

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?



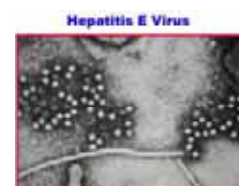
Principaux dangers – infections d'origine hydrique

- 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?

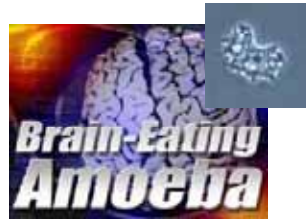
➤ protozoaires (environ 40%)

- 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*

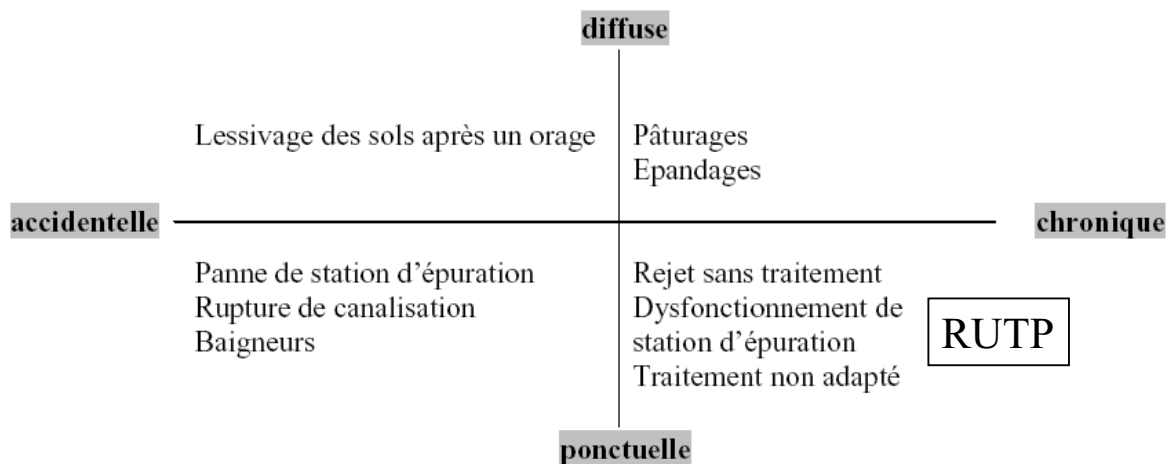


Leptospirose

- *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 ⁶ per gram	30 days	<5 × 10 ² /ID ₅₀	Makintubee et al., 1987; DuPont, 1988
<i>Escherichia coli</i> O157	10 ⁸ per gram	7–13 days	Not known ^a	Pai et al., 1984
<i>Cryptosporidium</i>	10 ⁶ –10 ⁷ per gram	1–2 weeks	132/ID ₅₀	Casemore, 1990; DuPont et al., 1995
<i>Giardia</i>	3 × 10 ⁶ per gram	6 months	25/ID ₂₅	Rendtorff, 1954; Feachem et al., 1983

virus = 10¹⁰ 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)

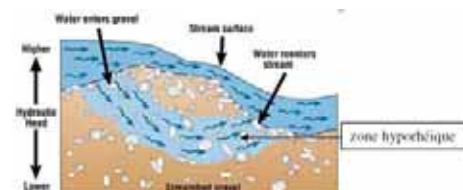
>100 *E. coli* ou > 25 entérocoques intestinaux / 100 ml
= augmentation de l'incidence des GE

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

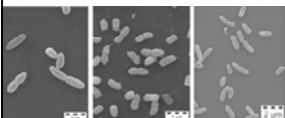


Projet ANR INVASION

- 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



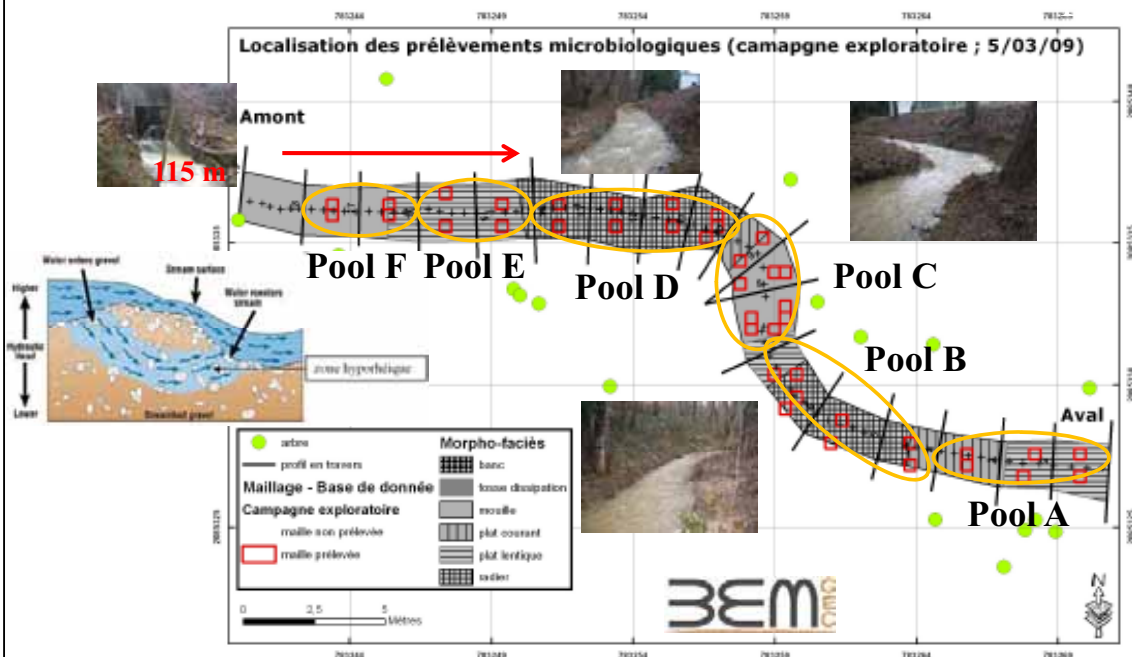
Pseudomonas aeruginosa, *EC* et *EI*
Burkholderia du complexe *cepacia*
Aeromonas hydrophila, *A. caviae*
Shigella spp., *Salmonella*,
Listeria spp., *Campylobacter jejuni*



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

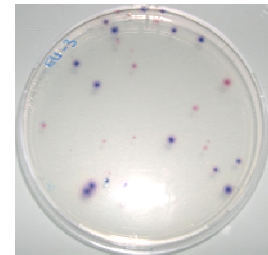


- ✓ Méthodes d'isolement et dénombrement = milieux gélosés
- ✓ Méthodes d'identification = tests phénotypiques ou ADN
- ✓ Méthodes de typage = PFGE et MLST (ADN)

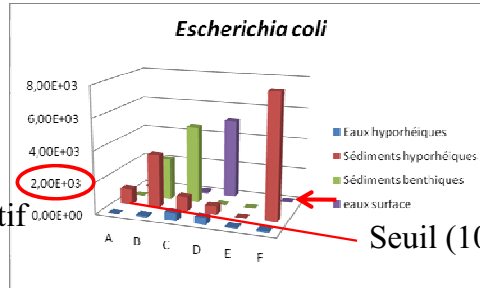


Escherichia coli

- ❖ DO – rejets
> 10³ 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**

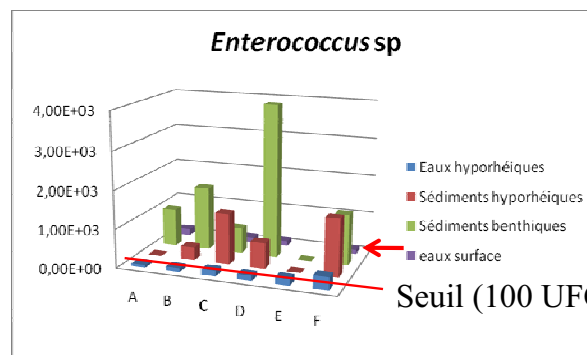


Entérocoques intestinaux

- ❖ 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 10² CFU/100mL d'eau de surface (bonne qualité?)

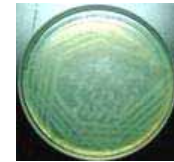


Pseudomonas aeruginosa

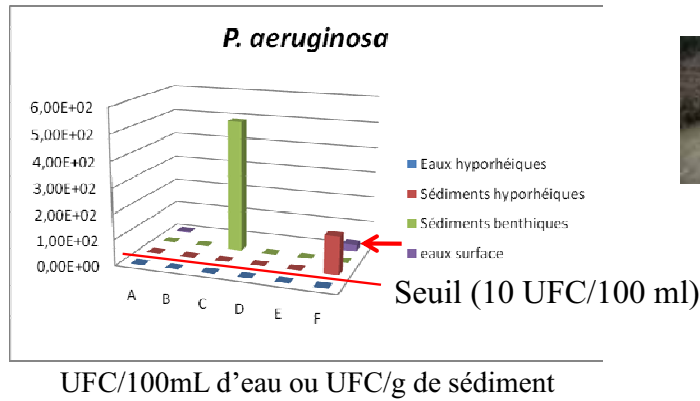
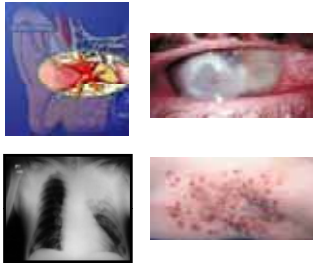
❖ DO et eaux usées

-déttection de populations significatives
(140 isolats)

❖ Aval DO



Milieu PAB-CN

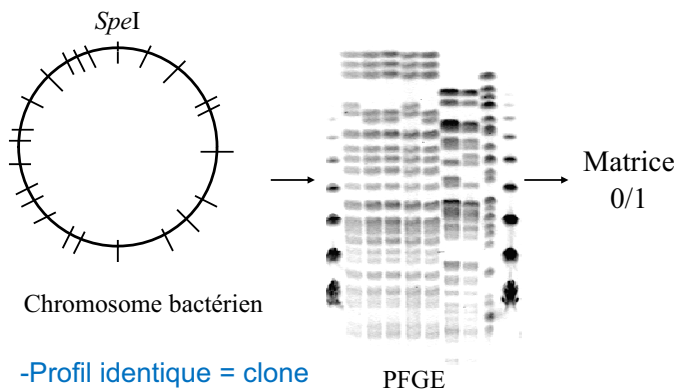


Conclusions:

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



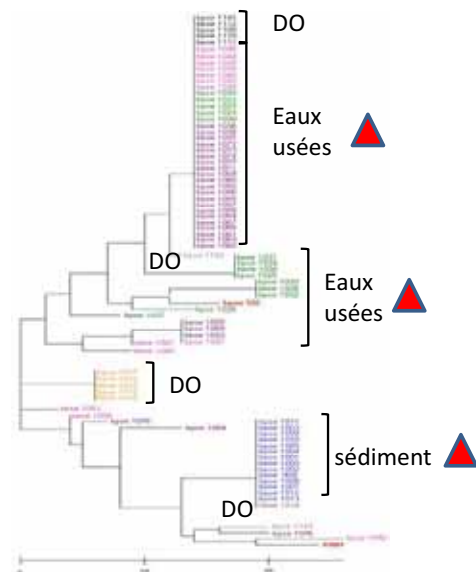
Pseudomonas aeruginosa



Chromosome bactérien

PFGE

- 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

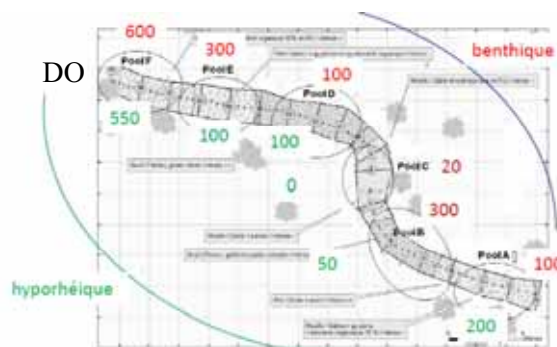
❖ DO – eaux usées

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



Milieu TB-T

❖ Aval DO

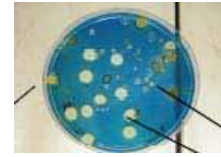
CFU.g⁻¹ sur milieu TB-T agar et hybridation *ecfM*

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

