 bandes de différence = complexe clonal  
(souche fortement reliée)



### Conclusions:

- Clones des eaux usées déversés dans la Chaudanne  
- 18 clones / 2 complexes clonaux

## *Shigella* et *Salmonella*

### ❖ DO – eaux usées

- Détection de salmonelles (après enrichissement)
- Absence de Shigelles



Milieu Hektoen

### ❖ Aval DO

- 700 isolats obtenus mais aucun validés shigelles ou salmonelles

### Conclusions:

- populations faibles mais méthodes disponibles peu appropriées pour l'analyse des eaux
- l'enrichissement est essentiel

## *Burkholderia* du *cepacia* complexe

### ❖ DO – eaux usées

- absence de Bcc - site Chaudanne
- mais, détection - site Montracol (01) ?



Milieu TB-T

### ❖ Aval DO

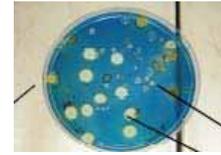
CFU.g<sup>-1</sup> sur milieu TB-T agar et hybridation *ecfM*

### Conclusions:

- source non-identifiée; possibilités = végétation
- plus fortes abondances dans les sédiments

## Aeromonas spp.

- ❖ DO – eaux usées
  - détection dans les eaux usées



Milieu ampicilline  
Dextrine agar  
(colonies jaunes)

### ❖ Aval DO



Eaux de surface = 10 UFC/ml  
Sédiments benthiques = 100 UFC/ml  
Eaux hyporhéiques = 20 UFC/ml  
Sédiments hyporhéiques = en cours d'analyse



Espèces pathogènes détectées = *A. hydrophila*, *A. caviae*  
(50%) *A. v. sobria*

### Conclusions:

- populations significatives
- répartition homogène

## Conclusions

### Bilan 6 mois volet « pathogènes » – ANR INVASION

- DO déverse des agents pathogènes
- hors période de déversement:
  - ❖ détection des indicateurs de contamination fécale
  - ❖ détection de plusieurs agents pathogènes
- démonstration d'un transfert d'agent pathogène depuis les eaux usées vers la rivière
- méthodologie à améliorer pour le dénombrement des shigelles, *Campylobacter*, *Listeria*



## Perspectives

### Bilan 6 mois volet « pathogènes » – ANR INVASION

- analyse de la zone amont du DO
- poursuite du bilan « pathogènes » des eaux usées et RUTP
- juxtaposition des jeux de données
  - ❖ flux hydriques
  - ❖ géo-morphologie
  - ❖ chimie des eaux
  - ❖ éco-toxicologie



## REMERCIEMENTS



Stéphanie PETIT  
Manuelle NETO  
Laurence VILLARD  
Evelyne BORGES  
Françoise MAURIN  
Laurence LOISEAU  
Claire MONNEZ  
Simon GIBERT  
Sylvie NAZARET  
Sabine FAVRE-BONTE  
Elisabeth BROTHIER  
Véronica RODRIGUEZ-NAVA



Bertrand MOULIN  
Guillaume FANTINO  
Laurent SCHMITT



Pascal BREIL (HH)  
Philippe NAMOUR  
Nicole JAFFREZIC



Yves PERRODIN



Sylvie BARRAUD  
Laetitia BACOT

### Autres financeurs

