

# Le traitement des déchets organiques génère-t-il des aérosols microbiens pouvant être dangereux pour les opérateurs ?

Michel GAUTIER | michel.gautier@agrocampus-ouest.fr

Agrocampus Ouest-INRA, UMR STLO, Rennes

Mots clés : **Aérosols, bactéries, compost, endotoxines, méthanisation, moisissures, microorganismes pathogènes**

Si la flore microbienne intervenant dans la dégradation de la matière organique du compostage\* est depuis assez longtemps étudiée, celle composant les bioaérosols\* l'est beaucoup moins. Elle devient cependant, depuis quelques années, un sujet d'intérêt en raison de son implication dans diverses pathologies respiratoires, digestives et cutanées dont souffrent les opérateurs manipulant ces déchets organiques ainsi que certains riverains près de plateformes de compostage (1,2). Même si la température élevée que génère le compost, inactive un grand nombre d'espèces microbiennes pathogènes présentes dans la matière première, certaines, dont des opportunistes thermophiles, peuvent s'y multiplier et contaminer les personnes en contacts avec les aérosols. De plus, les températures élevées lysent les cellules bactériennes, ce qui libère des toxines (3) dans les aérosols. La nette progression des pratiques de compostage, qu'elles soient privées ou industrielles, ainsi que les nouvelles orientations incluant des matières organiques plus diversifiées, telles que celles d'origine animale, soulignent l'intérêt pour la caractérisation de ces bioaérosols. Un des objectifs de cette meilleure connaissance serait de mettre en place des mesures permettant la protection des opérateurs. Les deux publications analysées ici traitent de l'identification et de la quantification de la flore microbienne issue de composts (Bonifait et al.) ou issue du traitement de la matière organique avant et après méthanisation\* (Dubuis et al.).

## Exposition des opérateurs à des bio-aérosols générés par plateformes de compostage

BONIFAIT L. et al. (2017). Workers' exposure to bioaerosols from three different types of composting facilities. *Journal of Occupational and Environmental Hygiene*, 14 (10) : p.815-822.

### Résumé

L'objectif de ce travail était de déterminer si les aérosols issus du compostage pouvaient véhiculer des microorganismes pathogènes et présenter un risque pour les opérateurs manipulant les déchets organiques. Les bioaérosols issus du compostage de trois types de déchets organiques (herbe fraîche, fumier et foin; carcasses de porc et placenta) ont été prélevés et analysés. Les dénombrements de la flore bactérienne et fongique, des actinomycètes thermophiles et d'*Aspergillus fumigatus* ont été réalisés sur milieux gélosés. La flore totale bactérienne et certaines espèces, dont des pathogènes opportunistes, ont été spécifiquement dénombrées par PCRq\* : parmi les moisissures, on retrouve les genres *Penicillium* et *Aspergillus* et l'espèce *Aspergillus fumigatus* et parmi les bactéries, les genres *Mycobacterium*, et *Legionella* et les espèces *Legionella pneumophila* et *Saccharopolyspora rectivirgula*. Quel que soit le compost, en dehors des opérations de maintenance, il existe une charge microbienne totale de l'air non négligeable, qu'elle soit fongique ou bactérienne. Cependant cette charge augmente de manière significative durant les opérations de

manutention (apport des matières premières, déchiquetage et tamisage) pour atteindre une concentration maximale de  $1,6 \times 10^5$  UFC\*/m<sup>3</sup> pour les bactéries et  $2,5 \times 10^5$  UFC/m<sup>3</sup> pour les moisissures. Une augmentation des actinomycètes thermophiles et d'*Aspergillus fumigatus* est observée dans les trois composts. L'analyse par PCRq montre une évolution semblable mais des niveaux beaucoup élevés de contamination (notamment une flore bactérienne totale estimée à  $6,16 \times 10^7$  copies de génome /m<sup>3</sup>). *Saccharopolyspora rectivirgula* ainsi qu'*Aspergillus fumigatus*, dont on connaît l'implication dans des pathologies d'hypersensibilité pulmonaire\*, ont été détectés à des niveaux non négligeables dans les trois aérosols. Certaines bactéries pathogènes (*Mycobacterium* sp., *Legionella pneumophila*), ont été retrouvées à des concentrations pouvant présenter, d'après l'auteur, un risque pour la santé des opérateurs.

### Commentaire

Les travaux portant sur l'identification et le dénombrement de la flore microbienne générée par les aérosols issus de la manipulation des déchets organiques en compostage sont assez rares, c'est pourquoi ils méritent d'être relevés (4). Le compostage étant une pratique en nette progression autant chez le particulier que dans les collectivités, il est notamment important de rechercher les flores pathogènes connues comme étant aéroportées et responsables de maladie chez les opérateurs (5,6). Les résultats les plus marquants concernent d'une part, une augmentation de plusieurs

logarithmes décimaux de la flore microbienne des aérosols lors de la maintenance des déchets organiques en compostage et d'autre part, la présence d'espèces pathogènes opportunistes de l'homme pouvant infecter celui-ci par voie aéro-portée. Les résultats obtenus par les techniques de biologie moléculaire reflètent certainement mieux la réalité que ceux obtenus par culture car il est bien établi que la flore non cultivable de l'air est de loin la plus importante en diversité et en quantité. Même si la PCRq inclut aussi les cellules mortes intègres ainsi que l'ADN libre provenant de cellules lysées, il n'en demeure pas moins que certains pathogènes peuvent être à l'origine de toxines, c'est pourquoi elles méritent d'être aussi prises en compte. Cependant il serait plus judicieux d'essayer de quantifier la (les) toxine(s) et de fixer un niveau au-delà duquel l'inhalation par les travailleurs pourrait entraîner des signes cliniques. Ces travaux montrent qu'il est nécessaire de fixer des seuils microbiens consensuels à ne pas dépasser lors de la manutention afin de protéger les opérateurs. Les auteurs n'ont recherché que les opportunistes aéroportés avérés et non les autres pathogènes que l'on peut retrouver dans le compost. Il serait intéressant de savoir si n'importe-quel microorganisme présent dans les déchets organiques en compostage peut se retrouver dans les bioaérosols ou si uniquement certains types s'y retrouvent de manière prépondérante. Dans ce second cas, il conviendrait d'identifier quels sont les mécanismes qui conduisent à la sélection d'un certain type de microorganismes dans ces aérosols. Même si les techniques de séquençage à haut débit abordées dans l'article de Dubuis et al. permettent d'identifier un plus grand nombre de pathogènes, la recherche de ces derniers ne peut être effectuée sur tous les composts. Par conséquent dans la mesure où il est impossible de mettre en évidence tous les microorganismes pathogènes pouvant potentiellement être aéroportés, on ne peut que conseiller fortement aux opérateurs, l'utilisation systématique d'équipement de protection individuel (EPI) tels que les masques de protection respiratoire.

### Identification et quantification des bioaérosols dans les zones de travail d'installations de biométhanisation

DUBUIS ME. et al. (2017). Bioaerosols concentrations in working areas in biomethanization facilities. *Journal of the Air & Waste Management Association*, 67(11) : p.1158-1271.

#### Résumé

Cette étude visait à identifier et quantifier les populations microbiennes, dont certains microorganismes pathogènes ou opportunistes, ainsi que certains de leurs composés toxiques présents dans les aérosols générés lors de la préparation de la matière organique avant biométhanisation\*. Deux installations canadiennes présentant des caractéristiques technologiques différentes ont été suivies en hiver et en été. Les flores totales en bactéries et moisissures présentes dans les aérosols issus de plusieurs sites (7 au total) d'installations ont été dénombrées par culture sur milieux gélosés et par PCRq. Certains pathogènes ont été dénombrés par PCRq, dans certaines flores. Les endotoxines microbiennes notamment les  $\beta$ -D glucanes\* ont été quantifiées. Enfin, des techniques de séquençage à haut débit\* ont permis d'identifier les principaux genres bactériens présents dans ces aérosols. Trois

sites sur les 7 suivis présentaient un niveau de flore bactérienne totale légèrement supérieur aux recommandations ( $10^4$  UFC/m<sup>3</sup>) de l'IRSSST (l'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et sécurité du travail, Québec). Le niveau des moisissures était en dessous des seuils critiques. Parmi les pathogènes aéroportés dénombrés par PCRq (*Saccharopolyspora rectivirgula*, *Legionella spp.*, *Legionella pneumophila* et *Mycobacterium spp.*), seules les mycobactéries étaient en quantité importante dans tous les prélèvements examinés. Le niveau des endotoxines et  $\beta$ -D glucanes recherchés était en dessous des recommandations du DECOS en 2010 (Dutch Expert Committee on Occupational Safety)(7). Le séquençage haut débit de l'ADN total des aérosols a permis d'identifier un nombre important de genres bactériens dont vingt majoritaires ont été décrits dans l'étude. Ceux-ci sont assez semblables d'une installation à l'autre. Il existe cependant quelques différences probablement dues à la nature des déchets organiques utilisés, aux différences technologiques des deux systèmes et au fait que, pour l'une des deux installations, des prélèvements effectués après méthanisation ont également été analysés.

#### Commentaire

Comme précédemment évoqué, les travaux sur les bioaérosols sont rares et méritent d'être relevés. Les travaux de séquençage montrent qu'une très grande diversité d'espèces bactériennes peut être présente dans les aérosols issus de la matière organique impliquée dans les opérations de biométhanisation. Comme évoqué précédemment, il n'est pas certain que les bactéries identifiées ici soient encore viables, car la technique utilisée permet aussi le séquençage de bactéries lysées ou de cellules bactériennes mortes qui sont encore intègres. La même remarque peut être faite pour les résultats de PCRq concernant le dénombrement des bactéries pathogènes qui ne sont dangereuses que lorsqu'elles sont viables. Pour certaines de ces dernières dont il existe des milieux sélectifs disponibles (*Mycobacterium sp.* par exemple), il serait possible d'affiner ces résultats par des cultures sur ces milieux. De plus, l'identification des espèces au sein des genres s'avère indispensable car certaines sont plus pathogènes pour l'homme que d'autres (c'est le cas du genre *Mycobacterium*). La grande diversité des bactéries thermophiles pose la question de leur origine. Sous nos latitudes, hormis certaines pratiques agricoles (utilisation des effluents d'élevage et fermentation du foin), il n'existe pas dans la nature de compostage spontané permettant la sélection, la diffusion dans l'environnement et l'ensemencement de ces bactéries dans les composts. L'intérêt de ce travail est, comme pour le précédent article, qu'il met en exergue un risque sanitaire pour les opérateurs manipulant les matières organiques servant à la méthanisation. Cependant, dans la mesure où les résultats obtenus portent seulement sur deux sites, les conclusions méritent d'être étayées par des études similaires menées sur un plus grand nombre d'installations. Enfin, à travers ces travaux, on ne peut que constater qu'il existe une carence réglementaire au sujet des seuils microbiens à respecter pour protéger opérateurs et riverains des plateformes de compostage: certaines recommandations existent mais ne sont que ponctuelles et n'émanent pas d'un travail et d'une réflexion collective internationale.

**CONCLUSION GÉNÉRALE**

Si la flore microbienne intervenant dans la dégradation de la matière organique du compost est depuis assez longtemps étudiée, celle des aérosols l'est beaucoup moins. Elle devient cependant, depuis quelques années, un sujet d'intérêt en raison de son implication dans diverses pathologies respiratoires (pneumopathie d'hypersensibilité\*, syndrome toxique des poussières organiques\*), digestives et cutanées dont souffrent les opérateurs manipulant le compost. Afin de mettre en place une politique de gestion du risque, il serait nécessaire de connaître i) la composition de ces bioaérosols, qui varie probablement en fonction de la matière organique utilisée et de l'état d'avancement du compost ii) les facteurs intervenant dans la pression de sélection des microorganismes en jeu ainsi que iii) leur diffusion dans l'environnement, notamment ceux des plateformes industrielles.

En ce qui concerne la composition, si les moisissures et les bactéries ont été plus spécialement étudiées en raison du lien entre certaines espèces et les pathologies observées, les virus et les protozoaires ont été particulièrement délaissés. Les techniques de séquençage permettent désormais l'accès à ces flores et à leur quantification. Toutefois elles devront s'affiner, ou être complétées par d'autres techniques, pour différencier les microorganismes vivants de ceux qui sont morts ou inertes, même si ces derniers sont impliqués dans la production de toxines. Une partie des microorganismes en cause étant opportuniste, la question des seuils acceptables est difficile à résoudre en raison des susceptibilités variables des opérateurs. Il conviendrait toutefois de communiquer certaines règles de précaution auprès des producteurs et utilisateurs domestiques de compost, notamment ceux présentant une faiblesse immunitaire. Une modélisation de la diffusion des aérosols dans l'environnement proche des composts s'avère nécessaire afin de protéger les populations avoisinantes. Pour cela, il est essentiel de connaître les facteurs intervenant dans la survie de certaines espèces, lorsqu'elles sont véhiculées par l'air. Si ces facteurs sont connus depuis longtemps pour les spores bactériennes et de moisissures, il n'en est pas de même pour de nombreuses espèces non sporulées. Cette modélisation sera cependant ardue à développer en raison du nombre élevé de facteurs en jeu : topologie des sites, conditions climatiques (vitesse du vent, température, hygrométrie, ensoleillement etc.), composition des aérosols, taille des particules et agrégats les composants. Il est important que les opérateurs se protègent systématiquement par le port de protections pertinentes telles que le masque de protection respiratoire.

**GENERAL CONCLUSION**

*Although the microbial flora involved in the decomposition of organic matter in compost has been studied for some time, the aerosol flora is much less investigated. For the last few years, it has become a subject of interest because of its involvement in various respiratory (hypersensitivity pneumonitis, organic dust toxic syndrome), digestive and cutaneous pathologies suffered by the operators handling this compost. In order to set up a risk management policy for these operators, it would be necessary to know (i) the composition of these aerosols, which probably depends on the organic matter used and on the state of the compost (ii) the factors involved in the selection pressure of the microorganisms involved and (iii) their diffusion into the environment of composts, in particular those of industrial platforms. Regarding the composition, if molds and bacteria have been studied more specifically because of the link between certain species and the pathologies observed, viruses and protozoa have been particularly neglected. Sequencing techniques now allow access to these flora and their quantification. However, these techniques will have to be refined, or complemented by other techniques, to differentiate living microorganisms from dead or inert ones, even if they are involved in the production of toxins. Because some of the microorganisms involved are opportunistic, the issue of setting an acceptable threshold is difficult to resolve due to the varying susceptibilities of the operators to these microorganisms. However, some precautionary rules should be communicated to domestic producers and users of compost, particularly those with immune weakness. A modeling of the diffusion of these aerosols in the environment close to the compost is necessary in order to protect the neighboring populations. Therefore, it is essential to know the factors involved in the survival of certain species, once they are transported by air. While these factors have long been known for bacterial and mold spores, it is not the case with many non-spore-forming species. However, this modelling will be difficult to develop because of the high number of factors involved: topology of the sites, climatic conditions (wind speed, temperature, humidity, sunshine), aerosol composition and particle sizes and aggregate components. For this reason, it is important for operators to systematically protect themselves by wearing appropriate protective devices such as respiratory protection masks.*

## Lexique

**$\beta$ -D glucane** : polysaccharide entièrement constitué de molécules de D-glucose, qui est un composant de la paroi de la plupart des levures et moisissures.

**Bioérosol** : ensemble constitué de particules aéroportées, d'organismes vivants, tels que des bactéries, moisissures, virus, protozoaires, ou provenant d'organismes vivants (ex. : toxines, microorganismes morts ou fragments de microorganismes organiques).

**Biométhanisation** : procédé naturel de dégradation des matières organiques par une flore microbienne complexe, en l'absence d'oxygène et dans des conditions spécifiques de température et de pH.

**Compostage** : processus biologique aérobie de dégradation de la biomasse (sous-produits de l'élevage, biomasse végétale, déchets organiques d'origine ménager, etc.) permettant sa valorisation en un produit stabilisé, riche en composés humiques, le compost.

**PCRq** : technique permettant d'amplifier un segment d'ADN de manière à pouvoir le détecter et le quantifier.

**Pneumopathies d'hypersensibilité** : maladies pulmonaires dues à une inflammation des alvéoles du poumon provoquées par une hypersensibilité à l'inhalation de particules organiques.

**Séquençage à haut débit** : séquençage de l'ADN capable de générer en une seule fois de très grandes quantités de séquences.

**Syndrome toxique des poussières organiques** : syndrome pseudogrippal associé à des manifestations respiratoires telles qu'une toux, une dyspnée ou une oppression thoracique apparaissant lors de l'exposition à des environnements fortement contaminés en poussières organiques.

**UFC (Unité Formant Colonie)** : unité de mesure dénombrent un nombre de colonies, visibles à l'œil ; chaque colonie résulte de la multiplication d'une cellule invisible à l'œil.

## Publications de référence

1 **Van Kampen V.** et al. (2016). Effects of bioaerosol exposure on respiratory health in compost workers: a 13-year follow-up study. *Occup Environ Med.*, 73 (12) : p.829-837.

2 **Heldal KK.** et al. (2016). Biomarkers of inflammation in workers exposed to compost and sewage dust. *Int Arch Occup Environ Health*, 89 (5) : p.711-8.

3 **Sykes P.** et al. (2011). Workers' exposure to dust, endotoxin and  $\beta$ -(1-3) glucan at four large-scale composting facilities. *Waste Manag.*, 31 : p. 423-430.

4 **Bru-Adan V.** et al. (2009). Diversity of bacteria and fungi in aerosols during screening in a green waste composting plant. *Curr.Microbiol.*, 59 : p.326-335.

5 **Conza L.** et al. (2013). Presence of Legionella and free-living amoebae in composts and bioaerosols from composting facilities. *PLoS ONE* vol.8.

6 **Heldal KK.** et al. (2015). Airway inflammation among compost workers exposed to actinomycetes spores *Ann Agric Environ Med.*, 22(2) : p.253-8.

7. Health Council of the Netherlands. Endotoxins. Health-based recommended occupational exposure limit. The Hague: Health Council of the Netherlands, 2010; publication no. 2010/04OSH.

## Revue de la littérature

**Wéry N.** (2014). Bioaerosols from composting facilities—a review *Front Cell Infect Microbiol.*, 4 : p.42.

**Gutarowska B.,** Skóra J., Stępień Ł., Szponar B., Otlewska A., Pielech-Przybylska K. (2015). Assessment of microbial contamination within working environments of different types of composting plants. *J Air Waste Manag Assoc.*, 65 (4): p.466-78.

**Pearson C.,** Littlewood E., Douglas P., Robertson S., Gant TW., Hansell AL. (2015). Exposures and health outcomes in relation to bioaerosol emissions from composting facilities: a systematic review of occupational and community studies *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 18 : p.43-69.

## Liens d'intérêts

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt