

La neige de culture

Évaluation des risques
sanitaires liés
à l'utilisation d'adjuvants
pour la fabrication
de la neige de culture

- **Avis de l'Afsset**
- **Rapport d'expertise collective**



agence française de **sécurité sanitaire**
de l'environnement et du travail



Mai 2008

La Directrice générale

Maisons-Alfort, le 14 MAI 2008

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail

Relatif à « l'évaluation des risques sanitaires liés à l'utilisation d'adjuvants pour la fabrication de la neige artificielle »

Saisine Afsset n°2005/SA/007

L'Afsset a pour mission de contribuer à assurer la sécurité sanitaire dans le domaine de l'environnement et du travail et d'évaluer les risques sanitaires qu'ils peuvent comporter. Elle fournit aux autorités compétentes toutes les informations sur ces risques ainsi que l'expertise et l'appui technique nécessaires à l'élaboration des dispositions législatives et réglementaires et à la mise en œuvre des mesures de gestion du risque.

Dans ce cadre, l'Afsset a été saisie le 30 Mai 2005 par Direction générale de la santé du ministère chargé de la santé, la Direction de la prévention des pollutions et des risques et la Direction des études économiques et d'évaluation environnementale du ministère chargé de l'écologie et du développement durable afin d'évaluer les risques sanitaires liés à l'utilisation d'adjuvants pour la fabrication de la neige artificielle (cf. annexe 1 du rapport).

Présentation de la question posée

L'utilisation d'additifs pour la fabrication de neige de culture est une technologie employée par les exploitants de stations de ski pour assurer un bon enneigement des pistes de ski. La saisine porte principalement sur l'adjuvant dénommé « Snomax[®] », présenté par son fabricant comme un produit facilitant la production de neige de culture en conditions météorologiques défavorables pour l'enneigement naturel. C'est un produit de nature biologique contenant la bactérie inactivée *Pseudomonas syringae*, souche 31a, et pour lequel les impacts sanitaires de son utilisation ne sont pas connus.

Il est ainsi demandé à l'Agence de réaliser :

- un bilan sur le statut réglementaire international du produit Snomax[®],
- une revue scientifique des études disponibles sur les risques sanitaires liés à son utilisation,
- une évaluation globale du risque sanitaire du produit Snomax[®] vis-à-vis des usagers des pistes et des professionnels, et notamment de la population sensible que représentent les enfants

Contexte

Le produit Snomax[®] a été utilisé en France entre 1992 et 2005 pour la fabrication de neige de culture par 23 des quelques 300 stations de ski françaises. Eu égard aux interrogations qu'il suscite concernant les risques éventuels pour la santé humaine et pour l'environnement, les professionnels des stations de ski ont décidé d'un commun accord en 2005 de suspendre son utilisation, bien que ce produit ne soit pas interdit.

L'importation et la commercialisation du Snomax[®] en France ne font pas l'objet d'une procédure préalable d'autorisation. Ce produit est utilisé par de nombreux pays dans le monde, notamment ceux de l'arc alpin où il ne fait pas l'objet d'une législation particulière. Quelques pays réglementent néanmoins l'utilisation d'additifs pour la fabrication de la neige de culture, soit en les autorisant, soit en les interdisant, avec quelquefois des différences entre régions ou cantons. A ce jour, les effets sanitaires de l'utilisation du Snomax[®] ont été peu étudiés et aucun pays utilisateur n'a mené d'évaluation du risque sanitaire pour l'homme quant à son utilisation.

L'impact de son utilisation pour l'environnement, notamment sur la qualité des sols et de la flore, a par ailleurs fait l'objet d'une expertise de l'Institut de recherche pour l'ingénierie de l'agriculture et de l'environnement (Cemagref) et n'est pas abordé dans ce travail.

Organisation de l'expertise

L'expertise a été réalisée dans le respect de la norme NF X 50-110 « Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise (Mai 2003) » avec pour objectif de respecter les points suivants : compétence, indépendance, transparence, traçabilité. Dans ce cadre, les déclarations publiques d'intérêt des experts et des scientifiques de l'Afsset chargés du secrétariat scientifique ne présentent pas de risque de conflit d'intérêts (cf. annexe 3).

S'agissant d'une évaluation du risque, la procédure qualité en expertise prévoit de s'appuyer sur un Comité d'experts spécialisés (CES). Celle-ci n'a pu démarrer que lorsque que l'Afsset a obtenu l'autorisation en date du 13 juillet 2006 par arrêté interministériel de créer un CES en charge de l'évaluation des risques liés aux eaux et aux agents biologiques. Ce CES a été effectivement créé le 12 avril 2007 après appels à candidatures.

L'Afsset a confié l'instruction de cette saisine au Comité d'Experts Spécialisés (CES) lors de sa séance d'installation du 4 mai 2007. Ce CES a mandaté un groupe de travail de 10 experts pour la réalisation des travaux d'expertise.

Les travaux de ce groupe ont été régulièrement soumis au CES tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques. Le groupe de travail s'est réuni à 7 reprises entre 2007

et 2008 et a présenté ses résultats au CES lors des séances du 3 juillet 2007, 1^{er} octobre 2007, 3 décembre 2007 et 4 février 2008.

Ces travaux d'expertise sont ainsi issus d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires.

Le présent avis se base pour les aspects scientifiques sur le rapport final issu de cette expertise collective « Evaluation des risques sanitaires liés à l'utilisation d'adjuvants pour la fabrication de la neige artificielle » dans sa version d'avril 2008 qui a été adoptée par le CES lors de sa séance du 7 Avril 2008.

L'estimation qualitative des risques sanitaires, pour l'homme et pour les populations sensibles que constituent les enfants et les professionnels, est fondée sur l'analyse :

- du contexte, des enjeux et des modalités de son utilisation,
- des connaissances sur la nature biologique du produit Snomax[®], son procédé de fabrication et sa composition physicochimique et microbiologique,
- des dangers sanitaires potentiels pour l'homme du Snomax[®],
- des populations concernées, des modalités et des voies d'exposition.

Avis et recommandations

L'Afsset est en accord avec l'ensemble des résultats de l'expertise, conclusions et recommandations mentionnés dans le rapport du groupe de travail, et préconise leur mise en œuvre.

Dans ce cadre, l'Afsset considère :

- que la bactérie *P. syringae*, unique constituant bactérien du Snomax[®], ne présente pas de pouvoir pathogène pour l'homme,
- que le Snomax[®], au regard de sa composition chimique, ne présente pas de toxicité pour l'homme,
- que l'exposition aux endotoxines du produit Snomax[®] pour les usagers des pistes (adultes et enfants) et les populations professionnelles, à l'exception des nivoculteurs (en charge de fabrication de la neige de culture), ne constitue pas un danger supplémentaire à celui de l'exposition quotidienne de l'homme aux endotoxines d'origine naturelle,
- que le risque sanitaire lié à l'utilisation du Snomax[®] est, selon les scénarii, « nul » ou « nul à négligeable » pour les usagers des pistes (adultes) et pour les professionnels concernés, à l'exception des nivoculteurs,
- que le risque sanitaire lié à l'utilisation du Snomax[®] est « négligeable » pour les enfants exposés à la neige de culture au sol et « nul à négligeable » pour les autres scénarii,
- que le risque sanitaire lié à l'utilisation du Snomax[®] est, selon les scénarii, « négligeable » ou « négligeable à faible » pour le nivoculteur,

L'Afsset souligne cependant que l'expertise a mis en évidence des données manquantes ou non validées et détaillées ci-après :

1. Les informations fournies par le fabricant concernant le procédé de stérilisation du produit et le contrôle de sa stérilité réalisé par des tiers, ainsi que les études indépendantes menées à ce jour, ont été jugées insuffisantes par les experts et ne permettent ni de confirmer ni d'infirmer l'hypothèse du caractère stérile du produit commercialisé.

L'analyse de la stérilité du produit par un laboratoire indépendant et selon un protocole adapté à la bactérie *P. syringae* (souche 31a) permettrait de lever cette interrogation. Sur la demande de l'Agence, un échantillon de Snomax[®] a été mis tardivement à la disposition de l'Afsset par le fabricant mais dans des conditions de transport qui se sont avérées non conformes à celles préconisées par le fabricant (notamment en ce qui concerne la température de conservation du produit).

L'expertise menée par l'Afsset étant basée en partie sur l'hypothèse d'un produit stérile, toute donnée nouvelle qui tendrait à infirmer cette hypothèse serait de nature à modifier les résultats de l'expertise collective, ses conclusions et recommandations.

2. Les tests menés à ce jour sur des cobayes exposés au Snomax[®] ou à *P. syringae* ont été jugés insuffisants par les experts pour conclure avec certitude, en l'état actuel des connaissances, à l'absence de réaction allergique ou immunitaire.

Des essais adaptés, confiés à un laboratoire indépendant seraient utiles pour lever cette incertitude.

3. La concentration en endotoxines du produit Snomax[®], et notamment dans l'air du sachet de conditionnement, n'a pas été fournie à l'Afsset par le fabricant.

Or la mesure de cette concentration est nécessaire pour mieux documenter l'exposition des nivoculteurs.

Le nivoculteur est la catégorie professionnelle la plus concernée par l'exposition au Snomax[®] brut ou dilué, notamment lors de la manipulation du produit. L'Afsset indique que l'occurrence des dangers peut être réduite

- en respectant le protocole et les modalités de préparation du Snomax[®] définis par le fabricant,
- en portant des équipements adaptés de protection individuelle (lunettes, gants et protection respiratoire) lors de la préparation de la solution, lors de la vidange éventuelle du mélange lorsque celui-ci n'a pas été utilisé, et lors du nettoyage de la cuve,
- en limitant, en fréquence et en durée, les interventions du nivoculteur sur les enneigeurs en fonctionnement,
- en documentant l'exposition du nivoculteur au Snomax[®] (et notamment aux endotoxines),
- en améliorant le conditionnement du Snomax[®], par exemple sous forme d'un sachet hydrosoluble, pour éviter tout contact avec le produit.

L'Afsset mentionne que toute nouvelle donnée relative aux incertitudes précitées ou à une meilleure connaissance de l'exposition du nivoculteur devrait conduire à réviser l'estimation du risque lié à son utilisation pour la fabrication de neige de culture.

L'Afsset souligne que le Snomax[®], utilisé aux concentrations préconisées par le fabricant, est susceptible d'engendrer la prolifération de germes potentiellement pathogènes au sein de la cuve de préparation. L'Afsset indique que l'occurrence de ce danger peut être réduite

- en utilisant, pour la dilution du Snomax[®], une eau respectant les critères microbiologiques de l'eau potable,
- en conservant le mélange en cuve au maximum pendant 24 heures.

Par ailleurs et hors contexte d'utilisation du Snomax[®], l'Afsset préconise d'attirer l'attention des préventeurs et des médecins du travail sur l'exposition et le risque respiratoire éventuel du nivoculteur, en lien avec les pratiques et les modalités usuelles de fabrication de la neige de culture.

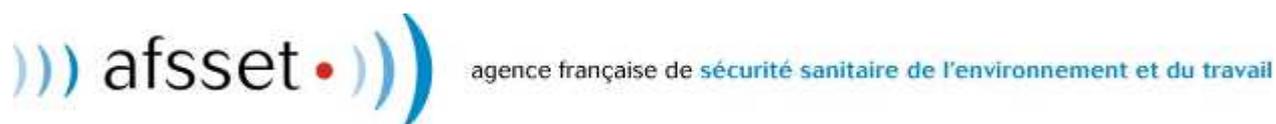
Enfin, dans une approche de veille sanitaire, l'Afsset attire l'attention des exploitants de stations de ski et des autorités de tutelle sur les deux considérations suivantes :

- l'utilisation pour l'enneigement artificiel d'une eau de mauvaise qualité microbiologique (avec ou sans l'ajout d'additif) peut représenter un risque sanitaire pour les usagers des pistes et les populations professionnelles, eu égard aux voies d'exposition à la neige de culture identifiées. L'Afsset souligne à ce titre l'intérêt que pourrait présenter une campagne d'analyses de la qualité de l'eau utilisée pour la fabrication de la neige de culture,
- l'utilisation d'autres additifs que le Snomax[®], notamment pour l'entretien du manteau neigeux, est susceptible, dans certains cas, de dégrader la qualité des sols et de la ressource en eau, via l'eau de fonte des neiges. Les captages utilisés pour l'approvisionnement en eau potable, notamment en raison de leur proximité immédiate des pistes, paraissent être particulièrement vulnérables aux risques éventuels liés à ces additifs ainsi qu'à la qualité microbiologique de l'eau utilisée pour l'enneigement artificiel.

La Directrice générale



Dr Michèle FROMENT-MEDRINE



**Evaluation des risques sanitaires liés à l'utilisation
d'adjuvants pour la fabrication de la neige de
culture**

Saisine n°2005/SA/007

**RAPPORT
d'expertise collective**

**Comité d'Experts Spécialisés « Evaluation des risques liés aux
eaux et aux agents biologiques »**

Groupe de travail « Neige de culture »

Avril 2008

MOTS CLES

Neige de culture, Enneigement artificiel, Snomax®, Risques sanitaires, Qualité des eaux, *Pseudomonas syringae*

Présentation des intervenants :

GROUPE DE TRAVAIL

Président :

M. Jean-Luc BOUDENNE - Docteur HDR, Maître de conférence à l'Université de Provence, Chef de l'équipe chimie et métrologie des eaux au Laboratoire de Chimie Environnement - Métrologie des eaux, chimie et qualité des eaux.

Membres :

M. Rafik ABSI - Docteur Enseignant chercheur, Responsable de recherche à l'Ecole de Biologie Industrielle, Laboratoire Roberval Université de Technologie de Compiègne – Modélisation et mécanique des fluides.

M. Jean-Jacques BALLETT - Médecin immunologiste, Professeur à l'Université et Praticien Hospitalier au CHU de Caen, Laboratoire d'Immunologie et Immunopathologie - Immunopathologie, infections.

M. Jean-Marc BERJEAUD - Docteur, Maître de conférence à l'Université de Poitiers et au Laboratoire de Microbiologie Fondamentale et appliquée IBMIG - Bactériologie, biofilms.

M. Edmond CREPPY - Professeur à l'Université de Bordeaux 2, Directeur du Laboratoire de Toxicologie et d'Hygiène Appliquée - Modes d'action des toxiques de l'environnement.

M. Eric GILLI - Docteur en géologie, Professeur à l'Université Paris 8 au Département de géographie - Hydrogéologie, eaux karstiques.

Mme Sylvie CHEVALIER - Maître de conférence HDR, Responsable d'équipe de recherche à l'Université de Rouen au Laboratoire de Microbiologie du Froid - Microbiologie moléculaire : membranes, porines, surfactants.

M. Jean-Pierre GADONNA - Docteur, Professeur à l'Ecole de Biologie Industrielle - Génie des Procédés industriels.

Mme Pascale GADONNA-WIDEHEM - Docteur, Enseignant-chercheur à l'Institut Polytechnique LaSalle - Microbiologie des procédés industriels, risques microbiologiques.

Mme Cindy MORRIS - Docteur HDR, Responsable d'équipe de recherche à l'INRA Avignon - Phytopathologie, bactériologie des milieux hydriques et aériens.

ADOPTION DU RAPPORT PAR LE COMITE D'EXPERTS SPECIALISES

Les travaux menés par le groupe de travail « Neige de culture » ont été présentés au CES en charge de l'évaluation des risques liés aux eaux et aux agents biologiques (CES « Eaux et Agents Biologiques ») pour avis et commentaires lors des séances des 3 juillet, 1^{er} octobre et 3 décembre 2007 et du 4 Février 2008.

Le rapport a été approuvé par l'ensemble des membres du groupe de travail. Il a été adopté par le CES « Eaux et agents biologiques » en séance le 7 avril 2008.

Présidente du CES «Eaux et Agents biologiques» :

Mme Sylvie RAUZY - Ingénieur Chimiste, Docteur es Sciences en Hydrologie, Directeur de la prospective au CRECEP - Risques liés à l'eau, qualité des eaux.

Membres du CES «Eaux et Agents Biologiques» :

M. Rafik ABSI - Docteur Enseignant chercheur, Responsable de recherche à l'Ecole de Biologie Industrielle, Laboratoire Roberval Université de Technologie de Compiègne – Modélisation et mécanique des fluides.

M. Jean-Jacques BALLETT - Médecin immunologiste, Professeur à l'Université et Praticien Hospitalier au CHU de Caen, Laboratoire d'Immunologie et Immunopathologie - Immunopathologie, infections.

M. Jean-Marc BERJEAUD - Docteur, Maître de conférence à l'Université de Poitiers et au Laboratoire de Microbiologie fondamentale et appliquée IBMIG - Bactériologie, biofilms.

M. Jean-Luc BOUDENNE - Docteur HDR, Maître de conférence à l'Université de Provence, Chef de l'équipe chimie et métrologie des eaux au Laboratoire de Chimie Environnement - Métrologie des eaux, chimie et qualité des eaux.

M. Jeanne BRUGERE-PICOUX - Professeur, Enseignant Chercheur à l'Ecole Nationale Vétérinaire en Pathologie du Bétail - Zoonose, risque biologique et pathologie animale.

M. Pierre-Jean CABILLIC - Ingénieur ENGEES et Ingénieur du Génie Sanitaire, Chef du département «Santé Environnement» de la DDASS du Morbihan - Qualité des eaux, assainissement, baignades et process de traitement.

M. Patrick CAMUS - Cadre de recherche, Chef de laboratoire à l'IFREMER - Ecologie, hydrologie, pollution et surveillance des eaux marines.

M. Edmond CREPPY - Professeur à l'Université de Bordeaux 2, Directeur du Laboratoire de Toxicologie et d'Hygiène Appliquée -Modes d'action des toxiques de l'environnement.

M. Christophe CUDENNEC - Ingénieur agronome et Docteur en hydrologie, Maître de conférence à l'Agrocampus de Rennes - Hydrologie, ressources en eau, aménagement du territoire, modélisation.

M. Christophe DAGOT - Professeur, Responsable Eau et Environnement de l'Université de LIMOGES (ENSIL) - Génie des procédés, traitement des eaux.

M. Sam DUKAN - Docteur en microbiologie, Responsable d'équipe au Laboratoire de Chimie Bactérienne au CNRS de Marseille - Chimie bactérienne, mécanismes de survie bactérienne.

M. Jean-François GEHANNO - Médecin du travail, Maître de conférence des Universités - Praticien Hospitalier au CHU de Rouen au Service Médecine du Travail et Pathologie Professionnelle - Risques professionnels en particulier biologiques et toxiques.

M. Eric GILLI - Docteur en géologie, Professeur à l'Université Paris 8 au Département de géographie - Hydrogéologie, eaux karstiques.

M. Jean-Pierre GUT - Professeur des Universités - Praticien Hospitalier, Directeur de l'Institut de Virologie au CHU de Strasbourg au Laboratoire de Virologie - Biologie des virus, virologie médicale.

M. Didier HILAIRE - Docteur, Expert en microbiologie, Expert décontamination à la DGA - Désinfection des agents du risque biologique et stabilité des agents biologiques dans l'environnement.

M. Jean-François HUMBERT - Docteur, Directeur de Recherche à l'INRA de Thonon-les-Bains - Ecologie microbienne.

M. Abdel LAKEL - Ingénieur de recherche, Co-responsable du domaine Air/Eau-Pollution Santé, Pilote du département «Climatologie aérodynamique pollution épuration» au CSTB - Dépollution des eaux usées.

Mme Colette LE BACLE - Médecin du travail, Conseiller médical en Santé au Travail, Chef de projet «Risques Biologiques» à l'INRS - Risques biologiques professionnels.

M. Eric LEDRU - Médecin biologiste, Médecin coordinateur à l'ANAEM - Santé publique et médecine tropicale.

M. Patrick MARCHANDISE - Ingénieur des travaux publics d'Etat, Ingénieur du génie sanitaire, Ingénieur européen, Expertise, conseil et Inspection au Conseil Général des Ponts et Chaussées section Sciences et Techniques - Qualité, traitement des eaux, impacts.

Mme Laurence MATHIEU - Docteur es Sciences, Enseignant chercheur, Maître de conférence à la Faculté de médecine de Vandœuvre-les-Nancy, Ecole Pratique des Hautes Etudes dans le département Environnement et Santé - Exposition aux contaminants biologiques.

M. Gérard MOGUEDET - Professeur, Hydrogéologue agréée en matière d'hygiène publique, Vice Président de l'Université d'Angers - Hydrologie, hydrogéologie et pollution des eaux.

Mme Anne MORIN - Docteur d'université, Coordinatrice du programme «Qualité des Eaux» à l'INERIS - Analyses chimiques, physico-chimiques des eaux, métrologie.

Mme Catherine MOUNEYRAC - Professeur en écotoxicologie aquatique, Directrice de l'Institut de Biologie et d'Ecologie Appliquée à l'Université Catholique de l'Ouest - Ecotoxicologie, biomarqueurs.

Mme Alessandra OCCHIALINI-CANTET - Maître de conférence, Docteur es Sciences, Enseignant chercheur au CNRS dans l'équipe «Microbiologie des Infections bactériennes chroniques et stratégies anti-infectieuses» - Microbiologie, pathogénie des agents infectieux.

Mme Anne-Marie POURCHER - Maître de conférences, enseignant - Chercheur au CEMAGREF de Rennes dans l'Unité «Gestion Environnementale et Traitement biologique des déchets» - Aspect sanitaire des traitements biologiques des déchets liquides et solides, survie bactérienne.

Mme Renée RUNIGO-MAGIS - Ingénieur CNAM en Sécurité au Travail, Ingénieur Sécurité à l'APHP - Hygiène et sécurité professionnelle.

Mme Marie-Pierre SAUVANT-ROCHAT - Professeur de santé publique, Chef de service à l'Université d'Auvergne au Laboratoire Santé publique et Environnement - Santé publique et épidémiologie.

Mme Nicole TANDEAU DE MARSAC - Docteur es Science, Responsable d'unité de recherche à l'Institut Pasteur de Paris - Microbiologie, cyanobactéries.

Mme Michèle TREMBLAY - Médecin en santé communautaire, Médecin conseil en maladies infectieuses et en santé au travail à l'INSPQ à la Direction de la santé publique de Montréal - Risques biologiques professionnels liés aux eaux.

M. Bernard TRIBOLLET - Ingénieur de l'Ecole Supérieure d'Electricité, Docteur d'Etat, Directeur de Recherches à l'Université de Jussieu au Laboratoire Interfaces et Systèmes Electrochimiques - Biofilms, entartrage, corrosion des matériaux en milieux naturels.

Mme Isabelle VILLENA - Médecin biologiste, Professeur des Universités - Praticien Hospitalier au CHU de Reims au Laboratoire de Parasitologie et Mycologie - Parasitologie et mycologie, diagnostic et traitement de zoonoses.

PARTICIPATION AFSSET

Coordination et contribution scientifique :

M. Arnaud LAGRIFFOUL - Chef de projets scientifiques - Afsset
Mme Céline DUBOIS - Chargée de projets scientifiques – Afsset

Contribution scientifique :

Mme Sylvie ZINI – Chef de projets scientifiques - Afsset

Secrétariat administratif :

Mme Séverine BOIX - Afsset

AUDITION DE PERSONNES EXTERIEURES :

Syndicat national des téléphériques de France (SNTF)

M. Serge RIVEILL, Chargé de mission « pistes en environnement »

Association nationale des directeurs de pistes et de la sécurité de stations de sports d'hiver (ADSP)

M. Michel VIALLET, membre de l'ADSP en charge de la neige de culture et ancien Chef des pistes du domaine de Valloire

Johnson Controls Neige

M. Maxime ROUGEAUX, Directeur Marketing

Groupe d'étude des organismes disséminés dans l'environnement (GEODE)

M. Claude ALABOUVETTE, Président, Directeur de Recherche à l'Unité de pathologie végétale, INRA de Dijon.

REMERCIEMENTS :

Tous nos remerciements à

M. Xavier BRUNI, Chef des pistes du domaine de Valloire,

M. Jacques VIALLET, Chef d'équipe « neige de culture » du domaine de Valloire.

M. André GROGNIET, Président de l'Association nationale des directeurs de pistes et de la sécurité de stations de sports d'hiver.

M. Gaston PLAISANCE, Directeur des pistes du domaine Les Ménuires.

M. Jean Paul HUDRY, Nivoculteur du domaine Les Ménuires – Saint Martin de Belleville.

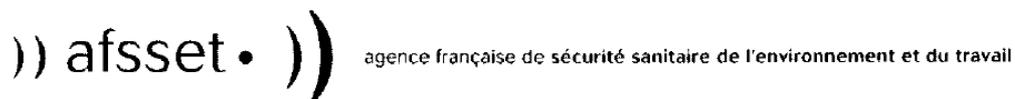
SOMMAIRE

Présentation des intervenants	3
Expertise collective : synthèse et conclusions.....	11
Abréviations	16
Glossaire.....	16
Liste des tableaux	17
Liste des figures.....	17
1. Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine	18
1.1 Contexte.....	18
1.2 Objet de la saisine	18
1.3 Modalités de traitement de la saisine : moyens mis en œuvre et organisation	19
1.4 Raisonement de l'expertise	20
2. Le statut réglementaire du Snomax® au niveau international	21
3. Neige de culture : enjeux, principes et procédés de fabrication	22
3.1 Les enjeux de l'enneigement artificiel	22
3.2 Principes et procédés de fabrication de la neige de culture	22
3.2.1 Le principe de fabrication	23
3.2.2 Les paramètres de fabrication.....	23
3.2.3 Procédés de fabrication de la neige de culture	24
3.2.4 Les équipements périphériques et les aménagements.....	25
3.3 Les additifs utilisés pour la fabrication de la neige de culture	25
3.3.1 Les produits ajoutés à l'eau pour la fabrication de neige de culture	26
3.3.2 Les produits épandus sur la neige in situ	26
4. Le produit Snomax® et son utilisation pour la fabrication de la neige de culture	27
4.1 Le marché du Snomax®	27
4.2 Biologie et écologie de <i>Pseudomonas syringae</i>	28
4.2.1 Caractéristiques taxonomiques	28
4.2.2 Biotopes et écologie de <i>P. syringae</i>	28
4.2.3 Pouvoir phytopathogène	29
4.2.4 Caractéristiques génomiques.....	29
4.2.5 Base moléculaire du pouvoir glaçogène	29
4.3 Le protocole de fabrication du Snomax®	31
4.3.1 Les étapes de la production	31
4.3.2 Les contrôles qualité du produit fini.....	31

4.4 La composition chimique et microbiologique du Snomax®	32
4.4.1 <i>Composition chimique</i>	32
4.4.2 <i>Composition microbiologique</i>	33
4.4.3 <i>Evaluation de la stérilité du produit</i>	33
4.5 Principaux intérêts du Snomax® avancés par le fabricant	34
4.6 Modalités de conservation, mode d'emploi et précautions d'usage	34
4.6.1 <i>Modalités de conservation</i>	34
4.6.2 <i>Mode d'emploi</i>	34
4.6.3 <i>Calcul de la concentration du produit dans la cuve de dilution du Snomax® et dans l'eau pulvérisée par les enneigeurs</i>	35
4.6.4 <i>Protocole de nettoyage du matériel de dilution et d'injection</i>	36
4.6.5 <i>Précautions d'usage recommandées par le fabricant</i>	36
5. Identification et caractérisation des dangers du Snomax®	37
5.1 Le danger lié au pouvoir infectieux	37
5.2 Le danger lié à la toxicité et à la production d'endotoxines	38
5.2.1 <i>Toxicité du Snomax®</i>	38
5.2.2 <i>Les dangers liés aux endotoxines de P. syringae</i>	39
5.3 Les dangers d'allergies au Snomax®	40
5.4 Le danger lié au développement de microorganismes issus de l'eau utilisée pour préparer le mélange de Snomax®	41
6. Identification des populations exposées, des scénarii et des voies d'exposition	43
6.1 Populations exposées	43
6.2 Eléments d'information permettant de décliner les scénarii d'exposition	43
6.3 Scénarii et voies d'exposition au Snomax®	44
7. Estimation des risques sanitaires et recommandations	47
7.1 Principaux éléments de méthode	47
7.2 Estimation du risque pour le scénario «préparation du mélange en cuve»	49
7.3 Estimation du risque pour le scénario «nettoyage du matériel de mélange»	50
7.4 Estimation du risque pour le scénario «exposition au panache de neige à la sortie des enneigeurs»	51
7.5 Estimation du risque pour le scénario «exposition à la neige de culture au sol»	52
8. L'impact sanitaire pour l'homme lié à l'utilisation d'une eau de mauvaise qualité microbiologique pour la fabrication de la neige de culture	54
8.1 L'eau utilisée est de qualité microbiologique variable	54
8.2 La survie des germes dans la neige de culture	55
8.2.1 <i>La survie des germes à basse température</i>	55

8.2.2 La survie des germes dans le système d'enneigement artificiel.....	55
8.3 La contamination des points de captages de l'eau potable	56
9. Conclusions et recommandations du groupe de travail	58
10. Bibliographie	61
10.1 Publications	61
10.2 Rapports et ouvrages scientifiques	64
10.3 Actualités scientifiques, communiqués de presse, liens internet	65
10.4 Brevets	66
10.5 Normes.....	66
Annexe 1 : Lettre de saisine	68
Annexe 2 : Suivi des mises à jour du rapport	70
Annexe 3 : Synthèse des déclarations publiques d'intérêts des experts par rapport au champ de la saisine.....	71
Annexe 4 : Les chiffres de l'enneigement artificiel en France et en Europe	78
Annexe 5 : La fabrication de la neige de culture (principe et procédés)	81
Annexe 6 : Schéma d'une installation d'enneigement artificiel	87
Annexe 7 : Les additifs utilisés pour durcir la neige	88
Annexe 8 : Modélisation de la structure tridimensionnelle de la protéine de nucléation	90
Annexe 9 : Calcul du nombre de cellules <i>P. syringae</i> apportées à l'environnement.....	92
Annexe 10 : Fiche de données de sécurité du produit Snomax®	94

Expertise collective : synthèse et conclusions



EXPERTISE COLLECTIVE : SYNTHÈSE ET CONCLUSIONS

Relatives à « l'évaluation des risques sanitaires liés à l'utilisation d'adjuvants pour la fabrication de la neige artificielle »

Saisine Afsset n°2005/SA/007

Ce document synthétise les travaux du groupe de travail et présente les éventuels compléments du Comité d'Experts Spécialisés.

Présentation de la question posée

L'Afsset a été saisie le 30 mai 2005 par la Direction générale de la santé du ministère en charge de la santé, la Direction de la prévention des pollutions et des risques et la Direction des études économiques et d'évaluation environnementale du ministère en charge de l'écologie et du développement durable, afin d'évaluer les risques sanitaires pour l'homme liés à l'utilisation d'adjuvants pour la fabrication de la neige artificielle.

Il est notamment demandé à l'Agence de réaliser :

- un bilan sur le statut réglementaire international du produit Snomax®,
- une revue scientifique des études disponibles sur les risques sanitaires liés à son utilisation,
- une évaluation globale du risque sanitaire du produit Snomax® vis-à-vis des usagers des pistes et des professionnels.

Organisation de l'expertise

L'Afsset a confié en date du 4 mai 2007 l'instruction de cette saisine au Comité d'Experts Spécialisés (CES) en charge de l'évaluation des risques liés aux eaux et aux agents biologiques. Ce dernier a mandaté en juillet 2007 un groupe de travail composé de 10 experts pour la réalisation des travaux d'expertise. Le groupe de travail s'est réuni 7 fois entre juillet 2007 et février 2008 et ses travaux d'expertise ont été régulièrement soumis au CES, tant sur les aspects méthodologiques que scientifiques. Le rapport produit par le groupe de travail tient compte des observations et éléments complémentaires formulés par les membres du CES.

Ces travaux d'expertise sont ainsi issus d'un collectif d'experts aux compétences complémentaires. Ils ont été réalisés dans le respect de la norme NF X 50-110 « qualité en expertise » avec pour objectif de respecter les points suivants : compétence, indépendance, transparence, traçabilité.

1 / 5

Description de la méthode de travail

Pour mener à bien leur expertise, les experts ont travaillé sur la base d'une revue de la bibliographie technique et scientifique. Celle-ci a été complétée par des auditions et par deux questionnaires adressés aux professionnels des stations de ski, afin de collecter les informations nécessaires à une évaluation de risque et identifiées comme manquantes par les experts.

Le rapport d'expertise est essentiellement fondé sur une analyse :

- du statut réglementaire du Snomax® au niveau international,
- du contexte et des enjeux liés à son utilisation,
- des connaissances sur la nature biologique du produit Snomax®, son procédé de fabrication et sa composition physicochimique et microbiologique,
- des dangers sanitaires potentiels liés au Snomax®,
- des risques sanitaires pour l'homme et pour les populations sensibles que constituent les enfants et les professionnels.

L'évaluation des risques liés à l'utilisation du Snomax® pour l'environnement fait l'objet d'une expertise de l'Institut de recherche pour l'ingénierie de l'agriculture et de l'environnement (Cemagref) et n'est pas abordée dans ce travail.

Contexte réglementaire et scientifique

Le produit Snomax® a été utilisé en France entre 1992 et 2005 pour la fabrication de neige de culture, par 23 des quelques 300 stations de ski françaises. Eu égard aux interrogations qu'il suscite concernant les risques éventuels pour l'homme et l'environnement, les professionnels des stations de ski ont décidé d'un commun accord en 2005 de suspendre son utilisation, bien que ce produit ne soit pas interdit. L'importation et la commercialisation du Snomax® ne font pas l'objet d'une procédure préalable d'autorisation ; il est utilisé par de nombreux pays dans le monde, notamment ceux de l'arc alpin. Les experts n'ont pas identifié pour ces pays de législation spécifiquement dédiée au Snomax®. Cependant, certains pays réglementent l'utilisation d'additifs pour la fabrication de neige de culture, soit en les autorisant, soit les interdisant, avec des variabilités selon les cantons.

Le produit Snomax® est présenté par son fabricant comme un produit facilitant la production de neige de culture, en conditions météorologiques défavorables pour l'enneigement naturel. C'est un produit de nature biologique contenant les bactéries inactivées *Pseudomonas syringae* (*P. syringae*), souche 31a. Grâce à une protéine membranaire dotée d'un pouvoir de nucléation, ces bactéries sont capables d'initier la cristallisation de l'eau à partir de -2°C. Le procédé de fabrication du Snomax® comporte une étape finale et sous-traitée de stérilisation ; un laboratoire indépendant vérifie la stérilité de chaque lot.

Le rapport d'analyses microbiologiques du Snomax® fourni par le laboratoire précité ainsi que les études menées par plusieurs organismes indépendants, aux Etats-Unis et en France, suggèrent l'absence de *P. syringae* cultivables. Cependant, ces études souffrant de lacunes méthodologiques et en l'absence de données suffisantes sur le procédé de

stérilisation utilisé, les experts ne peuvent, en l'état des connaissances, ni confirmer ni remettre en cause la stérilité du produit.

Résultats de l'expertise collective

Mise en évidence des dangers potentiels liés au Snomax®

Trois dangers sanitaires potentiels du Snomax® vis-à-vis de l'homme ont été envisagés par les experts : le pouvoir infectieux, la toxicité notamment au regard des endotoxines bactériennes et le pouvoir allergisant.

P. syringae, unique constituant bactérien du Snomax®, ne présente pas de pouvoir pathogène pour l'homme.

Au regard de sa composition, les experts considèrent que le produit Snomax® ne présente pas de pouvoir toxique pour l'homme.

Toutefois, le produit Snomax® étant principalement constitué de cellules de *P. syringae* qui, comme toute bactérie à Gram négatif, renferme des endotoxines, un risque sanitaire lié à la présence de ces composés ne peut être totalement exclu. De plus, les informations fournies par le fabricant et l'analyse des études identifiées sur ce sujet ne permettent pas de conclure sur l'absence de danger sanitaire lié à ces endotoxines. Cependant, considérant que l'homme est régulièrement exposé aux endotoxines dans son milieu naturel, et considérant les taux de dilution du Snomax® lors de la fabrication de la neige de culture, les experts concluent que le produit Snomax® ne constitue pas un danger toxicologique supplémentaire à celui d'une exposition naturelle aux endotoxines, pour les populations des usagers non professionnels des pistes de ski. Une attention particulière devra néanmoins être portée sur la population professionnelle des nivoculteurs, en charge de la fabrication de la neige de culture.

La documentation scientifique relative au pouvoir allergisant de *P. syringae* est très limitée et ne permet pas aux experts de conclure à un effet allergisant du Snomax®. Considérant que l'homme est exposé dès sa naissance à *P. syringae* et considérant que le contact répété à des doses élevées d'antigènes entraîne plutôt la tolérance que l'hypersensibilité, les experts considèrent comme minime le danger lié à l'allergie du Snomax®. Cependant, considérant les réactions inflammatoires observées chez le cobaye, les experts ne peuvent conclure avec certitude, en l'état actuel des connaissances, à l'absence d'effet sensibilisant, antigénique ou immunologique. Aussi, les experts recommandent de procéder, en complément des essais réalisés, à un test de Magnusson et Kligman, si besoin complété par le test Local Lymph Node Assay (LLNA), dédié à l'identification des sensibilisations et des allergies.

Eu égard à la qualité microbiologique très variable des eaux utilisées pour la fabrication de la neige de culture, les experts ont soulevé l'hypothèse d'un danger lié au développement de germes pathogènes dans le système d'enneigement, en présence de Snomax®. Considérant ce produit comme source de nutriments et considérant les conditions de son utilisation (concentration, température et durée de stockage), les experts concluent que le Snomax® peut favoriser le développement de germes éventuellement pathogènes dans la cuve de préparation du produit. Ces germes n'étant pas recensés, les experts ne peuvent se prononcer sur le danger microbiologique associé.

Evaluation des risques sanitaires

Les populations susceptibles d'être exposées au produit Snomax® sont les usagers des pistes de ski et les professionnels affectés à l'entretien et la gestion des pistes, à la sécurité, à l'enseignement du ski et aux remontées mécaniques. Compte tenu des dangers précédemment recensés et des voies d'exposition identifiées, les experts ont estimé de façon qualitative¹ les risques pour les populations concernées, selon quatre scénarii d'exposition :

- lors de la préparation du mélange en cuve, le risque estimé pour le nivoculteur (seule population exposée) est « négligeable à faible » pour l'exposition au produit brut et « négligeable » pour l'exposition au produit dilué ;
- lors du nettoyage de la cuve, le risque estimé pour le nivoculteur (seule population exposée) est « nul à négligeable » ; les experts précisent que le risque est plus élevé pour cette catégorie exposée si le port d'équipements de protection individuelle préconisés par le fabricant n'est pas respecté ;
- lors de l'exposition à la neige de culture au sein du panache des enneigeurs (toutes les populations précitées sont concernées), le risque estimé est
 - o « nul à négligeable » pour les usagers des pistes, adultes et enfants,
 - o « négligeable à faible » pour le nivoculteur,
 - o « nul à négligeable » pour le pisteur, l'agent de sécurité des pistes, le moniteur et le secouriste,
 - o « nul » pour le conducteur des engins de damage et l'agent des remontées mécaniques.
- lors de l'exposition à la neige de culture au sol (toutes les populations précitées sont concernées), le risque estimé est « nul » pour les usagers des pistes adultes et pour les professionnels, « négligeable » pour les usagers des pistes enfants.

Le Comité d'Experts Spécialisés en charge de l'évaluation des risques liés aux eaux et aux agents biologiques adopte le rapport d'expertise collective lors de sa séance du 7 avril 2008 et fait part de cette adoption à la direction générale de l'Afsset.

Conclusions et recommandations de l'expertise collective

Afin de réduire l'occurrence des dangers lors de la fabrication de la neige de culture, les experts formulent les recommandations suivantes :

- utiliser, pour la dilution du Snomax®, une eau respectant les critères microbiologiques de l'eau potable,
- respecter scrupuleusement le protocole et les modalités de préparation du Snomax® tel que définis par le fabricant,
- porter systématiquement les équipements de protection individuelle recommandés par le groupe de travail (lunettes, gants et masque) lors de la préparation de la solution et lors de la vidange éventuelle du mélange lorsque celui-ci n'a pas été utilisé,

¹ Le risque est ainsi qualifié par ordre croissant de « nul », « nul à négligeable », « négligeable », « négligeable à faible », « faible », « faible à modéré », « modéré », « modéré à élevé » et « élevé ».

Expertise collective : synthèse et conclusions

Saisine n° d'enregistrement

- conserver le mélange en cuve au maximum pendant 24 heures,
- limiter, en fréquence et en durée, les interventions du nivoculteur sur les enneigeurs en fonctionnement,
- documenter l'exposition des nivoculteurs au Snomax® (métrologie, questionnaire médical...) en cas de reprise de son utilisation.

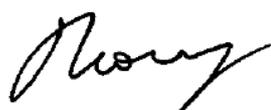
Suite à l'enquête menée auprès des stations de ski et à l'audition des professionnels concernés et hors contexte d'utilisation du Snomax®, les experts préconisent d'attirer dès à présent l'attention des médecins du travail sur la fonction respiratoire des nivoculteurs, susceptible d'être affectée par les pratiques et modalités usuelles de fabrication de la neige de culture.

Par ailleurs, dans une approche de veille sanitaire, les experts souhaitent attirer l'attention sur les impacts potentiels liés à l'utilisation d'autres additifs que le Snomax® pour différents usages. Ceux utilisés pour optimiser ou faciliter la fabrication de la neige de culture mériteraient d'être recensés et étudiés. Ceux utilisés pour entretenir le manteau neigeux sont susceptibles, selon les experts, de générer dans des conditions inadaptées d'utilisation des impacts sur les sols et de dégrader la qualité de la ressource en eau, via l'eau de fonte des neiges.

Enfin, les experts attirent l'attention sur les risques sanitaires, pour les populations exposées précitées, liés à l'utilisation d'une eau de mauvaise qualité microbiologique pour l'enneigement artificiel (avec ou sans ajout d'additif).

Maisons-Alfort, le 7 avril 2008

Au nom des experts du CES



Madame Sylvie RAUZY

Présidente du CES

Abréviations

ADSP	- Association nationale des directeurs de pistes et de la sécurité de stations de sports d'hiver
ANPNC	- Association nationale des producteurs de neige de culture
CEMAGREF	- Institut de recherche pour l'ingénierie de l'agriculture et de l'environnement
CES	- Comités d'experts spécialisés
CIRE	- Cellule interrégionale d'épidémiologie
CFU	- Colonie formant unité
CIPRA	- Commission internationale pour la protection des Alpes
DDASS	- Direction départementale des affaires sanitaires et sociales
DIREN	- Direction régionale de l'environnement
EPA	- Environmental protection agency (Etats Unis)
EPI	- Equipement de protection individuelle
FDA	- Food and drug administration (Etats Unis)
FDRL	- Food and drug research laboratories
IEA	- Installation d'enneigement artificiel ("usine à neige")
INP	- Ice nucleating protein
InVS	- Institut de veille sanitaire
LPS	- Lipopolysaccharide
NIOSH	- National Institute for Occupational Safety and Health
OCDE	- Organisation de Coopération et de Développement Economique
ODIT	- Observation, Développement et Ingénierie Touristique
<i>P syringae</i>	- <i>Pseudomonas syringae</i>
PEHD	- Polyéthylène haute densité
SNTF	- Syndicat national des téléphériques de France
UV	- Ultra violet

Glossaire

Biofilm : Communauté de micro-organismes (bactéries, champignons, algues, ou protozoaires) adhérant entre eux et à une surface, et caractérisée par la sécrétion d'une matrice adhésive et protectrice.

Chimiotrophe : Se dit d'un organisme vivant qui tire son énergie de composés chimiques, par oxydation de composés réduits.

Coliforme : Bactérie à Gram négatif présente dans le côlon, dont la recherche dans l'eau et le dénombrement sont des témoins de la contamination fécale.

Endotoxine : Toxine synthétisée par une bactérie et non excrétée dans le milieu extérieur. Sa libération dans le milieu environnant survient après la lyse de la bactérie. Le lipide A du lipopolysaccharide de la membrane externe des bactéries à Gram négatif est la principale endotoxine décrite.

Epiphyte : Se dit d'un végétal qui se développe sur un autre sans en être parasite.

Impluvium : Aire d'alimentation d'un aquifère à nappe libre, encore appelée « aire d'infiltration » et correspondant à la surface recevant les apports d'eau par infiltration efficace des précipitations ou de cours d'eau de surface.

Karst : Paysage façonné dans des roches solubles carbonatées comme le calcaire principalement mais aussi le marbre, la dolomie... Les paysages karstiques sont caractérisés par des formes de corrosion de surface, mais aussi par le développement de cavités par les circulations d'eaux souterraines. Le processus de formation d'un karst est appelé karstification.

Nivoculteur : Professionnel des stations de ski dont la mission est la fabrication de la neige de culture.

Nucléation : Phénomène suivant lequel apparaissent les premiers germes cristallins également appelés noyaux de nucléation ou *nuclei*.

Psychrotrophe : Se dit d'un organisme qui se développe à des températures limites comprises entre 0 et 35 °C environ et dont la température optimale de culture se situe entre 20 et 30 °C.

Réponse hémodynamique : Mécanisme physiologique qui a pour finalité une augmentation locale du débit sanguin afin de subvenir au besoin énergétique des cellules en activité.

Ubiquiste : En biochimie, se dit d'une molécule que l'on retrouve dans pratiquement tous les types cellulaires ; en biologie et en écologie, se dit se dit d'un être vivant (plante, animal, bactérie...) qui peut habiter dans des biotopes variés.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Evaluation des quantités de Snomax® commercialisées en France	28
Tableau 2 : Composition chimique du Snomax® en pourcentage massique	32
Tableau 3 : Populations concernées par les 4 scénarii identifiés	45
Tableau 4 : Voies d'exposition concernées pour les 4 scénarii identifiés	46
Tableau 5 : Estimation qualitative du risque selon la combinaison de probabilités de survenue des événements « émission » et « exposition », adoptée par les experts	48

Liste des figures

Figure 1 : Photographies d'enneigeurs monofluides basse pression	24
Figure 2 : Principe de l'enneigeur bi-fluide haute pression à mélange interne	24
Figure 3 : Descriptif du dispositif de dilution et d'injection du Snomax® dans le système d'enneigement	35

1. Contexte, objet et modalités de traitement de la saisine

1.1 Contexte

Depuis environ 20 ans, certaines stations de sport d'hiver sont amenées à utiliser de la neige de culture pour assurer un bon enneigement des pistes. Parmi les avancées technologiques récentes on trouve l'utilisation d'adjuvants et notamment l'utilisation du produit dénommé Snomax®. Ce produit est fabriqué à partir de la bactérie *Pseudomonas syringae*, dont les protéines de la paroi constituent le principe actif du Snomax®.

Le Snomax® a été utilisé en France entre 1992 et 2005. Son utilisation est suspendue depuis 2005 à l'initiative du Syndicat national des téléphériques de France (SNTF) à la suite d'une remise en cause de l'utilisation de ce produit par des associations de défense de l'environnement, d'interrogations de certaines DDASS, DIREN et de certains Préfets quant à ses conséquences éventuelles pour la santé de l'homme et pour l'environnement. La commercialisation du Snomax® n'est cependant pas interdite en France, et d'autres pays européens et frontaliers avec la France l'utilisent régulièrement.

C'est dans ce contexte que les autorités sanitaires ont saisi l'Afsset d'une demande d'évaluation des risques sanitaires engendrés par l'utilisation du Snomax®. La lettre de saisine est présentée en annexe 1.

1.2 Objet de la saisine

Le Directeur général de la Direction générale de la santé du ministère de la santé et des solidarités, le Directeur général de la prévention des pollutions et des risques et le Directeur des études économiques et d'évaluation environnementale du ministère de l'écologie et du développement durable ont saisi l'Afsset le 30 mai 2005 d'une demande d'évaluation des risques liés à l'utilisation d'adjuvants pour la fabrication de la neige artificielle.

Il est demandé à l'Agence de réaliser :

- Une veille scientifique et réglementaire :
 - en dressant un bilan sur le statut réglementaire du Snomax® au niveau international,
 - en établissant la revue scientifique des études disponibles sur les risques sanitaires liés à son utilisation ;
- la caractérisation du risque sanitaire :
 - en collectant les données sur les propriétés biologiques et toxicologiques du Snomax® et en identifiant clairement les données manquantes actuellement et en déterminant les compléments d'information nécessaires,
 - en analysant les informations relatives aux modalités d'utilisation de ce produit ; l'efficacité du procédé d'inactivation des bactéries devra être étudié,
 - en quantifiant les sources, les méthodes et les voies d'exposition,
 - en procédant à une évaluation globale du risque, notamment pour les usagers des pistes et pour les professionnels ; il conviendra de distinguer les risques liés à une exposition directe au produit et les risques liés à la multiplication des germes présents dans le milieu ; une attention particulière sera portée à la population sensible que constituent les enfants.

1.3 Modalités de traitement de la saisine : moyens mis en œuvre et organisation

Conformément à la démarche qualité suivie à l'Afsset s'appuyant sur l'utilisation de la norme NF X 50-110 relative à la qualité en expertise, l'instruction de la saisine a été confiée au comité d'experts spécialisés (CES) en charge de l'évaluation des risques liés aux eaux et aux agents biologiques, nommé le 12 avril 2007.

Ce CES a accepté d'instruire la saisine lors de sa séance d'installation du 4 mai 2007 et a choisi de confier cette tâche à un groupe de travail dédié, installé le 17 juillet 2007 et composé de 10 experts. Les travaux des experts ont été régulièrement rapportés oralement devant le CES par Monsieur Jean-Luc BOUDENNE, président du groupe de travail. Le rapport final a été adopté lors de la séance du 7 avril 2008.

Pour mener à bien ses travaux, le groupe de travail s'est réuni 7 fois entre juillet 2007 et février 2008 et a travaillé sur la base d'une revue documentaire complétée par des auditions et par deux questionnaires dédiés à la collecte d'informations identifiées comme manquantes pour procéder à une évaluation de risque.

La revue bibliographique a été axée sur la production de la neige de culture, l'utilisation d'additifs pour sa fabrication et plus particulièrement l'utilisation du produit Snomax® en France et à l'étranger, la réglementation nationale et internationale en matière d'utilisation d'additifs et enfin sur la caractérisation des dangers relatifs au produit Snomax® et à ses principaux constituants. Cette revue inclut des articles et rapports scientifiques, rapports d'activités, ainsi que des données techniques industrielles.

L'analyse bibliographique a révélé un manque d'informations quant aux modalités techniques de fabrication de la neige de culture et aux modalités d'utilisation du Snomax® par les populations professionnelles exposées. Le groupe de travail a donc diligenté un recueil de données complémentaires à l'aide de deux questionnaires adressés aux 23 stations¹ de skis françaises ayant utilisé le produit Snomax® avant le moratoire de 2005. Un premier questionnaire vise à décrire le personnel des stations de ski susceptible d'être en contact avec la neige de culture et l'autre, plus technique, concerne les modalités de fabrication de la neige de culture.

Afin de recueillir l'expérience de terrain de différents acteurs privés ou publics, les experts ont auditionné les organisations suivantes :

- la société Johnson Controls Neige, filiale française de Johnson Controls Snow Inc et importateur du Snomax® ;
- le Syndicat national des téléphériques de France (SNTF) ;
- l'Association nationale des directeurs de pistes et de la sécurité de stations de sports d'hiver (ADSP) ;
- le Groupe d'étude des organismes disséminés dans l'environnement (GEODE).

Ont également été invitées à contribuer :

- l'Association nationale des producteurs de neige de culture (ANPNC) ;
- la Fédération française de ski (FFS) ;
- l'Association nationale des maires de stations de montagne (ANMSM) ;

¹ Information fournie par le fabricant.

- la Commission internationale pour la protection des Alpes (CIPRA) ;
- l'Association Mountain Riders (association pour le développement durable en montagne).

L'ANMSM et l'association Mountain Riders n'ont pas répondu à cette invitation.

Ont également été sollicitées, les autorités étrangères en charge de l'évaluation de risques sanitaires et environnementaux et identifiées pour avoir réalisé des études et/ou pour avoir rendu un avis relatif à l'usage ou à l'autorisation de mise en marché du Snomax® ou de son principe actif :

- Environnement Canada, Division des substances nouvelles, Canada ;
- Animal and Plant Health Inspection Service (APHIS), Biotechnology regulatory service (BRS) et Plant protection service (PPQ), US Department of agriculture, USA ;
- US Environment Protection Agency (EPA), Toxic substance control act service, USA ;
- National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), Center of Disease Control (CDC), Office of Scientific and Technical Information (OSTI), Consumer Product Safety Commission (CPSC) et Occupational Safety and Health Administration (OSHA), USA.

1.4 Raisonement de l'expertise

La demande de la saisine portant uniquement sur l'évaluation des risques sanitaires pour l'homme, les experts du groupe de travail n'ont pas expertisé les travaux relatifs aux effets environnementaux du Snomax®, déjà étudiés en France par le Cemagref. Ce dernier conclut dans ses rapports de 2003 et de 2005 à l'absence d'impact à court et moyen termes sur la qualité des sols et sur la végétation.

Un bilan du statut réglementaire du Snomax® en France et à l'étranger a été réalisé en premier lieu et a porté plus globalement sur les additifs utilisés par les stations de ski pour la fabrication de la neige de culture et pour l'entretien du manteau neigeux. Ce bilan réglementaire est présenté au chapitre 2.

Comprendre les enjeux de l'enneigement artificiel et connaître les technologies utilisées qui mettent en œuvre le produit et le procédé Snomax® est un pré-requis indispensable à l'expertise ; ces éléments sont présentés au chapitre 3 et à l'annexe 5.

Le chapitre 4 propose une caractérisation approfondie du produit Snomax® (composition, propriétés, protocole de fabrication...) et une description du protocole d'utilisation et de la mise en œuvre de cette technologie.

La caractérisation des dangers d'ordre biologique ou chimique du Snomax® et l'identification des effets directs ou indirects sont présentés au chapitre 5. Ils sont identifiés sur la base des éléments de caractérisation du Snomax® présentés au chapitre 4.

Les populations susceptibles d'être exposées au Snomax® et les voies d'exposition de l'homme sont présentées au chapitre 6. Elles ont été identifiées au regard de la mise en œuvre du procédé Snomax® et des technologies de l'enneigement artificiel.

L'estimation qualitative des risques est présentée au chapitre 7 suivant les 4 scénarii d'exposition préalablement identifiés et qui mettent en jeu des populations, des modalités et des voies d'exposition différentes.

Enfin, au regard des connaissances acquises sur la fabrication de la neige de culture en général, les experts du groupe de travail ont souhaité dépasser le strict cadre de la saisine relatif au Snomax[®] et présenter au chapitre 8 une discussion relative au risque sanitaire de l'utilisation pour la fabrication de la neige de culture, d'une eau de mauvaise qualité microbiologique. Cette partie ne fait pas l'objet d'une évaluation quantitative ou qualitative des risques.

2. Le statut réglementaire du Snomax[®] au niveau international

Le groupe de travail s'est intéressé aux pays utilisateurs du Snomax[®] en Europe de l'ouest (France, Suisse, Italie, France, Norvège, Danemark, Finlande, Autriche, Espagne, Lichtenstein), en Europe de l'est (Slovénie, Slovaquie, République tchèque) et dans le reste du monde (Chili, Australie, Canada, Japon, Corée, USA, Nouvelle Zélande). L'analyse s'appuie sur un premier travail de synthèse réalisé en 2005 par le Cemagref à la demande de l'Afsset (Afsset - Cemagref 2005).

Parmi l'ensemble de ces pays, une information relative au statut réglementaire de l'enneigement artificiel et de l'utilisation d'additifs a pu être identifiée pour la Suisse, la Norvège, l'Autriche, l'Allemagne, l'Australie, le Canada, les USA et la Nouvelle Zélande.

En France, l'utilisation d'additifs et d'équipements pour la fabrication de neige de culture n'est pas spécifiquement réglementée. L'importation du Snomax[®] est autorisée en France sans contrainte particulière : elle ne fait pas l'objet d'une procédure d'autorisation préalable à sa mise en marché. Les législations applicables aux installations d'enneigement artificiel incluent la législation relative aux installations classées pour la protection de l'environnement et notamment les installations de réfrigération d'air et les travaux d'aménagement de pistes.

En Suisse, l'utilisation du Snomax[®] est autorisée sauf dans certains cantons comme le canton de Berne (Afsset - Cemagref, 2005). L'ordonnance relative à la protection contre les substances et les préparations dangereuses du 18 mai 2005 fixe les modalités de mise en marché du Snomax[®] et des autres additifs utilisés. La décision relative à la mise en marché du Snomax[®] en Suisse n'a pu être identifiée. Notons que la Suisse n'autorise l'usage de l'enneigement artificiel qu'aux périodes où il est encore possible de skier sur les domaines non équipés afin de ne pas prolonger artificiellement les périodes d'ouverture des stations (revue OCDE, 2007).

En Allemagne, l'utilisation de tout additif est interdite sur l'ensemble du territoire. Le Snomax[®] n'est pas commercialisé dans ce pays. La législation indirectement applicable à l'enneigement artificiel n'a pu être clairement identifiée.

En Autriche, seul le gouvernement de la province du Tyrol autorise l'utilisation d'additifs pour fabriquer la neige de culture mais impose l'utilisation d'eau répondant aux critères de potabilité (OITC, 2003). Le Snomax[®] est commercialisé dans cette province. La législation relative à l'enneigement artificiel diffère selon les provinces et n'a donc pu être identifiée.

L'Italie n'a pas légiféré quant à l'utilisation d'additifs et le Snomax[®] y est commercialisé. Seul le Tyrol sud interdit tous les additifs et la région du Trentin n'interdit que les additifs de nature chimique.

Par ailleurs, il est à souligner ici que le protocole d'application de la Convention alpine de 1991 concernant les pays de l'arc alpin indique, au regard de la protection des sols, que « les

additifs chimiques et biologiques utilisés pour la préparation des pistes ne seront tolérés que si la compatibilité avec l'environnement est certifiée».

En Australie, seul l'Etat de Nouvelle-Galles du Sud utilise des additifs pour fabriquer de la neige de culture (parc national de Kociuszko). Aucun texte législatif n'a pu être identifié.

En Nouvelle-Zélande, les additifs sont homologués et autorisés à condition que les besoins opérationnels et l'absence d'impact pour l'environnement (végétation et écosystèmes aquatiques) soient démontrés.

En résumé :

- il n'existe pas dans les pays susmentionnés, y compris en France, de réglementation encadrant la fabrication de la neige de culture ;
- la législation indirectement applicable concerne les installations d'enneigement (maintenance et impact environnemental), l'utilisation quantitative de l'eau, les procédures d'homologation et de mise en marché de produits utilisés comme additif, etc. ;
- certains pays n'ont aucune législation et d'autres peuvent présenter une législation différente selon les zones géographiques (cantons, provinces ou régions).

3. Neige de culture : enjeux, principes et procédés de fabrication

3.1 Les enjeux de l'enneigement artificiel

La diminution de l'enneigement naturel a été très importante ces dernières années, notamment dans les Alpes où l'on a pu observer une augmentation de 2°C de la température nocturne en hiver au cours du dernier siècle et une diminution régulière des précipitations (revue OCDE, 2007). Ce phénomène semble s'accélérer depuis le début des années 1990. L'altitude permettant d'assurer un enneigement satisfaisant² pour la pratique du ski augmenterait ainsi de 150 m par degré de température supplémentaire. Or le tourisme hivernal est particulièrement sensible aux conditions climatiques et à la qualité de l'enneigement.

Dans ce contexte, les gestionnaires des stations de ski adoptent différentes stratégies comportementales et technologiques pour maintenir un enneigement suffisant, dont la fabrication de la neige de culture.

3.2 Principes et procédés de fabrication de la neige de culture

L'enneigement artificiel a été développé aux Etats-Unis dans les années 1950 et a été appliqué en Europe à partir des années 1980. En France, la surface concernée par l'enneigement artificiel est passée de 121 ha en 1984 à 4 524 ha en 2005-2006 sur les 24 766 ha de pistes skiables, soit 18,3% de l'ensemble du domaine skiable français. Durant la même période, le nombre de stations de ski équipées d'enneigeurs est passé de 25 à 191,

² L'enneigement minimum étant défini pour au moins 30 cm de manteau neigeux

sur environ 329 domaines skiables élémentaires³, soit 58% (ODIT France, 2007). Les données détaillées de l'enneigement artificiel en France et en Europe sont présentées en annexe 4.

La performance d'une installation de production de neige dépend principalement des conditions climatiques mais également de sa bonne adaptation au site et des modalités de gestion adoptées par l'exploitant (cf. annexe 4) (ODIT France, 2007).

3.2.1 Le principe de fabrication

L'ensemble de ce chapitre a été rédigé sur la base de rapports techniques identifiés par les experts (Benier, 2002 ; ANPNC⁴).

Fabriquer de la neige de culture est relativement aisé à des températures de l'ordre de -8°C/-10°C mais beaucoup plus difficile à des températures plus élevées. Le principe de fabrication de la neige de culture consiste à projeter grâce à de l'air comprimé des gouttelettes d'eau dans de l'air ambiant maintenu à une température négative.

Le processus de fabrication de la neige comprend six étapes successives ou concomitantes que sont l'atomisation de l'eau, la nucléation, l'insémination, la dispersion, l'évaporation et la convection. Ces étapes sont détaillées en annexe 5.

L'atomisation consiste à pulvériser l'eau en fines gouttelettes dans l'air ambiant, d'une taille de 0,2 à 0,8 mm selon les données fournies par l'industriel. En parallèle, la nucléation permet de former via un second orifice des microcristaux de glace appelés noyaux ou *nuclei*. Un mélange sous pression d'air et d'eau à forte proportion en air est expulsé par l'orifice finement calibré du nucléateur ; la détente brutale en sortie provoque un fort refroidissement de l'air ambiant autour du nucléateur et induit la cristallisation immédiate des gouttelettes d'eau, formant ainsi des noyaux de nucléation. Ces noyaux ensemencent à leur tour le flux d'eau pulvérisée par l'atomisation et initient ainsi la cristallisation des gouttelettes.

3.2.2 Les paramètres de fabrication

Les paramètres à prendre en compte pour la fabrication de la neige de culture incluent la température de l'eau et de l'air, l'humidité de l'air et la qualité de l'eau.

Les installations de fabrication de la neige de culture fonctionnent dès lors que les conditions atmosphériques (température de l'air et hygrométrie) le permettent. Il n'existe pas de règles précises pour déclencher les installations mais de façon générale, pour garantir une production optimale de neige, la température de l'eau doit être proche de 0°C et l'air doit être assez froid et sec.

L'eau est l'élément principal de la fabrication de la neige. Cette eau provient soit du milieu naturel (sources, forages, eaux de surface, bassins de rétention...) soit du réseau d'eau potable. En conséquence, la qualité chimique et microbiologique de l'eau utilisée est très variable d'une installation à l'autre.

Selon sa provenance et avant son utilisation dans l'installation d'enneigement, l'eau peut subir des opérations de dégrillage, de décantation, de filtration... Sur la base des réponses

³ Un domaine skiable élémentaire est défini par un exploitant unique et une continuité de l'offre de ski (le domaine peut être parcouru ski aux pieds dans son intégralité)

⁴ <http://www.anpnc.com/>

apportées aux questionnaires, seule une station en France s'est équipée d'un système de suivi et de traitement de l'eau (analyse physico-chimique en flux continu pour la détection de pollutions, notamment d'hydrocarbures aromatiques polycycliques et désinfection par ultraviolet).

3.2.3 Procédés de fabrication de la neige de culture

La fabrication de la neige de culture fait appel à deux principales technologies que sont les enneigeurs classiques, couramment appelés canons à neige et la technologie appelée Snowline, qui n'utilise aucun additif. Ces technologies sont décrites en annexe 5.

Le Snomax® peut être utilisé par n'importe quelle technologie dite classique, qu'elle soit « mono-fluide basse pression » (cf. figure 1) ou bien « bi-fluide haute pression » (cf. figure 2).



Figure 1 : Photographies d'enneigeurs monofluides basse pression

(<http://www.anpnc.com/>)



CROQUIS PRINCIPES

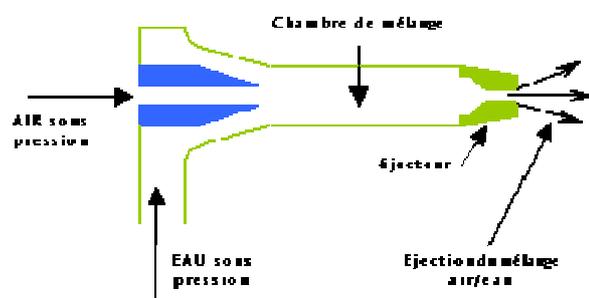


Figure 2 : Principe de l'enneigeur bi-fluide haute pression à mélange interne

(<http://www.anpnc.com/>)

3.2.4 Les équipements périphériques et les aménagements

Les enneigeurs sont disposés en série sur plusieurs lignes ramifiées le long des pistes de ski. Hormis les enneigeurs, une telle installation nécessite divers équipements et aménagements détaillés en annexe 5. Un exemple de schéma d'installation d'enneigement artificiel est également présenté en annexe 6.

Les aménagements d'intérêt notoire pour l'expertise et l'évaluation des risques sanitaires de l'utilisation du Snomax® sont les suivants :

- la station de pompage de l'eau au niveau de sa ressource (lac, bassin, rivière ou tout autre milieu aquatique comme une tourbière...) ;
- le bassin d'accumulation, nécessaire pour stocker l'eau prélevée lorsque les débits d'eau minimum sont insuffisants en période hivernale et pour pouvoir disposer d'une ressource mobilisable dès que les conditions climatiques autorisent la production de la neige ; son volume varie de quelques milliers de litres (fonction tampon) à quelques dizaines de milliers de litres (fonction d'approvisionnement saisonnier) ;
- le bâtiment de production, appelé « usine à neige », comprend notamment les pompes, le matériel de contrôle et de régulation et dans certains cas une tour de refroidissement pour l'eau ainsi qu'une centrale de traitement d'air ; dans le cas de l'utilisation du Snomax®, un système de dilution du produit et d'injection dans le réseau de canalisations complète l'installation ;
- des canalisations de transport de l'eau et de l'air sous pression (10 à 80 bars pour l'eau).

Les enneigeurs sont raccordés au bâtiment de production via différents réseaux (eau, air, électricité, communication). Les conduites de transport sont généralement enterrées dans des tranchées d'une largeur variant entre 0,8 et 1,2 m et d'une profondeur variant entre 1,2 et 1,5 m. Les canalisations d'eau sont en fonte ductile, en acier ou en polyéthylène haute densité (PEHD), d'un diamètre d'environ 15 à 20 cm, voire beaucoup plus au niveau du pompage. Leur maintenance s'effectue en période estivale sauf incident en période de fonctionnement (cassure, fuite importante...). En fin de période hivernale, les canalisations sont simplement mises hors d'eau durant la saison estivale et ne sont pas nettoyées.

3.3 Les additifs utilisés pour la fabrication de la neige de culture

Parmi les substances et produits susceptibles d'être utilisés par les stations de ski pour entretenir le manteau neigeux, on distingue les produits ajoutés à la neige *in situ* sur les pistes de ski et ceux ajoutés à l'eau utilisée pour la fabrication de la neige de culture.

Le manuel officiel de l'organisation des courses de ski alpin (Alpine Officials Manual, 2007-2008⁵), édité par l'Association américaine de ski et de snowboard en partenariat avec la Fédération internationale de ski, préconise l'utilisation « d'additifs chimiques » pour fabriquer de la neige de culture ou pour durcir la neige fraîche, la neige humidifiée par la pluie ou lors d'une baisse de température.

Sur la base de l'état de l'art réalisé, le groupe de travail a souhaité dépasser le strict cadre de la saisine, afin d'attirer l'attention des utilisateurs quant aux effets sanitaires et environnementaux potentiels liés à une utilisation inadaptée de ces additifs autres que le Snomax®.

⁵ <http://www.internal.ussa.org/aps/public/officials/alpine/welcome.asp>

Par définition, un additif est ajouté à un milieu, en l'occurrence ici à l'eau, matériau de base utilisé pour la fabrication de la neige de culture. Cet additif peut jouer un rôle d'adjuvant, lorsqu'il facilite et améliore un procédé, ici la fabrication de la neige de culture. Aussi, le terme « additif » plus général (tout adjuvant étant un additif) sera préféré au terme « adjuvant ».

3.3.1 Les produits ajoutés à l'eau pour la fabrication de neige de culture

La nucléation et la germination sont des étapes essentielles à l'obtention des cristaux de neige. Les additifs utilisés interviennent à ces étapes en initiant et ou en optimisant la nucléation.

Les premiers agents de nucléation découverts étaient de nature chimique. Le plus connu et le plus efficace est l'iodure d'argent, dont l'action a été mise en évidence par Vonnegut en 1947. Les iodures de plomb, de cuivre ou de mercure peuvent aussi agir en tant qu'agents nucléants mais sont moins efficaces que l'iodure d'argent (Vali, 1995). L'utilisation de ces composés a été abandonnée en raison de leur toxicité pour l'homme et pour l'environnement (Rosenman et al, 1979 ; Konno et al., 1994).

Les minéraux (ions calcium et magnésium, kaolinite, etc.) naturellement présents dans les eaux constituent des noyaux de nucléation et sont indispensables à la fabrication de la neige. Ainsi, un ensemenement de l'eau en sels minéraux (calcium et magnésium) est parfois pratiqué, principalement lorsque les eaux sont faiblement minéralisées (Hu & Michaelides, 2007).

Le produit Snomax® est le produit le plus couramment utilisé dans le monde pour optimiser la fabrication de la neige de culture, parce qu'il est présenté comme ayant la capacité d'optimiser la cristallisation de l'eau en neige à des conditions défavorables de température. Ce produit et son utilisation sont décrits au chapitre 4.

Une société nord-américaine commercialise -aux USA uniquement- un nouveau produit à base d'un détergent (heptaméthyltrisiloxane). Ce produit, ajouté à l'eau utilisée pour la fabrication de neige de culture, permettrait d'abaisser les forces de liaisons intermoléculaires entre les molécules d'eau. L'obtention de gouttelettes plus fines, avec une surface de contact avec l'air plus grande, permettrait une cristallisation spontanée plus rapide lors de la dispersion par les enneigeurs. Néanmoins, le groupe de travail ne connaît ni l'efficacité ni l'innocuité de ce produit.

Pour diminuer la consommation d'énergie des enneigeurs, d'autres composés organiques sont parfois ajoutés à l'eau utilisée pour la fabrication de la neige de culture, afin de réduire les forces de frottement des molécules d'eau dans les canalisations. On peut par exemple citer l'oxyde de polyéthylène (Philips & Baus, 2004). Notons que ces produits ne sont pas destinés à optimiser la fabrication de la neige de culture mais à en diminuer le coût énergétique.

Les experts soulignent toutefois que l'ensemble des stations de ski contactées par questionnaire a déclaré ne pas utiliser un quelconque additif pour la fabrication de la neige de culture.

3.3.2 Les produits épandus sur la neige in situ

Certains produits appelés « durcisseurs », « solidifiants » ou « compacteurs », notamment les sels de chlorure (de sodium - NaCl, de potassium - KCl, de magnésium - MgCl₂, de calcium -

CaCl₂), les nitrates d'ammonium (NH₄NO₃) ou les composés organiques comme l'urée (NH₂CONH₂) sont destinés à améliorer la qualité de la neige en place en la durcissant. Ces produits ne sont donc pas projetés par les enneigeurs mais épandus sur les pistes, le plus souvent à la main. Ils peuvent être utilisés en complément de tout autre additif comme le Snomax®. Leur principe de fonctionnement est décrit en annexe 7.

La plupart des produits commercialisés combine l'utilisation de deux ou plusieurs de ces composés. Pour des raisons de coûts, certaines stations de ski substituent ces produits dédiés par d'autres produits de composition similaire mais commercialisés pour un tout autre usage. C'est par exemple le cas d'un produit homologué comme engrais à vocation agronomique, très riche en azote.

Sans pour autant avoir réalisé une analyse approfondie de cette problématique, les experts mentionnent que ces substances et les produits qui les contiennent peuvent, selon les doses d'utilisation, constituer des apports importants en sels pour l'eau de fonte des neiges et pour les sols. Ils sont donc susceptibles de générer des impacts sur la microflore et la macroflore des sols et dégrader la qualité du milieu hydrique via la fonte des neiges.

La suite du rapport est consacrée exclusivement au produit Snomax® et à son utilisation pour la fabrication de la neige de culture.

4. Le produit Snomax® et son utilisation pour la fabrication de la neige de culture

Le produit Snomax® est un produit biologique composé de bactéries lyophilisées et inactivées appartenant à l'espèce *Pseudomonas syringae*, souche 31a. Cette bactérie se caractérise par sa capacité à synthétiser une protéine particulière dite « glaçogène ». Celle-ci présente un pouvoir de nucléation qui conduit à la formation de cristaux de glace à une température de -2°C. C'est cette propriété particulière qui est mise à profit pour la fabrication de la neige de culture dans le procédé Snomax®.

4.1 Le marché du Snomax®

Le produit Snomax® a été commercialisé aux Etats-Unis en 1984. Il a été introduit sur le marché européen en 1988, puis commercialisé pour la première fois en France en 1992 à l'occasion des jeux olympiques d'Albertville. Dans les années 2000 (cf. tableau 1) environ 4% de la neige de culture totale produite en France était fabriqué à partir de Snomax®. Selon le fabricant, 23 stations de ski françaises sur environ 300 ont utilisé le Snomax® entre 1992 et 2005. L'une des raisons de ce faible effectif d'utilisateurs est le coût élevé du produit (900 € par carton de 3 kg). Le Snomax® n'est pas utilisé par les installations « indoor », pour lesquelles la température de l'air est contrôlée et donc adaptée à la production de neige sans additif.

L'utilisation du Snomax® est suspendue en France depuis 2005 (cf. chapitre 1.1). Sa commercialisation n'étant pas interdite et le contexte climatique incitant les gestionnaires de stations de ski à utiliser les moyens disponibles pour fabriquer de la neige de culture en quantité, un regain d'intérêt pour son utilisation peut être envisagé, notamment dans les stations de basse et moyenne altitude. D'autres pays européens utilisent régulièrement le Snomax®, notamment l'Italie (10 stations), la Suisse (41 stations), l'Espagne (1 station) et l'Andorre (1 station). Les autres pays utilisateurs sont la Norvège, Finlande et Suède (11 stations pour la Scandinavie), l'Australie et la Nouvelle Zélande (4 stations), la Corée (6 stations), ainsi que les Etats-Unis et le Canada. L'utilisation de ce produit par d'autres pays

européens que la France est en outre susceptible de créer une situation de concurrence entre stations de pays frontaliers, aussi bien sur la qualité que la quantité du matériau «neige».

**Tableau 1 : Evaluation des quantités de Snomax® commercialisées en France
(données du fabricant)**

Année	Quantité de Snomax® commercialisée en France (Kg)	Quantité de neige de culture fabriquée avec Snomax® (m ³)	Quantité de neige de culture fabriquée avec Snomax® / quantité de neige de culture totale (%)
2002	408	516 000	3,45
2003	543	687 800	4,59
2004	465	589 000	3,93
2005	168	212 800	1,42

4.2 Biologie et écologie de *Pseudomonas syringae*

C'est en 1972 que Fresh met en évidence une source biologique de cristallisation à partir de feuilles d'aulne en décomposition. Par la suite, Maki *et al.* (1974) identifièrent cette source biologique comme étant une bactérie du genre *Pseudomonas syringae* (*P. syringae*). Il s'agit d'une bactérie capable d'initier la solidification de l'eau en glace à partir de la température de -2°C.

4.2.1 Caractéristiques taxonomiques

P. syringae est un bacille à Gram négatif aérobic strict, oxydase positive, chimiotrophe, appartenant au groupe des Eubactéries non photosynthétiques. C'est une bactérie mobile dotée de flagelles, fluorescente et productrice d'endotoxines. De nombreuses souches de *P. syringae* ont été décrites, lesquelles ne présentent pas toutes le même pouvoir glaçogène. C'est la souche 31a, qui est aujourd'hui utilisée pour la fabrication du produit Snomax® pour son fort pouvoir glaçogène. Cette souche a été déposée à la collection nord-américaine sous le numéro ATCC 53543.

4.2.2 Biotopes et écologie de *P. syringae*

P. syringae est une bactérie ubiquiste, épiphyte, présente naturellement dans l'environnement et qui vit généralement dans les plantes. A partir des tapis végétaux, elle se dissémine dans l'environnement par la pluie, le vent ou les eaux d'arrosage (Constantinidou *et al.*, 1990 ; Lindemann *et al.*, 1982). Des études montrent que l'on peut trouver jusqu'à 10¹⁴ cellules de *P. syringae* par hectare de surface agricole (Hirano & Upper, 1986). La facilité de dissémination de *P. syringae* et sa capacité d'adaptation lui permettent de coloniser une gamme très large de substrats non végétaux en dehors des agro-écosystèmes. Ces substrats incluent la neige, les lacs et les rivières de montagne, ainsi que les biofilms de substrats minéraux (biofilms épilithes). Dans l'eau, la bactérie est présente à une concentration d'environ 100 à 1000 bactéries par litre, sur une flore totale de 10⁶ à 10⁷ cellules microbiennes. Dans la neige, cette concentration peut atteindre jusqu'à 10⁵ bactéries par litre de neige fondue (Morris *et al.*, 2008).

De façon générale, *P. syringae* est une bactérie psychrotrophe. Sa température optimale de croissance se situe entre 25 et 28°C. Bien que *P. syringae* soit capable de se développer jusqu'à des températures proches de 35°C, sa croissance est fortement ralentie à partir de 32° et quasiment inhibée à 35°C. A cette température, son activité glaçogène est fortement diminuée. La croissance de *P. syringae* est également inhibée par les concentrations élevées de NaCl (5 g/L) et les milieux acides (pH inférieur à 5).

4.2.3 Pouvoir phytopathogène

P. syringae, à l'exception de la souche 31a qui compose le Snomax[®], est une bactérie phytopathogène, c'est-à-dire pathogène pour les végétaux ; elle est susceptible d'attaquer environ 400 espèces végétales. Une batterie d'enzymes (gélatinase, collagénase, lécithinase, protéase, élastase, etc.) lui permet de dissoudre et digérer une grande variété de substances contenues dans les cellules végétales afin de s'y introduire.

P. syringae produit également des phytotoxines ou exotoxines (coronatine, tagetitoxine, phaseolotoxine et persicomycine) ayant uniquement pour cible les tissus végétaux.

D'autres substances produites, telles que la syringomycine et la syringopeptine, peuvent être toxiques pour certaines bactéries, levures, ou champignons. Ces toxines ne sont pas nécessaires à l'attaque des plantes par la bactérie, mais elles favorisent sa multiplication et augmentent l'intensité des symptômes de la plante. Par ailleurs, la syringomycine présente une activité hémolytique *in vitro* (Bender et al, 1999).

Bien que la souche 31a ne soit pas considérée comme phytopathogène, son pouvoir glaçogène, l'un des plus actifs décrit dans la littérature, peut toutefois provoquer d'importants dégâts sur les plantes sensibles au gel (Harrison, 1988).

4.2.4 Caractéristiques génomiques

A l'heure actuelle, le génome complet de trois souches de *P. syringae* a été séquencé (des informations plus précises sur la nature de chacun de ces génomes sont disponibles sur le site internet "*Pseudomonas syringae* Genome Resources"⁶). A noter également la présence de plasmides conjugatifs de taille variable selon les souches de *P. syringae* qui peuvent être porteurs de gènes de résistance aux antibiotiques et aux métaux lourds (Gonzales et al, 1984 ; Gaignard & Luisetti, 1993).

Le gène codant pour la synthèse de la protéine glaçogène a été isolé et séquencé (Joadar et al, 2005). Ce gène, porté par le chromosome bactérien, a été dénommé *ina* ou *ice*. La séquence de bases codant pour cette protéine est remarquablement conservée chez de multiples souches de *P. syringae*, ainsi que chez d'autres bactéries telles que *P. fluorescens* ou *Xanthomonas campestris* (Warren, 1995), lesquelles présentent également un pouvoir glaçogène.

4.2.5 Base moléculaire du pouvoir glaçogène

L'élément responsable de l'activité glaçogène est une protéine dénommée Ice Nucleating Protein (INP) mise en évidence par Sprang et Lindow en 1981. Cette protéine est présente dans la membrane externe de la bactérie sous forme de monomères d'environ 150 KDa. A la

⁶ <http://pseudomonas-syringae.org/>

faveur de conditions environnementales particulières, détaillées ci-après, les monomères ont la capacité de s'associer pour former le « site de nucléation ».

La protéine INP est formée d'une partie N-terminale d'environ 180 résidus, d'une partie centrale répétitive d'environ 1000 résidus et d'une partie C-terminale d'une cinquantaine de résidus. Des expériences de mutagenèse dirigée montrent que :

- la région répétitive centrale a une importance majeure dans l'activité glaçogène ;
- la région N-terminale serait plutôt impliquée dans le phénomène de maturation du site de nucléation ;
- la région C-terminale serait essentielle pour l'agrégation des monomères (Green *et al.* 1988).

Une fois synthétisée, la protéine INP subit des modifications post-traductionnelles qui conduisent, d'une part à une glycosylation (addition de résidus mannose, glucosamine et d'autres sucres) (Kozloff *et al.*, 1983 et 1991 ; Wolber *et al.*, 1986), d'autre part à l'addition de phospholipides sous la forme de résidu phosphatidyl-inositol (Govindarajan et Lindow 1988a ; Turner *et al.*, 1991). D'après Kozloff *et al.* (1991), la protéine formerait une lipoglycoprotéine par son association au phosphatidylinositol. Bien que le mécanisme moléculaire qui conduit à la formation de cristaux de glace ne soit pas complètement élucidé, ces auteurs ont montré que les sucres et les phospholipides jouent un rôle majeur dans le processus de nucléation. Divers travaux suggèrent que les monomères protéiques formeraient des agrégats plus ou moins importants en fonction de la température, ces agrégats étant stabilisés par la membrane. Ainsi, Govindarajan et Lindow (1988b) ont montré que pour une activité de nucléation de -12°C, le noyau de nucléation serait constitué d'un seul monomère, alors qu'à la température de -3°C, celui-ci compterait 53 monomères. La taille du noyau de nucléation augmente donc en fonction de l'élévation de la température de la nucléation.

Divers modèles visant à expliquer le phénomène de nucléation qui conduit à la formation de cristaux de glace ont été proposés (Warren *et al.*, 1986 ; Mizuno, 1989 ; Kajava & Lindow, 1993). Ces modèles sont présentés en annexe 8, mais à ce jour, aucun n'est totalement satisfaisant. L'ensemble de ces modèles ne rend pas clairement compte de l'interaction entre les protéines, la membrane bactérienne et le cristal de glace.

A partir des connaissances sur la fonction de nucléation et l'hydrophilicité de la protéine, Lindow *et al.* (1989) concluent que la protéine, pour être active, doit être ancrée à la surface de la membrane et non enfouie. De plus, l'intégrité de la bactérie semble importante, comme le suggèrent les travaux de Wolber *et al.* 1986 qui montrent que l'activité glaçogène de la fraction protéique est proche de -10 °C, alors que celle de la cellule entière n'est que de -4°C. Par ailleurs, la conformation de la protéine doit se faire de telle sorte que celle-ci puisse former des liaisons hydrogène avec la glace. Le fort taux d'homologie des séquences nucléotidiques de la région répétitive laisse supposer que cette région serait au contact de la glace.

Quoiqu'il en soit, l'intégrité de la bactérie est nécessaire à l'obtention d'un pouvoir glaçogène important. Pour provoquer la cristallisation de l'eau à des températures élevées, proches de 0°C, il est nécessaire qu'il y ait agrégation de plusieurs protéines de nucléation, afin de former un gros complexe stabilisé par la membrane externe des bactéries. La taille du complexe est fonction du milieu de culture, des conditions physico-chimiques et des conditions de conservation de la bactérie (Rugels, 1993 ; Lindow, 1995).

4.3 Le protocole de fabrication du Snomax[®]

Le protocole présenté ci-dessous reste succinct car rédigé sur la base des rares informations et souvent peu explicites, collectées auprès de l'industriel en réponse aux questions techniques des experts. En effet, aucun protocole détaillé de fabrication du produit Snomax[®] n'a été fourni aux experts par le fabricant.

4.3.1 Les étapes de la production

Le protocole de fabrication comporte les 6 étapes suivantes : culture de *P. syringae* souche 31a en fermenteur stérile, centrifugation, congélation, lyophilisation, conditionnement et stérilisation.

Les bactéries sont cultivées de façon séquentielle en batch de maintenance, puis en fermenteur de 300 litres, puis en fermenteur final de 30 000 litres. La composition du milieu de culture (composition standard⁷) varie au cours des étapes de fermentation. L'ensemble du procédé de fabrication est maintenu en conditions stériles et à une température de 25°C qui correspond à la température optimale de synthèse des protéines de nucléation.

Une centrifugation de la culture en flux continu permet d'éliminer le milieu de culture et la majorité des déchets et récupérer les bactéries. A priori, à ce stade, les bactéries sont intactes et vivantes.

Ce matériel biologique est ensuite congelé par contact avec l'azote liquide puis lyophilisé sous forme de granules. Cette étape permet de retirer environ 82% de la teneur en eau du produit. Le lyophilisat est alors emballé en sachets sous vide conservés à une température inférieure à 6°C.

La stérilisation des sachets est réalisée par une société de sous-traitance. La technique utilise le bombardement d'électrons à faible dose (dose non précisée par l'industriel), technique moins destructrice que la gamma-irradiation et qui permet de préserver l'intégrité structurale des protéines de nucléation. Les sachets de Snomax[®] sont enfin conditionnés en carton de 3 kg environ, pour expédition.

4.3.2 Les contrôles qualité du produit fini

Contrôle du pouvoir glaçogène de chaque lot

L'activité glaçogène de chaque lot produit est mesurée en triplicat mais le fabricant n'a pas précisé la méthode utilisée. La technique généralement employée par les scientifiques est celle du test des gouttes décrite par Vali (1971). Etant d'origine biologique, cette activité varie d'un lot à l'autre. Afin de garantir la même activité glaçogène des différents lots produits, le poids des sachets est adapté au pouvoir glaçogène de chaque lot et varie ainsi entre 270 et 330 g.

Contrôle de la stérilité

Un laboratoire indépendant analyse la composition chimique et microbiologique de chaque lot produit et délivre un certificat de conformité. Le groupe de travail mentionne que le fabricant n'a pas fourni les protocoles détaillés de stérilisation et d'analyse microbiologique.

⁷ Données confidentielles du fabricant.

L'unique rapport d'analyses microbiologiques communiqué aux experts indique que le produit Snomax® comporte une population totale d'environ 15 UFC/gramme et ne présente aucune bactérie *P. syringae* cultivable, ni de bactérie pathogène. Les experts s'interrogent sur un tel résultat compte tenu de la stérilité présumée du produit. Aucune autre analyse ne serait réalisée en routine par l'industriel.

4.4 La composition chimique et microbiologique du Snomax®

4.4.1 Composition chimique

La composition chimique du Snomax® fournie au groupe de travail par le fabricant étant confidentielle, seuls les résultats de l'analyse menée par Goodnow (1999) sont cités au tableau n°2.

Tableau 2 : Composition chimique du Snomax® en pourcentage massique
(Goodnow, 1999)

Composants	%
Protéines	34
Azote	9
Glucides	15
Acides nucléiques	11
Cendres	8
Métaux	9
Volatiles à 105°C	3
Phosphates	2
Phosphates totaux	5
Chlore	<0,1
Acides organiques	<0,1
Total	99,2

* Azote déterminé par la méthode de Kjeldhal

Le produit est composé majoritairement de protéines (30 à 50%), de glucides (15%) et d'acides nucléiques (10 à 11%).

Les métaux représentent 5 à 9% du contenu : il s'agit majoritairement de sels d'alcalino-terreux (Ca, Fe, K, Mg, Na et P) et de métaux de transition (Zn, Mn, Cu, Ni).

On retrouve à moindre concentration de l'aluminium et du chrome, et en très faible concentration du plomb et du cadmium. Ces éléments proviendraient du milieu de culture.

4.4.2 Composition microbiologique

Le fabricant n'a pas fourni au groupe de travail la composition microbiologique détaillée du Snomax[®]. Les experts ont procédé à une estimation du nombre de bactéries par gramme de produit. Les données obtenues dans la littérature, confrontées aux données expérimentales tendent à montrer que 1 g de Snomax[®] contient de 10¹¹ à 10¹² bactéries, chaque bactérie contenant en moyenne 1 noyau de nucléation.

4.4.3 Evaluation de la stérilité du produit

Ni le fabricant ni le sous-traitant chargé de la stérilisation n'ayant fourni le protocole détaillé de la stérilisation, les experts ne peuvent affirmer, en l'état des connaissances, que le process utilisé a totalement inactivé les bactéries *P. syringae*. Aussi, les experts ont indirectement étudié la question au travers des analyses microbiologiques du produit Snomax[®] menées dans diverses études scientifiques publiées.

Des travaux conduits par l'Institut national des sciences appliquées de Lyon sur la poudre de Snomax[®] diluée dans de l'eau stérile à raison de 20mg/mL, puis mise à incuber à 28°C pendant 7 jours sur différents milieux liquides et solides dont le milieu King B, n'ont pas mis en évidence de *P. syringae* « viable »⁸ ni d'organismes pathogènes cultivables pour l'Homme (Cemagref, 2004)

Des essais effectués en «condition d'utilisation terrain», à partir d'échantillons prélevés en cuve de dilution du Snomax[®] au sein d'une usine à neige ont été analysés en 1990 et 1991 par le National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) des Etats Unis. Les résultats montrent également l'absence de *P. syringae* parmi les colonies bactériennes détectées (Kullman, 1993).

En revanche, des échantillons de dilution du Snomax[®] prélevés en cuve ont été analysés par le Cemagref en 1993 et ont mis en évidence la présence de colonies de *P. syringae* (Cemagref 1993). Cependant, le Cemagref explique ces résultats par le fait qu'il s'agit d'une bactérie ubiquiste de l'environnement et donc présente naturellement, par exemple dans l'eau utilisée pour la fabrication de la neige de culture.

Ces études suggèrent donc une absence totale de cellules *P. syringae* cultivables dans le produit commercialisé. Cependant, les experts soulignent que l'existence de lacunes méthodologiques rend difficile une conclusion définitive :

- aucune des études précédemment citées n'utilise la souche *P. syringae* 31a comme témoin positif pour l'identification des colonies ;
- les températures de croissance utilisées pour certains tests (étude du NIOSH par exemple) sont peu adaptées à la croissance de *P. syringae* car trop élevées (30 à 35°C);
- les seuils et la sensibilité de détection ne sont pas précisés.

Les experts concluent que ces résultats ne permettent ni de remettre en cause la stérilité du produit Snomax[®] au regard du certificat fourni par le fabricant, ni de la confirmer pour autant.

⁸ Tel que cité par le rapport

4.5 Principaux intérêts du Snomax® avancés par le fabricant

Selon le fabricant, le Snomax® présente trois principaux intérêts. D'une part, la neige de culture peut être produite pour une température extérieure comprise entre -5° et -3°C, valeurs supérieures à la température normale de cristallisation de l'eau en neige qui se situe entre -9° à -7°C. D'autre part, ce procédé permet de produire une plus grande quantité de neige de culture avec moins d'eau comparativement aux procédés classiques sans additif : la nucléation induite par le Snomax® est présentée pour être plus rapide, plus active et plus uniforme, réduisant d'autant l'évaporation et la quantité de gouttelettes d'eau non cristallisées qui atteignent le sol. Selon l'industriel, le taux de conversion de l'eau en neige est ainsi amélioré de 9 à 15%, générant ainsi des économies d'eau. Enfin l'addition de Snomax® permettrait d'obtenir une neige sèche de meilleure qualité que la neige de culture sans additif. Cette qualité, liée notamment à sa faible teneur en eau non cristallisée, autorise une manipulation presque immédiate par les engins de damage des pistes et lui confère une bonne résistance au compactage, une facilité d'entretien et une facilité de glisse.

4.6 Modalités de conservation, mode d'emploi et précautions d'usage

4.6.1 Modalités de conservation

Le fabricant préconise de conserver le produit congelé ou réfrigéré à une température inférieure à 10°C et d'éviter d'exposer le produit à des variations répétées supérieures à 6°C. L'activité des protéines INP n'est en effet maintenue qu'à basse température.

4.6.2 Mode d'emploi

La figure 3 illustre l'installation de dilution et d'injection du Snomax® dans le système. Le mode d'emploi fourni par le fabricant précise les étapes suivantes :

- remplir la cuve de mélange au quart avec de l'eau froide ;
- activer le système de circulation ;
- ajouter la quantité appropriée de Snomax® ;
- ajouter le reste d'eau ;
- agiter pendant dix minutes ;
- placer le système de circulation sur «automatique» (45 sec toutes les 60 min) ;
- se référer à la table pour les taux de dilution ;
- préparer assez de mélange pour 8 à 12 heures de fonctionnement.

Le mélange en cuve de dilution est ensuite automatiquement injecté par une pompe doseuse dans le réseau des canalisations qui approvisionne en eau les enneigeurs. Le fabricant préconise de conserver le mélange en cuve 4 à 5 jours au maximum.



Figure 3 : Descriptif du dispositif de dilution et d'injection du Snomax® dans le système d'enneigement

4.6.3 Calcul de la concentration du produit dans la cuve de dilution du Snomax® et dans l'eau pulvérisée par les enneigeurs

Les experts émettent l'hypothèse que, compte tenu des caractéristiques propres de chaque station (nombre d'enneigeurs, débit et quantité d'eau utilisée), une cuve 300 à 500 litres alimente l'ensemble d'une installation d'enneigement pendant 8 à 12 heures de fonctionnement. Le protocole de dilution du produit doit donc être adapté à chaque installation et la concentration de la solution diluée de Snomax® sera proportionnelle au débit d'eau nécessaire pour approvisionner les enneigeurs.

Le fabricant préconise l'utilisation de 300 g de Snomax® pour traiter 380 m³ d'eau pulvérisée par les enneigeurs. La concentration de Snomax® au niveau des enneigeurs après injection dans les canalisations sera donc de 0,8 g.m⁻³ soit 0,8 mg/L.

Pour répondre à cet objectif, le nivoculteur utilise généralement un tableau de dilution défini selon les paramètres de l'installation d'enneigement de la station ou un référentiel de calcul équivalent. La fiabilité de ces outils a été vérifiée par le groupe de travail. Selon les installations, la fourchette habituelle de dilution est de 1 à 3 sachets pour 100 L d'eau, avec un maximum de 4 sachets pour 100 L. La concentration de Snomax® au sein de la cuve de dilution sera donc comprise entre 3 et 12 g/L.

Sachant que 1 g de Snomax® contient environ 10^{11} à 10^{12} cellules (cf. chapitre 4.4.2), on peut estimer un apport à l'environnement de 8.10^{10} à 8.10^{11} cellules de *P. syringae* par m³ d'eau pulvérisée. Le calcul détaillé est présenté en annexe 9.

4.6.4 Protocole de nettoyage du matériel de dilution et d'injection

Le protocole de nettoyage de la cuve, après chaque utilisation, a pour finalité la maîtrise des odeurs (Audition de M Rougeaux, 2007). Le protocole définit les étapes suivantes :

- rincer abondamment la cuve avec de l'eau ;
- vidanger complètement ;
- remplir la cuve de 200 à 250 L d'eau ;
- ajouter une solution d'eau de Javel à 1% ou des pastilles de chlore dosées à 5% ;
- actionner l'agitateur pendant 15 à 30 minutes ;
- mettre la pompe doseuse en position manuelle ;
- nettoyer les parois de la cuve avec le balai brosse ;
- vidanger ;
- rincer à l'eau abondamment ;
- vidanger à nouveau.

Sur la base d'observations de terrain, les experts notent que les eaux de lavage sont évacuées dans le milieu naturel.

4.6.5 Précautions d'usage recommandées par le fabricant

Les précautions d'usage du fabricant, spécifiées d'une part à la fiche données de sécurité (cf. annexe 10) et d'autre part à la notice d'utilisation du skid d'injection, recommandent de réduire l'aérosolisation du produit lors de son stockage et d'éviter de respirer les poussières, de manipuler le produit dans un endroit bien ventilé. Le port de lunettes et de gants de protection est recommandé, notamment en cas de coupure ou d'altération de la peau, aussi bien pour la préparation du mélange en cuve de dilution que pour son nettoyage ou toute intervention sur le matériel d'injection.

5. Identification et caractérisation des dangers du Snomax®

Considérant les éléments relatifs à la composition du Snomax®, les experts ont identifié un certain nombre de dangers pour la santé humaine, propres à l'utilisation du Snomax®. Ces dangers sont liés aux cellules *P. syringae*, entières ou fragmentées, viables ou non. Les experts retiennent ainsi comme hypothèse les trois dangers suivants et discutés dans ce chapitre :

- le danger infectieux ;
- le danger lié à la toxicité et à la production d'endotoxines ;
- le danger lié à l'allergie.

Par ailleurs, indépendamment de *P. syringae*, les experts ont également identifié un danger lié à l'appétit du Snomax®, au regard de sa composition en éléments nutritifs, à favoriser le développement de microorganismes dans l'eau utilisée pour l'enneigement artificiel.

Les experts se sont également intéressés aux évaluations sanitaires réalisées par d'autres pays utilisateurs du Snomax®. La majorité d'entre eux comme le Canada, la Suisse et l'Italie ont conclu à une absence de risque du fait de la stérilisation du produit et n'ont ainsi pas mené d'études plus approfondies.

Aux Etats-Unis, l'Environment protection agency (EPA) a émis plusieurs avis relatifs aux demandes du fabricant concernant différents usages du Snomax® (utilisation pour l'air conditionné, la fabrication et la pulvérisation de glace et l'ensemencement des nuages). En 1991, l'EPA a conclu que le produit Snomax® et la souche *P. syringae* 31a ne relèvent pas du règlement relatif à la régulation des biotechnologies⁹ car le produit est stérilisé et la souche viable ne présente pas un caractère pathogène défini comme « un virus ou un organisme (...) ayant la capacité de causer une maladie à un autre organisme vivant ».

5.1 Le danger lié au pouvoir infectieux

Pour formuler leur avis, les experts se sont basés sur les éléments suivants.

P. syringae est une bactérie considérée comme non pathogène pour l'Homme et pour l'animal. *P. syringae* ne figure pas parmi les agents infectieux « opportunistes » répertoriés, en particulier au cours de l'infection par le VIH (CDC¹⁰/OMS) ou dans les états de déficit immunitaire héréditaire (OMIM¹¹). Une recherche aussi exhaustive que possible relative aux infections par *P. syringae* chez l'Homme n'a pas permis de mettre en évidence dans la littérature un quelconque pouvoir pathogène pour l'homme.

Il est à mentionner que deux souches de *P. syringae* vivantes (souche ESC-10 et ESC-11) sont utilisées comme principe actif de produits phytosanitaires homologués et commercialisés aux Etats Unis.

⁹ « Coordinated Framework for Regulation of Biotechnology » n°51 FR 23313 de juin 1986, rubrique TSCA « Toxic Substances Control Act » du Biotechnology Policy Statement

¹⁰ Centers for Diseases Control, base de données MEDLINE

¹¹ Online Mendelian Inheritance in Man

Ces produits sont utilisés depuis plus de 10 ans dans la lutte biologique contre les dépérissements post-récoltes de divers fruits dont certains sont destinés à être consommés crus (pommes, poires).

Une étude¹² menée par l'EPA a conclu à l'absence de risque sanitaire pour des conditions normales d'utilisation de ces produits : « les souches *P. syringae* ESC-10 et ESC-11 ne provoquent pas d'effets sur les mammifères quand les bactéries sont ingérées, inhalées ou au contact de la peau. De plus, les bactéries ne peuvent survivre à des températures supérieures à 32°C, et ne peuvent donc pas se multiplier chez l'homme ou les oiseaux, dont la température corporelle est supérieure (...) ; aucun problème de santé de l'Homme n'est attendu de l'utilisation de ces souches bactériennes dans les produits pesticides si les recommandations d'usage du produit sont respectées ».

Par ailleurs, les experts précisent que le pouvoir infectieux d'un microorganisme ne s'exprime que lorsque celui-ci est viable et rappellent que le produit Snomax[®] subit une stérilisation (cf. chapitre 4.3 et 4.4.3).

Les experts concluent que le pouvoir infectieux pour l'homme du produit Snomax[®] est inexistant.

5.2 Le danger lié à la toxicité et à la production d'endotoxines

5.2.1 Toxicité du Snomax[®]

La fiche de données de sécurité du Snomax[®] ne fait état d'aucun effet toxicologique aigu ou chronique ou de contre-indication médicale, que ce soit par ingestion, par contact avec les yeux ou avec la peau : elle mentionne uniquement un « faible risque pour un usage courant ».

Cette fiche rapporte cependant la présence d'endotoxines dans l'air des sachets de Snomax[®], mais à des valeurs inférieures à celles connues pour induire un effet pathogène chez l'homme selon la Food and Drug Administration (FDA) des Etats-Unis. Elle mentionne cependant que l'inhalation de poussières issues des granules de Snomax[®] peut provoquer une toux et une irritation des voies aériennes supérieures.

La grande majorité des essais cliniques identifiés dans la littérature ont été réalisés à l'initiative du fabricant.

Les études de toxicité aiguë menées par la Food and Drug Research Laboratories (FDRL) sur le rat, le lapin et le cochon d'inde ne montrent pas d'effet significatif (FDRL, 1985 a-b-c-c ; FDRL, 1987 a-b-c-d). La réaction inflammatoire de l'œil du rat après injection (FDRL, 1985d) et du tractus respiratoire du lapin après inhalation d'aérosols (FDRL, 1985b) est expliquée par la FDRL par un artefact expérimental et non par le produit. Les études n'ont révélé ni hypersensibilisation, ni sensibilisation de contact, ni de signe d'irritation ou d'érythème (FDRL, 1987d).

Les études de toxicité aiguë menées par Goodnow (Goodnow 1989 ; Goodnow, et al., 1990) montrent une augmentation statistiquement significative du poids des poumons et une hypertrophie des ganglions lymphatiques trachéo-bronchiques du rat à partir de 0,4 g Snomax[®] par litre, mais sans aucun signe d'infection. Les auteurs concluent à une simple réaction d'irritation.

¹² http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/ingredients/factsheets/factsheet_006441.htm

Le groupe de travail considère que ces études ne permettent pas de distinguer si les phénomènes inflammatoires constatés sont la conséquence d'une réponse antigénique à la bactérie *P. syringae*, de l'immunité non spécifique ou d'un effet inflammatoire direct. Le Snomax® pourrait en effet être sensibilisant par voie respiratoire uniquement. Les résultats disponibles sont insuffisants pour conclure.

Les experts confirment l'absence de pouvoir infectieux du produit Snomax® et de la bactérie *P. syringae* mais ils ne peuvent conclure avec certitude quant à l'absence totale d'effet sensibilisant, antigénique ou immunologique. Ils recommandent en conséquence de réaliser en complément un test de Magnusson et Kligman (Gutman et al., 2005 ; Kligman et al., 2006), dit «de maximalisation», celui-ci étant plus performant que le test de Buehler utilisé par la FDRL. Si ce test s'avérait positif, il serait alors nécessaire de le compléter par un test LLNA (Local Lymph Node Assay ; McGarry, 2007) plus prédictif des sensibilisations et des allergies.

5.2.2 Les dangers liés aux endotoxines de *P. syringae*

La membrane externe de toute bactérie à Gram négatif est constituée d'un composant majeur, le lipopolysaccharide (LPS), dont la partie lipide A correspond à l'endotoxine. Cette endotoxine est un facteur de virulence essentiel des bactéries à Gram négatif, entraînant une réponse inflammatoire voire hémodynamique de l'organisme, lors de contacts muqueux (en particulier respiratoires, oculaires, digestifs...) et de contacts cutanés ; ces phénomènes mettent en jeu le compartiment de l'immunité non spécifique ou innée. L'endotoxine peut par exemple provoquer des crises d'asthme, des problèmes pulmonaires et respiratoires. Il convient aussi de noter que l'être humain est quotidiennement exposé dans son environnement immédiat à de multiples sources d'endotoxines.

L'étude de Goodnow et al. (1990) conclut que les symptômes inflammatoires décrits (cf. chapitre 5.2.1) ne sont pas attribuables aux endotoxines, les concentrations mesurées dans le Snomax® étant inférieures à celles connues pour induire de tels effets chez l'animal. La fiche de données de sécurité du Snomax® indique que le niveau d'endotoxines mesuré au sein du sachet tel que commercialisé est inférieur aux seuils de toxicité connus pour l'Homme, selon les sources de la FDA. Les experts ne disposent ni des concentrations mesurées, ni des seuils de la FDA.

L'étude du National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH) (Kullman, 1993) montre un fort taux d'endotoxines retrouvé à toutes les étapes de production de la neige de culture, en particulier dans la cuve de mélange du Snomax® mais surtout au niveau du panache des enneigeurs, sous forme de poussières atmosphériques. Les experts précisent cependant que le LPS est inhérent à toute bactérie à Gram négatif et que les endotoxines identifiées à la sortie des enneigeurs par Kullman (1993) peuvent provenir de toute bactérie à Gram négatif présente dans l'eau utilisée pour l'enneigement artificiel.

En conclusion, le groupe de travail mentionne que les données fournies par le fabricant et les études disponibles sont insuffisantes pour conclure à l'existence d'un danger sanitaire chez l'Homme lié à la présence d'endotoxines dans le produit Snomax®. Considérant que l'Homme est régulièrement exposé dans son milieu de vie à la bactérie *P. syringae* et donc aux endotoxines qu'elle produit, le groupe de travail conclut que le Snomax® ne constitue pas un danger supplémentaire à celui de cette exposition naturelle.

5.3 Les dangers d'allergies au Snomax®

Les dangers d'ordre immunologique liés à une exposition au Snomax® sont abordés au travers de la problématique d'états d'hypersensibilité, déclenchés par des antigènes de *P. syringae*.

Les corps bactériens de *P. syringae* peuvent comporter, même à l'état non viable, des structures antigéniques (peptides, acides nucléiques, composants de paroi, etc.), lesquelles par contacts muqueux (respiratoires, oculaires et digestifs), cutanés, voire systémiques (plaies) sont susceptibles d'entraîner des réponses immunitaires spécifiques.

L'analyse des dangers a été menée sur la base d'une étude de la bibliographie relative aux réponses immunitaires vis-à-vis des antigènes de *P. syringae* et/ou leurs conséquences immunopathologiques chez l'Homme ou dans des modèles animaux pertinents. Ont été considérés les documents concernant *P. syringae*, mais aussi les analogies potentielles avec d'autres *Pseudomonas spp.* comme *P. aeruginosa*.

Les autres composants du Snomax® n'ont pas été étudiés car jugés non antigéniques par les experts. Le milieu de culture utilisé pour la production du Snomax® étant décrit par le fabricant comme stérile, la présence dans le produit final d'autres microorganismes contaminants susceptibles d'induire également une réponse antigénique n'est pas suspectée a priori. L'analyse exclut également les effets liés aux éventuels microorganismes présents dans l'eau brute utilisée pour la fabrication de la neige de culture, d'une part non connus et d'autre part auxquels l'Homme est régulièrement exposé.

Etudes bibliographiques identifiées et analyse critique

Les publications spécialisées dans ce domaine et les connaissances actuelles apparaissent particulièrement limitées. On ne dispose pas de revue générale, même si le rapport du NIOSH (Kulman, 1993) regroupe plusieurs observations mais sans distinguer ce qui pourrait être la conséquence d'une exposition à des antigènes.

- L'immunogénicité de constituants de *P. syringae* est établie (Ovod et al. 1996 ; Shimazu et al., 2003). Chez l'homme, la présence d'anticorps sécrétoires a été rapportée (Rylander et al. 1982). Les réactivités croisées d'anticorps de *P. syringae* avec les nombreux *Pseudomonas spp.* de l'environnement ne sont pas documentées.
- Contrairement à d'autres microorganismes ubiquitaires, on ne dispose pas de données précises sur les réponses immunitaires spécifiques après exposition expérimentale aux antigènes de *P. syringae*. Les conséquences au niveau cellulaire et moléculaire des réponses immunitaires aux antigènes de *P. syringae*, ainsi que la modulation des réponses lymphocytaires par des ligands/constituants bactériens non antigéniques ne sont pas documentées.
- Concernant les risques d'allergie atopique, les *Pseudomonas spp.* ne figurent pas parmi les microorganismes contenant des allergènes susceptibles de déclencher une réponse de type IgE, listés dans les banques de données spécialisées¹³. On ne dispose pas de

¹³ WHO/IUIS Allergen Nomenclature Subcommittee, Allergens: nomenclature and list of entries ; ALLERGEN.TXT. (<http://www.expasy.org/cgi-bin/lists?allergen.text/> ; Biotechnology information for food safety database, NCFST, Food allergen and non-food allergen Sequences (Release 4) <http://www.iit.edu/~sgendel/fa.htm> ; Structural Database of Allergenic Proteins, (U Texas Medical Branch) <http://fermi.utmb.edu/SDAP/index.html>

référence scientifique relative à d'autres types d'hypersensibilité ni à des maladies auto-immunes.

Interprétation et conclusion

Compte-tenu du peu d'études disponibles sur les réactions à l'exposition à *P. syringae* chez l'Homme ou l'animal, il n'est pas possible de distinguer ce qui relève réellement d'états d'hypersensibilité. Des études complémentaires sont manifestement souhaitables.

P. syringae est un organisme ubiquiste et par analogie avec d'autres microorganismes, les experts pensent que la primosensibilisation à *P. syringae* survient très tôt, voire en période néonatale, mais on ne dispose pas d'étude chez ou transposable à l'enfant sur la réponse immunitaire précoce. Le contact précoce avec des doses élevées d'antigène entraînant typiquement une tolérance plutôt qu'une hypersensibilité, les experts considèrent que l'exposition à *P. syringae* de l'environnement peut entraîner l'acquisition d'une tolérance. Cependant, compte-tenu du polymorphisme génétique et/ou d'autres affections préexistantes, le déclenchement de réactions d'hypersensibilité reste néanmoins possible chez certains individus, comme c'est le cas pour de nombreux «allergènes».

5.4 Le danger lié au développement de microorganismes issus de l'eau utilisée pour préparer le mélange de Snomax®

Les eaux du milieu naturel utilisées pour la fabrication de la neige de culture et notamment pour diluer le Snomax® en cuve peuvent contenir des germes potentiellement pathogènes (cf. chapitre 8).

Plusieurs études suggèrent un effet multiplicateur potentiel du Snomax® sur des microorganismes présents dans l'eau superficielle utilisée notamment pour la dilution du produit (Cemagref, 2003 ; Kulman, 1993). La composition du produit Snomax® peut constituer un apport en nutriments et donc, dans certaines conditions, faciliter le développement de microorganismes. Cette idée a été discutée selon les deux hypothèses suivantes :

- le développement microbien au sein de l'installation d'enneigement et notamment au niveau de la cuve de dilution du Snomax® ;
- le développement microbien dans la neige de culture après pulvérisation par les enneigeurs.

Les conditions discutées pour chaque hypothèse d'un tel développement sont d'une part les facteurs externes (température, pression...) et d'autre part la concentration en nutriments apportés par le Snomax®, sans préjuger de la capacité naturelle du milieu à induire elle-même un tel développement.

Le développement microbien au sein du système d'enneigement artificiel et notamment de la cuve de dilution du Snomax®

Une étude de Kulman (1993) évoque la présence d'environ 10^5 CFU/mL de germes de type Gram négatif, dans la cuve de mélange de Snomax®. La concentration bactérienne retrouvée dans la neige est également élevée (10^3 à 10^4 CFU/mL). Il conclut que le Snomax® favoriserait le développement en cuve des germes contenus dans l'eau de dilution. Les experts mentionnent que cette étude souffre d'insuffisances méthodologiques et expérimentales qui ne leur permettent pas de valider cette conclusion en l'état.

Le développement de microorganismes peut également se faire sous la forme de biofilms, par exemple au sein des canalisations du système d'enneigement.

Le développement de biofilms dans les milieux aquatiques naturels et artificiels, à l'exception des milieux oligotrophiques très carencés en nutriments, est bien documenté, notamment par Costeron et al. (1987).

Le groupe de travail considère que seule la cuve de dilution du Snomax® offre des conditions propices à un développement microbien au sein d'une installation d'enneigement en fonctionnement. En effet, la cuve non réfrigérée pouvant être placée dans la salle des compresseurs, source de chaleur, la température du mélange peut en effet rapidement atteindre la température ambiante de la pièce (10-15°C). Le mélange est en outre stocké dans ces conditions de quelques heures le plus souvent (6 à 12 heures) à plusieurs jours (4 à 5 jours).

Ailleurs, c'est-à-dire dans les canalisations, les experts considèrent que les forts débits d'eau, la température de l'eau (proche de 0°C) et surtout la pression (10 à 80 bars) constituent des conditions peu propices au développement microbien et à la formation de biofilms.

Le développement microbien dépend également de la quantité de nutriments apportée par le Snomax®. La concentration de Snomax® en cuve est adaptée aux caractéristiques de l'installation et notamment au débit d'eau qui alimente les enneigeurs : elle varie de 3 à 12 g/L (cf. chapitre 4.6.3). La situation la plus pénalisante est ici étudiée. Compte tenu de la composition du produit, une concentration de 12 g/L correspond à environ 6 g/L de protéines et 3 g/L de glucides. Ces concentrations peuvent être comparées à celles du milieu de culture LB¹⁴ classiquement utilisé pour cultiver *Escherichia coli*, à savoir approximativement 9,8 g/L de protéines (ou acides aminés) et 0,86 g/L de glucides. Les experts concluent qu'à une concentration de Snomax® de 12 g/L, les quantités de nutriments apportées sont suffisantes pour entraîner un développement de germes dans la cuve.

Une fois injecté dans les canalisations, ce mélange subit une forte dilution qui est fonction du volume total d'eau apporté aux enneigeurs pour toute la durée de fonctionnement. Les experts considèrent que les concentrations en nutriments apportés par le Snomax® sont alors insuffisantes pour y induire un développement microbien.

Le groupe de travail conclut que l'utilisation du Snomax® peut induire dans la cuve de dilution, selon les concentrations utilisées, un développement des germes présents dans l'eau utilisée, mais non dans les canalisations.

Développement microbien dans la neige de culture

Certains microorganismes sont susceptibles de se développer à basse température, donc dans la neige. C'est notamment le cas des bactéries pathogènes de l'homme comme *Listeria*, présente dans les eaux et dont le temps de génération moyen est de 33 heures à 4°C (Lyautey et al. 2007).

La concentration en Snomax® dans l'eau pulvérisée au niveau des enneigeurs est de 0,8 g/m³ (0,8 mg/L) et correspond à 0,4 mg/L de protéines et 0,2 mg/L de sucres. Les experts considèrent que ces apports en nutriments sont insuffisants pour induire un développement microbien dans la neige de culture.

¹⁴ Luria-Bertani, Sambrook et Russell, Molecular Cloning, a laboratory manual, 2001, Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York

Le groupe de travail conclut que l'utilisation du Snomax®, aux quantités préconisées par le fabricant, ne peut induire un développement microbien dans la neige de culture, en dehors de tout développement potentiel induit par les nutriments présents naturellement dans l'eau utilisée pour l'enneigement. Un tel développement paraît cependant peu probable au regard de la température de la neige.

6. Identification des populations exposées, des scénarii et des voies d'exposition

Après avoir identifié les dangers pour la santé, les experts ont identifié les populations exposées et envisagé les différents scénarii et voies d'exposition, à partir des données recueillies par questionnaire.

6.1 Populations exposées

Toutes les populations exposées à la neige de culture sont susceptibles de l'être au produit Snomax®.

Cette exposition concerne donc tous les usagers des pistes de ski équipées d'enneigeurs. Les pratiquants de ski de fond, de ski de randonnée et de promenades en raquettes ne sont pas exposés, sauf si leur itinéraire coïncide avec une piste équipée.

Les populations professionnelles des stations de ski concernées par une exposition au Snomax® sont les personnels affectés à la fabrication de la neige de culture (nivoculteurs), à l'entretien du manteau neigeux (conducteurs des engins de damage), à la sécurité des pistes (pisteurs et secouristes), à l'enseignement du ski (moniteurs) et aux remontées mécaniques.

6.2 Eléments d'information permettant de décliner les scénarii d'exposition

Les informations ci-dessous sont des réponses aux questionnaires adressés aux 23 stations ayant utilisé le Snomax® avant 2005. Le taux de retour des questionnaires est de 50%. Les données collectées ont été jugées significatives et exploitables par les experts.

Ces données concernent aussi bien la période d'utilisation du Snomax® (1992-2005) que les modalités actuelles d'utilisation de l'enneigement artificiel qui seraient appliquées à tout nouvel usage du Snomax®.

Période, périodicité et fréquence d'utilisation du Snomax®

Au regard des pratiques constatées lors de la période d'utilisation du produit Snomax® en France, le produit n'est en règle générale pas utilisé de façon systématique et permanente en période de fabrication de neige de culture, principalement en raison de son coût élevé. Il n'est ainsi utilisé qu'en période déficitaire en basses températures, aussi bien en début de saison avant ouverture du domaine au public, afin d'assurer un manteau stable pour accueillir les premières neiges naturelles, qu'en pleine saison afin de compenser un manque et de prolonger la période d'ouverture.

La saison de fabrication de la neige de culture, et a fortiori de l'utilisation du Snomax®, s'échelonne selon les stations entre les mois d'octobre-novembre et mars-avril.

La durée moyenne de l'utilisation de l'installation d'enneigement par saison varie d'une dizaine à une centaine de jours selon les années et les stations. Celle de l'utilisation du Snomax® a varié entre 1992 et 2005 de quelques jours à plus de 50 jours par saison. Seule une station a déclaré avoir utilisé le Snomax® sur l'ensemble d'une saison.

L'utilisation du Snomax® est donc très variable d'une station à l'autre et d'une saison à l'autre. Aucune tendance ne peut être dégagée.

La fabrication de la neige de culture n'est pas programmable dans le sens où elle dépend des conditions atmosphériques. Les installations se déclenchent automatiquement ou manuellement, lorsque les conditions attendues de température et d'hygrométrie sont atteintes. Ainsi, les enneigeurs peuvent se déclencher aussi bien la nuit en l'absence de skieurs que la journée, lorsque le domaine skiable est ouvert au public. Quelques rares stations ont déclaré n'utiliser les enneigeurs que la nuit ou bien fermer les pistes concernées et adjacentes lors de l'utilisation des enneigeurs. Cependant, les basses températures étant atteintes en priorité la nuit, les installations fonctionnent généralement plus souvent lorsque le domaine est fermé au public. Aucune tendance ne peut donc être dégagée.

Sites d'utilisation du Snomax entre 1992 et 2005

L'utilisation du Snomax® a concerné toutes les pistes équipées d'enneigeurs, sans exception, son utilisation n'étant pas restreinte à des situations spécifiques. Néanmoins le Snomax® a souvent été employé pour les zones les plus sollicitées (pistes du bas des stations, croisements de pistes) et pour les pistes pour débutants nécessitant des conditions de glisse facilitées (pistes bleues et vertes).

La superficie du domaine skiable concerné par l'utilisation du Snomax® est d'une dizaine à plus de 60 hectares selon les stations contactées, ce qui représente environ 3 à 61% du domaine skiable total de chaque station ; la variabilité des situations est donc grande.

6.3 Scénarii et voies d'exposition au Snomax®

Les experts ont identifié quatre principaux scénarii d'exposition prenant en compte :

- les populations concernées (tableau 3) ;
- les voies d'exposition (tableau 4).

Les quatre scénarii d'exposition sont :

- exposition lors de la préparation du mélange en cuve ;
- exposition lors du nettoyage du matériel de mélange ;
- exposition au panache de neige de culture à la sortie des enneigeurs ;
- exposition à la neige de culture au sol.

Tableau 3 : Populations concernées par les 4 scénarii identifiés

		Exposition lors de la préparation du mélange en cuve	Exposition lors du nettoyage du matériel de mélange	Exposition au panache de neige de culture à la sortie des enneigeurs	Exposition à la neige de culture au sol
Population générale	Usagers adultes			✓	✓
	Usagers enfants			✓	✓
Population professionnelle	Nivoculteur	✓	✓	✓	✓
	Conducteur des engins de damage			✓	✓
	Pisteur - Secouriste			✓	✓
	Moniteur			✓	✓
	Personnel des remontées mécaniques			✓	✓

Les voies d'exposition au Snomax® identifiées ci-dessous sont précisées par scénario au tableau 4 :

- inhalation de la poudre issue du produit brut ;
- inhalation d'un aérosol ou d'une gouttelette issus d'un enneigeur ;
- contact cutané ou muqueux (mains, visage, bouche, yeux) ;
- absorption par manuportage du produit ou absorption de la neige.

Tableau 4 : Voies d'exposition concernées pour les 4 scénarii identifiés

	Exposition lors de la préparation du mélange en cuve	Exposition lors du nettoyage du matériel de mélange	Exposition au panache de neige de culture à la sortie des enneigeurs	Exposition à la neige de culture au sol
Inhalation de la poudre issue du produit brut	✓			
Inhalation aérosol et/ou gouttelette issus d'un enneigeur	✓		✓	
Contact cutané ou muqueux	✓	✓	✓	✓
Absorption par manuportage du produit ou absorption de la neige	✓	✓	✓	✓

L'estimation des risques liés à l'exposition au Snomax® est déclinée pour chaque scénario identifié par population exposée sur la base des voies d'exposition concernées et des dangers identifiés au chapitre 5.

7. Estimation des risques sanitaires et recommandations

7.1 Principaux éléments de méthode

Les experts ne disposent d'aucune donnée relative à la quantification de l'exposition des populations. Les experts ne disposent pas non plus de donnée utilisable relative aux relations doses-effets chez l'homme d'une exposition au Snomax[®]. En conséquence, le risque sanitaire de l'exposition au Snomax[®] pour les populations précitées ne peut être estimé que de façon qualitative.

Dans ce rapport, la méthode d'évaluation qualitative du risque utilisée est celle de Zepeda Sein modifiée par l'Afssa en 2003 (Zepeda Sein, 1998 ; AFSSA, 2003 ; AFSSA, 2006a ; Dufour & Pouillot, 2002).

L'estimation qualitative d'un risque découle de la combinaison d'éléments examinés au préalable que sont (1) l'identification des dangers, (2) l'appréciation de l'émission (probabilité d'émission à partir de la source) et (3) l'appréciation de l'exposition (probabilité d'exposition au danger) dont il convient de déterminer l'occurrence. L'estimation qualitative du risque consiste à combiner la probabilité d'émission à la probabilité d'exposition.

L'estimation de la probabilité de survenue des événements « émission » et « exposition » est réalisée séparément et aboutit à un niveau de probabilité apprécié par les qualificatifs suivants : nulle, négligeable, faible, modérée ou élevée. Ces qualificatifs utilisés sont définis comme suit afin de limiter les divergences d'interprétation :

- **nulle** : la survenue de l'évènement n'est pas possible ;
- **négligeable** : la survenue de l'évènement ne serait possible que dans des circonstances exceptionnelles ;
- **faible** : la survenue de l'évènement est peu élevée, mais possible dans certaines circonstances ;
- **modérée** : la survenue de l'évènement est nettement possible ;
- **élevée** : la survenue de l'évènement est grande.

La combinaison de deux probabilités conduit à une probabilité plus faible¹⁵ que celle de chacune des probabilités de départ selon le modèle suivant :

- deux probabilités de même qualificatif conduisent au qualificatif inférieur (faible x faible = négligeable) ;
- deux probabilités voisines conduisent à la fourchette inférieure de la probabilité la plus basse (faible x modérée = négligeable à faible) ;
- deux probabilités non voisines (mais non opposées) conduisent à la probabilité la plus faible (faible x élevée = faible) ;
- deux probabilités opposées conduisent à la fourchette supérieure de la probabilité la plus faible (négligeable x élevé = négligeable à faible).

¹⁵ comme l'illustre l'exemple mathématique $10^{-4} \times 10^{-4} = 10^{-8}$

Tableau 5 : Estimation qualitative du risque selon la combinaison de probabilités de survenue des événements « émission » et « exposition », adoptée par les experts

Probabilité de survenue	Nulle	Négligeable	Faible	Modérée	Elevée
Nulle	Nul	Nul	Nul	Nul à négligeable	Nul à négligeable
Négligeable	Nul	Nul	Nul à négligeable	Négligeable	Négligeable à faible
Faible	Nul	Nul à négligeable	Négligeable	Négligeable à Faible	Faible
Modérée	Nul à négligeable	Négligeable	Négligeable à Faible	Faible	Faible à modéré
Elevée	Nul à négligeable	Négligeable à faible	Faible	Faible à modéré	Modérée

Il convient de préciser que les limites de cette méthode sont d'une part l'insuffisance des données de base concernant l'exposition et d'autre part la part de subjectivité de l'estimation des différentes probabilités retenues par les experts.

Concernant la problématique du Snomax[®], rappelons que les dangers liés à la toxicité du produit et à l'allergie ne sont que suspectés par les experts et non démontrés (cf. chapitre 5). L'estimation du risque présentée ci-dessous est donc basée sur l'hypothèse que ces dangers existent. Si les études complémentaires recommandées par les experts prouvent au contraire l'absence de danger, il conviendra de considérer que le risque sanitaire de l'exposition au Snomax[®] est nul.

La «probabilité d'émission» fait référence à l'existence ou l'émission d'un danger correspondant dans notre cas à la présence du produit Snomax[®] dans l'environnement immédiat de la personne concernée.

La «probabilité d'exposition» fait référence aux modalités et à l'occurrence de l'exposition de l'homme au Snomax[®] dans cet environnement immédiat.

L'évaluation qualitative du risque est déroulée successivement pour les 4 principaux scénarii d'exposition des populations au Snomax[®] et selon des hypothèses maximalistes d'exposition (voies et modalités d'exposition) :

- exposition lors de la préparation du mélange ;
- exposition lors du nettoyage du matériel de mélange ;
- exposition au panache de neige de culture à la sortie des enneigeurs ;
- exposition à la neige de culture au sol.

7.2 Estimation du risque pour le scénario «préparation du mélange en cuve»

Populations concernées, modalités et voies d'exposition

Le nivoculteur est l'unique catégorie professionnelle susceptible d'être exposée au produit brut.

Selon leur pratique, les nivoculteurs constatent un dégagement de poudre pulvérulente lors de l'ouverture du sachet. Les phases de contact possibles correspondent à l'ouverture du sachet et à sonversement dans la cuve préalablement remplie d'eau. L'ouverture de la cuve d'environ 20 centimètres est de nature à limiter les contacts.

Rappelons que le fabricant mentionne la présence d'endotoxines dans le Snomax® et qu'il préconise à ce titre le port d'équipements de protection individuels (EPI) que sont les gants et les lunettes de protection. Par contre, le fabricant ne mentionne pas le port d'une protection respiratoire malgré les conclusions du rapport du NIOSH (Kullman, 1993).

Les voies d'exposition identifiées avec la poudre précitée sont l'inhalation et le contact cutané et muqueux (mains, figure, bouche, yeux).

L'unique voie d'exposition identifiée avec le produit dilué est le contact cutané et muqueux (mains, figure, bouche, yeux).

Estimation du risque pour ce scénario et préconisations des experts

Concernant l'exposition au produit brut lors de la dilution et lorsque les préconisations et le protocole du fabricant sont respectés, les experts considèrent :

- la probabilité d'émission comme «modérée» ;
- la probabilité d'exposition comme «faible» ;

Le risque estimé est donc négligeable à faible.

Dans la pratique, il s'avère que les précautions (port des EPI) et le protocole d'usage spécifiés par le fabricant ne sont pas toujours respectés. Dans ce cas les experts considèrent :

- la probabilité d'émission comme «modérée» ;
- la probabilité d'exposition comme «élevée» ;

Le risque estimé dans ces conditions pénalisantes est donc faible à modéré.

Concernant l'exposition au produit dilué en cuve les experts considèrent :

- la probabilité d'émission comme «modérée» ;
- la probabilité d'exposition comme «négligeable» ;

Le risque estimé est donc négligeable.

Dans la pratique, il s'avère que les précautions (port des EPI) et les protocoles d'usage spécifiés par le fabricant ne sont pas toujours respectés. Dans ce cas les experts considèrent :

- la probabilité d'émission comme «modérée» ;
- la probabilité d'exposition comme «faible» ;

Le risque estimé est donc négligeable à faible.

Aussi les experts valident la nécessité du port systématique d'EPI lors de la dilution du Snomax[®] et estiment que le port d'un appareil de protection respiratoire est également nécessaire, alors qu'il n'est pas préconisé par le fabricant ni dans les guides d'utilisation ni dans la fiche de données de sécurité.

Les experts insistent également sur le respect du protocole du fabricant et suggèrent aux utilisateurs d'éviter toute autre procédure, telle qu'un pré-mélange dans un seau d'eau, par exemple.

Considérant que la concentration en Snomax[®] dans la cuve peut induire la prolifération de germes potentiellement pathogènes pour l'Homme (cf. chapitre 5), les experts préconisent :

- que la cuve de préparation du mélange soit remplie par une eau respectant les limites de qualité des paramètres microbiologiques des eaux destinées à la consommation humaine, définies par l'annexe I de l'arrêté du 11 janvier 2007 et par le code de la santé publique ;
- que le mélange en cuve ne soit pas conservé plus de 24 heures.

7.3 Estimation du risque pour le scénario «nettoyage du matériel de mélange»

Populations concernées, modalités et voies d'exposition

Le nivoculteur est l'unique catégorie professionnelle susceptible d'être exposée au reste de produit lors de cette phase de nettoyage de la cuve de dilution.

Après utilisation du mélange, la cuve vidée est rincée et nettoyée selon un protocole spécifié par le fabricant, qui précise notamment le port de gants et de lunettes de protection. Des résidus de mélange peuvent adhérer aux parois internes de la cuve et sont susceptibles d'être projetés lors du nettoyage.

Les phases de contact possibles correspondent principalement au remplissage de la cuve avec le jet d'eau et lors de l'utilisation du balai brosse. L'ouverture de la cuve d'environ 20 centimètres est de nature à limiter les projections.

L'unique voie d'exposition identifiée est le contact cutané et muqueux (mains, figure, bouche et yeux).

Estimation du risque pour ce scénario et préconisations des experts

Concernant le nettoyage du matériel par le nivoculteur, et lorsque les préconisations et le protocole du fabricant sont respectés, les experts considèrent :

- la probabilité d'émission comme «faible» ;
- la probabilité d'exposition comme «faible» ;

Le risque estimé est donc négligeable.

Dans la pratique, il s'avère que les précautions (port des EPI) ne sont pas toujours respectées. Dans ce cas les experts considèrent :

- la probabilité d'émission comme «faible» ;
- la probabilité d'exposition comme «modérée» ;

Le risque estimé dans ces conditions pénalisantes est donc négligeable à faible.

Aussi les experts valident la nécessité du port systématique des EPI lors du nettoyage du matériel de dilution (gants et lunettes) et pour vidanger la cuve lorsque le mélange n'a pas été utilisé.

7.4 Estimation du risque pour le scénario «exposition au panache de neige à la sortie des enneigeurs»

Les enneigeurs étant disposés sur les bords de piste et pouvant fonctionner autant le jour que la nuit, les personnes susceptibles d'être exposées aux panaches des enneigeurs sont aussi bien les usagers des pistes que les populations professionnelles qui y interviennent.

L'estimation des risques prend en compte la quantité de cellules de *P. syringae* apportées à l'environnement par l'utilisation du Snomax® selon les quantités préconisées par le fabricant (cf. annexe 7), à savoir 10^5 à 10^6 fois plus que la quantité naturellement présente dans les eaux de montagne.

L'exposition à la neige de culture contenant le produit Snomax® via le panache des enneigeurs se fait par l'inhalation des aérosols, capables de pénétrer les voies aériennes profondes, et par contact avec les parties découvertes du corps dont le visage principalement. Les vêtements de ski, le port de gants et de lunettes sont de nature à limiter les contacts cutanés et muqueux.

Population «usagers des pistes» : modalités d'exposition et estimation du risque

Les enneigeurs étant disposés sur une grande majorité des pistes, toutes les catégories d'usagers sont concernés, débutants et confirmés, enfants et adultes. Les écoles de neige pour les jeunes enfants, généralement localisées au bas des stations sur des zones très fréquentées et sollicitées, sont directement concernées par l'utilisation des enneigeurs.

Les experts considèrent :

- la probabilité d'émission comme «négligeable» au regard de la dilution du Snomax® dans la neige ;
- la probabilité d'exposition à la neige du panache comme «faible» pour le skieur adulte ou enfant, au regard de l'occurrence et de la durée d'un contact potentiel ;

Le risque estimé est donc nul à négligeable.

Populations professionnelles concernées : modalités d'exposition, estimation du risque et recommandations

Parmi les catégories professionnelles susceptibles d'être exposées aux panaches des enneigeurs, il convient de différencier trois cas :

- les nivoculteurs sont susceptibles d'intervenir régulièrement sur les enneigeurs en fonctionnement ; les experts considèrent qu'ils constituent ainsi la catégorie

professionnelle la plus exposée, mais cette exposition dépend du choix d'intervenir ou non sur des canons en fonctionnement ;

- les modalités d'exposition des pisteurs, des agents de la sécurité des pistes, des moniteurs de ski et des secouristes sont identiques à celles des usagers (cf. ci-dessus), mais elle est par contre régulière et continue sur l'ensemble de la saison de ski ;
- les professionnels chargés du damage des pistes et de la manipulation de la neige de culture fabriquée sont protégés par l'habitacle de l'engin utilisé; à noter que les engins de damage interviennent le plus souvent après arrêt des enneigeurs pour des raisons de sécurité et de facilité de travail ; les experts concluent que ces professionnels ne sont pas exposés aux panaches des enneigeurs.

Les experts considèrent que les agents des remontées mécaniques ne sont pas concernés par l'exposition au panache des enneigeurs, les panaches n'étant pas orientés en direction des remontées mécaniques.

Les experts considèrent la probabilité d'émission comme «négligeable» au regard de la dilution du Snomax® dans la neige.

Aux vues de ces modalités d'exposition, les experts considèrent la probabilité d'exposition à la neige du panache comme :

- «modérée» à «élevée» pour le nivoculteur selon qu'il intervient régulièrement ou non sur un enneigeur en fonctionnement ;
- «faible» pour le pisteur, l'agent de sécurité des pistes, le moniteur de ski et le secouriste ;
- «négligeable» pour les professionnels chargés du damage et ceux chargés des remontées mécaniques.

En conséquence, les risques estimés sont les suivants :

- «négligeable» à «négligeable à faible» pour le nivoculteur selon qu'il intervient régulièrement ou non sur un enneigeur en fonctionnement ;
- «nul à négligeable» pour le pisteur, l'agent de sécurité des pistes, le moniteur de ski et le secouriste ;
- «nul» pour le conducteur des engins de damage et l'agent des remontées mécaniques.

Considérant la voie d'exposition par inhalation d'aérosols, considérant que le nivoculteur est la catégorie professionnelle la plus exposée au panache des enneigeurs, les experts préconisent de minimiser la fréquence et la durée des expositions aux panaches et donc des interventions sur les enneigeurs en fonctionnement.

7.5 Estimation du risque pour le scénario «exposition à la neige de culture au sol»

Populations concernées, modalités et voies d'exposition

La neige de culture est épandue sur l'ensemble de la piste et mélangée avec la neige naturelle : la concentration en Snomax® dans la neige subit donc un nouveau facteur de dilution. Tous les usagers des pistes et les professionnels à ski sont susceptibles d'être exposés à cette neige au sol selon les mêmes modalités et voies d'exposition.

La voie d'exposition à la neige au sol est un contact cutané et muqueux. Il convient de noter que l'ingestion de neige constitue une voie d'exposition spécifique qui concerne particulièrement les enfants.

Estimation du risque

En conséquence les experts considèrent la probabilité d'émission comme «négligeable» au regard du taux de dilution supplémentaire du Snomax[®] par mélange avec la neige naturelle.

Les experts considèrent la probabilité d'exposition à la neige au sol comme :

- «négligeable» pour l'usager des pistes (adulte) et le professionnel à ski ;
- «modérée» pour l'enfant.

En conséquence, les risques estimés sont les suivants :

- «nul» pour l'usager des pistes (adulte) et le professionnel à ski ;
- «négligeable» pour l'enfant.

8. L'impact sanitaire pour l'homme lié à l'utilisation d'une eau de mauvaise qualité microbiologique pour la fabrication de la neige de culture

Au regard des connaissances acquises sur l'enneigement artificiel, les experts ont souhaité dépasser le strict cadre de la saisine et proposer une réflexion quant aux problématiques sanitaires liées à l'utilisation, pour la fabrication de la neige de culture, d'une eau de mauvaise qualité microbiologique, en dehors de toute utilisation du produit Snomax®. Cette partie ne fait pas l'objet d'une évaluation quantitative ni qualitative des risques.

En effet, les experts émettent l'hypothèse que l'utilisation d'une eau de mauvaise qualité microbiologique peut exposer les populations à des germes potentiellement pathogènes via les panaches des enneigeurs, la neige et les eaux de fonte.

8.1 L'eau utilisée est de qualité microbiologique variable

L'eau utilisée pour la fabrication de la neige de culture provient de différentes sources : souterraines (sources, forages), superficielles (rivières, lacs naturels d'altitude, retenues collinaires en amont ou en aval des stations de ski, tourbière...) et eau du réseau de distribution publique.

La qualité microbiologique de l'eau utilisée pour l'enneigement artificiel ne fait pas l'objet d'un suivi sanitaire. Cette eau provient à 50 % de retenues collinaires, à 30 % d'autres sources superficielles et à 20 % du réseau d'eau potable (ODIT France, 2006). Mais l'analyse des questionnaires montre que les situations sont très variables d'une station à l'autre. A noter que de nombreuses stations font aujourd'hui le choix de construire des retenues collinaires dédiées à l'enneigement artificiel.

L'eau de surface est généralement plus vulnérable aux pollutions chimiques et microbiologiques que l'eau souterraine. Les sources de pollution en zone de montagne peuvent être les contaminations fécales d'origine animale (bétail pâturant) ou humaines (rejets de stations d'épuration, d'habitations non raccordées au réseau d'assainissement, etc.).

Par ailleurs, la plupart des espèces bactériennes des eaux de montagne sont des bactéries psychrotrophes adaptées aux basses températures. Or la grande majorité des espèces pathogènes pour l'homme (*P. aeruginosa*, par exemple) présentes dans les eaux de surface sont des espèces mésophiles, adaptées aux températures de 20 à 40°C. Ces germes sont susceptibles de se développer en période estivale où les conditions de température sont favorables, et plus particulièrement dans des zones confinées et stagnantes comme les retenues d'eau (réservoirs d'altitude, bassins d'orage, etc.).

En période hivernale, les basses températures (0°C environ) sont de nature à limiter le développement de germes mais ils sont capables de survivre dans un état physiologique et métabolique ralenti (AFSSA, 2006-b ; Smith et al. 2004).

Le groupe de travail a identifié deux études, menées dans une station de ski française, qui mettent en avant la présence de germes témoins de contamination fécale dans l'eau utilisée pour la fabrication de neige de culture :

- D'une part, les résultats d'analyses d'eau au niveau des installations d'enneigement d'une station de ski française utilisant le Snomax®, effectuées en 2003 pour le compte

du Cemagref, mentionnent la présence de germes non seulement dans l'eau du ruisseau d'alimentation (coliformes fécaux dont *Escherichia coli* et entérocoques), mais également au sein de la cuve de mélange (entérobactéries, streptocoques, staphylocoques et entérocoques) (Cemagref 2003). Les concentrations mesurées en coliformes totaux et *E. coli* sont deux fois plus élevées au niveau de la cuve mais ne sont pas expliquées. Le groupe de travail attribue cette augmentation probablement à une prolifération bactérienne induite par l'ajout de Snomax et par un stockage du mélange en cuve au-delà de 24h. Il est également à noter qu'aucune colonie de *P. syringae* n'a été dénombrée (que ce soit au niveau de l'eau prélevée que dans les cuves de mélange).

- D'autre part, des analyses effectuées par la DDASS de Haute-Savoie en 2006 et 2007 dans l'eau d'un bassin d'orage (réservoir utilisé pour la fabrication de neige de culture) d'une station de ski n'utilisant pas le Snomax®, mettent en évidence la présence de norovirus de groupe 2, de coliformes totaux (>289 CFU/100ml), d'*Escherichia coli* (289 CFU/100ml), d'entérocoques (242 CFU/100ml) et de spores de bactéries anaérobies.

Même si les germes détectés et les concentrations mesurées paraissent correspondre à la qualité de l'eau de certains milieux naturels soumis aux activités humaines, le groupe de travail s'interroge sur l'absence de limites de qualité, au sein de la législation française, quant à l'eau utilisée pour la fabrication de neige de culture, compte tenu de cet usage et de l'exposition précitée des populations. Le groupe de travail préconise donc des études pour évaluer la pertinence de telles limites et les définir le cas échéant.

8.2 La survie des germes dans la neige de culture

Le groupe de travail s'est interrogé, d'une part sur la survie des germes à basse température, et d'autre part sur leur survie dans la neige de culture.

8.2.1 La survie des germes à basse température

De nombreux microorganismes survivent dans un état physiologique et métabolique ralenti lors des cycles de congélation/décongélation et reprennent leur développement lors de la fonte de la neige. Des bactéries, champignons et virus pathogènes (colicivirus, *Influenza*, enterovirus) ont par exemple été isolés dans des échantillons de glaces anciennes et de permafrost (Smith et al. 2004 ; Rogers et al., 2004). *E. coli* souche O157-H7 est par exemple capable de survivre à une température de -18°C (Gawande & Griffith, 2005).

8.2.2 La survie des germes dans le système d'enneigement artificiel

Une société nord-américaine a proposé dans les années 1990 un procédé de traitement d'eaux usées urbaines utilisant les procédés de fabrication du système d'enneigement artificiel (pression et pulvérisation) et des cycles de congélation/décongélation, complété ensuite par l'épuration biologique des sols. Le corps des ingénieurs de l'armée nord-américaine, chargé de l'expertise de cette technologie, a montré que la viabilité des coliformes fécaux peut être altérée mais que certains bacilles à Gram négatif survivent et peuvent à nouveau se développer en période de fonte des neiges. Les streptocoques fécaux paraissent être les bactéries d'origine fécale les plus résistantes (Parker et al., 2000). Les experts déduisent de cette étude que les germes de l'eau peuvent survivre au procédé d'enneigement artificiel et se retrouver à l'état viable dans la neige de culture.

Le groupe de travail a également émis l'hypothèse selon laquelle des biofilms se développeraient au sein des canalisations du système d'enneigement artificiel. Les experts considèrent la probabilité de développement d'un biofilm comme négligeable lors du

fonctionnement du système compte tenu de la faible température de l'eau (0°C) et de la pression (10 à 80 bars). Ils la considèrent également comme négligeable en période estivale, du fait de la mise hors d'eau du système, mais précisent qu'elle serait par contre élevée si la vidange était incomplète, par exemple en présence de siphons ou de bras morts.

En conclusion, les experts considèrent que l'exposition des populations (usagers des pistes et population professionnelle ; cf. chapitre 6) aux germes d'une neige de culture de mauvaise qualité microbiologique est une hypothèse recevable. Cette exposition peut avoir lieu par contact avec le panache des enneigeurs, avec la neige de culture ou l'eau de fonte, considérant la survie des germes à faible température.

8.3 La contamination des points de captages de l'eau potable

Le groupe de travail émet l'hypothèse selon laquelle l'eau de fonte d'une neige de culture contenant des germes pathogènes peut contaminer un captage d'eau potable. Selon les informations fournies par les DDASS du massif alpin, de nombreux points de captage pour l'alimentation en eau potable sont en effet localisés au sein de domaines skiables équipés de systèmes d'enneigement artificiel, voire à proximité immédiate des pistes de ski concernées.

La qualité de l'eau infiltrée dans le sol joue un rôle primordial sur la qualité des eaux souterraines captées pour l'alimentation eau potable. Les nappes d'un aquifère sont en effet alimentées par les eaux de précipitation (pluie ou neige) qui s'infiltrent dans le sol et le sous-sol à une vitesse qui dépend de la pente du terrain, de la nature du substratum rocheux, de l'épaisseur des sols : plus l'infiltration est rapide, moins la filtration et l'épuration par le sol sont efficaces. Les zones calcaires de montagne (Pyrénées, Jura, Dévoluy, Vercors, Alpes du Sud) dites karstiques sont particulièrement concernées par une telle situation car les eaux qui s'y infiltrent peuvent atteindre les aquifères profonds et être restituées aux émergences en quelques heures. Ces vitesses d'écoulement (jusqu'à quelques centaines de mètres par heure) et l'absence fréquente de sol en surface ne permettent pas la filtration des eaux.

Pour ces raisons et dans le cadre de la loi sur l'eau, chaque captage fait normalement l'objet d'une définition de périmètres de protection (immédiate et rapprochée) au sein desquels des contraintes de servitude sont définies. Or selon les DDASS, les servitudes définies pour les captages au sein d'un domaine skiable prennent rarement en considération les contraintes liées aux installations d'enneigement, comme l'utilisation de divers additifs.

Le groupe de travail ajoute que l'aménagement des pistes de ski imposent souvent d'importants travaux d'aplanissement, de concassage, de drainage et d'enfouissement de canalisations qui peuvent, en modifiant le sol, influencer la dynamique d'infiltration et de ruissellement de l'eau.

Dans ce contexte, et notamment en période de fonte des neiges, lorsque les sols sont gorgés d'eau, les experts considèrent que l'hypothèse de la contamination d'un aquifère ou d'un captage par de l'eau issue d'une neige de culture contenant des germes potentiellement pathogènes est envisageable.

Pour illustrer un tel scénario, le groupe de travail rapporte les résultats d'une étude de la CIRE Rhône-Alpes et de l'InVS relative à une épidémie de gastro-entérites à norovirus observée en février 2006 au sein d'une station de sports d'hiver des Alpes. L'eau potable a été identifiée comme unique source du norovirus et plusieurs causes de contamination du captage ont été proposées comme l'assainissement d'habitations, les pratiques agricoles ou les installations d'enneigement artificiel. Les résultats d'une analyse de l'eau prélevée dans un bassin d'orage pour la fabrication de la neige de culture ont révélé la présence de la même souche de norovirus (DRASS Rhône-Alpes, 2006). La contamination du captage ferait

ainsi suite à la rupture d'une canalisation de l'équipement d'enneigement localisée en amont ; des études hydrogéologiques complémentaires sont en cours.

En conclusion, les experts considèrent que l'exposition des populations, via l'eau du réseau de distribution publique, aux germes issus de la fonte d'une neige de culture de mauvaise qualité microbiologique est une hypothèse recevable dans certaines conditions défavorables.

Les experts formulent à ce titre les recommandations suivantes :

Concernant la qualité de l'eau utilisée pour la fabrication de la neige de culture :

- sensibiliser les exploitants des stations de ski aux risques que représente l'utilisation d'eau provenant d'une ressource vulnérable aux pollutions chimiques et/ou microbiologiques et notamment d'une eau stagnante (réservoir d'orage par exemple) pour la fabrication de neige de culture ;
- sensibiliser les exploitants des stations de ski sur la nécessité de réaliser une étude de la qualité microbiologique de l'eau utilisée pour la fabrication de la neige de culture ;
- engager des études d'acquisition de connaissances quant aux expositions des usagers et des professionnels à cette eau.
- proposer à plus grande échelle un protocole de suivi et un plan de gestion de la qualité microbiologique de l'eau prélevée pour la fabrication de la neige de culture, sur la base des informations complémentaires précitées ;

Concernant la protection des captages d'eau potable au sein des domaines skiables équipés de systèmes d'enneigement artificiel :

- sensibiliser les hydrogéologues agréés en charge de la proposition des périmètres de protection à la prise en compte des pratiques des stations de ski en matière de fabrication de neige de culture (utilisation d'additifs et/ou d'une eau de mauvaise qualité chimique et/ou microbiologique) ;
- inviter les exploitants des stations de ski à disposer les enneigeurs de manière à éviter tout enneigement artificiel en direction des impluviums des captages et à aménager les pistes de manière à limiter les écoulements en leur direction.

9. Conclusions et recommandations du groupe de travail

Le produit Snomax® est présenté par son fabricant pour faciliter la production de neige de culture à une température supérieure à celle de la cristallisation naturelle de l'eau, c'est-à-dire en conditions météorologiques défavorables pour l'enneigement naturel. C'est un produit de nature biologique contenant les bactéries inactivées *P. syringae* souche 31a, capable d'initier la cristallisation de l'eau à partir de -2°C. Cette capacité lui est conférée par une protéine membranaire douée d'un pouvoir de nucléation laquelle constitue le principe actif du Snomax®.

Le produit Snomax® a été introduit en France à l'occasion des jeux olympiques d'Albertville (1992) et a été utilisé jusqu'en 2005 pour la fabrication de neige de culture par 23 des quelques 300 stations de ski françaises. Son mode d'utilisation est adapté à l'ensemble des technologies d'enneigement artificiel (dilution et injection dans les canalisations qui approvisionnent les enneigeurs). L'utilisation du Snomax® est suspendue en France depuis 2005 par décision des professionnels des stations de ski à la suite d'une remise en cause de l'utilisation du produit par des associations de défense de l'environnement. Son importation et sa commercialisation sont autorisées.

Le Snomax® est par ailleurs utilisé par de nombreux pays et notamment ceux de l'arc alpin, frontaliers avec la France. Le groupe de travail n'a pas identifié de législation spécifiquement dédiée au Snomax® dans les pays utilisateurs. Cependant, certains pays réglementent l'utilisation d'additifs pour la fabrication de neige de culture, soit en les autorisant, soit les interdisant, avec des variabilités selon les cantons. D'autres réglementent plus globalement l'enneigement artificiel. Aucune disposition réglementaire concordante n'a ainsi été identifiée entre les pays utilisateurs du Snomax®.

La composition chimique du Snomax® ne révèle pas la présence de composé toxique pour l'Homme aux concentrations utilisées. Au plan microbiologique, le produit Snomax® est uniquement composé de bactéries inactivées *P. syringae*, souche 31a. Ce bacille épiphyte est naturellement présent dans l'environnement du fait de sa facilité de dissémination et d'adaptation. *P. syringae* n'est pas connu pour être pathogène pour l'homme, mais il est pathogène pour les végétaux, ce qui n'est pas le cas de la souche 31a qui compose le Snomax®.

Le procédé de fabrication du Snomax® comporte une étape finale de stérilisation par bombardement d'électrons ; un laboratoire indépendant vérifie la stérilité de chaque lot. Mais le fabricant n'a pas fourni de données techniques suffisantes relatives à ces étapes pour que les experts puissent affirmer que la stérilisation est efficace à 100%. Les analyses microbiologiques du Snomax® publiées dans la littérature suggèrent l'absence de *P. syringae* cultivable mais souffrent de lacunes méthodologiques. Aussi, les experts ne peuvent, en l'état des connaissances, ni confirmer ni remettre en cause la stérilité du produit.

Les dangers sanitaires du Snomax® pour l'homme ont été étudiés sur l'hypothèse d'un pouvoir infectieux, d'une toxicité au regard des endotoxines bactériennes qu'il contient et d'un pouvoir allergisant. Les experts considèrent que *P. syringae* et *a fortiori* le produit Snomax® ne présentent pas de pouvoir pathogène pour l'Homme : ni la littérature scientifique ni les tests sur cobayes ne signalent un pouvoir infectant du produit.

Au regard des résultats des tests de toxicité, les experts n'ont pas identifié d'effet toxique du Snomax®. En outre, s'agissant du danger propre aux endotoxines, les données fournies par le fabricant et les études identifiées à ce sujet sont jugées insuffisantes pour conclure à un danger sanitaire lié aux endotoxines. Considérant que l'homme est régulièrement exposé dans son milieu de vie aux endotoxines de *P. syringae* et à celles de toute autre bactérie à

Gram négatif, les experts concluent que le produit Snomax® ne constitue pas un danger supplémentaire à celui d'une exposition naturelle aux endotoxines de *P. syringae*.

Le danger lié au pouvoir allergisant suspecté du Snomax® a été étudié au travers des réactions d'hypersensibilité aux antigènes de *P. syringae*, pour laquelle la documentation scientifique est très limitée voire inexistante pour la souche 31a. En l'état actuel des connaissances, les experts ne peuvent conclure à un effet allergisant potentiel du Snomax®. Considérant que l'Homme est exposé dans son milieu de vie à *P. syringae* dès la période néonatale, et considérant que le contact répété à des doses élevées d'antigènes entraîne plutôt la tolérance qu'une hypersensibilité, les experts considèrent comme minime le danger lié à l'allergie du Snomax®. Ils ne peuvent cependant écarter le risque d'allergie possible chez certains individus particulièrement sensibles.

Aussi, concernant l'identification des dangers, les experts recommandent de réaliser en complément un test de Magnusson et Kligman, si besoin complété par un test Local Lymph Node Assay (LLNA) dédié à l'identification des sensibilisations et des allergies.

Eu égard à la qualité microbiologique des eaux utilisées, l'hypothèse d'un danger supplémentaire lié au développement de germes pathogènes au sein du système d'enneigement a également été étudiée, notamment en présence de Snomax®. Considérant ce produit comme source de nutriments et considérant les conditions de son utilisation (concentration, température et durée de stockage), les experts concluent que le Snomax® peut induire dans la cuve de préparation le développement des germes présents dans l'eau de dilution. Ces germes n'étant pas recensés, les experts ne peuvent pas caractériser ce danger microbiologique.

Les experts considèrent qu'un développement microbien (biofilm notamment) est peu probable au sein des canalisations du système aussi bien en période de fonctionnement, eu égard à ses caractéristiques de température et de pression, qu'en période de non fonctionnement dès lors que le système est préalablement vidangé.

Les populations susceptibles d'être exposées au produit Snomax® sont les usagers des pistes de ski et les catégories professionnelles affectées à la fabrication de la neige de culture (nivoculteur), à l'entretien du manteau neigeux, à la sécurité des pistes (pisteur et secouriste), à l'enseignement du ski (moniteur) et aux remontées mécaniques.

Les experts ont estimé les risques pour les populations concernées selon quatre scénarii d'exposition et sur la base des dangers, des modalités et voies d'exposition recensées. Les dangers pris en compte sont un effet antigénique du Snomax® ainsi qu'un développement de germes pathogènes dans la cuve de mélange du produit à l'eau.

Concernant la préparation du mélange en cuve (scénario 1), le risque estimé pour le nivoculteur (seule population exposée) est «négligeable à faible» et «négligeable» pour l'exposition au produit brut et au produit dilué, respectivement. Concernant le nettoyage du matériel de préparation du Snomax® (scénario 2), le risque estimé pour le nivoculteur (seule population exposée) est «négligeable». Les experts précisent que le risque est plus élevé pour ces deux scénarii lorsque le port d'équipements de protection individuels notamment préconisés par le fabricant n'est pas respecté.

Concernant l'exposition à la neige de culture au sein du panache des enneigeurs (scénario 3), toutes les populations précitées sont concernées. Le risque estimé est :

- «nul à négligeable» pour les usagers des pistes, adultes ou enfants ;

- «négligeable» à «négligeable à faible» pour le nivoculteur, selon qu'il intervient régulièrement ou pas sur les enneigeurs en fonctionnement ;
- «nul à négligeable» pour le pisteur, l'agent de sécurité des pistes, le moniteur et le secouriste ;
- «nul» pour le conducteur des engins de damage et l'agent des remontées mécaniques.

Concernant l'exposition à la neige de culture au sol (scénario 4), toutes les populations précitées sont également concernées. Le risque estimé est «nul» pour les usagers des pistes adultes et pour les professionnels, et «négligeable» pour les usagers des pistes enfants.

Les experts formulent les recommandations suivantes destinées à réduire l'occurrence des dangers ou à réduire l'exposition :

- utiliser dans la cuve de dilution du Snomax® une eau respectant les critères microbiologiques d'une eau destinée à la consommation humaine ;
- conserver le mélange en cuve au maximum pendant 24 heures ;
- préconiser le port systématique, par les nivoculteurs, des équipements de protection individuels que sont les lunettes, les gants et un équipement de protection respiratoire, y compris lors de la phase de dilution et de la vidange du mélange en cuve ;
- respecter strictement le protocole et les modalités de préparation du Snomax® tels que définis par le fabricant ;
- limiter, en fréquence et en durée, les interventions du nivoculteur sur les enneigeurs en fonctionnement ;

Par ailleurs, en raison des enjeux sanitaires et dans une approche de veille sanitaire, les experts ont souhaité dépasser le strict cadre de la saisine et attirer l'attention sur les impacts potentiels de l'utilisation d'autres additifs que le Snomax® et de l'utilisation, pour l'enneigement artificiel, d'une eau de mauvaise qualité microbiologique.

D'autres additifs existent pour optimiser la fabrication de la neige de culture mais ne paraissent pas être utilisés en France pour le moment.

Concernant les produits utilisés pour durcir le manteau neigeux, les experts mentionnent qu'ils sont susceptibles, dans des conditions inadaptées d'utilisation, de générer des impacts sur les sols et de dégrader la qualité du milieu hydrique via l'eau de fonte des neiges.

L'enneigement artificiel des pistes de ski utilise le plus souvent l'eau de la ressource naturelle dont la qualité chimique et microbiologique est variable. L'utilisation d'une eau contenant divers germes dont certains pathogènes pour l'homme (staphylocoques, virus, etc.) est constatée. Les experts considèrent que ces germes peuvent résister au procédé d'enneigement artificiel et donc se retrouver dans la neige de culture. Les populations, générale et professionnelle, peuvent donc y être exposées selon les mêmes modalités précitées. La faible température de la neige n'est pas favorable à leur développement mais ils peuvent y survivre et à nouveau se développer après la fonte. En outre, considérant la vulnérabilité aux pollutions des aquifères et des captages d'eau potable en zone de montagne, notamment ceux localisés au sein des domaines skiables voire à proximité immédiate des pistes, les experts mentionnent que la fonte d'une neige de culture de mauvaise qualité microbiologique peut impacter la qualité sanitaire de l'eau destinée à la production d'eau de consommation humaine.

10. Bibliographie

10.1 Publications

Bender C.L., Alarcon-Chaidez F., Gross D. C. (1999). *Pseudomonas syringae* phytotoxins: Mode of action, regulation and biosynthesis by peptide and polyketide synthetases. *Microbiol. Molec. Biol. Rev.* **63**, 266-292.

Blondeaux A., Cochet N. (1994 a). Ice-nucleating activity of *Pseudomonas syringae* cultivated on a natural substrate: influence of phosphate. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **41**, 627-631.

Blondeaux A., Cochet N. (1994 b). High-level expression of the ice-nucleating activity of *Pseudomonas syringae* in relation to its growth characteristics. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **42**, 116-120.

Constantinidou H. A., Hirano S.S., Baker L. S., Upper C.D. (1990). Atmospheric dispersal of ice nucleation-active bacteria : the role of rain. *Phytopathology* **80**: 934-937.

Costerton J.W., Cheng K.J., Gessey G.G., Ladd T.I., Nickel J.C., Dasgupta M. Marrie, T.J. (1987). Bacterial biofilms in nature and disease. *Annual Review in Microbiology*, **41**, 435-464.

Dufour, B., Pouillot, R. (2002). Approche qualitative du risque. *Epidémiol et santé anim*, **41**, 35-43.

Gaignard J.L., Luisetti J. (1993). *Pseudomonas syringae*, bactérie épiphyte, glaçogène et pathogène. *Agronomie* **13**, 333-370.

Gawande P.V, Griffiths M.W. Growth history influences starvation-induced expression of *uspA*, *grpE*, and *rpoS* and subsequent cryotolerance in *Escherichia coli* O157:H7. *J Food Prot.* 2005 Jun; **68** (6),1154-8.

Gonzales C.F., Layher S.K., Vidaver A.K., Olsen R.H. (1984). Transfer, mapping and cloning of *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* plasmid pCG131 and assessment of its role in virulence. *Phytopathology* **74**,1245-1250.

Goodnow R. A., Harrison M. D., Morris J. D., Sweeting K. B., Laduca R. J. (1990). Fate of ice nucleation active *Pseudomonas syringae* strains in alpine soils and waters and in synthetic snow samples. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**, 2223-2227.

Goodnow R.A., Katz G., Haines D.C, et al. (1990) Subacute inhalation toxicity study of an ice-nucleation-active *Pseudomonas syringae* administrated as a respirable aerosol to rats. *Toxicology Letters*, **54**, 157-167.

Govindarajan A. G., Lindow S.E. (1988a). Phospholipid requirement for expression of ice nuclei in *Pseudomonas syringae* and *in vitro*. *J. Biol. Chem.* **263**, 9333-9338.

Govindarajan A. G., Lindow S.E. (1988b). Size of bacterial ice-nucleation sites measured *in situ* by radiation inactivation analysis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **85**, 1334-1338.

Green R.L., Corotto L.V., Warren G.J. (1988). Deletion mutagenesis of the ice nucleation gene from *Pseudomonas syringae* S203. *Mol. Gen. Genet.* **215**, 165-172.

Gutman A.B., Kligman A.M., Sclacca J. and James W.D. (2005). Soak and smear, a standard technique revisited. *Arch. Dermatol.*, **141**, 1556-1559.

Harrison M.D. (1988). Evaluation of the pathogenic and ecological characteristics of *Pseudomonas syringae* Strain 31A. Department of Plant Pathology and Weed Science, Fort Collins Colorado.

Hu X.L., Michaelides A. (2007). "Ice formation on kaolinite :lattice match or amphoterism », *Surface Science*, **601 (23)** : 5378-5381.

Hirano S.S., Upper C. D. (1986). Temporal, spatial and genetic variability of leaf-associated bacterial populations. In *Microbiology in phyllosphere* (ed. N. J. Fokkema and J. Van Den Heuvel), pp. 235-251. Cambridge University Press, London.

Joadar et al. (2005) Whole-genome sequence analysis of *Pseudomonas syringae* pv. Phaseolicola 1448A reveals divergence among pathovars in genes involved in virulence and transposition *J. bacteriol.* **187** , 6488-6498.

Kajava, A.V., Lindow, S.E. (1993). A model of the three-dimensional structures of ice nucleation proteins. *J. Mol. Biol.* **232**, 709-717.

Kligman A.M., Sadiq I, Zhen, Y., Crosby M. (2006). Experimental studies on the nature of sensitive skin. *Skin research and technology*, **12(4)**, 217-222.

Konno N., Makita H., Yuri K., Lizuka N., Kawasaki, K. (1994). Association between dietary iodine intake and prevalence of clinical hypothyroidism of the coastal regions of Japan. . *Clin. Endocrinol. Metab.* **78**, 393–397.

Kozloff L., Schofield M. A., Lute M. (1983). Ice nucleation activity of *Pseudomonas syringae* and *Erwinia herbicola*. *J. Bacteriol.* **153**, 222-231.

Kozloff L.M., Turner M. A., Arellano F., Lute M. (1991). Phosphatidylinositol, a phospholipid of ice nucleating bacteria. *J. Bacteriol.* **173**, 2053-2060.

Lindemann J., Constantinidiou H.A., Barchet W.R., Upper C.D.. (1982). Plants as source of airborne bacteria, including ice nucleation-active bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **44**, 1059-1063.

Lindow, S. E. (1995). Membrane fluidity as a factor in production and stability of bacterial ice nuclei active at high subfreezing temperatures. *Cryobiology* **32**, 247-258.

Lyautey E., Lapen D.R., Wilkes G., McCleary K., Pagotto F., Tyler K., Hartmann A., Piveteau P., Rieu A., Robertson W.J., Medeiros D.T., Edge T.A., Gannon V., Topp, E. (2007). Distribution and characteristics of *Listeria monocytogenes* isolates from surface waters of the south nation river watershed, Ontario, Canada. *Appl. Environ. Microbiol.* **73 (17)**, 5401-5410

Lindow S.E., Lahue E., Govindarajan A.G., Panopoulos N.J., Gies D. (1989). Localization of ice nucleation activity and the *iceC* gene product of *Pseudomonas syringae* and *Escherichia coli*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* **2**, 262-272.

Maki L.R., Galyan E.L., Chang-Chien M.N., Caldwell D.R. (1974). Ice nucleation induced by *Pseudomonas syringae*. *Appl. Microbiol.* **28**, 456-459.

McGarry H.F. (2007). The murine local lymph node assay: regulatory and potency considerations under REACH. *Toxicology*. **238(2-3)**, 71-89.

Mizuno H. (1989). Prediction of the conformation of the ice nucleation protein by conformational energy calculation. *Proteins* **5**, 47-65.

Morris C.E., Glaux C., Guilbaud C., Dominguez H., Buffière A., Georgakopoulos D., Sands D. C. (2008). The life history of the plant pathogen *Pseudomonas syringae* is linked to the water cycle. (manuscript under review, ISME Journal).

Ovod V., Rudolph K., Knirel Y., Krohn K.(1996) Immunochemical characterization of O polysaccharides composing the alpha-D-rhamnose backbone of lipopolysaccharide of *P. syringae* and classification of bacteria into serogroups O1 and O2 with monoclonal antibodies. *J Bacteriol.* **178(22)**, 6459-65.

Parker et al. (2000) « Bacterial survival in snow made from waste water » *Cemagref 2004*

Rogers S.O., Starmer W.T., Castello J.D. (2004) Recycling of pathogenic microbes through survival in ice. *Med Hypotheses*.; **63(5)**, 773-7.

Rosenman K.D., Moss A., Kon S. (1979). Clinical implications of exposure of silver nitrate and silver oxide. *J. Occup. Med.*, **21**, 430-435

Ruggles J.A., Nemecek-Marshall M., Fall R. (1993). Kinetics of appearance and disappearance of classes of bacterial ice nuclei support an aggregation model for ice nucleus assembly. *J. Bacteriol.* **175**, 7216-7221.

Rylander R., Wold A., Haglind P. (1982) Nasal antibodies against gram-negative bacteria in cotton-mill workers. *Int Arch Allergy Appl Immunol.* ; **69**, 330-4.

Shimazu M., Nguyen A., Mulchandani A., Chen W. (2003). Cell Surface Display of Organophosphorus Hydrolase in *Pseudomonas putida* using an ice-nucleation protein anchor. *Biotechnol. Prog.*, **19**, 1612-1614.

Smith S., Schaffner D.W. (2004). Evaluation of a *Clostridium perfringens* predictive model, developed under isothermal conditions in broth, to predict growth in ground beef during cooling. *Appl Environ Microbiol.* **70**, 2728-2733.

Sprang M. L., Lindow S. E. (1981). Subcellular localization and partial characterization of ice nucleating activity in *Pseudomonas syringae* and *Erwinia herbicola*. *Phytopathology* **71**, 256.

Turner M. A., Arellano F., Kozloff L. M. (1991). Components of ice nucleation structures of bacteria. *J. Bacteriol.* **173**, 6515-6527.

Vali G. (1971). Quantitative evaluation of experimental results on the heterogenous freezing nucleation of supercooled liquids. *J. Atmos. Sci.* **28**, 402-409.

Vali G. (1995). Principles of ice nucleation. In *Biological ice nucleation and its application* (ed. R. E. Lee, G. J. Warren and L. V. Gusta), pp. 1-28. APS Press, St Paul, Minnesota.

Warren G. (1995). Identification and analysis of *ina* genes and proteins. In *Biological ice nucleation and its application* (ed. R. E. Lee, G. J. Warren and L. V. Gusta), 85-99. APS Press, St Paul, Minnesota.

Warren G., Corotto L., Wolber P. (1986). Conserved repeats in diverged ice nucleation proteins structural genes from two species of *Pseudomonas syringae*. *Nucleic Acids Res.* **14** : 8047-8060.

Wolber P.K., Deininger C.A., Southworth M.W., Vandekerckhove J., Van Montagu, M., Warren G. J. (1986). Identification and purification of a bacterial ice-nucleation protein. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **83**, 7256-7260.

Zepeda Sein, C. (1998). Méthodes d'évaluation des risques zoonosés lors des échanges internationaux. Séminaire sur la sécurité zoonosés des échanges dans les Caraïbes. Puerto Espagnol, Trinidad-Tobago. 9-11 décembre 1997.

10.2 Rapports et ouvrages scientifiques

AFSSA (2003). Rapport sur la rage des chiroptères en France métropolitaine.

AFSSA (2006a). Avis du 15 mars 2006 relatif à l'évaluation du risque sanitaire pour l'homme lié à la présence dans l'eau destinée à la consommation humaine et divers effluents aqueux de virus Influenza aviaires. Saisine n°2005-SA-0332 .

AFSSA (2006b). Fiche de description de danger microbiologique transmissible par les aliments : hygiène domestique. 5p.

AFSSA (2007). Bilan des connaissances relatives aux virus transmissibles à l'homme par voie orale. 445 p.

AFSSET - CEMAGREF (2005). Rapport. Snomax et neige de culture. Bilan des recherches, réglementations ou bonnes pratiques nationales au niveau international.

Benier P. (2000). Principes et critères de planification de l'enneigement artificiel dans les alpes et préalpes vaudoises (Suisse). Rapport, Etat de Vaud, Département des infrastructures, service des transports. 71 p.

CEMAGREF. (2003). Neige de culture et Snomax : Quels impacts sur l'environnement ? 49p.

CIPRA (2004). Rapport de synthèse, Alpmedia.net, « L'enneigement artificiel dans l'arc alpin ».

Fresh, R. W. (1972). Microbial production of freezing nuclei from decomposing tree leaves. thesis, University of Wyoming.

FDRL (1985a). Primary dermal irritation study of *P.syringae* 31a in New Zealand White Rabbits. Food and Drug Research laboratories, Inc, Waverly, NY, September 1985

FDRL (1985b). Acute inhalation toxicity study of Snomax in Sprague Dawley rats. Food and Drug Research laboratories, Inc, Waverly, NY, September 1985

FDRL (1985c). Acute oral toxicity study of *P.syringae* 31a in New Zealand White rabbits. Food and Drug Research laboratories, Inc, Waverly, NY, September 1985

FDRL (1985d). Primary eye irritation study of *P.syringae* 31a in New Zealand White rabbits. Food and Drug Research laboratories, Inc, Waverly, NY, September 1985

FDRL (1987 a). Acute inhalation toxicity study of Snomax (0.08% solution) in Sprague Dawley rats. Food and Drug Research laboratories, Inc, Waverly, NY, March 1987

FDRL (1987 b). Acute inhalation toxicity study of Snomax (particulates) in Sprague Dawley rats. Food and Drug Research laboratories, Inc, Waverly, NY, March 1987

FDRL (1987 c). Acute dermal toxicity study of Snomax (EPA TSCA) in albino guinea pigs. Food and Drug Research laboratories, Inc, Waverly, NY, April 1987

GOODNOW R.A (1989). 2-week inhalation toxicity study with Snomax in the rat. Eastman Kodak Company. Rapport interne. 21p.

GOODNOW R.A (1999). Fiche microbiologique du Snomax. Rapport interne du fabricant.

Kulman G. (1993). Health Hazard Evaluation Report No. 89-348-228 SNOMAX National Institute for Occupational Safety and Health, (NIOSH, March 1993),

OCDE (2007). Climate change in the european Alps : adapting winter tourism and natural hazards management, Shardul Agrawala ed., 131 pages.

ODIT France – Observation, Développements et Ingénierie Touristique, (2006.) « Les chiffres clés du tourisme de montagne en France », 5^{ème} Edition.

ODIT France (2007) « Coûts de fonctionnement des installation de neige de culture en France – Saison 2005-06 », 7p.

OITC (2003). OITAF-news, janvier 2003. Working-group « environment forum », Committee n°4. Organisation Internationale des Transports à C âbles, 17p.

Rixen C., Schmid B. “Plant diversity x snow chemistry in an experimental sub-alpine grassland community”, 87th Annual Meeting of the Ecological Society of America, Tucson, Arizona, 4-9 août 2002.

Rixen C., Huovinen C., Huovinen K., Stöckli V., Schmid B. “A plant diversity x water chemistry experiment in subalpine grassland”, Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics, sous presse, doi:10.1016/j.ppees.2007.09.003.

Widehem-Gadonna P. (2000) Etude et mise en œuvre d'un agent biologique de la nucléation de la glace, *Pseudomonas syringae* : application à la congélation et à la cryoconcentration de liquides modèles –Thèse de Doctorat-Université de Technologie de Compiègne

10.3 Actualités scientifiques, communiqués de presse, liens internet

Alpine Convention : Commission Proposal on the conclusion, of behalf of the European Community, of the Protocol on Soil Protection, the Protocol on Energy and the Protocol on Tourism to the Alpine Convention, 2006/0026.

Alpine Officials' Manual, Chapter VII, United States Ski and Snowboard Association, Edition 2007-2008 : internal.ussa.org/aps/public/officials/alpine/welcome.asp

Association Nationale des Professionnels de la Neige de Culture
<http://www.anpnc.com/>

CEMAGREF (2004) – Poster : Quels impacts sur l'environnement ?

CIPRA - Commission Internationale pour la Protection des Alpes (2007). Edition mensuelle, février 2007 : www.cipra.org/pdfs/471_fr.

Schweitzer S., Wald und Umwelt . (2007) Untersuchungen zum einsatz von Schneehärter im Rahmen der 77. Lauberhornrennen 2007, Schlussbericht » : Edition mensuelle du CIPRA www.cipra.org/pdfs/471_fr.

10.4 Brevets

Hendricks, D., Ward, P. J., Orrego, S. A. (1992). Production of microorganisms having ice nucleation activity. U.S. Patent 5,137,815.

Lawless R. J. J., Laduca, R. J. (1992). Fermentation of microorganisms having ice nucleation activity using a temperature change. US Patent 5,153,134.

Philips, R.B. Baus T.A (2004), “Efficient snowmaking with polymer drag reduction”, US Patent n°6,797,191 B2.

10.5 Normes

NF X 50-110 (mai 2003) Qualité en expertise – Prescriptions générales de compétence pour une expertise. AFNOR (indice de classement X 50-110).

ANNEXES

Annexe 1 : Lettre de saisine



**MINISTÈRE DE L'ÉCOLOGIE ET DU
DEVELOPPEMENT DURABLE**
Direction des études économiques et
de l'évaluation environnementale
Direction de la prévention des
pollutions et des risques

**MINISTÈRE DES SOLIDARITÉS, DE LA SANTÉ
ET DE LA PROTECTION SOCIALE**
Direction générale de la santé
DGS/SD7A/761

Le directeur général de la santé

Le directeur des études économiques et de
l'évaluation environnementale

Le directeur de la prévention des pollutions
et des risques

à

Madame la directrice générale
Agence Française de Sécurité Sanitaire
Environnementale
27-31 Avenue du Général Leclerc
94701 MAISONS ALFORT

Paris, le **30 MAI 2005**

OBJET : Evaluation des risques sanitaires liés à l'utilisation d'adjuvants pour la fabrication de neige artificielle

Madame la directrice générale,

Depuis environ vingt ans des stations de sports d'hiver sont amenées à utiliser de la neige de culture pour assurer le bon enneigement des pistes. Parmi les avancées technologiques récentes on trouve l'utilisation d'adjuvants, et notamment le SNOMAX, qui permet d'améliorer le rendement de production de neige.

Le principe actif du SNOMAX est une protéine contenue dans la paroi cellulaire d'une bactérie, *Pseudomonas Syringae*, qui permet de réorienter les molécules d'eau et donc d'accélérer leur cristallisation. Cette protéine est extraite de cultures de bactéries et concentrée dans le produit SNOMAX. Le produit est stérilisé aux rayons X en fin de production.

Une étude sur l'impact de ce produit sur l'environnement a été réalisée par une équipe du CEMAGREF à Grenoble et par l'université de Turin, à la demande d'exploitants de stations de sports d'hiver et du fabricant du produit. Cette étude, présentée en avril 2004, conclut à l'absence d'impact du produit sur l'environnement, mais met en lumière la surmultiplication des micro-organismes préexistants dans l'eau, l'adjuvant créant un milieu de culture favorable.

Dans ce contexte, nous sollicitons l'expertise de votre agence afin de procéder à une évaluation des risques sanitaires engendrés par l'utilisation du SNOMAX, que ces risques soient engendrés par l'exposition directe à la protéine synthétisée par la bactérie *Pseudomonas Syringae*, ou qu'ils soient dus à la multiplication de germes présents dans le milieu que l'utilisation de SNOMAX favorise.

A cette fin nous vous demandons notamment de réaliser :

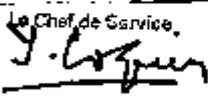
- une veille réglementaire et scientifique :
 - en dressant un bilan sur le statut réglementaire du SNOMAX au niveau international ;
 - en établissant la revue scientifique des études disponibles sur les risques sanitaires liés à son utilisation ;
- la caractérisation du risque sanitaire :
 - en collectant les données sur les propriétés biologiques et toxicologiques du SNOMAX. Il conviendra d'identifier clairement les données manquantes actuellement, et de déterminer les compléments d'information nécessaires ;
 - en analysant les informations relatives aux modalités d'utilisation de ce produit. L'efficacité du procédé d'inactivation des bactéries, en particulier, devra être étudiée ;
 - en quantifiant les sources, les méthodes de détection et les voies d'exposition ;
 - en procédant à une évaluation globale du risque, notamment pour les usagers des pistes (quid de l'exposition professionnelle ?). Il conviendra de distinguer les risques liés à une exposition directe au produit, et les risques liés à la multiplication des germes présents dans le milieu. Une attention particulière sera portée à la population sensible que constituent les enfants.

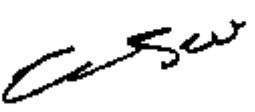
Plus généralement, vous voudrez bien vous rapprocher du CEMAGREF de Grenoble, qui a réalisé l'étude précitée et qui continue de travailler sur le sujet. Par ailleurs, vous pourrez éventuellement contacter le groupe GEODE (Groupe d'Étude des Organismes Disséminés dans l'Environnement) de la Commission d'Étude de la Toxicité du MAAPR, qui pourrait vous aider à déterminer les compléments d'information nécessaires pour vous prononcer sur les dangers et les risques liés à l'utilisation du SNOMAX.

Nous vous saurions gré de nous faire parvenir une note d'étape sur l'organisation de vos travaux en réponse à cette saisine pour le mois de septembre 2005 et un rapport final pour mars 2006.

Nos services se tiennent à votre disposition pour de plus amples renseignements.

Nous vous prions d'agréer, Madame la directrice générale, l'assurance de notre considération distinguée.

Pour Le directeur général de la santé
Le directeur général de la santé
 Le Chef de Service,

 Dr Yves COQUIN.

Le directeur des études
 économiques et de l'évaluation
 environnementale

 Guillaume SAINTENY

Le directeur de la prévention
 des pollutions et des risques,
 délégué aux risques majeurs

 Thierry TROUVE

Annexe 3 : Synthèse des déclarations publiques d'intérêts des experts par rapport au champ de la saisine

RAPPEL DES RUBRIQUES DE LA DECLARATION PUBLIQUE D'INTERETS

IP-A	Interventions ponctuelles : autres
IP-AC	Interventions ponctuelles : activités de conseil
IP-CC	Interventions ponctuelles : conférences, colloques, actions de formation
IP-RE	Interventions ponctuelles : rapports d'expertise
IP-SC	Interventions ponctuelles : travaux scientifiques, essais, etc.
LD	Liens durables ou permanents (Contrat de travail, rémunération régulière ...)
PF	Participation financière dans le capital d'une entreprise
SR	Autres liens sans rémunération ponctuelle (Parents salariés dans des entreprises visées précédemment)
SR-A	Autres liens sans rémunération ponctuelle (Participation à conseils d'administration, scientifiques d'une firme, société ou organisme professionnel)
VB	Activités donnant lieu à un versement au budget d'un organisme

SYNTHESE DES DECLARATIONS PUBLIQUES D'INTERETS DES MEMBRES DU CES PAR RAPPORT AU CHAMP DE LA SAISINE

NOM	Prénom <i>Rubrique de la DPI</i> Description de l'intérêt <i>en cas de lien déclaré</i>	Date de déclaration des intérêts
Analyse Afsset :		
ABSI Rafik		19 janvier 2007 04 mai 2007 21 juin 2007
Analyse Afsset :	Aucun lien déclaré /	
BALLET Jean-Jacques		22 janvier 2007 04 mai 2007 20 juin 2007
Analyse Afsset :	Aucun lien déclaré /	
BERJEAUD Jean-Marc		07 novembre 2006

		04 mai 2007 20 juin 2007
Analyse Afsset :	Aucun lien déclaré /	
BOUDENNE	Jean-Luc	27 octobre 2006 04 mai 2007 16 juin 2007 05 juillet 2007
Analyse Afsset :	Aucun lien déclaré /	
BRUGÈRE-PICOUX	Jeanne	27 novembre 2005 14 décembre 2006 03 juillet 2007
Analyse Afsset :	Aucun lien déclaré /	
CABILLIC	Pierre-Jean	09 novembre 2006 04 mai 2007 25 juin 2007
Analyse Afsset :	Aucun lien déclaré /	
CAMUS	Patrick	15 décembre 2006 04 mai 2007
Analyse Afsset :	Aucun lien déclaré /	
CREPPY	Edmond E.	18 janvier 2007 04 mai 2007 21 juin 2007
Analyse Afsset :	Aucun lien déclaré /	
CUDENNEC	Christophe	12 décembre 2006 04 mai 2007
Analyse Afsset :	Aucun lien déclaré /	
DAGOT	Christophe	09 novembre 2006 03 mai 2007
Analyse Afsset :	Aucun lien déclaré /	
DUKAN	Sam	30 octobre 2006 29 juin 2007 03 juillet 2007

	Aucun lien déclaré	
Analyse Afsset :	/	
GEHANNO	Jean-François	22 novembre 2005 21 novembre 2006 04 mai 2007
Analyse Afsset :	Aucun lien déclaré /	
GILLI	Éric	13 décembre 2006 20 juin 2007 02 juillet 2007
Analyse Afsset :	Aucun lien déclaré /	
GUT	Jean-Pierre	24 novembre 2005 28 novembre 2006 04 mai 2007
Analyse Afsset :	Aucun lien déclaré /	
HILAIRE	Didier	20 avril 2005 15 décembre 2006 04 mai 2007
Analyse Afsset :	Aucun lien déclaré /	
HUMBERT	Jean-François	10 juillet 2006 27 octobre 2006 04 mai 2007 10 juillet 2007
Analyse Afsset :	Aucun lien déclaré /	
LAKEL	Abdel	22 janvier 2007 04 mai 2007
Analyse Afsset :	Aucun lien déclaré /	
LE BÂCLE	Colette	16 janvier 2007 04 mai 2007
Analyse Afsset :	Aucun lien déclaré /	
LEDRU	Éric	08 janvier 2007 04 mai 2007 16 mai 2007

	Aucun lien déclaré	
Analyse Afsset :	/	
MARCHANDISE	Patrick	11 juin 2003 22 novembre 2005 16 mai 2006 27 novembre 2006 04 mai 2007 03 juillet 2007
	Aucun lien déclaré	
Analyse Afsset :	/	
MATHIEU	Laurence	03 juillet 2003 10 janvier 2005 21 octobre 2005 16 juin 2006 11 décembre 2006 03 juillet 2007
	Aucun lien déclaré	
Analyse Afsset :	/	
MOGUEDET	Gérard	17 janvier 2007 1 ^{er} octobre 2007
	Aucun lien déclaré	
Analyse Afsset :	/	
MORIN	Anne	17 janvier 2007 04 mai 2007
	Aucun lien déclaré	
Analyse Afsset :	/	
MOUNEYRAC	Catherine	03 janvier 2007 04 mai 2007
	Aucun lien déclaré	
Analyse Afsset :	/	
OCCHIALINI-CANTET	Alessandra	08 décembre 2006 04 mai 2007 19 juillet 2007
	Aucun lien déclaré	
Analyse Afsset :	/	
POURCHER	Anne-Marie	28 novembre 2006 27 juin 2007 03 juillet 2007
	Aucun lien déclaré	
Analyse Afsset :	/	

RAUZY Sylvie	19 janvier 2007 04 mai 2007 02 juillet 2007
Aucun lien déclaré Analyse Afsset : /	
RUNIGO-MAGIS Renée	16 janvier 2007 03 juillet 2007
Aucun lien déclaré Analyse Afsset : /	
SAUVANT-ROCHAT Marie-Pierre	30 novembre 2006 04 mai 2007 05 juillet 2007
Aucun lien déclaré Analyse Afsset : /	
TANDEAU DE MARSAC Nicole	14 novembre 2006 03 juillet 2007
Aucun lien déclaré Analyse Afsset : /	
TREMBLAY Michèle	16 novembre 2006 30 juin 2007 04 juillet 2007
Aucun lien déclaré Analyse Afsset : /	
TRIBOLLET Bernard	03 janvier 2005 17 mars 2005 15 novembre 2006 04 mai 2007
Aucun lien déclaré Analyse Afsset : /	
VILLENA Isabelle	08 novembre 2006 04 mai 2007 19 juillet 2007
Aucun lien déclaré Analyse Afsset : /	

SYNTHESE DES DECLARATIONS PUBLIQUES D'INTERETS DES MEMBRES DU GT PAR RAPPORT AU CHAMP DE LA SAISINE

NOM	Prénom <i>Rubrique de la DPI</i> Description de l'intérêt	Date de déclaration des intérêts
Analyse Afsset :		
ABSI	Rafik Aucun lien déclaré	19 janvier 2007 04 mai 2007 21 juin 2007
Analyse Afsset :	/	
BALLET	Jean-Jacques Aucun lien déclaré	22 janvier 2007 04 mai 2007 20 juin 2007
Analyse Afsset :	/	
BERJEAUD	Jean-Marc Aucun lien déclaré	07 novembre 2006 04 mai 2007 20 juin 2007
Analyse Afsset :	/	
BOUDENNE	Jean-Luc Aucun lien déclaré	27 octobre 2006 04 mai 2007 16 juin 2007 05 juillet 2007
Analyse Afsset :	/	
CHEVALIER	Sylvie Aucun lien déclaré	27 juin 2007 17 juillet 2007
Analyse Afsset :	/	
CREPPY	Edmond E. Aucun lien déclaré	18 janvier 2007 04 mai 2007 21 juin 2007
Analyse Afsset :	/	

GADONNA Jean-Pierre	18 juin 2007 17 juillet 2007
Aucun lien déclaré Analyse Afsset : /	
GADONNA-WIDEHEM Pascale	18 juin 2007 17 juillet 2007
Aucun lien déclaré Analyse Afsset : /	
GILLI Éric	13 décembre 2006 20 juin 2007 02 juillet 2007
Aucun lien déclaré Analyse Afsset : /	
MORRIS Cindy	29 juin 2007 17 juillet 2007
Aucun lien déclaré Analyse Afsset : /	

Annexe 4 : Les chiffres de l'enneigement artificiel en France et en Europe

En France, la surface concernée par l'enneigement artificiel est passée de 121 ha en 1984 à 4524 ha en 2005-2006 sur un total de 24 766 ha de pistes skiabiles, soit 18,3% de l'ensemble du domaine skiable français (ODIT France, 2007). Durant la même période, le nombre de stations de ski équipées d'enneigeurs est passé de 25 à 191, sur environ 329 domaines skiabiles élémentaires¹⁶, soit 58%. La progression de l'enneigement artificiel en France au cours des 20 dernières années est présentée à la figure A. La répartition par massifs montagneux est présentée au tableau A. Le pourcentage des pistes équipées d'un système d'enneigement artificiel dans les Alpes est présenté à la figure B.

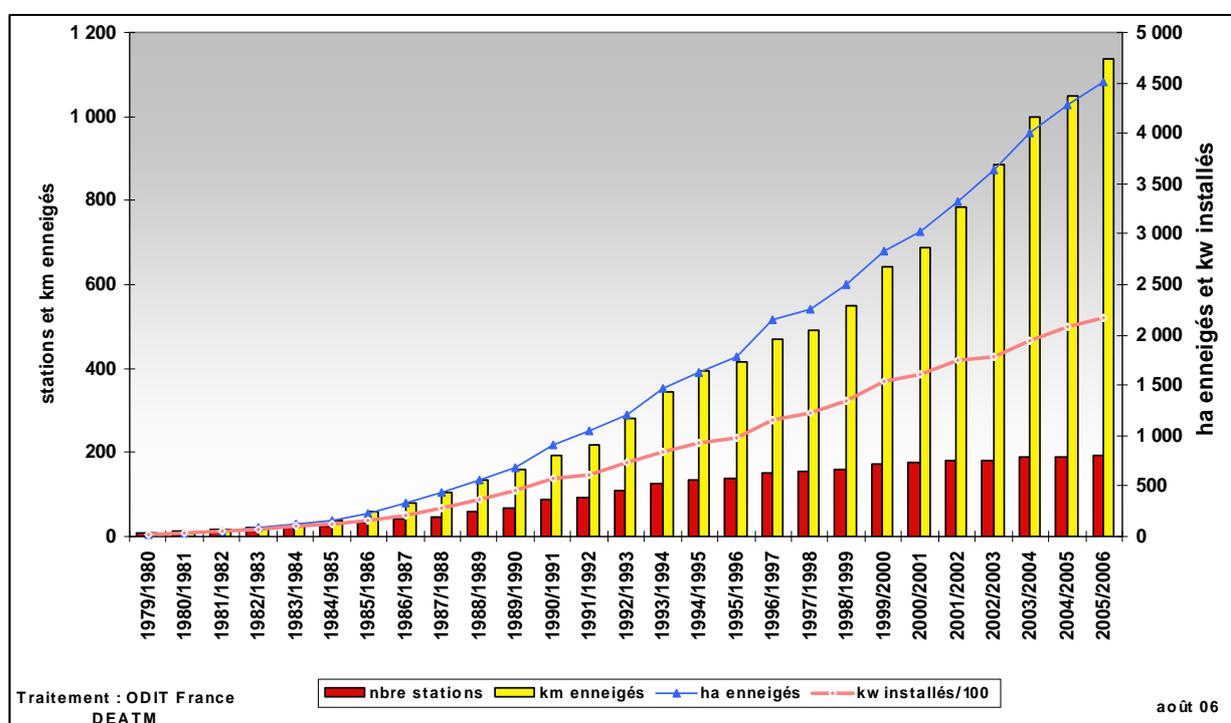
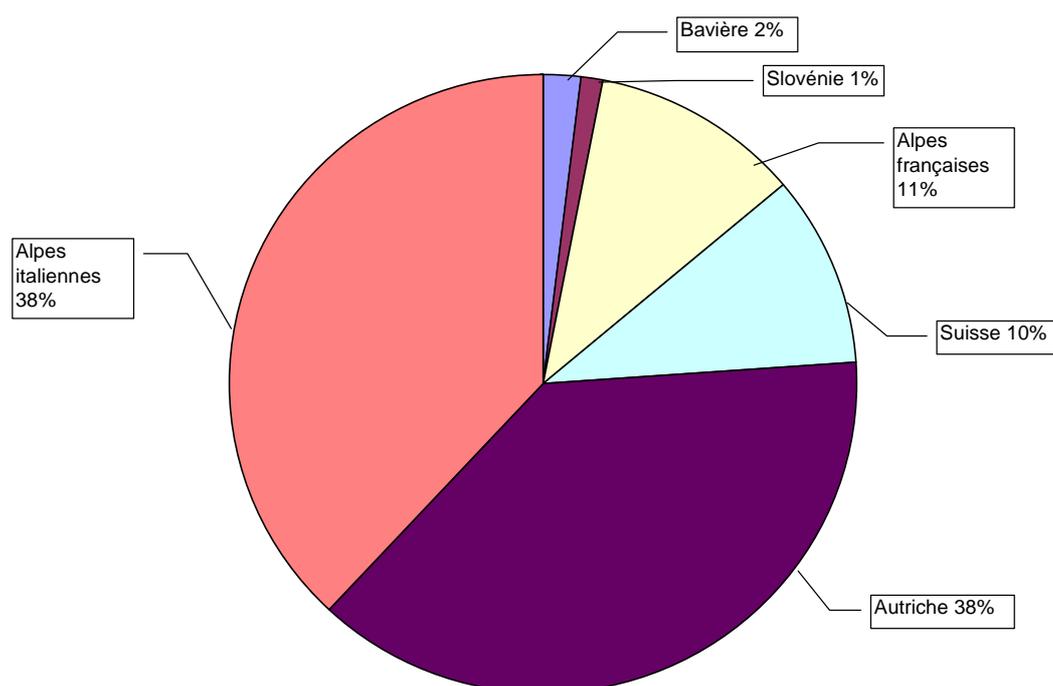


Figure A : Evolution de la surface artificiellement enneigée et de la puissance des installations d'enneigement en France (ODIT France, 2006).

¹⁶ Un domaine skiable élémentaire est défini par un exploitant unique et une continuité de l'offre de ski (le domaine peut être parcouru ski au pied dans son intégralité)

Tableau A : Proportion de l'enneigement artificiel et de la neige de culture par massif montagneux en 2005/2006 (ODIT France, 2007)

Massifs	Nombre de stations	Surfaces skiables (Ha)	Surfaces enneigées artificiellement (Ha)	Part relative de la neige de culture
Alpes du Nord	100	15 759	2 607	17 %
Alpes du Sud	38	4 924	1 070	22 %
Pyrénées	28	2 636	539	20 %
Massif Central	9	582	115	20 %
Jura	8	532	76	14 %
Vosges	8	333	117	35 %
Total	191	24 766	4 524	18 %

**Figure B: Pourcentage de pistes de ski équipées de systèmes d'enneigement artificiel dans les Alpes en 2004 (CIPRA, 2004)**

Le coût moyen de la fabrication d'un mètre cube de neige de culture est d'environ 0,8 € en 2006, dont 38% pour l'électricité, 20% pour l'amortissement des machines et 16% pour les charges de personnel (ODIT France 2007).

Selon ses capacités financières, le gestionnaire d'un domaine a le choix entre trois modes de gestion d'une installation de production de neige de culture (ODIT France, 2007) :

- faire fonctionner l'installation pendant toute la saison, dès que le potentiel de froid le permet. C'est la solution la plus coûteuse, mais la plus sûre si l'on dispose de réserves d'eau suffisantes et si les aléas d'enneigement sont importants ;
- faire fonctionner l'installation dès que le potentiel de froid le permet et tant que le manteau neigeux n'est pas solidement installé, et le reste du temps l'installation ne fonctionne qu'aux périodes les plus économiques ;
- privilégier la recherche d'une économie maximale en ne faisant fonctionner l'installation qu'aux heures creuses. Ce mode de gestion est intéressant lorsque le nombre d'heures de froid est important. La production de neige de culture intervient alors en complément d'un enneigement naturel satisfaisant pour prolonger la période d'ouverture de la station.

Annexe 5 : La fabrication de la neige de culture (principe et procédés)

Le principe de fabrication de la neige de culture décrit ci-dessous a été rédigé sur la base des données recueillies sur le site internet de l'Association nationale des directeurs des pistes et de la sécurité de stations de sports d'hivers¹⁷ et du rapport de Philippe Bénier (Bénier 2000).

Le principe de fabrication de la neige de culture consiste à projeter, grâce à de l'air comprimé, de petites gouttes d'eau dans de l'air ambiant à température négative afin d'initier la formation de cristaux de neige. Ce processus peut être découpé en 6 étapes successives et/ou concomitantes :

- l'atomisation (pulvérisation de l'eau en fines gouttelettes dans l'air ambiant) ;
- la nucléation (formation en parallèle des microcristaux de glace pour ensemercer le flux d'eau pulvérisée) ;
- l'insémination (rencontre du flux d'eau atomisée et du flux de nucléation) ;
- la dispersion (dispenser l'eau dans l'air ambiant, soit par détente d'air comprimé, soit par détente d'eau sous pression, soit par le flux d'air d'un ventilateur, soit par la combinaison des trois techniques) ;
- l'évaporation (évaporation de l'eau présente en périphérie de la gouttelette au contact de l'air ambiant, ce qui permet sa congélation) ;
- la convection (échange de chaleur entre l'air et l'eau, étape importante pour maintenir la gouttelette d'eau dans son état solide cristallisé).

L'étape 2 (nucléation) peut être elle-même divisée en 4 sous-étapes :

- mélange air/eau sous pression avec une très forte proportion en air dans la chambre d'un nucléateur ;
- expulsion et fragmentation du mélange par un orifice finement calibré du nucléateur ;
- détente brutale de l'air qui provoque un fort refroidissement ambiant en sortie du nucléateur ;
- cristallisation immédiate à température négative des particules d'eau formant ainsi des noyaux de nucléation.

En théorie, cette étape de nucléation fait intervenir deux phénomènes :

- soit les molécules d'eau du liquide s'arrangent en petits noyaux ou *nuclei* de façon à rompre cet état liquide, c'est ce qu'on appelle la nucléation homogène ;
- soit la surfusion est rompue par la présence d'impuretés, de particules qui ont une conformation proche de la glace et dans ce cas la nucléation est dite hétérogène (cas du Snomax).

¹⁷ <http://www.anpnc.com/>

Généralement la nucléation homogène nécessite une température plus basse que pour la nucléation hétérogène. La nucléation hétérogène est donc privilégiée pour la fabrication de la neige artificielle.

Les enneigeurs classiques

Cette catégorie est subdivisée en deux technologies distinctes :

- le système mono-fluide ou « basse pression » (BP) ;
- le système bi-fluide ou « haute pression » (HP).

Le système mono-fluide ou BP (cf. figures C et D) :

L'eau est amenée sous pression à partir d'un groupe propulseur central jusqu'à un générateur-ventilateur mono-fluide. Deux principes de pulvérisation de l'eau existent. Dans le premier, plusieurs gicleurs de section fixe ou variable sont disposés sur une ou plusieurs couronnes à la sortie de l'appareil. Dans le deuxième, une buse centrale motorisée à section variable est installée à la sortie de l'appareil.

L'ajustement du débit d'eau s'effectue soit en augmentant le nombre de gicleurs à section fixe soit en ajustant la section de passage de la buse centrale.

Les gouttelettes formées sont propulsées par le flux d'air à basse pression produit par le ventilateur électrique de l'appareil.

La nucléation est produite séparément à l'aide de gicleurs spécifiques utilisant de l'eau et de l'air sous pression. L'air comprimé est produit par un compresseur embarqué. Les germes de nucléation formés sont propulsés dans le jet principal.

Ces enneigeurs sont en règle générale montés sur des supports mobiles (châssis avec roues ou luge). Leur fonctionnement peut être manuel, autonome (automatisme embarqué) ou dépendant d'un système de gestion centralisé.

Un tel mode d'enneigement exige un raccordement électrique sur les pistes ou la présence d'un générateur à moteur à combustion interne.

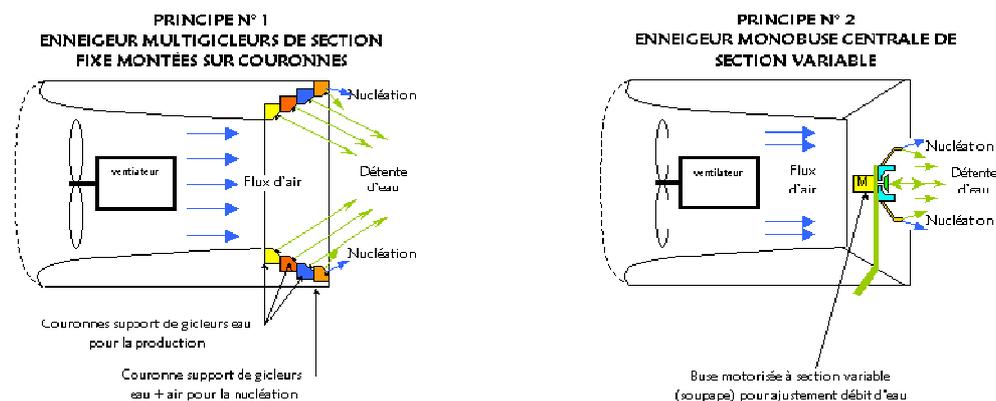


Figure C : Schémas de l'enneigreur multigicleur (à gauche) et de l'enneigreur monobuse (à droite) (<http://www.anpnc.com/>)



Figure D : photographies d'un enneigeur multigicleur (à gauche) et de l'enneigeur monobuse (à droite) (<http://www.anpnc.com/>)

Le système bi-fluide ou HP (cf. figure E et F)

Dans ce type de système, le mélange air/eau est réalisé en interne ou en externe



**Figure E : Tête productrice enneigeur bi-fluide
(source : <http://www.anpnc.com/>)**

Le système bi-fluide à mélange interne

L'air et l'eau sont introduits sous pression dans une chambre de mélange. La détente de l'air à la sortie des gicleurs permet la fragmentation de l'eau et la production des germes de nucléation. La production de l'enneigreur sera proportionnelle au débit d'eau et à la température de l'air.

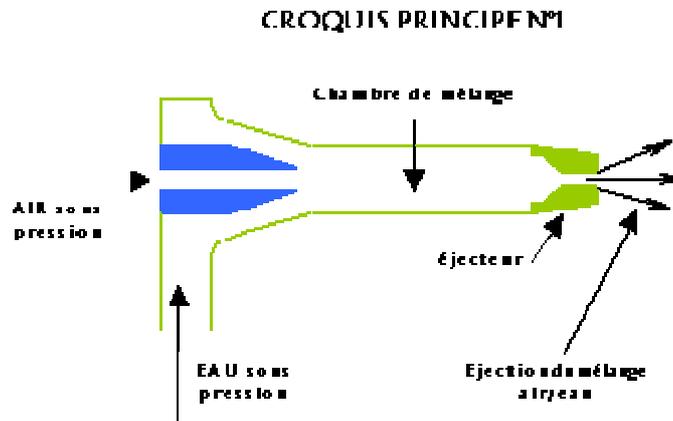


Figure F : Principe de l'enneigreur bi-fluide à mélange interne
(source : <http://www.anpnc.com/>)

Le système bi-fluide à mélange externe (cf. figure G)

La fragmentation de l'eau sous pression est obtenue par une détente au travers d'un ou de plusieurs gicleurs de section fixe ou variable. L'air comprimé est expulsé séparément de l'eau par des gicleurs spécifiques afin de produire par détente et refroidissement les germes de nucléation.

L'ajustement du débit d'eau s'effectue soit en augmentant le nombre de gicleurs d'eau opérationnels, soit en faisant varier leur section de passage.

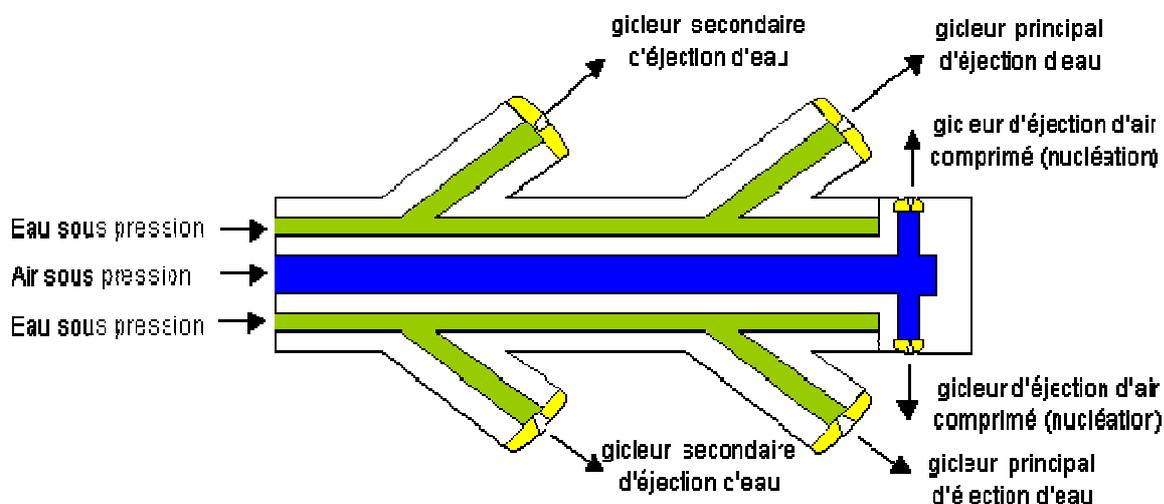


Figure G : Principe de l'enneigreur bi-fluide à mélange externe
(source : <http://www.anpnc.com/>)

Les enneigeurs bifluïdes sont généralement fixes et peuvent être implantés en hauteur entre de 6 et 12 m au bout d'une perche. Ils sont associés à un système de pilotage.

Le tableau B résume les principales caractéristiques de chaque type d'enneigeurs.

Tableau B : comparatif technique des enneigeurs « classiques »
(données du constructeur Johnson Controls - York Neige)

Type d'enneigeur	bi-fluide		Mono-fluide
	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
Débit d'eau (m ³ /h)	3 - 25	2,3 - 28	3-32
Débit d'air (Nm ³ /h)	-	21 - 92	
Pression d'eau (bars)	7-11	15 - 80	15-45
Plage de production optimum (°C TH)	-2/-15	-2/-20	-2/-15
Projection (m)	10 à 40	5 à 40	10 à 60
mobilité	Fixe sur perche	Fixe sur perche ou mobile sur chariot 3 roues	Sur roues ou lame chenillette

La technologie Snowline®

A la différence des enneigeurs haute et basse pression utilisés pour produire régulièrement de grandes quantités de neige, la technologie Snowline® trouve son intérêt dans la fabrication ponctuelle de neige, pour des événements sportifs par exemple ou des animations.

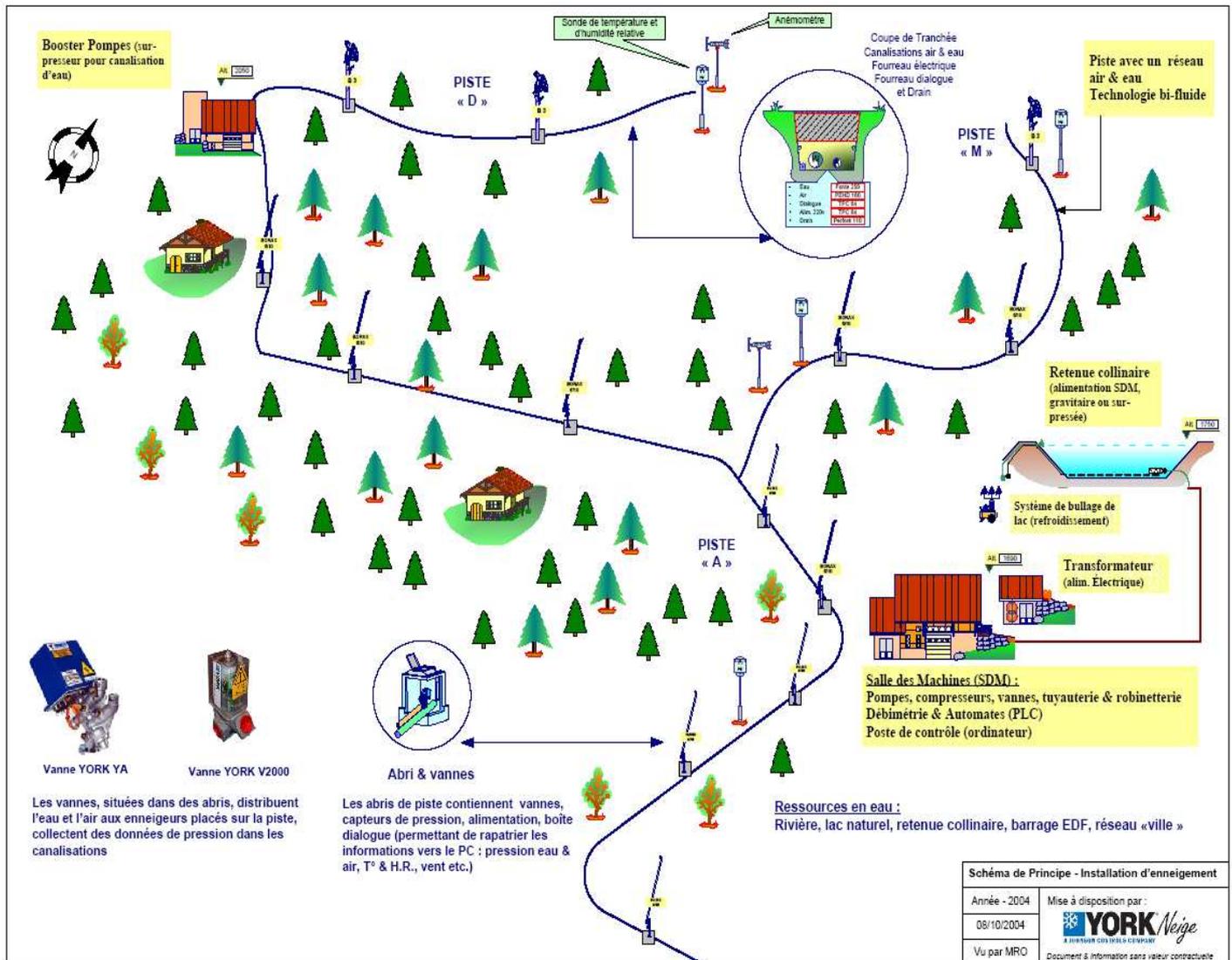
Le principe de fabrication est différent des enneigeurs classiques : des générateurs produisent de la glace qui est très finement broyée pour constituer des noyaux de nucléation. Le Snomax® n'est donc d'aucune utilité pour cette technologie. De l'air comprimé et réfrigéré expulse l'ensemble sur la piste par des canons de soufflage. Ce système encore difficilement applicable à très grande échelle, présente l'avantage de fonctionner en conditions extrêmes de température (de -16°C à +22°C). En revanche sa production reste faible (de 50 à 300 m³ par jour) et sa consommation électrique est plus importante que les systèmes classiques.

Les équipements périphériques et les aménagements de l'installation d'enneigement artificiel

Un exemple de schéma d'installation d'enneigement artificiel (IEA) est fourni en annexe 4. Les enneigeurs sont disposés en série sur plusieurs lignes ramifiées le long des pistes de ski. Hormis les enneigeurs, une installation d'enneigement artificiel nécessite divers équipements et aménagement (une station de pompage, un bassin d'accumulation, un transformateur électrique et des transformateurs, un bâtiment de production, des conduites de transport, et divers équipements annexes installés sur les canalisations tels que clapets

casse-vidé, prises d'air, ventouses, vannes de vidange, robinets de débits de fuite, filtres, soupapes de sécurité, puits et regards d'intervention...).

Annexe 6 : Schéma d'une installation d'enneigement artificiel



Annexe 7 : Les additifs utilisés pour durcir la neige

Les termes « durcisseurs », « solidifieurs » ou « compacteurs » de la neige sont couramment employés pour caractériser ces produits mais désignent en fait des actions différentes.

Dans le cas de produits induisant des réactions exothermiques, on parle de solidifieurs ou de compacteurs car l'eau est évaporée lors de la réaction.

Dans le cas de produits induisant des réactions endothermiques, on parle de durcisseur car l'eau incorporée dans les cristaux de neige est transformée en glace.

Description et fonctionnement

Les durcisseurs de neige sont utilisés pour solidifier la neige de culture ou la neige naturelle fraîchement tombée, notamment avant les compétitions de ski. Ce sont des composés chimiques qui, directement répandus sur la neige sous forme pure ou après dilution dans de l'eau, vont permettre l'évaporation ou la glaciation de l'eau.

Ces composés sont :

- soit des sels et notamment les sels de chlorure (de sodium - NaCl, de potassium -KCl, de magnésium - MgCl₂, de calcium - CaCl₂) et les nitrates d'ammonium (NH₄NO₃) ;
- soit des composés organiques comme l'urée (également dénommée carboxamide) - NH₂CONH₂.

On peut classer ces produits suivant leurs formulations chimiques et leurs propriétés thermodynamiques (réactions exothermiques ou endothermiques). Les doses d'application de ces additifs peuvent différer légèrement selon le taux hygrométrique et la température de la neige. Une synthèse est proposée au tableau C.

La plupart des produits commercialisés combine l'utilisation d'un ou plusieurs de ces composés. En particulier, le mélange d'un composé exothermique avec un composé endothermique va permettre d'obtenir des cinétiques de cristallisation plus rapides.

Tableau C : Classification des additifs utilisés pour améliorer la qualité de la neige en place sur les pistes.

Produit / substances	Enthalpie	Température limite basse d'utilisation	Dose d'application
Chlorure de sodium (NaCl) - Halite	endothermique	-7°C	± 250 g/m ²
Chlorure de potassium (KCl) - Sylvite	endothermique	-7°C	± 430 g/m ²
Chlorure de magnésium (MgCl ₂)	exothermique	-15°C	± 720 g/m ²
Chlorure de calcium (CaCl ₂)	exothermique	-32°C	± 900 g/m ²
Urée -NH ₂ CONH ₂ - Carboxamide	endothermique	-7°C	± 680 g/m ²
Nitrate d'ammonium -NH ₄ NO ₃ -	endothermique		50 à 200 g/m ²

Les produits commercialisés et/ou utilisés par les stations de ski

Une société commercialise deux produits composés de nitrate d'ammonium (NH₄NO₃) et de chlorure de calcium (CaCl₂). Leur commercialisation en France n'est pas connue du groupe de travail. L'un d'entre eux permet un durcissement de la neige même sous la pluie et à température élevée.

Pour des raisons de coûts, certaines stations de ski substituent ces produits par d'autres de composition similaire mais commercialisés pour un tout autre usage. C'est par exemple le cas d'un engrais à vocation agronomique riche en azote (34,5% d'azote total sous forme nitrates et d'ammonium) et en chlorure de magnésium (MgCl₂). Utilisé en grande quantité lors d'une compétition suisse, des résidus ont été retrouvés en quantité dans les eaux de fonte des neiges et dans le milieu hydrique (Schweitzer, 2007 ; CIPRA, 2007).

Toutes ces substances et les produits qui les contiennent constituent des apports importants en sels nutritifs pour l'eau de fonte des neiges et pour les sols. Ils sont donc susceptibles de générer des impacts environnementaux non négligeables aussi bien sur la microflore et la macroflore des sols que sur la qualité de la ressource en eaux via la fonte des neiges. Ces effets ont été partiellement étudiés (Rixen & Schmid, 2002 ; Rixen et al., 2007).

Annexe 8 : Modélisation de la structure tridimensionnelle de la protéine de nucléation

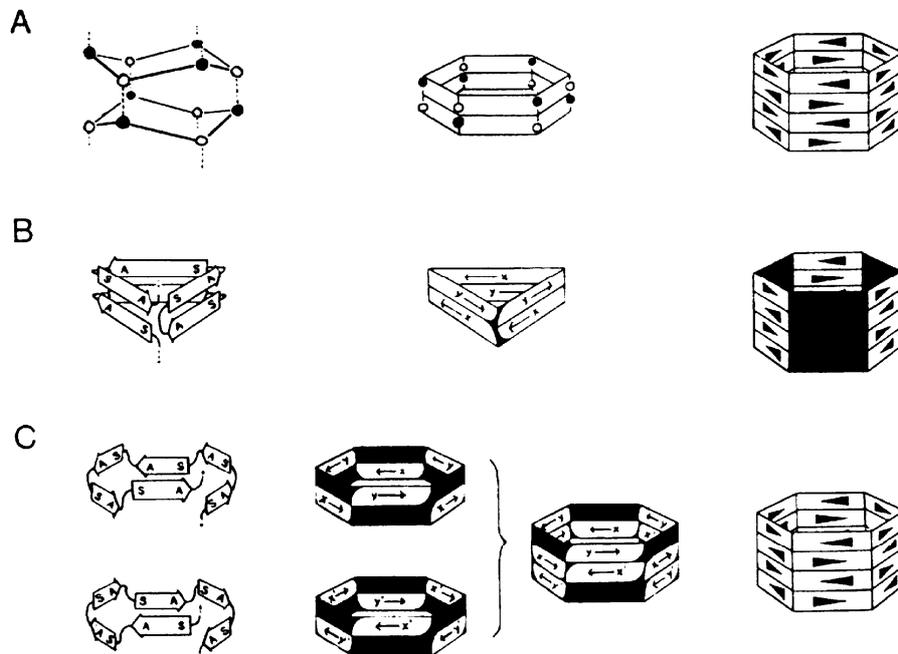
Différents modèles ont été élaborés à partir des constatations suivantes :

- le fort taux d'homologie des séquences nucléotidiques dans la région répétitive semble indiquer que cette région serait au contact de la glace,
- l'arrangement de la protéine doit se faire de telle sorte qu'elle puisse former des ponts hydrogène complémentaires à la glace (puisque le contraire formerait une protéine antigel).

Le modèle de Warren et al. 1986

Warren *et al.* 1986 ont élaboré un modèle reflétant la structure secondaire de la protéine ina. Les parties N- et C-terminal seraient riches en α -hélices et en feuillets- β typiques d'une protéine globulaire tandis que la partie répétitive consisterait en une alternance de feuillets- β et d'enroulements au hasard. Ils se sont basés sur la périodicité 16 ou 48 résidus pour définir deux modèles tri-dimensionnels : triangulaire ou hexagonal.

Modèles suggérés par Warren *et al.* 1986 (A: glace; B: modèle triangulaire ; C: modèle hexagonal) :



Le modèle de Mizuno (1989)

Dans ce modèle, les périodicités 16 ou 48 résidus ne sont pas prises en compte. La protéine serait une hélice dont chaque octapeptide prend une conformation identique tandis que la molécule d'eau viendrait se placer au centre. Cependant, pour des problèmes de

stéréochimie, ce modèle semble très peu probable. En effet, du fait de l'encombrement stérique, il est difficile d'envisager la formation de ponts hydrogène entre l'eau et la protéine.

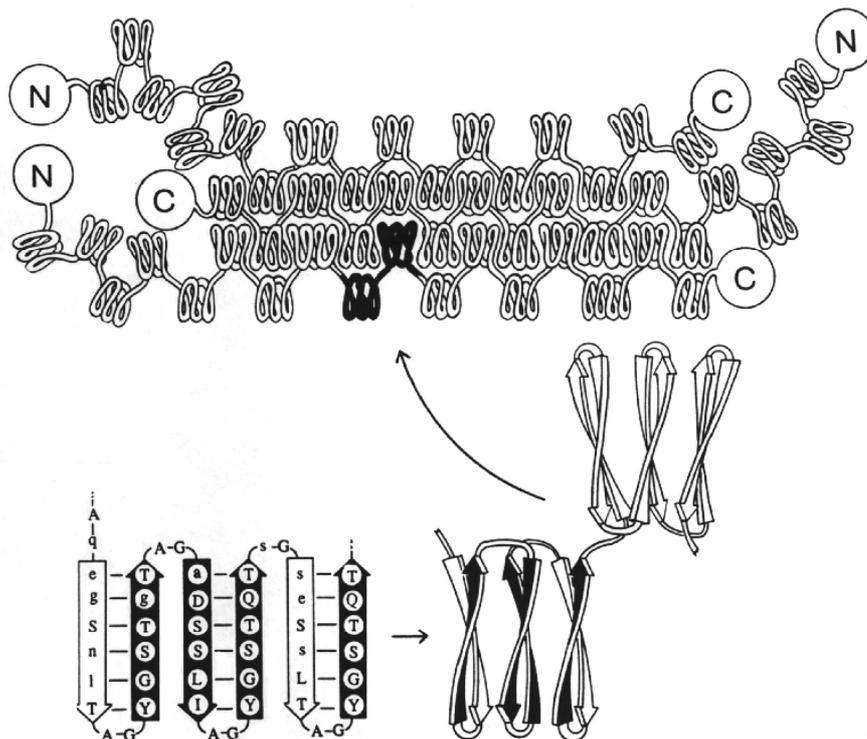
La protéine formerait des brins anti-parallèles orientés de façon à présenter un arrangement donneur-accepteur identique à la glace, pour aboutir à une structure β en épingle à cheveux. Ce modèle est basé sur plusieurs constatations :

- la périodicité de la structure primaire ; 8-, 16-, 48- résidus d'acides aminés ;
- la présence de résidus glycine qui pourraient intervenir dans la formation de la boucle reliant deux brins, et la présence de résidus sérine et thréonine placés au centre de ces brins β de façon à former des liaisons avec la glace ;
- la longueur des brins β de ce modèle qui correspond à la longueur moyenne d'autres protéines de même structure ;
- la conservation de certains acides aminés dans les structures répétitives qui pourraient ainsi créer le véritable lien avec la glace.

Modèle de Kajava et Lindow (1993)

Contrairement aux deux modèles précédents, le modèle de Kajava et Lindow est le seul qui prenne en compte la relation de type donneur-accepteur avec la glace.

L'ensemble de ces modèles ne définit cependant pas clairement le mécanisme liant la structure de la protéine à la membrane que l'on sait pourtant indispensable à une bonne activité du site.



Annexe 9 : Calcul du nombre de cellules *P. syringae* apportées à l'environnement.

Ce calcul est réalisé sur la base du protocole d'utilisation préconisé par le fabricant. Il a ensuite été validé par comparaison d'une part avec les travaux de thèse de Widehem-Gadonna¹⁸ (2000), avec les données relatives à la composition macromoléculaire d'une cellule *E. coli* et avec les résultats de comptage effectué dans le laboratoire de Pathologie végétale de l'INRA de Montfavet (résultats non publiés effectués par Morris¹⁸).

Détails du calcul :

Hendricks et al. (1992) ont développé un protocole permettant la formation de 10^{11} noyaux de nucléation par gramme de cellules sèches *P. syringae*. En 1992, Lawless et Laduca ont obtenu une fréquence de nucléation proche de 1 noyau actif pour 1 à 10 cellules *P. syringae*. Sur cette base estimée d'un noyau actif par 1 à 10 cellules, les experts ont calculé une quantité de 10^{11} à 10^{12} cellules *P. syringae* par gramme de produit Snomax®.

Validation du résultat :

Dans ses travaux, Widehem-Gadonna a cherché à optimiser la croissance de la souche CIP 7420 ainsi que le nombre de noyaux actifs par cellule.

Après croissance sur milieu liquide (selon méthode optimisée par Blondeaux et Cochet, 1994), les cellules sont récupérées par centrifugation puis lyophilisées. Après réhydratation du lyophilisat à raison de 53 ± 2 mg dans 100 mL d'eau stérile, une concentration cellulaire d'environ 10^9 cellules/mL a été mesurée. Par déduction, 1 g de lyophilisat contient $1,9 \cdot 10^{12}$ cellules.

Les experts ont choisi de comparer ces données avec celles connues pour *E. Coli* pour les raisons suivantes :

- *E. coli* est la bactérie de référence pour les microbiologistes pour laquelle on trouve facilement des données dans la littérature,
- Le diamètre moyen et la longueur de *E. coli* (0,5 μ m de diamètre sur 2 μ m) sont très proches de celle des *Pseudomonas* (de 0,5 à 1,0 μ m de diamètre sur 1,5 à 5,0 μ m).

Par comparaison avec la bactérie *E. coli*, sachant qu'une cellule *E. coli* a un poids sec de $2,8 \cdot 10^{-13}$ g, le nombre de cellules sèches dans 1 g est de $3,5 \cdot 10^{12}$ bactéries.

Les analyses menées dans le laboratoire de pathologie végétale de l'INRA de Montfavet confortent également ce calcul. Des aliquots de volume connu de plusieurs dilutions d'une suspension de Snomax® à 10 mg/mL ont été observées sous un microscope à l'aide d'une cellule de Malassez¹⁹. Le facteur de dilution de la suspension à 10 mg/mL est de 1/20, le volume des champs observés est de $5 \cdot 10^{-4}$ μ L. Le nombre de cellules comptées par champ (champ n°1 à 20) est le suivant :

¹⁸ expert du groupe de travail de l'Afsset

¹⁹ Outil dédié au comptage des particules sous microscope

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
15	37	35	46	32	49	34	46	34	41	28	51	22	49	30	48	13	51	29	39

Le comptage fait état d'une moyenne de 38 cellules par champ de 5.10^{-4} μL pour une dilution de 1/20, soit $1,5.10^6$ bactéries/ μL d'une suspension de Snomax® à 10 mg/mL, soit $1,5.10^9$ bactéries pour 10 mg. On peut donc estimer la présence de $1,5.10^{11}$ bactéries par gramme de Snomax®.

Toutes ces données brevetées, expérimentales ou publiées tendent donc à montrer que l'on dénombre entre 10^{11} à 10^{12} cellules de *P. syringae* par gramme de Snomax®.

La concentration de Snomax® en sortie d'enneigeur étant de 0,8 g de Snomax®/m³, les experts calculent un nombre de 8.10^{10} à 8.10^{11} cellules par m³ d'eau pulvérisée. Selon les travaux de Morris et al. (2008), cela représente une quantité équivalente au nombre de bactéries totales (cultivables) des eaux de montagne, toutes espèces confondues. En revanche, cette quantité de cellules de *P. syringae* apportée par le Snomax® est supérieure d'un facteur de 10^5 à 10^6 à la quantité de cellules de *P. syringae* naturellement présentes dans les eaux de montagne.

TABLEAU 1.1 — Composition globale en macromolécules d'une cellule moyenne d'*E. coli* B/r*

Macromolécule	Pourcentage du poids sec total	Masse par cellule (10^{15} × grammes)	Poids moléculaire	Nombre de molécules par cellule	Sortes de molécules différentes
Protéines	55,0	155,0	$4,0 \times 10^4$	2 360 000	1 050
ARN	20,5	59,0			
ARNr 23S		31,0	$1,0 \times 10^6$	18 700	1
ARNr 16S		16,0	$5,0 \times 10^5$	18 700	1
ARNr 5S		1,0	$3,9 \times 10^4$	18 700	1
ARNt messagers		8,6	$2,5 \times 10^4$	205 000	60
		2,4	$1,0 \times 10^6$	1 380	400
ADN	3,1	9,0	$2,5 \times 10^9$	2,13	1
Lipides	9,1	26,0	705	22 000 000	4 ^b
Lipopolysaccharide	3,4	10,0	4 346	1 200 000	1
Muréine	2,5	7,0	$(904)_n$	1	1
Glycogène	2,5	7,0	$1,0 \times 10^6$	4 360	1
Total des macromolécules	96,1	273,0			
Réserve soluble	2,9	8,0			
briques élémentaires		7,0			
métabolites, vitamines		1,0			
Ions inorganiques	1,0	3,0			
Poids secs total	100,0	284,0			
Masse sèche par cellule		$2,8 \times 10^{-13}$ g			
Eau (pour 70 % de la cellule)		$6,7 \times 10^{-13}$ g			
Masse totale d'une cellule		$9,5 \times 10^{-13}$ g			

a. En croissance balancée à 37 °C en milieu minimal au glucose, avec un temps de doublement de la masse, μ , de 40 minutes. Ces données ont été compilées à partir de Denis et Bremer (1974), Maałøe (1979), F.C. Neidhardt (non publié), Roberts et coll. (1955) et Umbarger (1977).

b. Il y a quatre classes de phospholipides, chacune d'elles comportant de nombreuses variétés du fait de la nature variable des résidus d'acides gras.

Annexe 10 : Fiche de données de sécurité du produit Snomax®



Product Name: Snomax®, Snow Inducer

1

MATERIAL SAFETY DATA SHEET

SECTION I PRODUCT INFORMATION

Product Name: Snomax Snow Inducer

Product Code : SMXIN

Chemical Name: *Pseudomonas Syringuae*

Manufacturer / Supplier:

York Snow, Inc-
1433 Pittsford-Victor Rd.
Victor, NY 14564
800-724-0046
716-249-0147 (fax)

SECTION 2 - HAZARDOUS INGREDIENTS

Principal Hazardous Components	TLV	PEL	CAS Number :
<i>Pseudomonas Syringuae (31A)</i>	None established	None established	None established

Levels of endotoxin in the product container airspace has been demonstrated to be lower than those hazardous to humans.

SECTION 3 - PHYSICAL DATA

Boiling Point: NA Specific Gravity (H₂O = 1): NA Vapor pressure (mm Hg): NA

Vapor Density (Air =1): NA Solubility in Water: Soluble Percent Volatile (by weight): NA

Evaporation Rate Appearance and Odor: Brown, dry pellets
(butyl acetate = 1): NA

SECTION 4 - FIRE AND EXPLOSION HAZARD DATA

Flashpoint (test method): NA Auto Ignition Temperature: NA

Flammable Limits In Air, Volume %:

Lower Limit: NA Upper Limit : NA

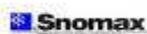
Extinguishing Media: No special requirements Special Firefighting Procedure: No Special Requirements
Unusual Fire and Explosion Hazards: if the pellets reduced in particle size from the form as delivered, this material in sufficient quantity is capable of creating a dust explosion

SECTION 5 - REACTIVITY DATA

Stability: Stable: Conditions to Avoid: None knownUnstable: Incompatibility (Materials to avoid): None known

Hazardous Decomposition Hazardous May Occur Conditions to avoid-, None known

Products: None known Polymerization: Will Not Occur:



Product Name: Snomax®, Snow Inducer

2

Section 6 - TOXICOLOGICAL PROPERTIES**Acute Effects:**

Swallowed: Amounts which will be swallowed incidental to industrial handling are not likely to cause injury

Eye Contact: Low hazard for usual handling. However, any material that contacts the eye may be irritating or cause mechanical injury

Skin Contact: Low hazard for usual handling. Avoid contact if cuts or abrasion on the skin

Inhalation: This product is produced in pellet form, and as such, is a low hazard for dust generation. Breathing of dust may cause coughing and throat irritation

Chronic Effects: None Known

Medical Conditions Generally Aggravated by Exposure: Now known

Chemical Listed as Carcinogen or Potential Carcinogen:	National Toxicology Program:	Yes:	L.A.R.C Monographs:	Yes:	OSHA:	Yes:
		No: <input checked="" type="checkbox"/>		No: <input checked="" type="checkbox"/>		NO: <input checked="" type="checkbox"/>

SECTION 7 - FIRST AID PROCEDURES

Swallowed: Rinse mouth and throat thoroughly with water

Skin: Wash thoroughly with soap and water

Eyes: Flush eyes thoroughly with water, Consult physician

Inhaled: Remove from exposure. If symptoms are present get medical attention

SECTION 8 - PROTECTION AND PREVENTIVE MEASURE

Respiratory Protection: According to FDA figures, endotoxin levels in the package air space are below levels known to cause health risks in humans

Ventilation: Good general room ventilation should be used

Eye Protection: Safety glasses, goggles

Protective Gloves: Should be worn if there are cuts or abrasion on the skin

SECTION 9 - STORAGE AND DISPOSAL

Storage and Handling Precautions: Maintain good housekeeping

Waste Disposal Methods: Landfill absorbed material in closed container or flush to waste sewer as Federal, State and Local laws and regulations allow

Spill, Leak and Disposal Procedures: Vacuum or wet material and absorb with inert materials and transfer to containers for disposal. Minimize aerosolization (dust formation) during clean-up



Product Name: Snomax®, Snow Inducer

3

The above information is based on data available to us and considered to be accurate. However, NO WARRANTY is expressed or implied regarding the accuracy of this information, the results to be obtained from the use thereof, or the hazards connected with the use of the material. As the information contained herein may be applied under conditions beyond our control and with which we are unfamiliar, we do not assume any responsibility for the results of its use. This information is furnished upon the condition that the persons receiving it shall make their own determinations of the effects, properties and protections which pertain to their particular conditions.

Supersedes: September 9, 1993

Date of Issue: December 20, 1998

NA - Not applicable

ND - Not determined

Notes



**agence française de sécurité sanitaire
de l'environnement et du travail**

253, avenue du Général Leclerc
94701 Maisons-Alfort Cedex
Tél. +33 1 56 29 19 30
afsset@afsset.fr

www.afsset.fr

ISBN 978-2-11-097828-8

