



HAL
open science

Caractérisation des bioaérosols émis par les sols anthropisés: quantification et composition des communautés fongiques et bactériennes.

Claire Thériat, Mathieu Toutain, Gwendoline Marquant, Virginie Daburon,
Jean-Pierre Caudal, Françoise Lucas, Françoise Binet

► To cite this version:

Claire Thériat, Mathieu Toutain, Gwendoline Marquant, Virginie Daburon, Jean-Pierre Caudal, et al.. Caractérisation des bioaérosols émis par les sols anthropisés: quantification et composition des communautés fongiques et bactériennes.. 10ème Colloque de l'Association Francophone d'Ecologie Microbienne, Nov 2021, Marseille, France. hal-04288673

HAL Id: hal-04288673

<https://hal.u-pec.fr/hal-04288673>

Submitted on 16 Nov 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0
International License

Introduction

Les sols urbains sont des sources potentielles d'aérosols biologiques, incluant des pathogènes, jusqu'alors négligées. Or la volonté de réintroduire des sols végétalisés en ville pose la question des risques sanitaires liés à leur utilisation (agrément, culture en ville)..

L'étude de la composition des bioaérosols émis par ces sols en fonction de leur artificialisation et de leurs usages permettrait la caractérisation des communautés fongiques et bactériennes afin de prévenir les risques d'exposition d'origine tellurique.

Le projet visait à déterminer pour les communautés fongiques et bactériennes:

- leur distribution dans les différentes fractions de taille des particules aéroportées, les plus petites (PM^a 2,5, PM 1 et < PM 1) étant capables d'atteindre les alvéoles pulmonaires (cf. Fig. 1),
- leur diversité et composition,
- la quantité de mycobactéries non-tuberculeuses, dont certaines espèces sont des pathogènes opportunistes.

Pour cela, les champignons totaux et les bactéries totales ont été quantifiés par qPCR. Les ADN totaux ont servis pour l'analyse des communautés après séquençage du gène de l'ARNr 16S.

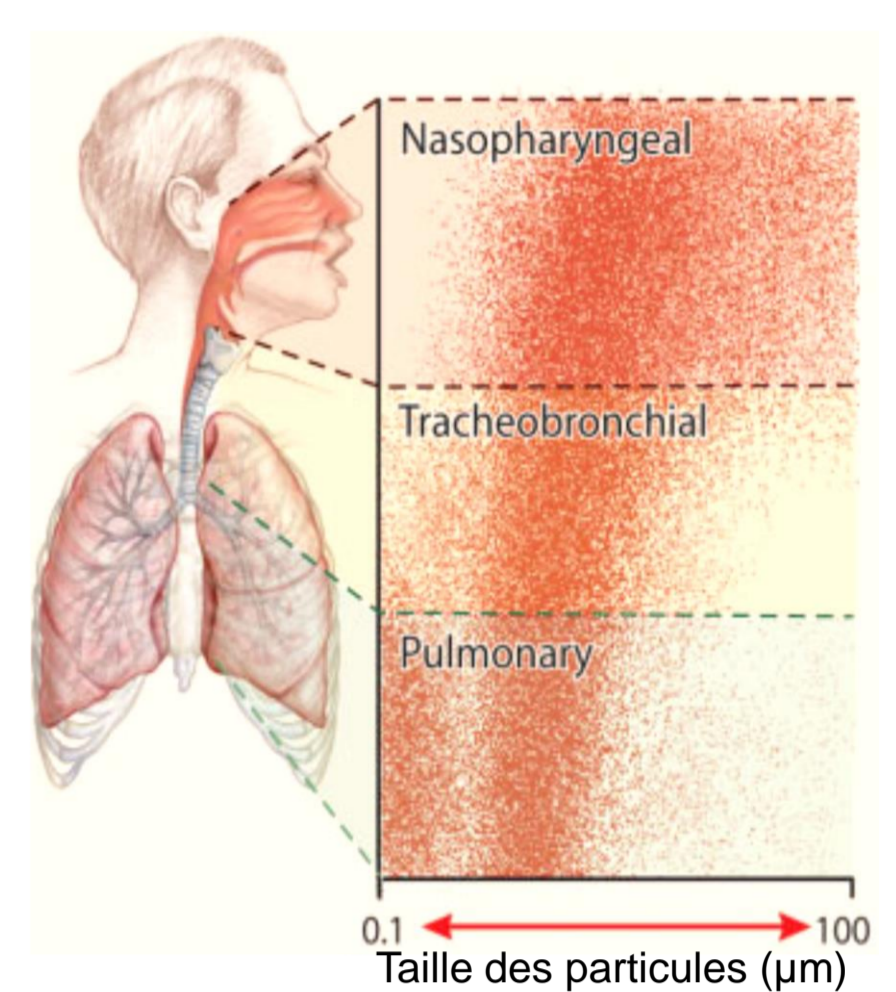


Fig. 1: Pénétration des particules dans le système respiratoire [1].

Matériel et méthode

Stratégie d'échantillonnage

L'impacteur MOUDI^b-IITM model 120 (cf. fig. 3) a été installé sur le site EFELE (Effluent d'Élevage et Environnement) sur la commune de Le Rheu (35). Il permet d'échantillonner sur 7 jours, un flux de 30l/min sur 11 étages d'impaction (PM^a 0,056 à 18) équipés de filtres en polytétrafluoroéthylène (PTFE). Onze campagnes d'échantillonnage ont été réalisées entre décembre 2020 et mars 2021.

Extraction de l'ADN total

Les microorganismes impactés sur les filtres PTFE ont été décollés dans un tampon contenant du CTAB 0,055M, Tri/HCl 0,1M pH8, EDTA 0,02M et NaCl 1,4M. Puis une extraction de l'ADN a été faite à l'alcool chloroforme/ isoamyle, suivie d'une précipitation de la phase aqueuse à l'isopropanol et à l'acétate de sodium.



Fig. 3: Système de prélèvement in situ.

Analyses

PCR quantitative en temps réel:

| Organisme | Amorces 5->3' | Programme | Réf. |
|------------------------------|---|---|------|
| Bactéries gène ARNr 16S | F- CCTACGGGCGGCWCA R- GGACTACHVGGGTMTCTAATC Sybr® | BioRad CFX 3 min 95°C, 39x 10 sec. 95°C, 30 sec. 60°C. | [3] |
| Champignons gène ARNr 18S | R- GGTTCATTGTTGGTTCTA F- CTCTCAATCTGTCAATCTTATT Sybr® | Master mix BioRad SSOAdvanced Sybr ou Probe. | [4] |
| Mycobactéries gène atpE | F- CGGYCCGGTATCGGYGA R- CGAAGACGAAACARSGCCAT S-FAM - ACSGTGATGAAGAACGGB GTRAA- Dark Quencher | | [5] |

Séquençage: Illumina MiSeq paired-end 2x300, ADNr 16S pour les bactéries et ITS pour les champignons sur les échantillons rassemblés par fraction. Traitement des séquences avec les logiciels Mothur et R.

Résultats

Quantification des microorganismes

Les champignons (fig. 4A) sont retrouvés dans les fractions PM 1 à PM 10 tout comme les bactéries (fig. 4B). Les concentrations fongiques vont de 15 à 6021 unités de génome (u.g.) par mètre cube d'air (fig. 4A) et de 100 à 2280 pour les bactéries (fig. 4B). Les concentrations moyennes se situent à moins de 2000 u.g./m³ que ce soit pour les champignons ou les bactéries.

Les bactéries et les champignons ne sont plus retrouvés dans les fractions de tailles les plus petites (PM 0,56 et

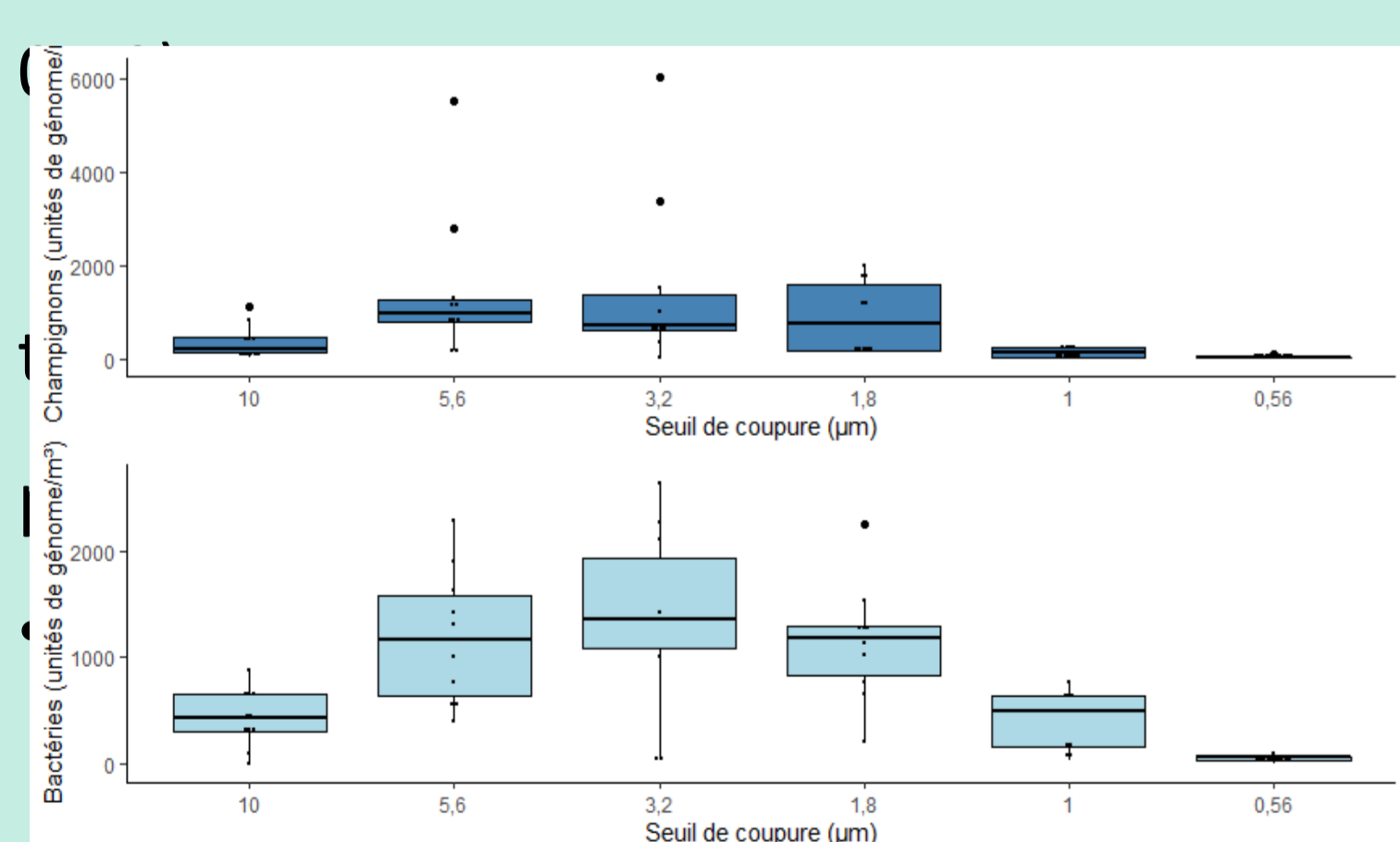


Fig. 4: quantité de bactéries par fraction

en qPCR ciblant le gène de l'ATP synthase E dans les différentes fractions de MOUDI-IITM. Cependant, le séquençage montre que le genre *Mycobacterium* est plus présent dans les fractions de plus petites tailles. Le séquençage ciblant le gène atpE.

Diversité:

Les

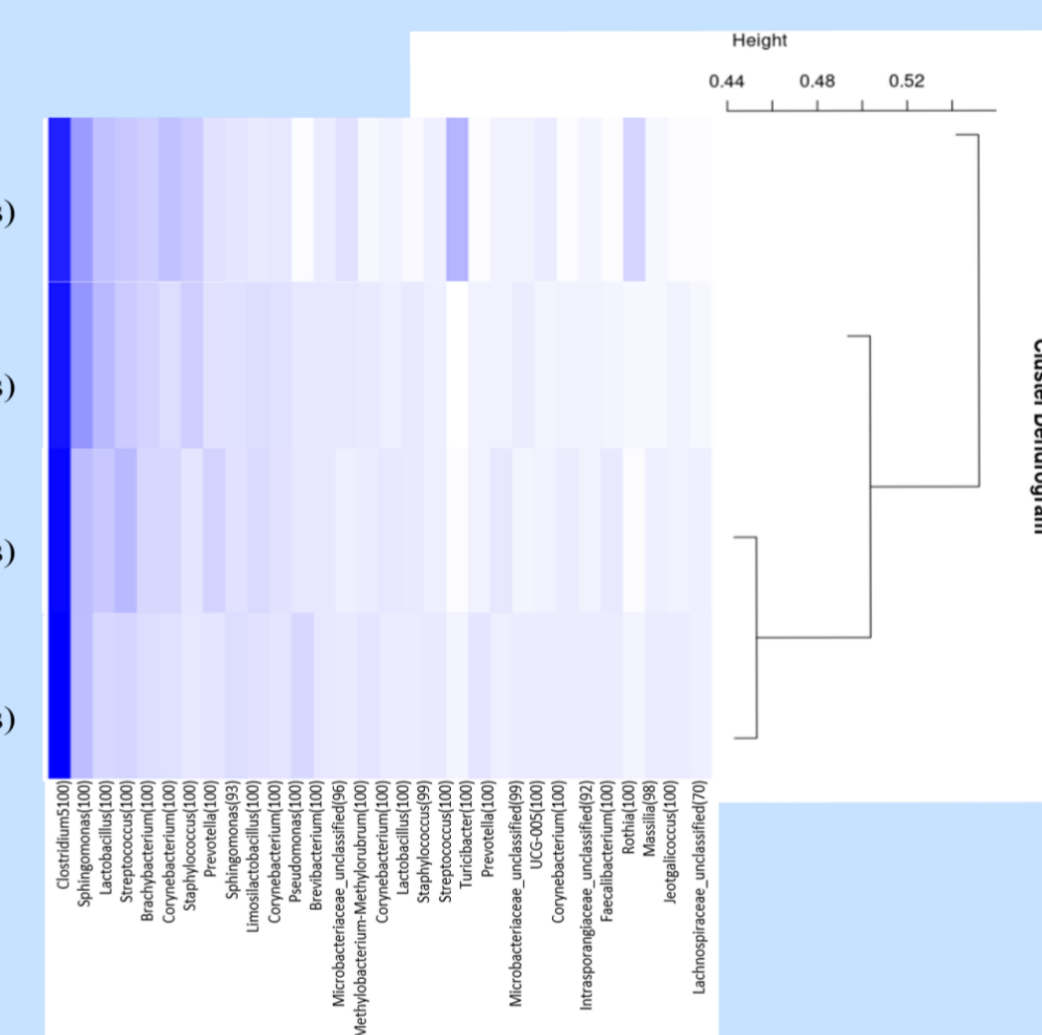


Fig. 5: Diversité des bactéries par fraction.

Conclusions

Les champignons et les bactéries sont retrouvés avec les bioaérosols de tailles comprises entre 1 et 10 µm. Celles-ci contiennent moins de 2000 u.g./m³ ce qui correspond aux concentrations retrouvées dans la littérature [7]. Par contre, les fractions inférieures à 0,56 µm ne contiennent pas de bactéries détectables et très peu de champignons.

Pour les particules pouvant atteindre les alvéoles pulmonaires, les concentrations en microorganismes ne sont pas négligeables et contiennent des genres dont certaines espèces peuvent être pathogènes comme *Mycobacterium*, *Corynebacterium*, *Streptococcus* et *Pseudomonas*. Les mycobactéries et certains champignons pourraient donc représenter un risque en provoquant des pneumopathies d'hypersensibilité, des allergies et de l'asthme [7]. Les communautés bactériennes sont peu différentes entre les fractions et le taxon majoritaire appartient au genre *Clostridium*. La dominance des *Firmicutes* avait déjà été démontrée pour des aérosols collectés à 2 m de sols agricoles américains [6].

Des analyses complémentaires devront être réalisées sur d'autres sites afin de confirmer ces résultats. De plus, la diversité fongique reste à analyser.

| Fraction | Champignons (ug/m ³) | Bactéries (ug/m ³) |
|----------|----------------------------------|--------------------------------|
| PM 1 | 118 ± 102 | 379 ± 284 |
| PM1,8 | 884 ± 776 | 1138 ± 547 |

¹ Particulate Matter, i.e. taille de particule en µm, ² Micro-Orifice Uniform-Deposit Impactor.

[1] Roy and Milton (2004) 'Airborne Transmission of Communicable Infection - The Elusive Pathway', The New England journal of medicine, 350, pp. 1710-2. doi: 10.1056/NEJMp048051. [2] Liu et al. (2012) 'BactQuant: An enhanced broad-coverage bacterial quantitative real-time PCR assay', BMC Microbiology, 12:56, p.255. doi: 10.1186/1471-2180-12-56. [3] Lang-Yona et al. (2012) 'Annual distribution of allergenic fungal spores in atmospheric particulate matter in the Eastern Mediterranean; a comparative study between ergosterol and quantitative PCR analysis', Atmospheric Chemistry and Physics, 12(5), pp. 2681-2690. doi: 10.5194/acp-12-2681-2012. [4] Radomski et al. (2013) 'atpE gene as a new useful specific molecular target to quantify Mycobacterium in environmental samples', BMC Microbiology, 13(1), p. 277. doi: 10.1186/1471-2180-13-277.