



ENSP
ECOLE NATIONALE DE
LA SANTE PUBLIQUE

RENNES

Ingénieurs du Génie Sanitaire
Promotion 2005

Atelier Santé Environnement
Neige de culture et Snomax :
quels impacts sur la santé ?

Référent pédagogique : M. Denis BARD
BRILLAUD Marie-Anne
LUEZ Amandine
RODICQ Manuel

Remerciements

Nous tenons à remercier :

- notre référent pédagogique, M. Denis Bard, enseignant à L'Ecole Nationale de la Santé Publique (ENSP) et chercheur au Laboratoire d'Etudes et de Recherches en Environnement pour ses encouragements ;
- M. Jean Lesne, Professeur à L'Ecole Nationale de la Santé Publique (ENSP) et Directeur Adjoint du Laboratoire d'Etudes et de Recherches en Environnement et Santé, pour ses conseils avisés ;
- Mme Françoise Dinger, responsable de l'étude «Snomax : quels impacts sur l'environnement ? » pour le CEMAGREF Grenoble, et Mme Susan Hirano, chercheur à l'université du Wisconsin, pour avoir répondu à nos questions ;
- M. Christian Rixen, chercheur au Swiss Federal Institute for Snow and Avalanche Research, et M. Scott O. Rogers, chercheur au département biologie de l'université de Bowling Green State (USA), pour nous avoir communiqué leurs publications sur le sujet.

Sommaire

INTRODUCTION.....	3
1 LA NEIGE DE CULTURE [2].....	4
1.1 Définition/présentation.....	4
1.2 Process de fabrication.....	4
1.3 Utilisation d'additif	6
1.4 Approvisionnement en eau.....	6
2 PRESENTATION DE <i>PSEUDOMONAS SYRINGAE</i>.....	8
2.1 Présentation générale	8
2.1.1 Nomenclature	8
2.1.2 Caractéristiques et écologie.....	8
2.2 Caractérisation des dangers.....	8
2.2.1 Etude de toxicité par inhalation chez les rats	8
2.2.2 L'étude du CEMAGREF	10
2.2.3 L'étude du NIOSH	10
2.3 Expositions liées à <i>Pseudomonas syringae</i>.....	11
2.3.1 Méthodologie des études d'exposition.....	11
2.3.2 Résultats de l'étude d'exposition.....	12
2.4 Discussion.....	17
2.4.1 Etude de toxicité chez les rats	17
2.4.2 Etude du NIOSH.....	18
2.4.3 Etude du CEMAGREF.....	19
2.4.4 Synthèse.....	19
2.5 Conclusion	20
3 LES DANGERS BACTERIENS D'ORIGINE HYDRIQUE	21
3.1 Présentation.....	21
3.2 Identification et caractérisation des dangers [9] [10].....	21
3.2.1 <i>Yersinia enterocolitica</i>	22
3.2.2 <i>Serratia fonticola</i>	23
3.2.3 <i>Halomonas aquamarina</i>	23
3.2.4 <i>Buttiauxella agrestis</i>	24
3.2.5 <i>Raoultella terrigena</i>	24

3.2.6	<i>Moraxella Bovis</i>	25
3.2.7	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	26
3.2.8	<i>Escherichia coli</i>	26
3.2.9	Les entérocoques fécaux.....	27
3.3	Exposition	27
3.3.1	Hypothèses sur la survie des bactéries au process	27
3.3.2	Conclusion sur l'exposition.....	28
3.4	Conclusion sur le risque hydrique	29
3.5	Discussion	29
4	PERCEPTION DU RISQUE	30
5	MESURE DE GESTION	33
	CONCLUSION	34
	BIBLIOGRAPHIE	35
	ANNEXE I	I

Table des tableaux et des figures

<i>Tableau 1: Conditions de température et de pression de fonctionnement des enneigeurs.....</i>	<i>5</i>
<i>Tableau 2 : Résultats de l'étude concernant le poids des poumons des rats exposés à P. syringae ..</i>	<i>9</i>
<i>Tableau 3: Résultats de l'étude du CEMAGREF (CEMAGREF, 2001).....</i>	<i>13</i>
<i>Tableau 4 : Concentration des bactéries au cours du procédé de fabrication de la neige de culture (NIOSH, 1990).....</i>	<i>14</i>
<i>Tableau 5 : Concentrations en endotoxines en différents points du process (NIOSH, 1990).....</i>	<i>15</i>
<i>Tableau 6 : tableau récapitulatif des dangers probables associés à l'utilisation des canons à neige</i>	<i>29</i>
<i>Figure 1 : Les différentes étapes de la fabrication de la neige de culture (ANPNC).....</i>	<i>5</i>
<i>Figure 2 : schéma représentant le système de traitement de l'eau pour la neige de culture (ANPNC)</i>	<i>7</i>

Liste des sigles utilisés

ANPNC : Association Nationale des Professionnels de la Neige de Culture

CEMAGREF : Institut de Recherche pour l'Ingénierie de l'Agriculture et de l'Environnement

EU : endotoxin unit

EMB : Eosin Methylene Blue

FRAPNA : Fédération Rhône Alpes Pour la Nature

INA : Ice Nucleation Activity

INSA : Institut National des Sciences Appliquées

LC : lethal concentration

LD : lethal dose

LOAEL : Low Observed Adverse Effect Level

LPS : LipoPolySaccharide

NIOSH : National Institut for Occupational Safety and Health

OITAF : Organisation Internationale des Transports à Cables

UFC : Unité formant colonie

Introduction

Les chutes de neige se raréfiant, de plus en plus de stations de ski utilisent de la neige de culture pour assurer l'enneigement de leurs pistes pendant toute la saison.

La production de cette neige suppose la mise en place d'installations d'enneigement tels que des canons à neige. De plus, depuis quelques années, l'utilisation d'additif permet de produire de la neige plus rapidement en utilisant moins d'eau et à une température supérieure à celle habituelle.

L'additif le plus utilisé est une protéine cryogène provenant de la bactérie *Pseudomonas syringae*. Il est commercialisé sous le nom Snomax par l'entreprise York snow.

Le Snomax est préparé à partir d'une culture de *Pseudomonas syringae* qui contient la protéine d'intérêt et est passé aux rayonnements ionisants en fin de production [1]. Son utilisation est autorisée par exemple aux Etats-Unis et en Suisse mais est interdite notamment dans deux provinces autrichiennes.

Des associations écologiques ont mis en cause l'utilisation du Snomax et provoqués le lancement d'étude d'impacts environnementaux et sanitaires dans le but de connaître son impact sur l'écosystème montagnard

Dans ce contexte, la problématique se posant est la suivante : « L'utilisation du Snomax a-t-elle un impact sur la santé ? ». Si des conséquences relatives à l'utilisation de ce produit existent, à quelles populations se rapportent-elles ?

Afin de répondre à cette question, dans une première partie, une présentation du process de fabrication sera effectuée dans le but de connaître les conditions particulières imposées par celui-ci aux microorganismes. Dans un second temps, la bactérie ainsi que les études portant sur le Snomax seront présentées. La troisième partie présentera les dangers bactériens d'origine hydrique. Cette partie est consacrée à l'étude des dangers et des voies expositions indépendantes de l'utilisation du Snomax. La fin du rapport présentera la façon dont le risque est perçu par les différents utilisateurs ou manipulateurs du Snomax et les mesures de gestion que l'on pourrait mettre en œuvre pour réduire les expositions ou les contaminations.

Ce rapport s'appuie sur des publications antérieures, mais les effets du Snomax sur la santé ont été très peu étudiés. Le plus souvent l'enjeu des études réalisées est purement environnemental. C'est pourquoi nous avons eu des difficultés à trouver des informations pertinentes sur le sujet.

1 La neige de culture [2]

1.1 Définition/présentation

La neige naturelle se forme par condensation de la vapeur d'eau en glace autour d'éléments microscopiques tels que des particules organiques et des poussières. Autour de ce cristal initial de forme hexagonal (germe), les cristaux vont croître.

La formation du cristal de neige de culture ne provient pas de ce phénomène de condensation mais de la solidification des gouttelettes d'eau (passage de l'état liquide à l'état solide). La principale différence résultant de ceci est que le cristal de neige de culture ne sera pas de forme hexagonale mais ronde.

1.2 Process de fabrication

Le process de fabrication de la neige de culture repose sur la solidification de gouttelettes d'eau. Il se décompose sur 4 étapes :

- **l'atomisation** : cette première étape consiste à atomiser de l'eau en fines gouttelettes dont le diamètre varie de 0,2 à 0,8 mm ;
- **la nucléation** : en parallèle, des micro-cristaux de glace sont formés à partir d'un mélange air/eau expulsé sous pression à faible température;
- **l'insémination** : cette étape correspond à la rencontre entre le flux de micro-cristaux et celui des gouttelettes d'eau pour former des grains congelés;
- **la dispersion** : ces gouttelettes d'eau congelée sont dispersées dans de l'air froid ce qui permet leur transformation en glace avant leur retombée au sol. Cette dispersion peut-être obtenue par la détente d'air comprimé, par le flux d'air d'un ventilateur ou par la projection d'eau à forte pression. Lors de cette étape il y a évaporation de la partie extérieure de la gouttelette et échange de chaleur entre l'air ambiant et l'eau (convection).

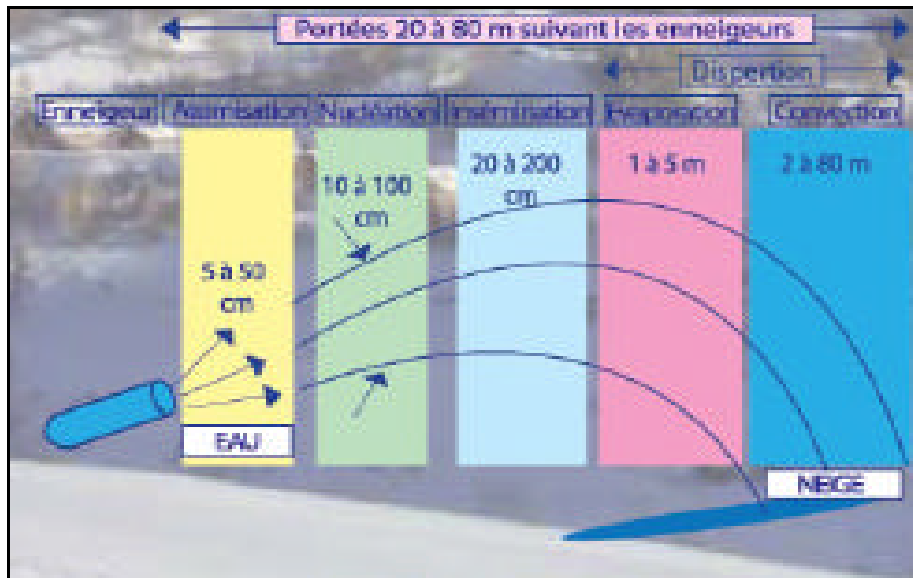


Figure 1 : Les différentes étapes de la fabrication de la neige de culture (ANPNC)

Comme le montre le Tableau 1 suivant, les conditions de température et de pression du process dépendent ensuite du type de technologie utilisée : les deux technologies utilisées sont de type bifluide et monofluide (annexe I)

Type d'enneigeur	Bifluide		Monofluide
	A mélange interne	A mélange externe	
Principe de fonctionnement	Utilisation d'air comprimé et d'eau sous pression. L'air intervient dans la fragmentation et la nucléation	Utilisation d'air comprimé et d'eau sous pression. L'air n'intervient que dans la nucléation	Utilisation d'eau sous pression et d'un ventilateur
Pression d'eau nécessaire au fonctionnement (bars)	6 à 12	15 à 65	10 à 40
Température de l'eau utilisée (°C)	2 à 5	2 à 5	2 à 5

Tableau 1: Conditions de température et de pression de fonctionnement des enneigeurs

1.3 Utilisation d'additif

Il existe plusieurs additifs permettant la fabrication de la neige de culture. Le Snomax est le plus utilisé. Il est fabriqué à partir de cultures de *Pseudomonas syringae* sérotype 31a, bactérie contenant une protéine permettant la réorientation des molécules d'eau et favorisant ainsi la formation des cristaux de neige (cf. II).

S'il y a ajout de Snomax, celui-ci se fait au niveau de l'étape de nucléation : l'additif est ajouté à l'eau dans une cuve de mélange. C'est cette préparation eau+Snomax qui est ensuite expulsée sous pression et à faible température pour former des micro-cristaux de glace. L'utilisation de Snomax rend cette étape du process plus rapide et permet de la réaliser à des températures plus importantes (-3 à -5°C au lieu de -8 à -10°C dans les conditions habituelles).

1.4 Approvisionnement en eau

La fabrication de cette neige de culture demande donc un approvisionnement en eau des enneigeurs. Cette eau peut provenir de:

- **cours d'eau** : ce pompage est réglementé notamment par rapport au débit d'étiage du cours d'eau ;
- **pompages dans une nappe souterraine** : de même ces pompages réalisés par forage doivent respecter la réglementation ;
- **réservoirs de stockage d'eau du réseau** : cette solution est assez coûteuse (réalisation d'ouvrage de maçonnerie, utilisation d'eau de la collectivité...) mais permet de s'affranchir des problèmes de qualité de l'eau ;
- **lacs naturels** ;
- **retenues collinaires ou lacs artificiels** : la réalisation de ces ouvrages devient de plus en plus courante car elle a de multiples avantages tels que l'alimentation gravitaire des enneigeurs et son faible coût par rapport au volume d'eau disponible.

L'eau provenant du réseau d'alimentation ou de nappe souterraine ne pose pas de problème concernant sa qualité physico-chimique et bactériologique. Pour les autres origines et particulièrement pour l'eau provenant de cours d'eau des traitements préalables à l'utilisation sont nécessaires :

- dans le cas d'un prélèvement en cours d'eau, l'eau pompée subit un dégrillage puis une décantation afin d'éliminer les matières particulaires, les feuilles de végétaux... ;

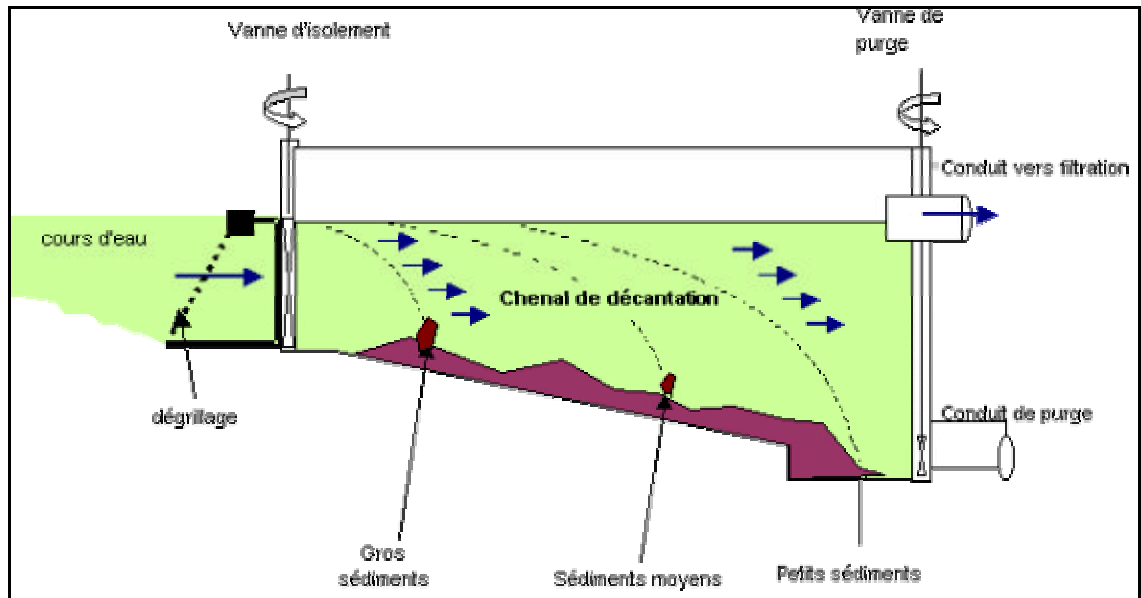


Figure 2 : schéma représentant le système de traitement de l'eau pour la neige de culture (ANPNC)

- concernant l'eau provenant des retenues collinaires ou des lacs, elle est pompée au fond de la masse d'eau et la pompe dispose d'une crépine afin d'éviter le pompage de grosses impuretés.

Enfin, ces opérations pouvant s'avérer insuffisantes, lors de son arrivée au niveau des pompes l'eau est filtrée sur un filtre à grille. Après cette filtration, l'eau est refroidie afin d'atteindre une température comprise entre 2 et 5°C. Ce refroidissement se fait dans un ouvrage appelé tour atmosphérique qui correspond à un échangeur de chaleur : l'eau tombant en pluie croise à contre-courant de l'air froid pulsé par un ventilateur.

2 Présentation de *Pseudomonas syringae*

2.1 Présentation générale

2.1.1 Nomenclature

Il s'agit d'une bactérie répertoriée comme suit :

Famille : Pseudomonadaceae

Genre : *Pseudomonas*

Espèce : *syringae*

2.1.2 Caractéristiques et écologie

P. syringae est un bacille Gram négatif qui se retrouve dans l'environnement notamment sur les feuilles des arbres, sur les brins d'herbe. Elle a été isolée pour la première fois lors de l'étude d'une maladie du lilas en 1899 et caractérisée en 1902 par C. J. J. Van Hall.

Ses caractéristiques principales sont qu'elle est aérobic stricte, flagellée, oxydase négative et quelques unes peuvent produire une fluorescence.

De plus, certains sérotypes possèdent la particularité d'avoir dans leur paroi une protéine appelée INA (Ice Nucleating Activity) Protéine. Cette protéine présente la particularité de pouvoir activer le processus de cristallisation en réorientant les molécules d'eau.

On peut noter que cette activité n'est pas présente chez toutes les cellules d'un même sérotype [3]. Cette activité se retrouve également chez d'autres bactéries comme *Erwinia herbicola*, *Pseudomonas Fluorescens*, *Pseudomonas viridiflava* [4], cependant *P. syringae* est la seule à posséder cette activité à une température supérieure à -5°C .

2.2 Caractérisation des dangers

P. syringae présente une pathogénicité auprès des végétaux. Celle-ci a été étudiée vis-à-vis des animaux chez les rats. L'étude correspondante est présentée ci-dessous ainsi qu'une étude du NIOSH concernant les dangers liés à l'utilisation du Snomax.

2.2.1 Etude de toxicité par inhalation chez les rats

Une étude de la toxicité par inhalation du *P. syringae* 31a chez les rats a été menée en 1990 par des chercheurs américains [5].

Le but de cette étude était de déterminer la toxicité par inhalation du Snomax suite à une exposition journalière.

Les rats ont été répartis en 4 groupes (chaque groupe comprenant 10 mâles et 10 femelles) correspondant aux 4 concentrations en bactéries dans les solutions aérosolisées à savoir : 0 g/L (groupe témoin), 8.10^{-4} g/L, 0,4 g/L et 0,8g/L.

Ces rats étaient exposés aux aérosols 2 heures par jour et 5 jours par semaine afin de s'approcher au mieux des conditions des travailleurs. Ils ont été exposés 13 à 14 fois au total.

Les résultats obtenus sont les suivants :

- observations cliniques et pathologies :
aucune observation concernant la mortalité, la morbidité, la consommation de nourriture et d'eau, la prise de poids, l'analyse hématologique... ;
- histopathologie :
il a été observé une différence de poids des poumons entre les deux groupes les plus exposés et le groupe témoin comme le montre le Tableau 2. Ces différences de poids seraient spécifiques à l'exposition.

Concentration de la suspension bactérienne (g/L)	Poids des poumons (g)		Rapport (poids poumon)/ (poids total)	
	males	femelles	males	femelles
0	1,302	1,045	0,385	0,497
0,0008	1,359	1,057	0,407	0,511
0,4	1,504*	1,145	0,478*	0,565*
0,8	1,744*	1,358*	0,527*	0,653*

*Significativement différent du groupe témoin pour $\alpha = 0,05$

Tableau 2 : Résultats de l'étude concernant le poids des poumons des rats exposés à *P. syringae*

De plus, quelques rats dans les deux groupes les plus exposés ont montré un accroissement des nodules de la lymphe trachéo-brachiale. Ceci a été considéré comme dû à l'exposition.

Enfin, une légère irritation des poumons a été mise en avant pour les groupes les plus exposés.

Cette étude nous donne également des résultats d'autres études toxicologiques, non publiées, concernant *P. syringae* :

- DL50 supérieure à 5g/kg ;
- LC50 (inhalation) supérieure à 5,3 mg/L pour une exposition de 4 heures à une suspension de 0,8g/L ;

- LD50 (voie cutanée) supérieure à 2g/L chez le lapin et aucune chez les cochons de Guinée.

2.2.2 L'étude du CEMAGREF

Le CEMAGREF de Grenoble a réalisé une étude [6] en collaboration avec l'université de Turin afin de déterminer si l'utilisation du Snomax a un impact sur l'environnement. L'étude ne s'intéresse pas à la pathogénicité de *P. syringae*, mais s'est interrogée sur la présence de *P. syringae* dans la neige.

2.2.3 L'étude du NIOSH

Une étude du NIOSH traitant de l'impact sur la santé du Snomax a été réalisée en 1990 dans une station du nouveau Mexique [7].

Comme il a été expliqué précédemment, le Snomax est produit à partir d'une bactérie. Cette bactérie étant gram négatif, elle contient dans sa membrane, en plus de la protéine d'intérêt, des molécules appelées LPS ou endotoxine. Les auteurs de cette étude ont décidé de se concentrer sur ces endotoxines car leur inhalation peut entraîner une réponse inflammatoire, immunitaire et hémodynamique de l'organisme.

En effet, il semble que les endotoxines puissent avoir des effets sur les macrophages pulmonaires, qui seraient particulièrement sensibles à leur action. Parmi les maladies pouvant être associées à l'exposition aux endotoxines, on trouve la byssinose (maladie professionnelle des travailleurs de l'industrie du coton), une hypersensibilité pneumonique, de l'asthme et d'autres symptômes peu spécifiques : toux, fièvre, dyspnée, symptomatologie ORL, difficultés à respirer...

Au moment où l'étude a été réalisée, il n'y avait pas de données concernant une dose journalière admissible, ou des doses journalières tolérables pour l'exposition aux bactéries Gram négatif ou à leurs endotoxines. Certaines études font référence « à la plus petite valeur d'exposition pour laquelle un effet adverse a été observé chez des populations sensibles exposées aux poussières de coton, qui est de 90 EU/m³ ». Cette valeur peut être assimilée à une valeur de LOEL et l'effet adverse observé est une réponse pulmonaire à la présence d'endotoxine. Une autre étude sur les travailleurs du coton [8] propose un seuil de 1000 à 2000 EU/m³ pour une courte réponse pulmonaire pour des personnes non sensibles et un seuil de 5000 à 10000 EU/m³ pour de la fièvre

2.3 Expositions liées à *Pseudomonas syringae*

2.3.1 Méthodologie des études d'exposition

A) L'étude du CEMAGREF

L'étude du CEMAGREF traite des conséquences sur l'environnement et ne parle donc pas d'exposition humaine, mais ce qui est intéressant c'est que cette étude donne des données permettant de penser qu'il existe une exposition environnementale potentielle dans le cadre de la fabrication de la neige de culture et elle étudie la composition du Snomax.

La présence de *P. syringae* et de germes pathogènes a été recherchée dans un sachet de Snomax et en différents points de l'unité de fabrication de la neige

La recherche de la bactérie *P. syringae* a été réalisée par l'équipe Biofilm du laboratoire de microbiologie génétique de l'INSA de Lyon.

Pour la recherche dans le sachet de Snomax, les bactéries ont été recherchées sur 12 milieux de culture spécifiques, qui ont été choisis, soit pour leur capacité à permettre la croissance d'un large spectre d'espèces microbiennes, soit pour leur capacité à permettre la croissance microbienne d'espèces pathogènes rencontrées fréquemment dans les eaux.

Cinq prélèvements ont été réalisés dans un sachet de Snomax en 2001, et les essais ont eu lieu avec des concentrations de Snomax de 20 mg/mL. 55 boîtes de Pétri ont été incubées pendant 7 jours à 28°C sur 11 types de milieux gélosés et 50 tubes de culture ont été incubés à 28°C pendant 4 jours dans 10 types de milieu.

B) L'étude du NIOSH

L'exposition du personnel aux bactéries Gram négatif et aux endotoxines de ces bactéries a été étudiée.

L'eau utilisée pour fabriquer la neige de culture est pompée dans un étang.

La fabrication de la neige artificielle, à l'aide de Snomax est une activité saisonnière, qui commence entre début novembre et se poursuit jusqu'en janvier ou février, en fonction des conditions météorologiques et des chutes de neige naturelle. La fabrication de la neige artificielle est réalisée la nuit, lorsque le domaine skiable est fermé. Les skieurs ne sont donc pas exposés durant la fabrication de la neige.

Les employés des stations de ski qui sont directement exposés au Snomax sont les pisteurs, les agents qui fabriquent la neige, et ceux chargés de la maintenance et de l'entretien des pistes.

Le nombre d'employés exposés a été déterminé à partir d'une liste du personnel et seules les personnes ayant travaillé au cours de la saison 1990/1991 ont été prises en comptes.

Pour déterminer la valeur de l'exposition, des échantillons de neige poudreuse dans l'atmosphère ont été prélevés durant les opérations de fabrication de la neige artificielle. Ces échantillons ont été prélevés pendant trois nuits où le Snomax a été utilisé, entre le 13 et le 15 novembre 1990. Des échantillons contenant les particules de neige totales, respirables et inhalables ont été collectés pour mesurer les concentrations en particules et en endotoxines dans l'air.

Des filtres ont été utilisés, sur les échantillons d'air, pour déterminer la présence de bactéries Gram négatif viables. Ils ont été placés directement sur des agars EBM et MacConkey, qui inhibent la croissance des bactéries gram positif (en effet, les bactéries Gram positif ne produisent pas d'endotoxines).

Des échantillons de neige et d'eau ont également été testés pour déterminer s'ils contenaient des bactéries viables, la même méthode d'analyse étant utilisée après dilution.

Ces échantillons ont été prélevés aux endroits suivants

- dans le bac de mélange du Snomax ;
- dans l'air ambiant dans le panache du canon à neige ;
- dans l'air ambiant à l'extérieur du panache du canon à neige ;
- station témoin : pour connaître le bruit de fond.

Les colonies représentatives étaient isolées, purifiées et « testées » en utilisant le système Microlog pour les bactéries gram négatif de l'environnement. Les résultats des bactéries étaient comparés aux résultats de *P. syringae* en utilisant le biolog system.

Des échantillons ont aussi été prélevés sur le personnel : pour cela un capteur a été positionné sur des ouvriers, à hauteur du système respiratoire (nez et bouche). Tous les employés participant à la fabrication de neige artificielle durant les trois nuits ont été équipés de ce dispositif.

2.3.2 Résultats de l'étude d'exposition

A) Etude du CEMAGREF

Pour les prélèvements réalisés dans le sachet de Snomax, les résultats ont montré qu'aucune colonie ne s'est développée et aucune augmentation de la densité optique n'a été observée.

En ce qui concerne la recherche dans la neige en différents points de l'usine à neige, deux campagnes de mesures ont été réalisées, une en 2001 et une autre en 2002/2003. Le même protocole que pour la détection de bactéries dans le Snomax a été utilisé. Les résultats de 2001 sont synthétisés dans le tableau suivant :

Prélèvements	Résultats
Neige naturelle	Aucune colonie n'a été dénombrée
Eau servant à produire la neige artificielle avec le Snomax	Quelques colonies ont été dénombrées Absence de <i>Pseudomonas syringae</i>
Mélange Eau + Snomax dans la cuve de mélange	De nombreuses colonies ont été dénombrées Absence de <i>Pseudomonas syringae</i>
Mélange Eau avec Snomax tel qu'il arrive aux canons à neige	Quelques colonies ont été dénombrées Absence de <i>Pseudomonas syringae</i>
Prélèvements de neige artificielle	Quelques colonies ont été dénombrées Absence de <i>Pseudomonas syringae</i>
Granulés de Snomax dilués dans l'eau stérile	Aucune colonie n'a été dénombrée

Tableau 3: Résultats de l'étude du CEMAGREF (CEMAGREF, 2001)

Un commentaire a été ajouté à cette étude : « Les quinze colonies analysées sont probablement des *Pseudomonas fluorescens* : ils produisent un pigment fluorescent sur milieu King B, sont capables de se développer à 4 °C et sont catalases positifs. Mais au vu de leurs réactions oxydase et arginine dihydrolase positives, il ne s'agit pas de *P. syringae* »

Une deuxième campagne de prélèvements a été effectuée fin 2002 début 2003 « pour préciser les résultats de l'année 2001 » et 40 échantillons ont été rapportés au laboratoire de l'INSA en février 2003. L'ensemble du protocole opératoire n'est pas présenté clairement, mais certaines analyses ont été citées : dénombrement sur milieu King B, analyse des colonies fluorescentes, recherche de bactéries appartenant à d'autres espèces (culture en milieu liquide, culture sur 10 types de milieu gélosé).

Les résultats obtenus sont les suivants :

- aucune colonie n'a été dénombrée dans le Snomax ;
- des bactéries *P. syringae* ont été dénombrées dans la cuve de mélange. Ces bactéries sont assez fréquentes dans le sol et dans les environnements naturels;

- les prélèvements dans la cuve de mélange et avant la sortie du canon à neige contiennent un grand nombre de germes ;
- les prélèvements réalisés dans le ruisseau alimentant le canon à neige révèlent la présence de germes identiques.

B) Etude du NIOSH

a) Valeurs d'exposition

La bactérie *P. syringae* n'a été détectée dans aucun échantillon. En revanche des bactéries viables Gram négatif ont été détectées dans les échantillons d'eau et dans la neige (cf tableau ci-dessous).

Type d'échantillon	Lieu de prélèvement	Concentration (UFC/mL)	Bactéries prédominantes
Eau	Eau à l'arrivée du canon à neige	$9.5 \cdot 10^5$	<i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Agrobacterium radiobacter</i>
Eau	Bac de mélange	$1.4 \cdot 10^5$	<i>Yersinia intermedia</i> <i>Serratia fonticola</i>
Eau	Eau à l'arrivée du canon à neige	$1.1 \cdot 10^3$	<i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Clavibacter Michiganese</i>
Neige	Panache du canon à neige	$5.5 \cdot 10^4$	<i>Moraxella Bovis</i>
Neige	Panache du canon à neige	$1.5 \cdot 10^4$	<i>Agrobacterium radiobacter</i>
Neige	Panache du canon à neige	$2.4 \cdot 10^3$	<i>Alcaligenese falicalis</i>
Eau	Etang	$5.7 \cdot 10^2$	<i>Pseudomonas fluorescens</i> <i>Buttauxiella agrestis</i>
Neige	Neige (bruit de fond)	$6 \cdot 10^1$	<i>Moraxella atlantae</i>

Tableau 4 : Concentration des bactéries au cours du procédé de fabrication de la neige de culture (NIOSH, 1990)

Les résultats présentés par le NIOSH dans le tableau ci-dessus montre que les concentrations en bactéries Gram négatif les plus élevées ont été détectées dans le bac de mélange du Snomax avec l'eau. Elles atteignent $1,4 \cdot 10^5$ UFC/mL, alors que les concentrations détectées dans la neige et dans l'eau utilisée dans le canon à neige sont respectivement de $1,1 \cdot 10^3$ et de $5.5 \cdot 10^4$ UFC/mL.

Une des sources possibles de la contamination est l'eau de l'étang utilisée pour fabriquer la neige, mais ceci pose des questions quant à la multiplication dans le procédé de fabrication.

Des bactéries Gram négatif viables ont aussi été détectées dans les trois échantillons d'air pris dans le panache du canon à neige. Les concentrations mesurées varient entre 3 et 467 UFC/m³

En revanche, les concentrations en bactéries dans l'air proche du canon, en dehors du canon à neige, sont en dessous de la limite de détection : aucune bactérie n'a été mise en évidence.

Concernant l'exposition aux endotoxines, les concentrations trouvées dans l'eau et la neige sont résumées dans le Tableau 5 :

Type d'échantillon	Localisation de l'échantillon	Concentration en endotoxine (EU/mL)
Eau	Eau alimentant le canon	53.2
Eau	Cuve de mélange	1.1 10 ⁷
Eau	Eau alimentant le canon	26.9
Neige	Panache du canon à neige	64.4
Neige	Panache du canon à neige	92.5
Neige	Panache du canon à neige	51.2
Neige	Panache du canon à neige	46.8
Eau	Étang utilisé comme source d'alimentation en eau	7.47
Neige	Neige : bruit de fond	11.12

Tableau 5 : Concentrations en endotoxines en différents points du process (NIOSH, 1990)

Les concentrations les plus élevées en endotoxines ont été trouvées dans l'échantillon d'eau provenant de la cuve de mélange du Snomax. Cette valeur est de 1,1.10⁷ EU/mL de solution. La teneur dans les canons à neige est beaucoup plus faible puisqu'elle est de 40 EU/mL (une dilution a été réalisée avec l'eau de l'étang par rapport au précédent échantillon).

Les concentrations des 4 échantillons de neige collectés dans le panache du canon à neige varient entre 46.8 EU/mL et 92.5 EU/mL. Des endotoxines ont également été détectées dans l'étang à des concentrations de 7.47 EU/mL et un échantillon témoin de neige a été testé à une valeur de 11.1 EU/mL. L'augmentation de la concentration en

endotoxines dans la cuve de mélange est certainement liée à la croissance bactérienne qui se produit dans cette cuve.

En ce qui concerne les concentrations en endotoxines dans les poussières atmosphériques, les concentrations des particules de neige inhalables varient très fortement : sur certains échantillons, elles sont inférieures à la limite de détection (0.8 EU/m³), et peuvent atteindre 2600 EU/m³ dans le panache des canons à neige. La concentration moyenne des échantillons situés dans le panache qui est de 357 EU/m³ est plus importante que la valeur moyenne mesurée dans l'aire de maintenance située à proximité de la cuve de mélange du Snomax (5.1 EU/m³).

Le panache du canon à neige est donc un lieu à risque en ce qui concerne l'inhalation d'endotoxines.

Les expositions du personnel aux endotoxines ont été mesurées sur tous les ouvriers participant au processus de fabrication de la neige, qui ont été considérés comme les plus exposés. Vu le faible nombre de nuits où des mesures ont été réalisées seules 7 personnes constituent cet échantillon. Les résultats donnent des expositions aux endotoxines variant entre 1 EU/m³ et 92.9 EU/m³, avec une moyenne de 20 EU/m³. L'exposition la plus importante a été mesurée chez un ouvrier positionnant les canons à neige en montagne. Au cours de cette opération, il verse le Snomax dans le bac du canon à neige. Les concentrations mesurées sur les ouvriers sont plus faibles que celles mesurées dans l'air ambiant. Ceci peut, peut-être, s'expliquer par le fait que les ouvriers ne passent que très peu de temps dans le panache du canon à neige.

b) Exposition et symptomatologie

Un questionnaire médical a été envoyé aux employés de la station. Sur les 147 employés de la station, seule une partie du personnel travaille à la réalisation de neige de culture et est potentiellement exposée, mais tous les membres du personnel ont reçu un questionnaire. Ils ont été divisés en trois sous-groupes en fonction de la probabilité de leur exposition :

- une partie a été classée en « forte » exposition pour les ouvriers travaillant tous les jours à la fabrication de neige artificielle ;
- une « moyenne » exposition concernait les employés travaillant sur les pistes, mais n'intervenant pas dans le processus de fabrication de la neige artificielle ;
- une exposition « faible » pour les employés de la station ne travaillant pas sur les pistes.

59 questionnaires médicaux ont été renvoyés, dont 5 parmi les 8 personnes susceptibles d'être très exposées (les 7 sur lesquelles ont été réalisées des prélèvements + 1 autre), 18 personnes dans l'exposition la plus faible et 36 dans la catégorie d'exposition « moyenne ».

Le questionnaire comportait des interrogations sur :

- l'identité de la personne ;
- leur travail actuel et passé ;
- le port d'un masque ou non ;
- le statut de fumeurs et la présence d'animaux domestiques (qui seraient émetteurs d'endotoxines et seraient donc des facteurs de confusion) ;
- les symptômes : irritation oculaire, fièvre, nausée, toux, fatigue, perte d'appétit, difficultés respiratoires, myalgies, perte de poids inexplicée.

Le groupe le moins exposé a servi de « témoins » dans l'étude.

Le faible nombre de personnes de l'étude n'a pas permis d'établir des résultats probants. En effet, le personnel de cette station de ski est jeune et en bonne forme. Les symptômes observés sont très peu spécifiques et sont souvent associés par les employés à un rhume.

Cette étude ne permet donc pas de conclure sur l'existence d'un risque spécifique pour les personnes les plus exposées par rapport aux personnes non-exposées. Néanmoins, un des biais de l'étude est que l'exposition au Snomax dépend fortement des conditions météorologiques et peut être très intermittente. Enfin une des expositions d'un employé fabricant de la neige artificielle est supérieure au LOAEL de 90 EU/m³ pour les personnes sensibles.

2.4 Discussion

2.4.1 Etude de toxicité chez les rats

Deux remarques principales peuvent être faites à l'étude réalisée sur les rats. La première est que les doses appliquées aux animaux ne correspondent pas aux doses qui sont reçues par les ouvriers travaillant à proximité des canons. En effet la dose la plus basse correspond à celle en sortie de canon à neige. Les deux autres sont 500 et 1000 fois supérieures et ne sont certainement pas adaptées.

La seconde remarque est plus ciblée sur la cohérence entre l'étude et ses objectifs. Alors que le but de cette étude est de conclure sur la toxicité d'une exposition

professionnelle au Snomax, les rats ont été exposés à des aérosols de bactéries qui ne sont pas contenues dans le Snomax puisqu'il a été irradié.

La date de réalisation de cette étude peut expliquer cette différence, puisque le Snomax n'était peut-être pas irradié à l'époque.

2.4.2 Etude du NIOSH

La première critique qui peut être relevée est le manque de puissance, qui ne permet pas de conclure. En effet, l'effectif est trop faible. Il aurait peut être fallu réaliser une étude plus étendue, par exemple sur plusieurs stations.

De plus, les effets sont trop peu spécifiques, pour pouvoir conclure sur l'impact des endotoxines sur la santé des travailleurs.

Des données complémentaires sur l'étude auraient été intéressantes comme la localisation des points de prélèvements sur une carte.

Enfin, une question plus fondamentale se pose : pour déterminer les effets des endotoxines et le LOAEL, l'étude du NIOSH se base sur des études réalisées sur les travailleurs du textile, qui manipulent le coton. Ceux-ci sont très exposés professionnellement aux endotoxines. Cependant les conditions de travail du coton et de la neige sont radicalement différentes, la comparaison peut-elle alors être faite sans au préalable prendre des précautions importantes ? Cette remarque montre que le lien entre les expositions pour les travailleurs du textile et de la neige artificielle n'est pas du tout évident, pourtant c'est une des bases de travail dans l'étude du NIOSH.

La présence de bactéries Gram négatif dans la neige a été détectée mais aucune étude des dangers et des risques associés à ces bactéries n'a été réalisée : c'est ce que nous proposons de réaliser dans la 3^e partie.

En outre, plusieurs questions se posent pour savoir si les résultats de cette étude peuvent être transposés et s'ils pourraient s'appliquer en France : en effet les conditions climatiques ainsi que la durée des périodes de pratique du ski sont différentes, et l'altitude à laquelle cette étude est réalisée n'est pas précisée. Des informations supplémentaires sur le processus seraient nécessaires (combien de temps il est utilisé, pour produire quelle quantité de neige ?).

Nous pouvons aussi nous interroger pour savoir si les bactéries retrouvées dans les divers échantillons pourraient être identifiées en France. L'étude du CEMAGREF nous confirme que *P. fluorescens* est présente sur les pistes européennes. Ce résultat peut-il alors être étendu à d'autres espèces ?

Les bactéries retrouvées ont été cherchées, il est probable que beaucoup d'autres soient présentes et puissent poser d'éventuels problèmes pour la santé humaine. Cela pourrait être le cas des bactéries Gram positif qui ne possèdent pas d'endotoxine mais qui peuvent avoir des propriétés pathogènes.

2.4.3 Etude du CEMAGREF

Il est important de signaler qu'elle propose une étude des dangers environnementaux. Elle ne conclue donc pas sur une caractérisation du risque et ne traite pas du tout des problèmes liés à la santé humaine.

De plus, les résultats que nous avons présentés proviennent d'un document de « Bilan et Synthèse des résultats de l'Etude CEMAGREF / Université de Grenoble » que Françoise Dinger nous a communiqué par mail. Nous n'avons pas eu accès aux résultats de l'étude en entier. Cette étude franco-italienne a été financée par le fabricant du Snomax, York Snow.

Sur le document que nous avons eu, plusieurs questions se posent, notamment sur la méthodologie employée : nous ne savons pas précisément quels types de milieu ont été choisis pour le dénombrement des bactéries.

La précision des résultats lors de la recherche de bactéries dans l'unité de fabrication de la neige est très faible et les bactéries trouvées n'ont pas été identifiées précisément. Le commentaire concernant les 15 colonies détectées ne nous apporte que très peu d'informations car nous ne savons pas où ces colonies ont été détectées et leur identification n'est pas certaine.

L'articulation entre les deux campagnes de mesures ne semble pas évidente au premier abord. La découverte de la présence de *P. syringae* dans la cuve de mélange est mentionnée mais nous ne connaissons pas les concentrations, et nous ne savons pas si nous retrouvons cette bactérie dans d'autres étapes du process.

Sans doute des informations plus complètes auraient pu expliquer la démarche et lever une partie de nos interrogations. L'imprécision de cette synthèse est sans doute voulue et des résultats plus précis ne sont pas publiés.

2.4.4 Synthèse

Pour les deux études, la stérilisation du Snomax implique que celui-ci ne pose pas de problème bactérien. Cependant cette étape peut ne pas être efficace à 100% et dans ce cas, l'additif pourrait être source de contamination.

Le Snomax contient une protéine et constitue donc un apport en azote. Il peut alors être utilisé comme milieu de développement par les microorganismes présents dans l'eau du mélange.

Les autres sources possibles de contamination ont été citées, mais pas de façon exhaustive. Le process de fabrication peut être mieux étudié, afin de déceler les points critiques qui sont d'éventuels points de contamination ou de développement des bactéries.

2.5 Conclusion

Les études présentées dans les paragraphes précédents ne mettent pas en évidence de risque sur la santé associé à *P. syringae*.

De plus, des bactéries gram négatif ont été trouvées dans des échantillons de neige et dans le bac de mélange eau-Snomax en quantité supérieure à celle trouvée dans l'eau de l'étang, qui est considérée par les auteurs comme l'une des sources de contamination possible. Le NIOSH présente un inventaire des bactéries Gram négatif trouvées. Celles-ci ne sont pas toujours pathogènes et ne sont pas forcément adaptées au climat européen ou ont des origines n'existant pas en Europe.

Le réservoir susceptible de poser des problèmes ne serait, en fait, pas le Snomax mais l'eau utilisée pour réaliser le mélange.

Nous avons, à partir de l'inventaire réalisé par le NIOSH, fait un catalogue, non exhaustif, des bactéries Gram négatif susceptibles d'être retrouvées dans la neige de culture (cf. partie 3) et issues du milieu hydrique.

Pour certaines familles de bactéries, des espèces pathogènes sont connues. Dans ce cas, nous avons alors présenté ces espèces dans le but de travailler sur des espèces pouvant poser des problèmes.

La partie suivante essaie d'amener des éléments de réponse à cette nouvelle problématique.

3 Les dangers bactériens d'origine hydrique

Cette partie présente en premier lieu les types de microorganismes susceptibles d'être trouvés dans la neige de culture, dans le panache des canons à neige ou dans les sols. Ensuite les bactéries pathogènes susceptibles d'être retrouvées, et leurs dangers associés, seront présentées.

A partir de ces éléments d'approche, nous tenterons d'exposer des hypothèses sur la survie des bactéries pathogènes au process de fabrication de la neige de culture et ainsi de conclure sur l'exposition.

3.1 Présentation

Le milieu d'utilisation de la neige de culture est particulier du point de vue des conditions de vie ou de survie des organismes qui s'y développent. C'est pour cela que les bactéries, virus ou toxines survivants dans ces conditions doivent être adaptés au milieu. De plus, les conditions de fabrication de la neige implique un process précis qui provoque une cristallisation voire plusieurs dans des conditions de température particulières, cela ne facilite pas la recherche des microorganismes résistants à ces conditions.

Dans ce contexte, les recherches réalisées ont été axées sur la contamination de l'eau par les microorganismes issus du sol ou provenant des matières fécales animales ou humaines. Cette eau utilisée pour la réalisation de la neige, qu'elle soit ou non mélangée avec le Snomax, possède donc des pathogènes susceptibles d'être trouvés dans le mélange de départ, dans les aérosols et donc dans le panache et également les toxines ou protéines pouvant être à l'origine d'allergie ou de gênes chroniques.

Les microorganismes issus du sol qui ont été recherchés sont de type saprophyte. *Escherichia.Coli* et les enterocoques fécaux seront étudiés car ce sont des indicateurs de contamination fécale. Les microorganismes d'origine animale, comme *Yersinia enterocolitica* et *Moraxella bovis*, sont également étudiés.

A partir de l'étude du NIOSH où les auteurs ont identifiés des bactéries retrouvées dans le panache ou dans la neige. Nous avons alors rechercher les dangers associés à ces bactéries ou celle de la même famille et présentant une pathogénicité humaine connue.

3.2 Identification et caractérisation des dangers [9] [10]

Les dangers qui sont identifiés dans la partie suivante sont issus de l'étude du NIOSH. Les auteurs ont isolé plusieurs genres de bactéries, qui ne sont pas toujours pathogènes pour l'homme (cf. Tableau 4 : Concentration des bactéries au cours du

procédé de fabrication de la neige de culture (NIOSH, 1990)). Nous avons dans ce cas étudiés les bactéries de la même famille qui présente une pathogénicité connue pour l'homme.

A partir de cet inventaire, nous avons décrits chaque microorganisme et ses dangers associés.

3.2.1 *Yersinia enterocolitica*

C'est l'espèce *Yersinia intermedia* qui est citée dans l'étude du NIOSH, mais *Yersinia enterocolitica* est une bactérie connue pour sa pathogénicité chez l'homme et leur habitat semble commun.

A) Nomenclature

Il s'agit d'une bactérie répertoriée comme suit :

Famille : *Enterobacteriaceae*

Genre : *Yersinia*

Espèce : *enterocolitica*

B) Caractéristiques et écologie

Y. enterocolitica est un bacille à Gram négatif de 1,3 à 3,5 µm de longueur sur 0,5 à 1,0 µm de diamètre, parfois polymorphe, parfois à coloration bipolaire, non capsulé.

La distribution géographique est très étendue et des souches de *Y. enterocolitica* ont été isolées dans tous les pays où elles ont été recherchées. *Y. enterocolitica* a une répartition mondiale et son incidence est nettement plus importante durant les mois froids.

Elle se retrouve dans l'environnement, notamment dans les eaux de surface, dans les aliments d'origine végétale et animale.

C) Caractérisation des dangers

Le réservoir principal de souche pathogène pour l'homme est le porc, mais les chiens, les chats et les moutons peuvent également en être porteur. Le portage de *Y. enterocolitica* par ces diverses espèces animales conduit à une pollution de l'eau, du sol et des végétaux.

La voie de contamination est orale mais la source de contamination est plus difficile à apprécier (le plus souvent alimentaire). Il existe également une contamination interhumaine qui se réalise par voie féco-orale. Le principal danger est alors représenté par les porteurs sains et les porteurs chroniques asymptomatiques.

Y. enterocolitica est principalement responsable de gastro-entérites fébriles :

- fièvre souvent modérée mais pouvant parfois dépasser 39°C,

- entérocôlites et illéites terminales accompagnées de diarrhées et de vomissements,
- douleurs abdominales pouvant donner un syndrome pseudo-appendiculaire

Chez l'adulte, une guérison spontanée est observée après une à deux semaines alors que chez l'enfant les signes cliniques peuvent persister plus de quatre semaines.

Les infections humaines sont généralement sporadiques mais des épidémies ont été observées.

3.2.2 *Serratia fonticola*

A) Nomenclature

Il s'agit d'une bactérie répertoriée comme suit :

Famille : *Enterobacteriaceae*

Genre : *Serratia*

Espèce : *fonticola*

B) Caractéristiques et écologie

S. fonticola est un bacille à Gram négatif.

Elle est présente dans l'environnement, en particulier dans l'eau, la terre et dans le tube digestif des oiseaux.

C) Caractérisation des dangers

Les bactéries du genre *Serratia* peuvent se comporter, à quelques exceptions près, comme des bactéries pathogènes opportunistes notamment chez les malades affaiblis ou présentant un déficit immunitaire ou souffrant de traumatismes. Cependant le risque est limité dans ce cas, d'après la littérature, qu'aux personnes très immunodéprimées. Cette bactérie est donc plus impliquée dans des infections nosocomiales ou iatrogènes.

De plus *S. fonticola* est (rarement) mise en évidence dans les sécrétions bronchiques, les selles, le pus sans que son pouvoir pathogène soit démontré. Un des seuls cas d'infections authentiques concerne un abcès de la jambe survenu après un traumatisme.

3.2.3 *Halomonas aquamarina*

A) Nomenclature

Il s'agit d'une bactérie répertoriée comme suit :

Genre : *Halomonas*

Espèce : *aquamarina*

B) Caractéristiques et écologie

Halomonas aquamarina est un bacille à Gram négatif, droit ou légèrement incurvé, mobile. Elle a été isolée chez le homard.

C) Caractérisation des dangers

Dans la bibliographie actuelle, elle ne représente pas de danger pour l'homme.

3.2.4 *Buttiauxella agrestis*

A) Nomenclature

Il s'agit d'une bactérie répertoriée comme suit :

Famille : *Enterobacteriaceae*

Genre : *Buttiauxella*

Espèce : *agrestis*

B) Caractéristiques et écologie

Buttiauxella agrestis est un bacille à Gram négatif.

Elle a été isolées dans différentes parties du monde (Afrique du Sud, Australie, Brésil, Europe, USA, ...).

Buttiauxella agrestis est une espèce isolée du sol, de l'eau, des limaces, des escargots et de prélèvements d'origine humaine.

C) Caractérisation des dangers

Les dangers liés à cette bactérie ne sont pas connus, quelques cas d'infection ont eu pour origine une autre espèce de *Buttiauxella* : *Buttiauxella gaviniae*.

3.2.5 *Raoultella terrigena*

La bactérie trouvée dans les analyses réalisées par le NIOSH est *Klebsiella terrigena*, mais la bibliographie la présente aussi comme *Raoultella terrigena*

A) Nomenclature

Il s'agit d'une bactérie répertoriée comme suit :

Famille : *Enterobacteriaceae*

Genre : *Raoultella*

Espèce : *terrigena*

B) Caractéristiques et écologie

Raoultella terrigena rassemble des bacilles à Gram négatif, immobiles, capsulés, aéro-anaérobies.

Les espèces du genre *Raoultella* ont pour principal habitat les plantes, le sol et l'eau.

C) Caractérisation des dangers

Chez l'homme, les espèces du genre *Raoultella* peuvent se comporter comme des bactéries pathogènes opportunistes et *Raoultella planticola* et *Raoultella terrigena* sont isolées de divers prélèvements cliniques.

Raoultella terrigena est responsable d'intoxications suite à la consommation de poisson ou de fromage. On peut, éventuellement, la retrouver dans les poissons des lacs de montagne.

Lors de ces intoxications, on peut observer une diarrhée non sanglante et souvent brève, des céphalées, des signes cutanés (eczéma, urticaire, angio-œdème), des douleurs abdominales, un malaise général, des nausées, des vomissements, des palpitations et des vertiges.

3.2.6 *Moraxella Bovis*

A) Nomenclature

Il s'agit d'une bactérie répertoriée comme suit :

Famille : *Moraxellaceae*

Genre : *Moraxella*

Espèce : *bovis*

B) Caractéristiques et écologie

Les moraxellae sont des coccobacilles à gram négatif, peu mobiles, aérobies, qui sont en général groupés par paire ou en courtes chaînes. Les moraxellae sont cosmopolites, répandues dans le monde entier et se transmettent particulièrement dans les situations de manque d'hygiène

C) Caractérisation des dangers

C'est un pathogène pour l'homme et pour les mammifères. Il attaque de préférence la peau et les muqueuses. Il peut causer des infections respiratoires et des conjonctivites. Moraxellae serait la 4^{ème} cause de maladies de la cornée et il peut être à l'origine d'autres complications comme l'otite moyenne, l'endophtalmie, la bactériémie, l'arthrite septique, la pneumonie, la péricardite purulente et la méningite. Le mode de transmission se fait par contact direct de l'agent infectieux et des muqueuses. Il semble que ce soit un pathogène opportuniste, qui appartient à la flore normale, mais qui pourrait envahir les muqueuses respiratoires en cas d'immunodépression. La dose minimale infectante n'est pas connue à l'heure actuelle.

3.2.7 *Pseudomonas fluorescens*

A) Nomenclature

Il s'agit d'une bactérie répertoriée comme suit :

Famille : *Pseudomonadaceae*

Genre : *Pseudomonas*

Espèce : *Fluorescens*

B) Caractéristiques et écologie

C'est un bacille à Gram négatif, aérobic, non sporulé, pigmenté avec de la fluorescéine et mobile grâce à un flagelle polaire. C'est une bactérie répandue dans le monde entier, qui peut infecter l'homme, les animaux et les végétaux. La bactérie peut également survivre dans le sol, dans l'eau et dans la matière en décomposition. Dans l'eau la bactérie peut survivre plusieurs mois en présence d'une quantité très faible de nutriments. En outre, c'est une bactérie psychrophile qui peut se multiplier à 4°C ainsi que dans les milieux humides. Elle est sensible à l'action des désinfectants.

C) Caractérisation des dangers

Pseudomonas fluorescens est un pathogène opportuniste, qui peut causer des infections respiratoires, urinaires, oculaires ou des bactériémies. Mais ce sont le plus fréquemment des infections nosocomiales qui surviennent chez des personnes très immuno-déprimées et quasiment tous les cas d'infections se produisent à l'hôpital. La dose infectieuse n'est pas connue. La contamination peut se faire par contact avec de l'eau, des aérosols contaminés par contact muqueux avec des écoulements infectés, par l'intermédiaire des doigts et des objets contaminés.

3.2.8 *Escherichia coli*

A) Nomenclature

Il s'agit d'une bactérie répertoriée comme suit :

Famille : *Enterobacteriaceae*

Genre : *Escherichia*

Espèce : *coli*

B) Caractéristiques et écologie

E. coli est un bacille Gram négatif, non sporulé, à métabolisme respiratoire et fermentaire, fermentant le glucose avec production de gaz, oxydase négative, catalase positive et nitrate réductase positive.

E. coli est un germe habituel de la flore intestinale de tous les animaux, y compris les humains. C'est un commensal de l'intestin ; il représente 80 % de la flore intestinale

aérobie. Le germe se retrouve dans les matières fécales. De là, il se répand dans la nature : sol et eaux.

C) Caractérisation des dangers

Certaines souches d'*E. coli* peuvent être à l'origine de gastro-entérites et diarrhées. Le sérotype le plus virulent est *E. coli* O :157 H:7 responsable à la fois de cas sporadiques et de cas groupés de diarrhées souvent sanglantes pouvant évoluer vers des pathologies plus graves comme le syndrome hémolytique et urémique.

3.2.9 Les entérocoques fécaux

A) Nomenclature

Famille : *Enterobacteriaceae*

Genre : *Enterococcus*

B) Caractéristiques et écologie

Les entérocoques sont des coques Gram positif, se présentant de manière isolée, en paires ou en courtes chaînes.

Ce sont des bactéries non sporulées, parfois mobiles et aéro-anaérobies.

Les entérocoques sont capables de résister à des conditions hostiles : culture à 10 °C ou à 45 °C, culture en présence de NaCl...

Les entérocoques sont des bactéries ubiquistes présentes dans l'intestin de l'homme et des animaux, dans les eaux usées, dans l'eau douce, dans l'eau de mer, dans le sol et sur les végétaux.

Chez l'homme, les espèces les plus souvent retrouvées sont : *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium* et, dans une moindre mesure, *Enterococcus durans*.

C) Caractérisation des dangers

Chez l'homme, les entérocoques sont des bactéries pathogènes opportunistes responsables de septicémies, d'endocardites (environ 5 à 15% des endocardites bactériennes), d'infections urinaires, de surinfections des plaies (notamment chirurgicales), de méningites...

3.3 Exposition

3.3.1 Hypothèses sur la survie des bactéries au process

Cette partie présente les points critiques que nous avons pu repérer dans le process de fabrication. Nous sommes pour cela partis de la source d'alimentation en eau pour aller jusqu'à la neige.

Tout d'abord le type d'eau utilisé impose, dès le départ, une plus ou moins bonne qualité d'un point de vue bactérien. En effet, si l'on utilise l'eau du réseau d'eau potable ou l'eau d'une retenue ou d'un torrent, la présence de microorganismes peut être nulle ou importante.

Les canalisations, qu'elles soient placées avant ou après la fabrication du mélange Snomax+eau peuvent être le logement de films bactériens. Ces canalisations peuvent être détériorées par le froid ou l'écrasement. Il peut y avoir des phénomènes de cristallisation qui pourrait freiner ou supprimer le développement.

L'eau comme le mélange est pulsée par des pompes qui malgré la pression ne détruisent certainement pas les bactéries. A l'inverse, les pompes pourraient provoquer des échauffements de température qui impliqueraient des conditions plus favorables de développement pour les bactéries.

Au niveau de la cuve de mélange avec le Snomax, l'eau arrive à une température d'environ 3 à 5°C, ce mélange se passant dans un lieu fermé, la température de la cuve est du même ordre, les bactéries peuvent donc survivre et peut-être se multiplier. Au niveau du canon, la pression utilisée pour atomiser le mélange eau+Snomax n'a qu'un effet limité sur les bactéries déjà fragilisées.

De plus, il est à noter que d'autres sources de contamination sont possibles. En effet, le matériel utilisé si il n'est pas régulièrement nettoyé peut être souillé par des bactéries pathogènes provenant de l'environnement ou de l'homme.

3.3.2 Conclusion sur l'exposition

Les problèmes bactériens d'origine hydrique au travers de la fabrication de la neige de culture supposent deux types de population exposés. En effet, le temps et les conditions de contact avec l'eau ou le mélange sont radicalement différents entre la population et les travailleurs basés dans les stations.

Dans le cas de la population générale, l'exposition n'est pas reconnue comme pouvant poser des problèmes particuliers. En effet, les quantités de neige ingérées ou inhalées ne paraissent pas assez importantes pour poser problème. Cela revient à dire qu'il n'y a pas de risque pour les skieurs ou les habitants des villages de montagne.

D'un autre côté, les ouvriers manipulant le Snomax et fabriquant le mélange peuvent être exposés. Les conditions de survie des bactéries ne sont pas clairement définies et nous n'avons pas pu connaître les doses auxquelles sont exposés les travailleurs. Cependant nous savons que des bactéries sont retrouvées dans la neige, dans le panache ou dans le mélange. Des études complémentaires pour connaître les doses pourraient être réalisées, ainsi des conclusions plus précises seraient possibles.

3.4 Conclusion sur le risque hydrique

Bactéries étudiées	Possibilité de présence dans un environnement montagnard	Survie au process	Pathogénicité	Voie d'exposition
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Oui (ubiquitaire et présent en eaux de surface)	supposée	Oui	orale
<i>Serratia fonticola</i>	Oui (présence dans les sols et dans l'eau)	supposée	Oui (chez les immunodéprimés)	/
<i>Halomonas aquamarina</i>	Théoriquement non (environnement marin)	supposée	Non	/
<i>Buttiauxella agrestis</i>	Oui (présence dans les sols et dans l'eau)	supposée	Non prouvée	/
<i>Raoultella terrigena</i>	Oui (présence dans les sols et dans l'eau)	supposée	Oui	Orale (intoxication à l'histamine)
<i>Moraxella bovis</i>	Oui (ubiquitaire)	supposée	Oui	Cutanée, orale, inhalation
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Oui (présence dans les sols et dans l'eau, psychrophile)	supposée	Oui	Cutanée, inhalation
<i>Escherichia Coli</i>	Oui (présence dans l'eau lors de contamination fécale)	supposée	Oui	orale
Enterocoques fécaux	Oui (présence dans l'eau lors de contamination fécale)	supposée	Oui	Actes invasifs

Tableau 6 : tableau récapitulatif des dangers probables associés à l'utilisation des canons à neige

Au vu des résultats obtenus et si l'on considère seulement la voie d'exposition principale (par inhalation) pour les travailleurs, les bactéries susceptibles de présenter un risque se réduisent à *P. fluorescens* et à *M. bovis*.

Cependant, il est important de préciser que cet inventaire n'est pas exhaustif.

3.5 Discussion

Dans cette 3^{ème} partie, nous avons essayé de caractériser le danger lié à l'utilisation d'une eau non traitée. Cette tâche n'a pas été aisée et nous avons été confronté à
BRILLAUD M. A., LUEZ A., RODICQ M. – Atelier Santé Environnement – IGS – ENSP - 2005

plusieurs problèmes notamment celui du choix des bactéries étudiées. Nous nous sommes basés sur les bactéries citées dans l'étude du NIOSH. Les bactéries qui sont citées dans cette étude, qu'elles soient trouvées dans l'eau, le mélange eau + Snomax, la neige ou le panache ont été identifiées. Mais toutes les espèces présentes ne l'ont peut-être pas été. De plus, se pose le problème des bactéries viables non cultivables.

Le choix de ces bactéries n'est peut-être pas le plus pertinent, mais la réalisation d'un inventaire de ce type n'est pas une chose facile. En effet, la variété des microorganismes existants et possédant des propriétés pathogènes est très importante. Le choix doit être réalisé à partir des critères de survie et de développement des bactéries.

Ces conditions de survie et de développement des bactéries ne sont pas faciles à connaître. Les publications sont souvent réalisées par espèces et il faut déjà avoir une idée de l'espèce sur laquelle on veut travailler. Pour avoir un choix pertinent, il aurait fallu que des études précises permettent de faire un tri en fonction des températures et des pressions auxquelles les bactéries peuvent soit survivre, soit se développer.

En considérant l'inhalation comme voie principale d'exposition, on aurait éventuellement pu identifier les bactéries responsables des pathologies associées, et à partir de cet inventaire, vérifier leur présence dans le milieu et leur possibilité de survie au process.

Les hypothèses d'exposition qui sont développées dans la partie précédente ont été cherchées en suivant le process de façon chronologique. Elles auraient pu être recherchées plutôt en fonction des conditions imposées dans chaque partie du procédé de fabrication. De plus, la place de ce paragraphe dans la partie exposition peut être discutable puisqu'il n'apporte pas d'éléments chiffrés sur les taux d'exposition. Cependant cela permet de savoir s'il y a probabilité de présence de bactéries ou non à chaque étapes de la fabrication de la neige.

4 Perception du risque

La perception du risque en France se pose de façon aiguë depuis la publication des résultats de l'enquête réalisée par l'équipe de Françoise Dinger au CEMAGREF de Grenoble lors du congrès du 22 avril 2004. Le 24 avril 2004, une journaliste du Monde, Nicole Cabret, publie un article [11] intitulé « les canons à neige favorisent la pollution des sols » où elle reprend les conclusions présentées par cette équipe. Cet article va être intégralement repris ou légèrement modifié sur Internet par différents sites qui peuvent être classés en plusieurs catégories :

- des sites militants par exemple www.planetebleue.info, www.lautrinfo.org, www.notre-planete.info;

- par des sites scientifiques ou à destination des collectivités territoriales www.mediaterre.org, www.aqueduc2b.com ;
- par des sites destinés aux personnes intéressées par le milieu alpin, et par des sites professionnels : www.clubalpin.com, www.skipass.com, france.mountainwilderness.org.

Mais en dehors de ces publications sur des sites Internet francophones, peu d'intérêt est constaté en 2004 sur ce sujet. Au niveau des organisations professionnelles, seule l'OITAF (Organisation Internationale des Transports à Câble), une organisation internationale regroupant 22 pays s'est interrogée sur l'impact du Snomax et des additifs sur l'environnement dès 1999. L'organisation a constitué un groupe de travail, qui a finalement conclu fin 2003, sur la base du rapport du CEMAGREF et de M. Rixen [12] que l'utilisation du Snomax ne présentait pas d'impact sur l'environnement.

Pourtant, l'autorisation d'utiliser le Snomax en Suisse dans certains cantons a provoqué un débat au conseil national suisse en 1997. Des questions ont été posées au Conseil Fédéral Suisse. Les questions posées par le conseiller, Semadeni Silva Anita, comportent des interrogations sur le plan sanitaire et environnemental.

Sur le plan sanitaire la question posée est de savoir si l'inactivation des bactéries par des rayons bêta pourrait entraîner une modification du patrimoine génétique des bactéries. A cette préoccupation la réponse du conseil fédéral suisse est que le Snomax ne contient aucun germe vivant (ce qui ne répond pas du tout à la question !).

Sur le plan environnemental, des interrogations sont posées sur les conséquences indirectes d'un enneigement accru et de la prolongation de la durée d'enneigement sur la flore. Mais selon le conseil fédéral, aucune étude n'a mis en évidence une conséquence défavorable pour l'environnement, du moins pour les effets à court-terme, mais reconnaît qu'aucune étude ne permet d'affirmer quelles seront les conséquences environnementales de l'utilisation du Snomax à long terme.

Le 17 janvier 2005, l'Express publie un article intitulé « Le mal des Montagnes » [13] dans lequel est inséré un encart sur la « neige sale », qui désigne la neige produite avec *P. syringae*. L'encart fait référence à l'étude du CEMAGREF, et cite la phrase « pas de risque pathogènes estiment les experts ». Pourtant, l'article cite les propos d'un membre de la FRAPNA, Eric Ferraille, qui dénonce le fait qu'aucune n'étude n'a été entreprise « sur le mode de propagation de la bactérie ou sa transformation génétique en d'autres organismes sur le mode de résistance aux antibiotiques ». Par ailleurs, l'article cite aussi des propos de Martial Saddier, député maire de Bonneville en Haute Savoie qui demande l'application du principe de précaution. Cet article a été publié alors qu'une vingtaine de stations françaises testent actuellement le Snomax. Le club alpin demande également l'application du principe de précaution dans un article paru sur son site internet : www.clubalpin.com/fr/cnpmlmap1.html.

En outre, les stations testant le Snomax à des fins de production de neige ne le précisent pas explicitement sur les pistes de ski, ce qui peut être contribuer à la méfiance de certaines associations.

Nous pouvons observer que la perception du risque sanitaire par les associations écologiques ou les députés (ou représentants au conseil fédéral suisse) est très différente de notre approche puisque le risque sanitaire redouté ne porte pas sur des conséquences directes liées à la présence de bactéries pathogènes dans la neige, mais sur les conséquences que pourraient avoir une éventuelle mutation de la bactérie *P. Syringae*. Nous avons essayé de réfléchir sur l'origine de cette inquiétude et avons trouvé plusieurs explications possibles :

- des publications scientifiques [14] ont mis en évidence la présence de bactéries viables très anciennes (dont la durée de survie est supérieure à 10000 ans) en Antarctique et dont le patrimoine génétique aurait pu muter au cours du temps. Néanmoins, les conditions et la durée d'enneigement entre les stations de ski et l'Antarctique sont très différentes et comme la bactérie *P. syringae* n'est pas détectée, ce phénomène nous paraît peu vraisemblable ;
- nous pouvons penser qu'il existe une inquiétude résiduelle par rapport aux organismes génétiquement modifiés. Dans ce contexte, l'introduction d'un additif d'origine bactérienne dans la fabrication de la neige de culture peut susciter l'opposition d'associations, pour lesquelles le Snomax présentent les mêmes risques que les OGM ;
- peut être, un amalgame avec les mécanismes qui conduisent à des résistances bactériennes aux antibiotiques est-il réalisé et l'introduction d'une protéine dans le milieu naturel est perçu comme un risque.

Cette perception du risque sanitaire ne s'appuie pas sur les conclusions du CEMAGREF, et l'article de l'Express montre clairement que la position « des experts » est contestée par les associations écologiques et des représentants politiques, car aucune étude indépendante sur l'impact sanitaire du Snomax ou sur l'impact environnemental n'a été réalisée en France (et nous ne pensons pas que les conclusions de l'étude du NIOSH soient facilement accessibles aux associations et soient de nature à apaiser leurs préoccupations.)

La position de York, le fabricant du Snomax sur son site Internet est assez ambigu. La société affirme que le Snomax est autorisé en Suisse, au Canada, au Japon, en Suede, en Finlande, en Italie, en France, en Australie et aux Etats-Unis entre autres et qu'en 6 ans plus de 35 études indépendantes ont été réalisées, dont certaines à la demande des gouvernements, dans plusieurs pays et qu'elles arrivent toutes à la

conclusion que le Snomax n'est pas une menace pour l'environnement ou la santé. York affirme avoir consacré un budget de 1.5 millions de dollars pour démontrer la sécurité du Snomax. Mais ce qui est très étonnant, c'est que York ne donne pas de référence d'équipes ou de liens vers les études qui ont été réalisées, ce qui rend les affirmations de cette société moins crédibles et peut augmenter la méfiance des associations envers « les experts ».

5 Mesure de gestion

Plusieurs recommandations peuvent être faites afin de limiter l'exposition du personnel au Snomax et afin de limiter la présence et la multiplication de microorganismes dans les installations.

Tout d'abord, afin de limiter l'exposition des travailleurs, l'usage de gants lors de la manipulation du Snomax ainsi que le port de masque sont recommandés.

De plus, il peut être mis en place des systèmes de roulement du personnel afin que ce ne soit pas toujours les mêmes travailleurs qui soient exposés.

La fabrication de neige de culture avec le Snomax doit être réalisée la nuit ou lors de la fermeture du domaine skiable.

Concernant les micro-organismes, afin de limiter leur présence et leur multiplication, il est recommandé de traiter l'eau utilisée à l'aide de systèmes de désinfection (type lampes UV) ou d'utiliser uniquement de l'eau potable en prenant soin que les conditions de stockage de celle-ci soient adéquates. L'utilisation d'eau potable a été préconisée pour la fabrication de la neige de culture en Autriche dans le Tyrol.

En outre, il faut procéder à un nettoyage et à une désinfection réguliers des installations : cuve de mélange, pompes, canalisations, enneigeurs.

Enfin, l'accès des zones où se situent les canons doit être interdite au public pour éviter son exposition alors qu'il ne porte pas de protection.

Conclusion

Au cours de cette étude, nous avons constaté qu'il existait peu de données disponibles sur les risques sanitaires liés à l'utilisation du Snomax. Les éléments dont nous disposons ne nous apportent aucun élément pour conclure à l'existence d'un problème de santé publique lié au Snomax, même s'il faut reconnaître que les deux études présentées manquent de puissance.

Néanmoins, l'introduction du Snomax dans le procédé de fabrication de la neige de culture est un élément favorisant un développement de bactéries, qui peuvent être apportées par l'eau d'alimentation des canons à neige. La présence de bactéries pathogènes dans l'eau utilisée pour produire la neige de culture doit entraîner une vigilance dans le procédé, soit en imposant des mesures de protection pour le personnel fabricant la neige, soit en traitant l'eau d'alimentation pour limiter la présence de germes pathogènes ou en utilisant de l'eau potable. L'utilisation de dispositifs de traitement de l'eau ou d'eau potable augmente fortement le coût de production de la neige artificielle.

Plusieurs études environnementales sur le Snomax ont été réalisées ou sont en cours de réalisation dans différents pays du monde, et concluent sur un impact environnemental à court terme nul ou très faible. En revanche, aucune donnée n'est disponible sur l'impact environnemental à long terme.

Mais l'utilisation du Snomax pose un problème plus important : en raison du réchauffement climatique, l'enneigement diminue et il devient difficile pour les stations de ski situées à des altitudes assez basses d'avoir de bonnes conditions d'enneigement, leur permettant de rentabiliser leurs remontées mécaniques sans avoir recours à la neige artificielle. Le Snomax est un moyen d'améliorer l'enneigement, et donc la fréquentation des stations. Mais l'augmentation massive d'utilisation de neige de culture entraîne des consommations d'eau très importantes, qui pourraient amener des conflits d'usage dans le futur : la consommation d'eau des stations de Haute Savoie serait de 1,5 Millions de m³ d'eau par an aujourd'hui, en 2010 elle devrait atteindre 5 Millions de m³ par an. Les enjeux de l'utilisation du Snomax en France sont donc des enjeux financiers, à la fois pour le fabricant et les stations de ski, et environnementaux. Cela pose une question fondamentale : dans le cadre d'un développement durable est-il pertinent d'utiliser de la neige de culture, rendue plus performante par l'ajout d'un additif pour essayer de conserver des stations de ski en moyenne montagne ? Ou faut-il réfléchir à une modification de l'aménagement du territoire et ne plus encourager l'aménagement ou l'extension de stations en dessous d'une certaine altitude ?

BIBLIOGRAPHIE

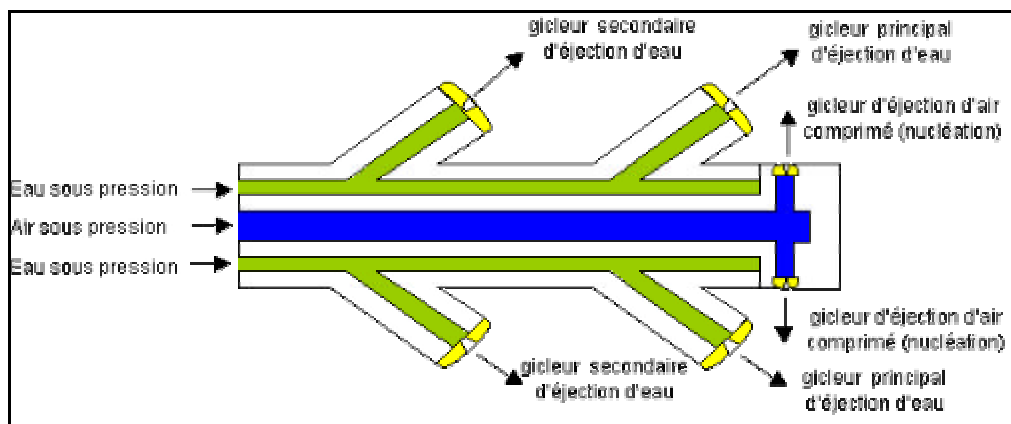
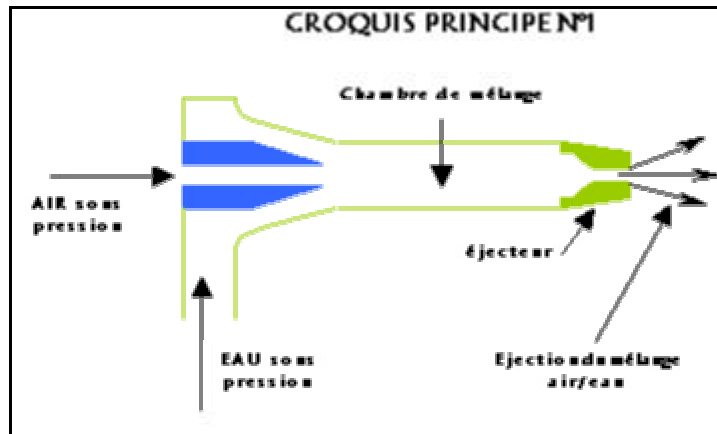
- [1] <http://www.yorksnow.com/main.htm>
- [2] <http://www.anpnc.com/recueil> (dernière mise à jour le 6 février 2005)
- [3] GURIAN-SHERMAN D., LINDOW S.E., Bacterial ice nucleation : significance and molecular basis. *The FASEB journal*, 1993, n°7, p 1339-1343.
- [4] HIRANO S.S, UPPER C.D, Bacteria in the leaf ecosystem with emphasis on *Pseudomonas syringae* – a pathogen, ice nucleus, and epiphyte. *Microbiology and Molecular Biology Review*, Septembre 2000, Vol. 64, p 624-653.
- [5] GOODNOW R.A., KATZ G., HAINES D.C. et al., Subacute inhalation toxicity study of an ice-nucleation-active *Pseudomonas syringae* administered as a respirable aerosol to rats. *Toxicology Letters*, 1990, n°54, p 157-167.
- [6] Neige de culture et Snomax : quels impacts sur l'environnement ? 2004, CEMAGREF, université de Turin.
- [7] KULLMAN G., Respiratory Disease Hazard Evaluation and Technical Assistance Program. 1993. NIOSH, U.S. Department of Health and Human Services, Morgantown, West Virginia, Rapport N° HETA-89-348-2295, 32 pages.
- [8] RYLANDER R., Endotoxin reactions to cotton dust. *American Journal of Industrial Medicine*, 1987, réf 12 :687
- [9] <http://www.bacdico.net>
- [10] Starr M. P., Stolp H., Trüper H. G., Balows A., Schlegel H. G. The prokariotes. A handbook on habitats, isolation and identification of bacteria. Vol. 1 & 2. New York : Springer and Verla, 1981
- [11] CABRET N., Les canons à neige artificielle favorise la pollution des sols. *Le Monde*, 24 Avril 2004.

[12] RIXEN C., STOECKLI V., AMMANN W., Does artificial snow production affect soil land vegetation of ski pistes ? *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and systematics*, Urban et Fischer Verlag, 2003. Vol.5, p 219-230.

[13] DE VENDEUIL R., Le mal des montagnes . *L'Express*, 17 Janvier 2005.

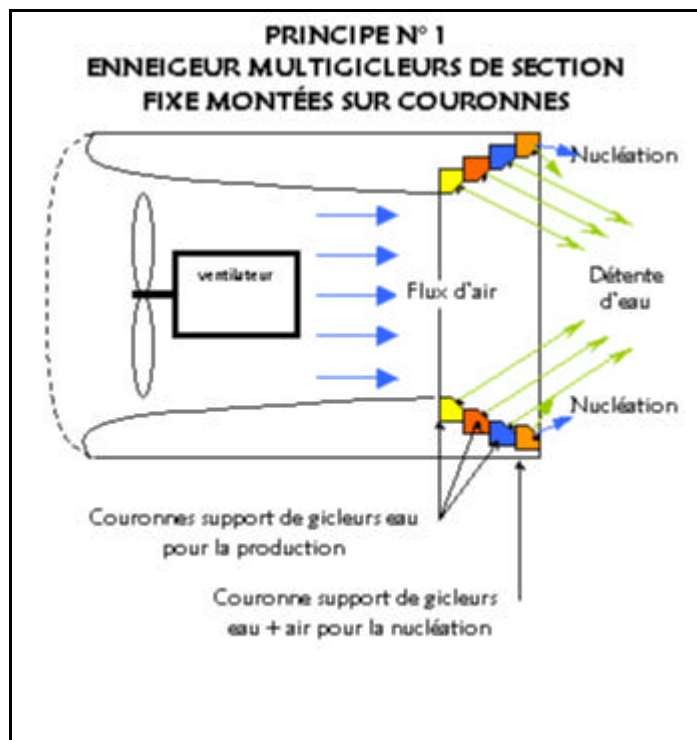
[14] SMITH A.W., SKILLING D.E., CASTELLO J.D. et al., Ice as a reservoir for pathogenic human viruses : specifically, calciviruses, influenza viruses, and enteroviruses. *Medical hypothese*, Elsevier Ltd, 2004.

ANNEXE I





Enneigreur monofluide



Enneigreur monofluide