

Bogumiła Szponar et al.<sup>1</sup>

## *Exposition microbienne intérieure à une actinobactérie aéroportée chez le personnel du centre de compostage de champignons*

Les *Actinobacteria* sont des composantes majeures de bioaérosols émis par les installations de compostage. Les spores de *Saccharopolyspora*, *Streptomyces* et les genres de *Thermoactinomyces* (*Firmicutes*) sont responsables de la pneumopathie d'hypersensibilité<sup>2</sup> et d'autres graves effets nocifs sur la santé<sup>3</sup>. Actinobactéries sporulées du genre *Nocardiosis* sont des agents pathogènes opportunistes et des agents étiologiques de mycétome, des lésions cutanées, des infections pulmonaires et de l'alvéolite. Jusqu'à présent, les *Nocardiosis* n'a pas été signalé dans les bioaérosols comme un microorganisme d'une importance majeure dans l'installation de compostage.

Ici, nous décrivons une souche actinobactérienne isolée de l'air d'une installation de production de compost pour champignons en Pologne. Le service de santé et de sécurité au travail avait été informé d'un certain nombre de plaintes respiratoires chez les employés directement impliqués dans la production, ainsi que chez un copropriétaire de l'installation utilisée dans les locaux. Pour trouver une cause possible de ces afflictions microbiologiques, les bactéries en suspension ont été isolées et cultivées.

<sup>1</sup> L'article a été préparé en collaboration avec Mariola Paściak et Krzysztof Pawlik de Institut d'Immunologie et de Thérapie expérimentale de l'Académie Polonaise des Sciences à Wrocław et avec Justyna Skóra et Beata Gutarowska de l'Institut de Technologie de fermentation et de Microbiologie de l'Université technique de Łódź.

<sup>2</sup> Michael C. Zacharisen, Jordan N. Fink, « Hypersensitivity Pneumonitis and Related Conditions in the Work Environment », *Immunology and Allergy Clinics of North America*, vol. 31, 2011, p. 769-786 ; Jiru Xu, J. R. Rao, B. Cherie Millar, J. Stuart Elborn, James Evans, John G. Barr, John E. Moore, « Improved Molecular Identification of *Thermoactinomyces* spp. Associated with Mushroom Worker's Lung by 16S rDNA Sequence Typing », *Journal of Medical Microbiology*, vol. 51, 2002, p. 1117-1127 ; John E. Moore, Jiru Xu, B. Cherie Millar, J. Stuart Elborn, J. R. Rao, « Identification of an Organism Associated with Mushroom Worker's Lung », *Compost Science & Utilization*, vol. 12, 2004, p. 192-195.

<sup>3</sup> Steven L. Kagen, Jordan N. Fink, Donald P. Schlueter, Viswanath P. Kurup, Robert B. Fruchtman, « *Streptomyces albus* : a New Cause of Hypersensitivity Pneumonitis », *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, vol. 68, 1981, p. 295-299 ; John Lacey, Jacek Dutkiewicz, « Bioaerosols and Occupational Lung Disease », *Journal of Aerosol Science*, vol. 25, 1994, p. 1371-1404.

## Résultats

Les bactéries en suspension ont été détectées dans tous les lieux d'étude. Le plus grand nombre d'actinobactéries a été observé dans le hall de production de compost ( $2,6 \times 10^3$  CFU/m<sup>3</sup>). Des valeurs élevées ont été identifiées aussi dans le bâtiment du laboratoire et du bureau (Tableau 1).

Les résultats de l'identification des bactéries en suspension dans le hall de production, des micro-organismes présents sur les surfaces solides et dans le compost révèlent l'existence d'une souche actinobactérienne (PCM 2702), trouvée dans les bioaérosols, dans l'échantillon de compost et sur les surfaces solides. Quatre espèces bactériennes (*Bacillus*, *G. thermoglucosidasius*, *M. mesophilicum*, *M. lylae*) étaient présentes dans les bioaérosols et dans le compost (Tableau 2). La majorité des souches ont été isolées seulement de bioaérosols.

À la base des résultats ci-dessus, la souche actinobactérienne avec un mycélium aérien, qui a été dominante dans chaque emplacement, a été choisie et soumise à une identification taxonomique précise. Les propriétés physiologiques et les études chimiotoxonomiques ont montré que l'isolat de l'air avait un profil chimique compatible avec le genre *Nocardiopsis*, à savoir la paroi cellulaire chimiotype III, le profil d'acide gras (Tableau 3), le type de phospholipides et glycolipides caractéristiques III. L'analyse ADNr 16S de la séquence du gène a révélé que la souche représentait le taxon *Nocardiopsis alba*.

La souche PCM 2702 était présente dans la salle de production, le bureau et la maison du propriétaire, mais n'a jamais été détectée dans l'air extérieur échantillonné à une distance de 1 km du lieu de compostage, suggérant une relation étroite avec l'environnement microbien de l'installation de compostage.

## Discussion

La présence des actinobactéries sporulées en milieu professionnel peut causer éventuellement des problèmes de santé. Le dysfonctionnement le plus répandu est la pneumopathie d'hypersensibilité causée principalement par *Saccharopolyspora rectivirgula*, *Thermoactinomyces vulgaris* et *T. candidus*. Récemment, un cas de la maladie de poumons d'un fermier a été décrit, où les réactions

positives par immunodétection contre *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus terreus* et *N. alba* ont été enregistrées<sup>4</sup>. Par conséquent, il ne peut pas être exclu que *Nocardiosis alba* provoque une pneumopathie d'hypersensibilité chez les occupants des bâtiments à l'emplacement étudié.

Le rôle de *Nocardiosis dassonvillei* dans les maladies broncho-pulmonaires a été rapporté dans une étude des actinobactéries en suspension, impliquées dans les infections chez des patients au Nigeria<sup>5</sup>. Parmi quarante et un patients atteints de dysfonctionnements broncho-pulmonaires, *N. dassonvillei* a été détecté chez deux. De plus, notre groupe<sup>6</sup> a identifié *N. dassonvillei* comme le seul agent étiologique de l'infection pulmonaire sévère. L'identification de marqueurs glycolipides a été confirmée par des études d'homologie ADN/ADN.

En outre, les *Nocardiosis* ont été précédemment rapportés dans l'environnement intérieur endommagé par l'eau<sup>7</sup> et ont été considérés comme toxiques car ils produisaient des toxines (solubles dans le méthanol, donc volatiles)<sup>8</sup> potentiellement dangereuses pour la santé humaine<sup>9</sup>.

La souche actinobactérienne *N. alba* PCM 2702, isolée dans l'installation de production de compost, a été fortement dominante dans l'environnement et ainsi, elle représentait une exposition professionnelle pour les employés. Il convient de noter que

<sup>4</sup> Kohsuke Imai, Jun-Ichi Ashitani, Yoshifumi Imazu, Shigehisa Yanagi, Yoshifumi Imazu, Masatoshi Tokojima, Masamitsu Nakazato, « Farmer's Lung Cases of a Farmer and His Son with High BAL Fluid Beta-D Glucan Levels », *Nihon Kokyuki Gakkai Zasshi*, vol. 42, 2004, p. 1024-1029.

<sup>5</sup> Harish C. Gugrani, I. C. Unaogu, Frederique Provost, Patrick Boiron, « Pulmonary Infection Due to *Nocardiosis dassonvillei*, *Gordona sputi*, *Rhodococcus rhodochrous*, and *Micromonospora* sp. in Nigeria and Literature Review », *Journal of Medical Mycology*, vol. 8, 1998, p. 21-25.

<sup>6</sup> Halina Mordarska, Jolanta Zakrzewska-Czerwińska, Mariola Paściak, Bogumiła Szponar, Stefan Rowiński, « Rare, Suppurative Pulmonary Infection Caused by *Nocardiosis dassonvillei* Recognized by Glycolipid Markers », *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, vol. 21, 1998, p. 47-55.

<sup>7</sup> Maria A. Andersson, Norbert Weiss, Fred A. Rainey, Mirja S. Salkinoja-Salonen, « Dust-borne Bacteria in Animal Sheds, Schools and Children's Day Care Centers », *Journal of Applied Microbiology*, vol. 86, 1999, p. 622-634.

<sup>8</sup> Joanna Peltola, Maria A. Andersson, Tari Haahtela, Helena Mussalo-Rauhamaa, Fred A. Rainey, Reiner M. Kroppenstedt et al., « Toxic-metabolite-producing Bacteria and Fungus in an Indoor Environment », *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 67, 2001, p. 3269-3274.

<sup>9</sup> Joanna S. P. Peltola, Maria A. Andersson, Peter Kämpfer, Georg Auling, Reiner M. Kroppenstedt, Hans-Jürgen Busse et al., « Isolation of Toxigenic *Nocardiosis* Strains from Indoor Environments and Description of Two New *Nocardiosis* species, *N. exhalans* sp. nov. and *N. umidischolae* sp. nov. », *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 67, 2001, p. 4293-4304.

les travailleurs et les membres de la famille du propriétaire (séjournant dans la maison près de l'installation) se plaignaient des symptômes chroniques : des maux de tête et de la faiblesse, un cas d'asthme bronchique a été noté aussi.

La biodisponibilité de *N. alba* dans l'installation de compostage crée un risque potentiel pour la santé des travailleurs et donc la protection des voies respiratoires et/ou de la peau est fortement recommandée.

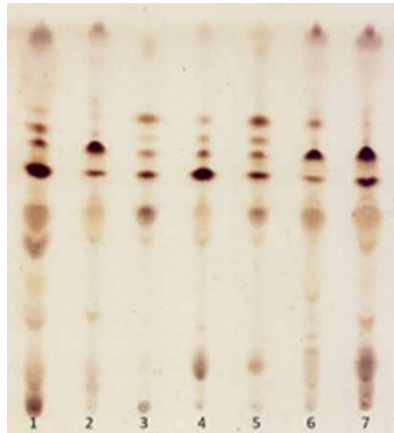


Fig. 1. La chromatographie sur couche mince de glycolipides de *Nocardioopsis*. 1. *N. dassonvillei*, 2. *N. albobubida*, 3. souche PCM 2702, 4. *N. alba*, 5. souche PCM 2702, 6. *N. prasina*, 7. *N. antarcticus*. Système de solvant : chloroforme-méthanol-eau (65:25:4, v/v/v). Détection : réactif orcinol.

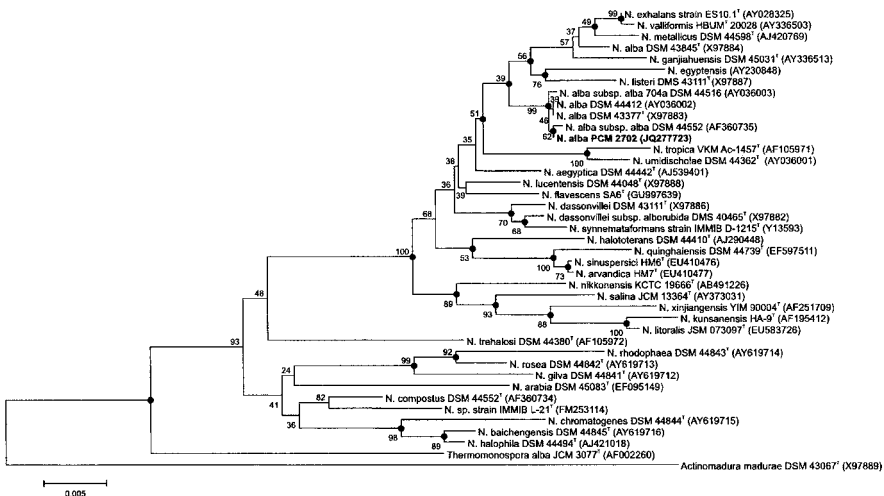


Fig. 2. L'arbre phylogénétique construit à l'aide des séquences génétiques de l'ARN ribosomique 16S illustrant les espèces et les souches étroitement apparentées à la souche PCM 2702.

localisation	nombre d'échantillons	nombre de bactéries (cfu/m <sup>3</sup> )		actinobactéries avec un mycélium aérien (cfu/m <sup>3</sup> )	
		valeur moyenne	SD	valeur moyenne	SD
installation de compostage des champignons	9	4,5 x 10 <sup>4</sup>	1,6 x 10 <sup>4</sup>	2,6 x 10 <sup>3</sup>	9,3 x 10 <sup>2</sup>
laboratoire / bureau entrée de l'immeuble	2	5,3 x 10 <sup>4</sup>	7,1 x 10 <sup>4</sup>	2,4 x 10 <sup>3</sup>	5,7 x 10 <sup>2</sup>
laboratoire / bureau	7	9,3 x 10 <sup>3</sup>	1,4 x 10 <sup>4</sup>	7,5 x 10 <sup>2</sup>	1,0 x 10 <sup>3</sup>
entrée de la maison du propriétaire	2	4,8 x 10 <sup>3</sup>	1,4 x 10 <sup>3</sup>	7,4 x 10 <sup>1</sup>	8,3 x 10 <sup>1</sup>
maison du propriétaire	9	7,2 x 10 <sup>2</sup>	4,2 x 10 <sup>2</sup>	1,5 x 10 <sup>2</sup>	1,3 x 10 <sup>2</sup>
voiture du propriétaire	2	8,0 x 10 <sup>2</sup>	9,9 x 10 <sup>2</sup>	1,0 x 10 <sup>1</sup>	1,4 x 10 <sup>1</sup>
l'air extérieur aux environs de l'installation de compostage	5	6,0 x 10 <sup>1</sup>	4,9 x 10 <sup>1</sup>	0,0	0,0

Tableau 1. Bactéries en suspension détectées dans l'installation de compost des champignons et dans ses environs.

a.



b.



Fig. 3. La souche PCM 2702 isolée dans l'installation de compostage des champignons : a. gélose nutritive, 30°C, 72 heures ; b. coloration de Gram, microscope optique 1200x.

bactérie	air	surface solide	compost
<i>Bacillus cereus</i>	✓	✓	
<i>Bacillus lentus</i>	✓		
<i>Bacillus licheniformis</i>			✓
<i>Bacillus</i>	✓		✓
<i>Brevibacillus</i>			✓
<i>Brevundimonas vesicularis</i>			✓
<i>Geobacillus</i>	✓		
<i>Geobacillus thermoglucosidarius</i>	✓		✓
<i>Kocuria varians</i>	✓		
<i>Methylobacterium mesophilicum</i>	✓		✓
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	✓	✓	
<i>Micrococcus lylae</i>	✓		✓
<i>Micrococcus</i>	✓		
<i>Pseudomonas mendocina</i>		✓	
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	✓		
<i>Staphylococcus lentus</i>	✓		
<i>Staphylococcus sciuri</i>	✓		
souche actinobactérienne/ <i>Nocardiosis</i>	✓	✓	✓

Tableau 2. Bactéries détectées dans l'air, sur les surfaces solides et dans le compost dans l'installation de compostage (hall de production).

	souche PCM 2702	<i>N. alba</i> PCM 2496	<i>N. prasina</i> PCM 2493
iso-14:0	0,58	0,68	2,23
anteiso-15:0	1,77	1,73	7,58
iso-16:0	47,54	41,26	37,97
16:0	1,78	4,13	6,46
iso-17:0	1,1	1,08	0
anteiso-17:0	7,88	10,4	15,84
17:0	0	0	6,67
br-18:0	3,54	3,59	0
iso/anteiso-18:0	10,85	8,9	2,24
18:1	0,73	1,29	4,09
18:0	4,3	6,33	16,02
TBS	19,94	20,61	0,89

Tableau 3. L'analyse des acides gras de souche PCM 2702, *N. alba* PCM 2496 et *N. prasina* PCM 2493 ; % des acides gras totaux.

## Streszczenie

### *Narażenie zawodowe pracowników na aktynobakterie w powietrzu pomieszczeń zakładu produkcji kompostu do hodowli pieczarek*

Aktynobakterie (*Actinobacteria*) wchodzą w skład bioaerozolu w różnych środowiskach pracy i stanowią zagrożenie dla zdrowia pracowników, szczególnie jeśli chodzi o zachorowania na przewlekłe choroby płuc i alergie. Bakterie z rodzaju *Nocardiosis* należą do patogenów oportunistycznych i są czynnikiem etiologicznym mycetomy, zmian skórnych, zapalenia pęcherzyków płucnych i infekcji płuc. W pracy przedstawiono identyfikację szczepu aktynobakterii, izolowanego w zakładzie produkcji kompostu do pieczarek. Bezpośrednią przyczyną interwencji były częste i długotrwałe schorzenia układu oddechowego, zgłaszane przez pracowników zaangażowanych w produkcję oraz przez właścicieli obiektu. W pracy zastosowano strategię taksonomiczną obejmującą klasyczne metody mikrobiologiczne oraz analizę glikolipidów – markerów chemicznych aktynobakterii.

**Bogumiła Szponar** est microbiologiste à l'Institut d'Immunologie et de Thérapie expérimentale de l'Académie Polonaise des Sciences à Wrocław au Laboratoire de Microbiologie médicale. Elle est également chef du Laboratoire de chimie générale. Elle mène des recherches sur l'exposition des gens aux microorganismes et à leurs produits, qui sont présents dans l'air d'intérieur – dans des appartements, maisons et lieux de travail, où l'homme moderne passe la plupart du temps. Les résultats ont été corrélés à la présence de maladies chroniques des voies respiratoires, notamment l'asthme et les allergies. Dans ses travaux, elle analyse des marqueurs chimiques des microorganismes déterminés en utilisant le gaz chromatographie-spectrométrie de masse. Grâce aux résultats de ses recherches, les marqueurs de l'endotoxine (3-hydroxy acides gras) ont été déterminés dans le sang et les tissus des animaux au cours de maladies chroniques non transmissibles.