

ICODE

IMPACT DES COMPOSTEURS DOMESTIQUES SUR L'ENVIRONNEMENT INTERIEUR

Mai 2014

Projet de recherche coordonné par : Sandrine Roussel

Appel à projet de recherche : Programme National de Recherche Environnement, Santé, Travail de l'ANSES,
APR 2011

N° de contrat : 1106C0025

Coordination technique : Isabelle DEPORTES – Direction Exécutive Programmes – ADEME Angers -
Direction Economie Circulaire et Déchets - Service Mobilisation et Valorisation des Déchets



RAPPORT FINAL

REMERCIEMENTS

Comité de suivi :

Service de Parasitologie-Mycologie, CHU de Besançon, équipe de recherche UMR/CNRS Chrono-Environnement : Sandrine Roussel (responsable du projet), Gabriel Reboux, Laurence Millon.

Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie : Isabelle Déportes, Olga Kergaravat, Stéphanie Le Maitre.

SYBERT (Syndicat mixte de Besançon et de sa région pour le traitement des Déchets) : Louise Rouget, Gwenaël Martin.

Réalisation technique :

Service de Parasitologie-Mycologie, CHU de Besançon, équipe de recherche UMR/CNRS Chrono-Environnement : Alexandre Naegele, Mallory Vacheyrou, Benoit Valot, Coralie Barrera.

CITATION DE CE RAPPORT

Alexandre Naegele, Gabriel Reboux, Laurence Millon, Sandrine Roussel. 2014. Impact des composteurs domestiques sur l'environnement intérieur. Rapport. 32 pages.

Ce rapport est disponible en ligne www.ademe.fr/mediatheque

Toute représentation ou reproduction intégrale ou partielle faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause est illicite selon le Code de la propriété intellectuelle (art. L 122-4) et constitue une contrefaçon réprimée par le Code pénal. Seules sont autorisées (art. 122-5) les copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé de copiste et non destinées à une utilisation collective, ainsi que les analyses et courtes citations justifiées par la caractère critique, pédagogique ou d'information de l'œuvre à laquelle elles sont incorporées, sous réserve, toutefois, du respect des dispositions des articles L 122-10 à L 122-12 du même Code, relatives à la reproduction par reprographie.

Table des matières

RÉSUMÉ	4
1. Présentation de l'étude ou du projet de recherche.....	6
2. Bibliographie / Etat de l'art	6
3. Méthodologie / techniques utilisées.....	8
3.1. Recrutement.....	8
3.2. Prélèvements.....	8
3.2.1. Prélèvements d'air	9
3.2.2. Collecte de poussière avec les Capteurs Electrostatiques de Poussière (CEP)	9
3.3. Analyses microbiologiques et identification	10
3.3.1. Milieux de culture.....	10
3.3.2. Extraction de l'ADN et qPCR.....	10
3.3.3. Choix des cibles de qPCR.....	11
3.3.4. Analyses statistiques	11
4. Bilan / Résultats.....	12
4.1. Mesure des gaz.....	12
4.2. Diversité globale et analyse par culture	12
4.3. Effet du bio seau et qPCR	16
4.4. Comparaison des CEP en position verticale et horizontale.....	17
4.5. Cinétique des concentrations et qPCR	17
4.6. Relations <i>Acarus siro</i> /moisissures.....	19
4.7. Présence des microorganismes et analyse des réponses au questionnaire	20
5. Recommandations.....	21
6. Conclusions / perspectives.....	22
7. Bilan communications / valorisation	24
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	25
Index des figures	
Lexique	30

RÉSUMÉ

Le compostage domestique ou de proximité est une voie de traitement des déchets en fort développement, favorisée par le contexte sociologique actuel. Le compostage est une dégradation biologique aérobie de la matière organique dont il convient de s'assurer l'innocuité. Le but de cette étude est d'évaluer l'impact du récipient de stockage intermédiaire, le bio seau, sur la qualité microbiologique de l'air du domicile.

Des prélèvements d'air et de poussière de 48 logements pratiquant le compostage et 8 témoins ont été analysés par des méthodes de culture et biologie moléculaire (PCR quantitative en temps réel) par la recherche de moisissures, bactéries, actinomycètes et acariens. Pour chaque logement, 16 prélèvements ont été réalisés sur une période de 12 mois. Les pratiques individuelles de compostage et les habitudes de vie ont été recueillies par l'intermédiaire d'un questionnaire.

Les principaux microorganismes retrouvés dans les domiciles étaient *Streptomyces* spp., *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium sphaerospermum* et *Penicillium chrysogenum*. Ce sont des espèces fongiques isolées habituellement dans les logements. Les concentrations en *A. versicolor*, *C. sphaerospermum*, *Wallemia sebi* et *Acarus siro* étaient en concentration significativement plus importante dans la poussière à proximité du bio seau qu'à plus de 2 mètres. La contamination induite par le bio seau était donc localisée. L'analyse de l'évolution dans le temps de la contamination montre sur 12 mois une augmentation des concentrations en entérobactéries, en *Wallemia sebi* et en acariens, un pic estivale pour *Alternaria alternata* et *A. fumigatus* et une stabilité pour les autres moisissures. La saison et la présence d'acariens qui peuvent dégrader les spores de moisissures, sont les facteurs capables d'influencer cette cinétique. La recherche des interactions acariens/moisissures met en avant la relation significative entre *Acarus siro* et certaines moisissures (*A. versicolor*, *C. sphaerospermum*, *W. sebi*).

Cette étude montre que le bio seau peut être à l'origine d'une contamination de l'environnement intérieur en moisissures et acariens, mais que cette contamination reste très limitée dans l'espace. Les analyses montrent également l'importance des acariens dans la dissémination des spores de moisissures.

ABSTRACT

Composting is a way of waste treatment in strong development favored by the current sociological context. Composting is an aerobic biological degradation of the organic matter. It is important that it is harmless. The aim of this study is to estimate the impact of the intermediate storage waste pail on the microbiological air quality of dwellings.

Air and dust samples, of 48 dwellings practicing compost, were analyzed by culture media and by real time quantitative PCR (QPCR) by the research of molds, enterobacteria, actinomyces and mites. Sixteen samples per dwellings were realized during 12 months. The dwellings characteristics, the residents' life style and their composting practices were measured with a questionnaire.

The biodiversity was closed to that described in standard dwellings. The main microorganisms were *Streptomyces* spp., *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus versicolor*, *Cladosporium sphaerospermum* and *Penicillium chrysogenum*. *A. versicolor*, *C. sphaerospermum*, *Wallemia sebi* and *Acarus siro* concentrations are significantly more important nearby. The contamination is much localized. The concentrations evolution described an increase for enterobacteria, *Wallemia sebi* and mites during 12 months, a summer variation for *Alternaria alternata* and *A. fumigatus* and a stability for the others molds. A seasonal effect, the airflow or the storage mites impact, which can degrade the spores of molds, are the factors able to influence this kinetic. The research of the mites/molds interactions highlights the significant relationships between *A. siro* and molds (*A. versicolor*, *C. sphaerospermum*, *W. sebi*).

The waste pail could be at the origin of an internal environment contamination in molds and mites. However, this contamination is much localized. These results underlined the importance of the storage mites in the scattering of molds.

1. Présentation de l'étude ou du projet de recherche

Depuis l'avènement du développement durable, les citoyens peuvent contribuer à la protection de l'environnement par des gestes simples au quotidien. Suite à cette prise de conscience, divers plans d'action pour les particuliers ont vu le jour. Parmi ceux-ci, le recyclage des déchets organiques séduit de plus en plus la population y compris dans les appartements des villes. L'utilisation d'un bio seau temporaire dans les cuisines, avant le transfert définitif des déchets organiques au sein du composteur, a conduit à analyser la qualité biologique de l'air pendant 12 mois à proximité et à distance du lieu de stockage.

2. Bibliographie / Etat de l'art

Il existe peu de donnée sur les micro-organismes engendrés par les composteurs domestiques. La plupart des études portent sur l'impact des composteurs industriels ou sur les conséquences des compostages agricoles. A proximité des composteurs industriels, les concentrations en moisissures sont plus importantes et suffisantes pour que des effets sur la santé soient mesurés (Poulsen *et al.*, 1995). Le compostage domestique peut aussi favoriser la multiplication des moisissures, actinomycètes, bactéries, acariens et entraîner une modification de la qualité de l'air dans les logements.

Lors de l'utilisation du récipient de stockage provisoire (bio seau), la dégradation des déchets organiques ménagés dans cet espace clos peut provoquer le développement des microorganismes. Ces derniers sont alors susceptibles d'être aérosolisés lors des ouvertures successives du couvercle et du dépôt de nouveaux déchets.

Les potentiels effets sur la santé liés aux divers composants du bio aérosol sont associés à quatre mécanismes : infectieux (Aspergillose), inflammatoire (β -glucanes), toxique (mycotoxines) et allergique (moisissures, acariens) (Fisher et Dott, 2003; Park *et al.*, 2008). Une exposition importante à ces composés et en particulier aux moisissures et aux acariens peut être causée par cette pratique. Cette exposition peut être une des causes du développement de maladies respiratoires. En effet, l'impact des maladies allergiques est en augmentation constante depuis 30 ans dans les pays industrialisés et elles touchent près de 30% de la population. Parmi celles-ci, l'asthme en représente une part importante (6,6% de la population en France) (Vandentorren *et al.*, 2003). Ajoutées aux autres maladies respiratoires de type inflammatoire (Bronchite Chronique, Pneumopathie d'Hypersensibilité), allergique (Rhinite) et infectieux (Bronco-

Pneumopathie Chronique Obstructive), ces maladies représentent un réel enjeu en santé publique. En France, le seul coût de l'asthme représente environ 2 milliards d'euros chaque année (Lejeune *et al.*, 2009). Notre étude s'est focalisée sur les moisissures et les acariens.

Les moisissures sont présentes principalement en milieu extérieur mais peuvent coloniser l'environnement intérieur lorsque les conditions sont réunies (températures, hygrométrie présence de nutriments). Ces conditions sont retrouvées au sein du bio seau. Les moisissures et leurs métabolites secondaires peuvent être inhalés et avoir des effets cliniques pour les patients sensibles (Mazur et Kim, 2006; Nolard *et al.*, 2001, Kurup *et al.*, 2000; Tischer *et al.* 2011). Les moisissures sont présentes en permanence mais certaines espèces ne le sont que temporairement. Il est difficile de les détecter systématiquement et il est donc important d'utiliser diverses méthodes d'échantillonnage et d'analyse à différents temps.

Les acariens, reconnus pour leur forte présence et leur pouvoir allergisant dans les chambres à coucher (Korsgaard, 1998), peuvent également coloniser nos cuisines (acariens de stockage). Ces espèces sont connues pour leur impact sur les denrées alimentaires stockées dans les silos à grains (Nesvorna *et al.*, 2012) et sont présentes dans les produits issus de l'agriculture (fromage, céréales, farines). Les acariens peuvent trouver au sein du bio seau des températures supérieures à 25°C, une hygrométrie supérieure à 70% et les nutriments essentiels. Ces conditions sont idéales pour leur prolifération. Plus que l'acarien en lui-même, ce sont ces fèces et sa propre dégradation qui peuvent être responsable d'effets cliniques en libérant des protéines allergisantes telles que la tropomyosine (Thomas, 2010).

La présence concomitante des moisissures et des acariens au sein du bio seau peut avoir des effets négatifs sur le plan respiratoire. Un effet toxique, lié à l'inhalation de spores de moisissures, peut être ajouté au mécanisme allergique (Prescott, 2003). Les acariens sont également décrits comme potentiel vecteur de moisissures. Ainsi, ils peuvent participer à la dissémination des spores en dehors du bio seau au sein des logements (Van Asselt, 1999).

3. Méthodologie / techniques utilisées

3.1. Recrutement

48 logements de volontaires utilisant (n=37) ou non (n=11) ont été recrutés au printemps 2012 (janvier à avril).

Sur les 37 logements de volontaires utilisant un composteur et 11 témoins, 35 compostant et 8 témoins ont été retenus pour la durée complète de l'étude. Les autres ont été exclus pour cause de déménagement ou parce que le protocole n'a pas été suivi dans son ensemble. Ces logements se répartissent en 17 appartements et 18 maisons individuelles. Trente-quatre questions concernant le logement, la pièce contenant le bio seau, les habitants et leurs pratiques ont été posées (Annexe).

3.2. Prélèvements

Les prélèvements ont été effectués dans la cuisine contenant le bio seau. Seize prélèvements d'air et de poussières (figure 1) ont été réalisés à trois distances du bio seau (0,5, 1 et 3 mètres) et à cinq temps (0, 2, 4, 7 et 12 mois après le recrutement).



Figure 1 : Schéma représentatif des prélèvements réalisés dans la cuisine (en vert bio seau ; en rouge prélèvements d'air avec impacteur ; en bleu prélèvement d'air avec CIP ; en orange : prélèvements de poussière avec CEP).

3.2.1. Prélèvements d'air

Les prélèvements d'air ont été effectués au moyen de deux techniques :

- Impaction avec un impacteur MAS 100 (Merck®, Darmstadt, Germany), pendant 2 minutes 30 secondes par échantillon (250 litres d'air) sur trois milieux de culture placés : Dichloran Glycerol 18% (DG18) (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, United Kingdom), Actino (Difco, Detroit, MI) et R8 (DSMZ, Braunschweig, Germany). Les prélèvements ont été réalisés à des distances de 0,5, 1 et 3 mètre(s) à 0 et 12 mois.
- Collecte du bio aérosol avec un CIP 10 avec une coupelle rotative équipée d'une mousse retenant les particules (Arelco®, Fontenay sous-bois, France) pendant 24 heures (14400 litres d'air). Les prélèvements ont été réalisés à une distance de 0,5 mètre à 0 et 12 mois. La mousse a été rincée avec 3 mL d'une solution de Tween 80 à 0,1% (Merck®, Darmstadt, Germany). Deux ml de liquide de rinçage ont été collecté en ajoutant une pression à l'aide d'une seringue.

3.2.2. Collecte de poussière avec les Capteurs Electrostatiques de Poussière (CEP)

Dispositif

Les CEP sont des lingettes électrostatiques, disponibles en grande surface, et capables de capturer la poussière (Scherer *et al.*, 2014). Ce dispositif a déjà été utilisé pour une analyse des moisissures par culture (Wurtz *et al.*, 2005) et par PCR quantitative en temps réel (qPCR) (Yamamoto *et al.*, 2011). Les lingettes ont été coupées en quatre bandes, stérilisées (124°C pendant 30 minutes) et placées sur un plateau désinfecté (Surfanios™, Anios®, Lille-Hellemmes, France). Les plateaux ont été placés à proximité (0,5 mètre) et à distance (3 mètres) du bio seau. La première bande a été collectée après 2 mois, la seconde après 4 mois, la troisième après 7 mois et la dernière après 12 mois.

Rinçage des CEP

Les lingettes de CEP ont été placées dans un sac en plastique spécifique avec 5 mL d'une solution de Tween 80 à 0,1% et lavées dans un Stomacher™ pendant 10 minutes. Trois mL de liquide de rinçage ont été ensuite collectés.

3.3. Analyses microbiologiques et identification

3.3.1. Milieux de culture

L'analyse par culture a été réalisée au moyen de trois milieux fréquemment utilisés: DG18 incubé à 30°C, Actino à 30°C et R8 à 52°C. Les impactions ont été directement réalisées sur les milieux de culture et 250µL des liquides de rinçage des mousses et des lingettes ont étéensemencés sur chacun des milieux. Les échantillons ont été observés après sept jours d'incubation. Les espèces fongiques ont été comptées et identifiées sur des critères morphologiques (caractéristiques macroscopiques et microscopiques). Les *Penicilliums* ont été identifiés à l'espèce par séquençage du gène codant pour la bêta-tubuline et par spectrométrie de masse.

3.3.2. Extraction de l'ADN et qPCR

L'extraction rapide d'ADN a été exécutée comme décrit par Keswani avec les changements suivants (Keswani *et al.*, 2005): l'extraction a été effectuée à partir d'un volume initial de 200 µL de liquide de rinçage. Les échantillons ont été placés dans des tubes à fond conique de 2 mL (MagNALyser Green Beads, Roche Applied Science®, Mannheim, Germany) contenant 1.4 mm de billes de céramique et 200 µL de bouillon cœur-cervelle (BBL™, Becton Dickinson®, Sparks, NJ USA). Les tubes ont été agités dans un MagNALyser (Roche Applied Science®, Mannheim, Germany) trois fois pendant dix secondes à vitesse maximale avec une minute dans un bloc froid. Les tubes ont ensuite été chauffés dans un bain d'eau bouillante (10 minutes), placés dans la glace (10 minutes) et centrifugés deux minutes à 8000 rpm à température ambiante. Le surnageant a été prélevé et stocké à 4°C pour une analyse par qPCR (8 cibles). Un échantillon d'eau stérile a été utilisé comme contrôle négatif pour chacune des séries d'extraction.

La réaction de PCR contient 10 µL de Master Mix 2x TaqMan® Brilliant III Ultra-Fast QPCR (Agilent Technologies, Santa Clara, CA USA), les amorces sens et anti sens (concentration finale à 1 µM) (MWG Eurofins Operon, Ebersberg, Germany), une sonde d'hydrolyse (concentration finale à 200 nM) (MWG Eurofins Operon, Ebersberg, Germany), 5 µL d'ADN de l'échantillon et de l'eau « nuclease-free » pour compléter le volume total de la préparation (20 µL).

Les plaques ont été centrifugées (1 min à 1000 xg) et la réaction de PCR a été effectuée à l'aide d'un 7500 FAST Real-Time PCR System and 7500 Software v2.0.5 (Applied Biosystems®, Foster City, CA USA). De l'eau certifiée sans ADN a été extraite avec les échantillons et utilisée comme contrôle négatif pour chacune des séries d'amplification. Les cycles de températures étaient de 3 minutes à 95 °C, suivi de 45 cycles de 15 secondes à 95 °C et 1 minute à 60 °C.

3.3.3. Choix des cibles de qPCR

Six espèces de moisissures ont été sélectionnées pour leurs fortes présences dans les logements et pour leurs effets pathogènes infectieux, allergique et/ou toxique : *Penicillium chrysogenum*, *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus fumigatus*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Alternaria alternata*, *Wallemia sebi*. Les genres *Cladosporium*, *Aspergillus* et *Alternaria* sont les plus retrouvés en milieu intérieur (Kaarakainen *et al.*, 2009; Vandentorren *et al.*, 2009).

Les entérobactéries ont été choisies comme marqueur d'endotoxines (Bouillard *et al.*, 2005). La sonde choisie amplifie les entérobactéries des genres *Serratia* et *Klebsiella*.

Un acarien de stockage capable de coloniser les cuisines, présent dans les produits issus de l'agriculture et responsable d'effets sur la santé (Nersworna *et al.*, 2012) a également été ciblé : *Acarus siro*.

Un acarien de la poussière domestique reconnu pour sa forte présence dans les logements, son pouvoir allergénique dans les chambres à coucher et principal facteur responsable de l'asthme (Heinrich, 2011) a été retenu : *Dermatophagoides pteronyssinus*.

3.3.4. Analyses statistiques

Les données ont été analysées à l'aide du logiciel statistique R (version 2.15) avec le package lme4 (version 0.999999).

Les résultats obtenus par culture ont été définis en fréquence d'observation par logement. Les quarante espèces principales observées ont été conservées pour les analyses suivantes. Les évaluations des espèces en fonction des caractéristiques des logements ont été effectuées suivant un modèle linéaire global (Poisson) et un test Khi 2.

Chacun des facteurs des logements a été testé selon le modèle: Observation=espèces*facteurs du logement.

Les résultats des analyses par qPCR sont exprimés en fg/ μ L et ont été obtenus à partir de courbes standards et une transformation logarithmique. L'évaluation de "l'effet distance au bio seau" pour chaque espèce a été effectuée par un test T de Student. Seuls les points ayant des résultats positifs ont été conservés. L'évolution des concentrations en microorganismes, au cours du temps, a été faite via la normalisation des données. Les moyennes des quantités de microorganismes analysées par qPCR ont été obtenues en fonction des deux distances pour chacun des temps et ont été centrées.

La corrélation entre les quantités d'*Acarus siro* et les résultats obtenus par culture a été évaluée sur les prélèvements par CEP en utilisant un test de corrélation de Spearman. Les quantités de microorganismes ont été utilisées après transformation logarithmique.

4. Bilan / Résultats

4.1. Mesure des gaz

Les concentrations en CO₂, NH₃, O₂ et H₂S ont été mesurées à trois distances du bio seau (équipement : Dräger X-am 5600). Nous n'avons observé de différence significative entre les concentrations mesurées aux différentes distances du bio seau au moment de la visite initiale et 12 mois après. Ces concentrations étaient en moyenne de 20,9% en O₂, 0,066% en CO₂ et de 0% en NH₃ et H₂S.

4.2. Diversité globale et analyse par culture

Dans les logements de volontaires utilisant le compostage, 40 espèces de moisissures, actinomycètes et levures sont détectées par culture. Les espèces principales sont référencées dans la figure 2. Parmi les plus présentes, nous retrouvons cinq moisissures (*Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus glaucus*, *Aspergillus versicolor*, *Penicillium spp.* et *Cladosporium sphaerospermum*) et deux actinomycètes (*Streptomyces mésophile* et *Streptomyces thermophile*). Lorsque ces espèces sont présentes dans un logement contaminé, elles peuvent être détectées dans un à seize échantillons. Parmi les 350 souches isolées des logements, 23 ont été identifiées par leur séquence génétique et par spectrométrie de masse.

Il s'agit de 12 *P. chrysogenum* (43%), 3 *P. glabrum*, 2 *P. brevicompactum*, 2 *P. lanosum*, 1 *P. digitatum*, 1 *P. roqueforti*, 1 *P. commune* et 1 *P. italicum*. L'identification de l'ensemble des souches sera terminée en mai 2014.

Les concentrations en moisissures et bactéries n'étaient pas significativement plus élevés chez les volontaires qui pratiquaient le compostage que chez les témoins (test de Mann-Whitney, $p < 0.05$).

Dans chaque logement, les prélèvements d'air et de poussières sont obtenus au moyen de différentes méthodes à différentes distances et à différents temps. Certaines espèces (*A. glaucus*, *Aspergillus ochraceus*, *A. versicolor*, *Penicillium sp* et *S. mésophile*) sont détectées à la fois dans l'air, dans la poussière, à proximité et à distance du bio seau. De plus, ces espèces ont été retrouvées aux différents temps de l'étude : durant la première visite (T0), les prélèvements intermédiaires (T2 à T12) ou la seconde visite (T12).

D'autres espèces sont présentes dans un grand nombre de logement mais ne sont détectées qu'occasionnellement : *Aspergillus nidulans*, *Absidia sp*, *A. alternata*, *Mucor sp*, *W. sebi*, *Saccharomonospora viridis*, *Saccharopolyspora rectivirgula*, *Laceyella sacchari* et les levures.

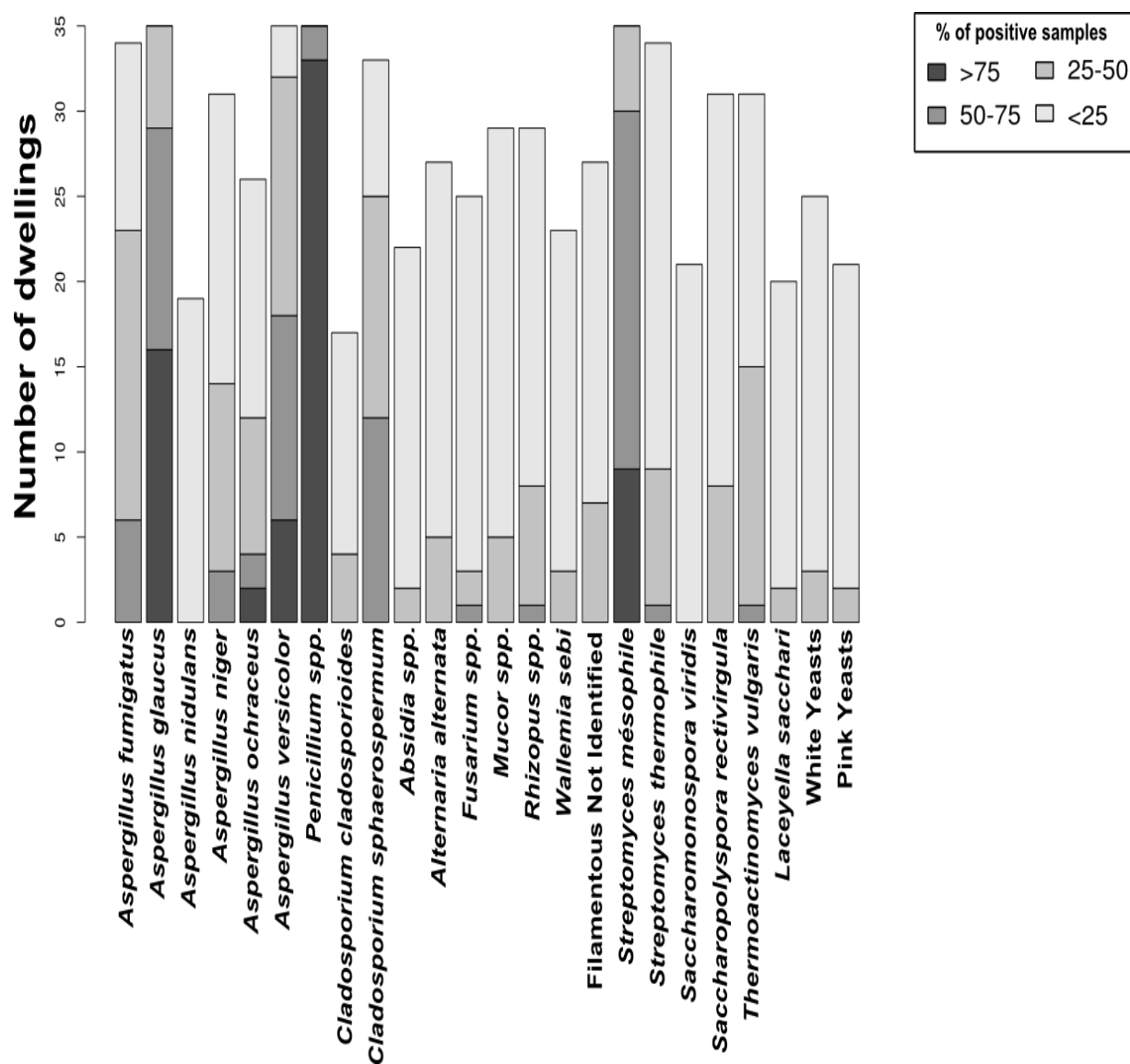


Figure 2 : Présence des principales espèces dans les 35 logements et importance des fréquences de détection à l'aide des prélèvements d'air et de poussière analysés par culture.

A cause de la variabilité des concentrations en micro-organismes dans l'air et des volumes d'air prélevés, l'évaluation des microorganismes inhalables en environnement intérieur requiert souvent de multiples prélèvements d'air (Sergey et al., 2007). Les prélèvements d'air par impaction (MAS 100) détectent les spores présentes au moment du prélèvement sans ouverture du bioseau. Ceux obtenus par collecte des particules (CIP) représentent un prélèvement sur une journée complète avec une utilisation normale du bioseau. Les CEP permettent de collecter les spores présentes au sein du logement de deux à douze mois. Selon certains auteurs, la poussière provenant des CEP est représentative de la fraction inhalable (Frenkel et al., 2012).

D'autre part, les moisissures ont des exigences spécifiques de sporulation qui varient selon l'espèce et qui peuvent influencer leurs détections dans les logements. Certaines moisissures adhèrent aux différents supports et les spores ne sont émis que lorsque l'hygrométrie est basse. Les spores de grandes tailles sédimentent rapidement et ne sont pas ou peu détectables par des prélèvements d'air. Le processus d'impaction dépend des propriétés des particules et de leur inertie (Reponen *et al.*, 2001). Il est donc nécessaire d'échantillonner la poussière au moyen de CEP. En fonction de leur composition, les moisissures ne vont pas toutes se développer sur les milieux de culture choisis (McGinnis, 2004). Il y existe des phénomènes de compétition entre les espèces. La détection de spores viables uniquement est une limite de l'analyse par culture. Même non viables, certaines moisissures peuvent avoir des effets négatifs sur la santé (Eduard, 1997). L'ensemble de ces constats expliquent les variations que l'on peut observer dans un même logement entre les différents modes de prélèvement, d'analyse et entre les différents temps. Il s'agit d'autant d'images différentes d'un même environnement, images complémentaires que nous avons choisi de comparer mais aussi de prendre en compte simultanément dans nos modèles statistiques pour l'exploitation des données.

Ainsi, la prise en compte de l'ensemble des méthodes de prélèvements (air, poussière) dans l'estimation de la biodiversité permet de détecter les moisissures avec une plus grande probabilité. L'alternation de prélèvements courts (250 L par impaction à 14400 L par collecte des particules) et de prélèvements longs (de 2 à 12 mois par CEP) permet d'observer des espèces présentes de manière non permanente dans l'air.

Les 40 espèces de moisissures et d'actinomycètes observées sont proches de celles retrouvées habituellement au sein des logements (Reboux *et al.*, 2009; Lacey *et al.*, 1988). Néanmoins, certaines espèces détectées dans les logements pratiquant le compostage peuvent présenter des risques cliniques pour les utilisateurs sensibles. Ces risques peuvent être allergique (*A. fumigatus*, *A. versicolor*, *C. sphaerospermum*, *Penicillium spp.*), infectieux (*A. glaucus*, *Streptomyces spp.*) et toxique (*A. ochraceus*, *A. versicolor*) (Reboux *et al.*, 2009, Furuuchi and Baba, 1986, Kuhn and Ghannoum, 2003).

Cependant, les personnes sont exposées à d'autres allergènes que les moisissures dans l'environnement, comme par exemple les acariens et les pollens et les problèmes allergiques sont le résultat d'une susceptibilité individuelle et d'une sensibilisation qui s'est opérée sur plusieurs années (Eduard, 1997). Ainsi le risque direct de l'exposition des moisissures provenant du bio seau sur la santé des personnes pratiquant le compostage n'est pas certain.

4.3. Effet du bio seau et qPCR

Certains organismes détectés et quantifiés par qPCR ont été retrouvés en concentrations plus importantes à proximité du bio seau (0,5 mètre) pendant les 12 mois. Le test T pairé de Student est significatif pour *A. siro* ($p=3*10^{-7}$), *A. versicolor* ($p=5*10^{-5}$), *C. sphaerospermum* ($p=9*10^{-10}$) et *W. sebi* ($p=1*10^{-6}$) (Figure 3). Pour les quatre autres cibles (*A. fumigatus*, *A. alternata*, entérobactéries et *Dermatophagoides sp*), les concentrations sont identiques à proximité et à distance du bio seau.

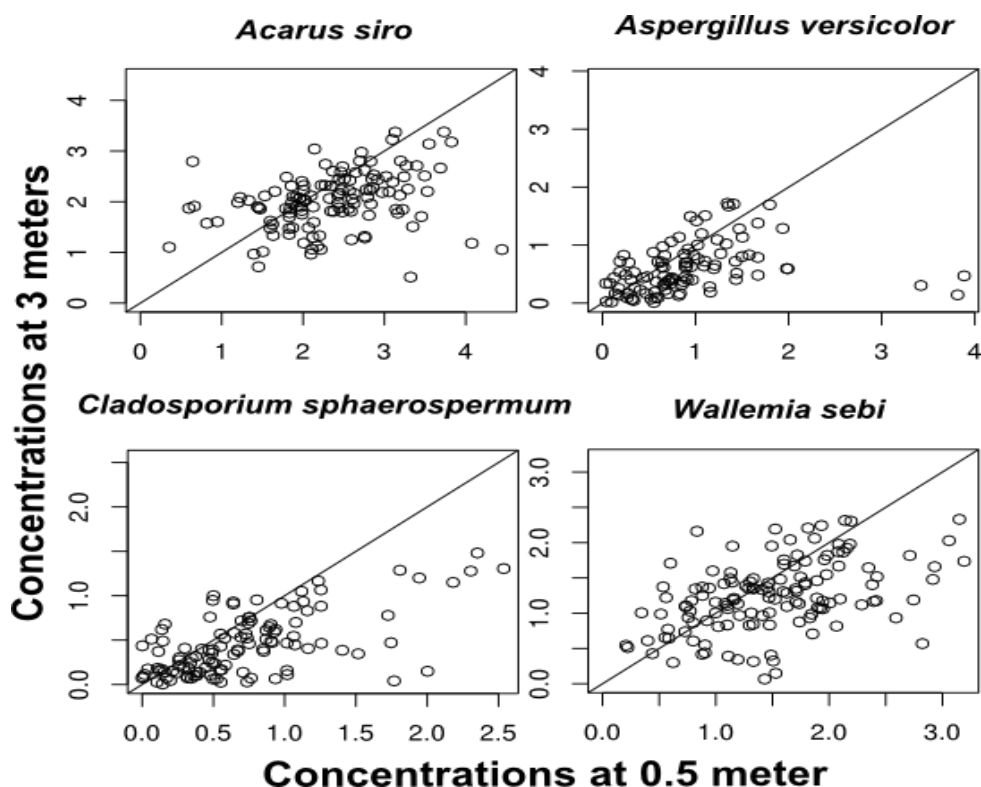


Figure 3 : Présentation des espèces significativement plus concentrées à proximité (0,5 mètre) qu'à distance (3 mètres) du bio seau par qPCR. Les concentrations moyennes sont exprimées en log (fg/ μ L).

La détection des organismes par qPCR dans les échantillons de poussières (CEP) montre une concentration en acariens de stockage deux fois plus importantes à proximité du bio seau.

A. siro a pu coloniser les CEP car c'est la seule espèce étudiée qui est capable de se déplacer sans flux d'air à une vitesse de 7 mm par minute (Naegele et al., 2012). Les conditions de températures (supérieur à 25°C), d'hygrométrie (supérieur à 70%) et la présence de nutriments est favorable au développement des acariens de stockage.

Le matériel biologique de trois moisissures (*A. versicolor*, *C. sphaerospermum* et *W. sebii*) a également été trouvé en plus grande quantité à proximité du bio seau (0,5 mètre) qu'à distance. Ces espèces, couramment retrouvées dans les logements, sont présentes autour du bio seau en des concentrations supérieures à la moyenne des cuisines (x2). Cela suggère que le bio seau en est la source et que leurs spores ont pu être aérosolisées lors des ouvertures successives du couvercle.

4.4. Comparaison des CEP en position verticale et horizontale

Les CEP, destinés à recueillir la poussière ont été placés dans deux positions : verticale (CEP N°B, C, E et F, figure 4) et horizontale (CEP A et D, figure 4). Un premier bilan, réalisé à 2 mois, a montré que les espèces fongiques étaient les mêmes sur les deux positions de lingettes et que les résultats étaient corrélés mais avec des concentrations nettement plus faibles sur les CEP en position verticale. Ainsi nous avons choisi de ne pas utiliser les résultats des CEP en position vertical pour l'analyse globale des résultats. Après 2 mois, les CEP verticales n'ont pas été analysées.

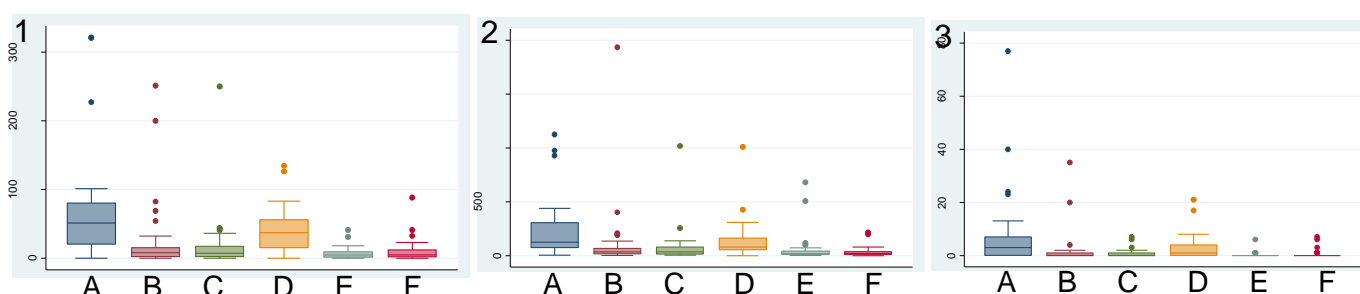


Figure 4 : Graph en boîte présentant la répartition des moisissures (1), bactéries (2) et actinomycètes (3) totaux dans la poussière des CEP par culture (A et D : CEP en position verticale respectivement à 0.5 et plus de 2 mètres du bio seau ; B, C : CEP en position horizontale à 0.5 mètre du bio seau ; E, F : CEP en position horizontale à plus de 2 mètres du bio seau).

4.5. Cinétique des concentrations et qPCR

Les neuf organismes cibles ont été suivis en qPCR durant 12 mois en analysant la poussière des CEP placés à proximité et à distance du bio seau. Les analyses ont été réalisées après 2, 4, 7 et 12 mois de collecte de poussière. Les qPCR réalisées ont donné l'évolution des concentrations exprimées en abondances relatives (figure 3).

Penicillium chrysogenum n'a pas été retenu car 34% des dosages étaient négatifs, ce qui ne permettait pas d'analyse pertinente. Les concentrations en *A. versicolor* et *C. sphaerospermum* stagnent en dépit d'une légère augmentation (respectivement x2,5 et x1,5) après 12 mois. Les concentrations en *A. alternata* et *A. fumigatus* augmentent au septième mois (x2,5) et diminuent au 12^e mois (x0,5). Les concentrations en entérobactéries, *W. sebi*, *Dermatophagoides spp.* et *A. siro* augmentent de façon continue sur les 12 mois (respectivement x4, x4, x5 et x4).

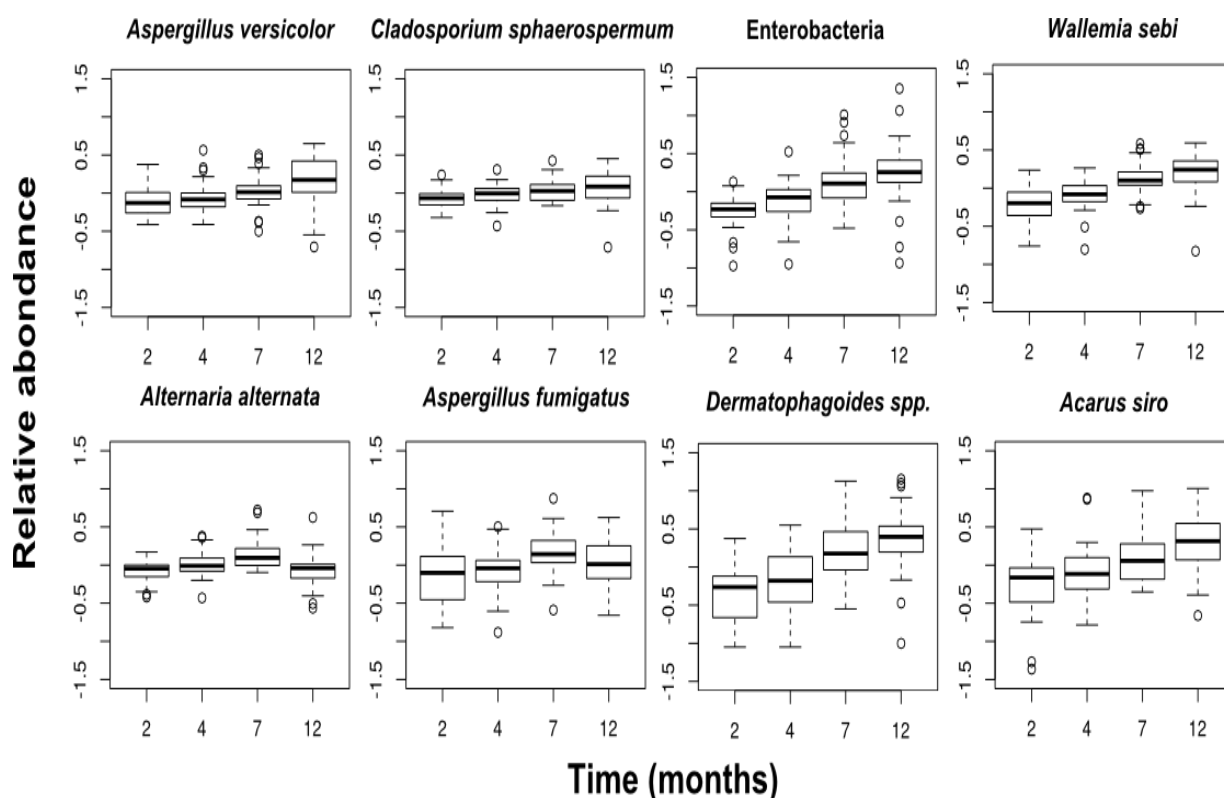


Figure 5 : Cinétique des abondances relatives des huit cibles de qPCR durant 12 mois. Les concentrations moyennes à proximité et à distances sont exprimées en log (valeurs centrées en fg/μL) pour les quatre temps des prélèvements de poussières.

La cinétique des abondances relatives ne montre pas une accumulation systématique des polluants organiques sur CEP. Ainsi les concentrations en *A. versicolor* et *C. sphaerospermum* sont stables sur les 12 mois de l'étude. Pour d'autres espèces, on observe une variation. Ainsi *A. alternata* et *A. fumigatus* étaient présent en plus forte concentration dans la poussière lors du septième mois d'échantillonnage, c'est-à-dire pendant la période estivale (juillet à septembre 2012). Pour *W. sebi*, entérobactéries, *A. siro* et *Dermatophagoides sp.*, on a pu observer une augmentation tout au long de l'année.

Ainsi le bio seau n'est pas le seul facteur qui influence la quantité de spores qui se déposent sur les CEP. La présence en quantités plus importantes d'*A. alternata* pendant les mois d'été témoigne d'une influence de l'environnement extérieur (De Ana et al., 2006). D'autre part, la présence de perpétuels flux d'air (ventilation thermo-mécanique, mouvements des résidents, aération fréquente) peut provoquer l'aérosolisation des poussières sédimentées. Ces installations et ces pratiques sont recommandées pour le renouvellement de l'air intérieur et la dilution de la pollution de l'air intérieur.

La forte présence d'acarien de stockage, dans l'environnement proche du bio seau, a également pu modifier la composition de la poussière présente sur les CEP. Les acariens consomment les spores et peuvent dégrader (Nesvorna et al., 2012) et transporter les moisissures sélectionnées (McGinnis, 2004). Les champignons sont un des nutriments essentiels au développement des acariens (Van Asselt, 1999).

Les concentrations en acariens de stockage augmentent de manière importante durant cette étude et *A. siro* est observé en quantité importante à proximité du bio seau.

4.6. Relations *Acarus siro*/moisissures

Les concentrations en *Acarus siro* ont été comparées avec les concentrations en moisissures et en entérobactéries obtenues par qPCR dans la poussière à proximité et à distance du bio seau au moyen d'un test de corrélation de Spearman. Nous avons observés une corrélation significative positive entre la quantité d'*A. siro* dans la poussière et les quantités d'*A. versicolor* ($p < 0.0001$), de *C. sphaerospermum* ($p = 0.036$) et de *W. sebi* ($p < 0.0001$). Il n'y a pas de corrélation entre la présence dans les poussières d'acariens et la présence des autres organismes mesurés : *A. fumigatus*, *A. alternata*, entérobactéries et *Dermatophagoides sp.*

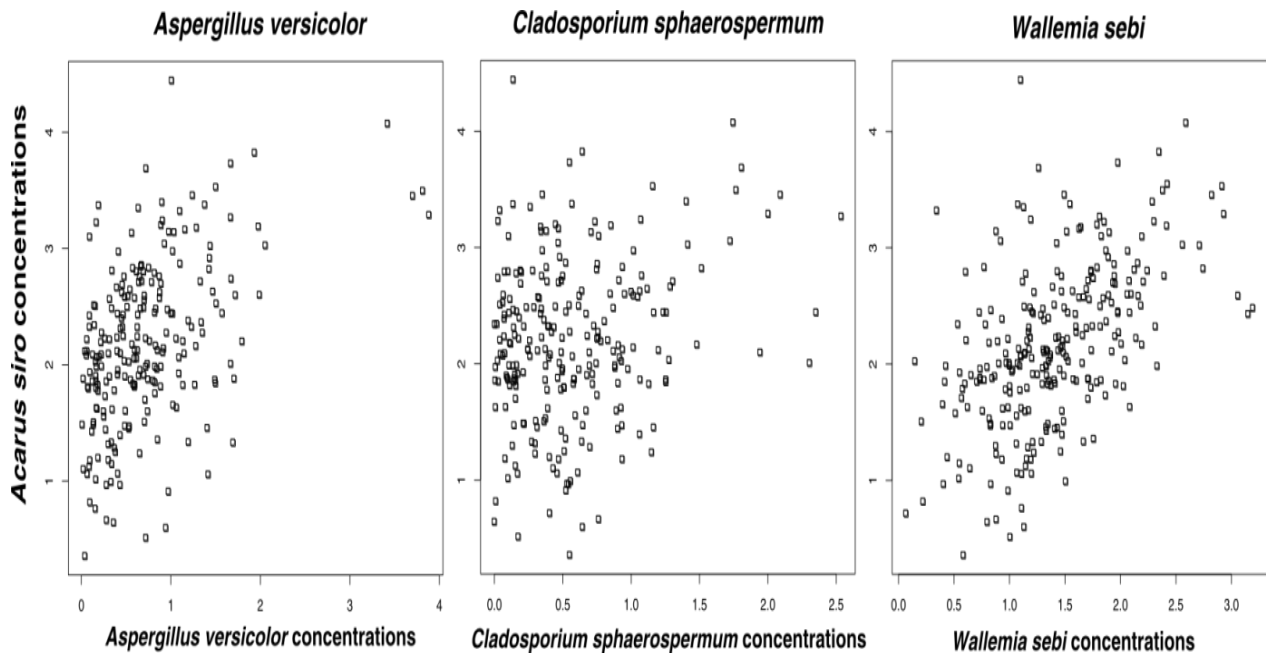


Figure 6 : Relation significative entre les concentrations en acariens de stockage *Acarus siro* et les concentrations en moisissures par qPCR. Les concentrations moyennes sont exprimées en log (fg/ μ L).

L'évaluation des corrélations entre les acariens de stockage et les moisissures permettent de visualiser la présence simultanée d'*A. siro* et de trois moisissures. Les acariens peuvent sélectionner certaines espèces en les consommant (Hubert et al., 2003). Il est décrit dans la littérature qu'*A. siro* a une influence négative sur le nombre de colonies de certaines espèces de moisissures (Van Asselt, 1999). Parmi les espèces associées, *A. versicolor* n'est pas consommée par les acariens que ce soit les acariens de stockage (Hubert et al., 2004) ou les acariens de la poussière domestique (Naegele et al., 2012). Sa forte présence peut être due seulement à son propre développement et à sa dissémination par les flux d'air. *W. sebi* et *C. sphaerospermum* peuvent être consommés par les acariens (Naegele et al., 2012). Les spores liées au corps et aux pattes de l'acarien suggèrent un transport des spores et une dissémination plus importante au sein du logement. Les spores peuvent rester viables et se développer après le passage de l'acarien. Les acariens permettent la dissémination de ces espèces dans l'environnement intérieur.

4.7. Présence des microorganismes et analyse des réponses au questionnaire

Le questionnaire a permis de visualiser les différents types de logements (appartements ou maisons), leur localisation (rurale ou urbaine, au rez de chaussée ou à

l'étage), leur superficie (106 m² en moyenne), l'âge des constructions (86 ans en moyenne), le nombre d'habitant (2,5 en moyenne) ou encore le nombre de pièce (environ 5 en moyenne). L'analyse du questionnaire a permis de voir que le type de chauffage (gaz pour 75 %), le revêtement au sol (carrelage pour 80 %) ou le type de déchets compostés (pour tous, suivi des recommandations fournies avec le composteur) étaient les mêmes dans la plupart des logements. Nous avons observé une différence de pratique en fonction des saisons, avec une fréquence d'enlèvement et de nettoyage du bio seau d'une fois par semaine en hiver et de deux fois par semaine en été.

L'analyse des réponses a permis d'observer des associations entre la présence des moisissures et certaines pratiques. Ainsi les concentrations en *A. ochraceus* ($p < 0.0001$) et *A. versicolor* ($p = 0.01$) étaient significativement plus importantes dans les maisons individuelles que les appartements. *A. niger* ($p = 0.001$), *A. ochraceus* ($p = 0.01$) et *C. sphaerospermum* ($p = 0.003$) étaient significativement plus présents dans les logements où des plantes étaient présentes. Nous n'avons pas montré une relation significative entre la concentration en micro-organismes et les autres habitudes de vie (temps d'aération, présence d'animaux domestiques) ou les pratiques liées au bio seau (fréquence d'enlèvement, type de déchets compostés, désinfection, ...).

Vivre en appartement ou en maison individuelle, en zone rurale ou urbaine, aérer régulièrement, utiliser un système de ventilation performant ou encore posséder des plantes sont autant de facteurs qui ont été associés à une augmentation ou une diminution des espèces fongiques. Par exemple, *A. ochraceus* et *A. versicolor* ont été associées avec un style de vie rural en maison individuelle (*A. ochraceus* et *A. versicolor*) (Lanier et al., 2010). Les plantes sont une potentielle source de contamination. Leur présence est risquée pour les patients asthmatiques ou immunodéprimés (Bessot et al., 1997; Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France, 2006). Ainsi de nombreux facteurs peuvent influencer la contamination de l'air intérieur et notre étude, réalisée sur un nombre limité de logements, ne permet pas de mettre clairement en évidence les pratiques liées au compostage et les quantités de micro-organismes.

5. Recommandations

Notre étude montre que la présence du bio seau est associée à une augmentation de certaines moisissures et d'un acarien dans son environnement proche. Par contre

l'ensemble de la cuisine n'est pas contaminée par la présence du bio seau. Ainsi, les recommandations à apporter à l'utilisation du bio seau sont le nettoyage régulier du bio seau et des surfaces autour avec un désinfectant classique (comme l'eau de Javel). Il est important de transférer régulièrement des déchets organiques dans le composteur pour éviter que la prolifération des moisissures et bactéries se fasse à l'intérieur du logement. Enfin, une aération régulière du logement est préconisée afin de diluer la pollution de l'air intérieur.

6. Conclusions / perspectives

Cette étude a permis l'analyse microbiologique de la qualité de l'air intérieur de 35 personnes pratiquant le compostage et 8 témoins. Les résultats des prélèvements d'air ne montrent pas d'influence significative du bio seau sur la qualité de l'air intérieur : la biodiversité est équivalente à celle d'un logement standard, les concentrations dans l'air ne sont pas supérieures à proximité du bio seau qu'à distance et ne sont pas significativement supérieures à celles mesurées chez les personnes ne pratiquant pas le compostage.

Des analyses de poussière ont également été réalisées : des capteurs électrostatiques de poussières (CEP) ont été placés dans les logements à proximité et à distance du bio seau lors de la visite initiale (entre janvier et avril 2012) et la poussière déposée a été analysée après 2, 4, 7 et 12 mois passé dans le logement. Les concentrations en acariens de stockage (*Acarus siro*) et en 3 moisissures (*Aspergillus versicolor*, *Cladosporium sphaerospermum* et *Wallemia sebi*) étaient significativement plus importantes à proximité du bio seau (<0.5 m) qu'à distance (environ 3 mètres). L'analyse des corrélations et les connaissances sur la consommation des moisissures par les acariens suggèrent qu'il y a des interactions entre les deux types d'organismes, et que les acariens ont probablement un rôle dans la régulation et dans la dissémination des moisissures dans les domiciles.

D'un point de vue prévention du risque, cette étude montre que l'impact du bio seau sur la qualité de l'air intérieur est très limité dans l'espace. Un nettoyage régulier du bio seau et des surfaces à proximité suffiront à limiter l'impact.

Cette étude a également permis d'apporter de nouvelles connaissances sur les CEP et leur utilité dans l'étude de l'environnement intérieur. En effet, les CEP, utilisés pour la première fois au début des années 2000 par une équipe de recherche

néerlandaise pour le besoin d'études épidémiologiques, ont rapidement séduit d'autres équipes car il s'agit d'un mode de prélèvement simple, qui peut être envoyé par courrier et qui permet de mesurer l'exposition sur plusieurs semaines, contrairement aux prélèvements d'air où il est difficile de réaliser un prélèvement de plus de 3 jours continus. Ces CEP se généralisent et tendent à devenir la norme dans les études épidémiologiques. A notre connaissance, c'est la première fois que la cinétique des concentrations en organismes dans la poussière déposée sur ces CEP est étudiée. Les résultats montrent qu'il n'y a pas une augmentation linéaire des concentrations en organismes en fonction du temps d'exposition des capteurs, que les organismes sont en interaction et que la saison est un facteur qui module la composition de la poussière. Nous avons également montré que les CEP en position verticale n'apportent pas d'information supplémentaire sur la qualité de l'air intérieur.

L'étude des pratiques individuelles (nettoyage, vidage du bio seau, type de déchet composté, aération de la cuisine...) n'a pas permis de mettre en évidence de facteurs clairement liés à une augmentation de la contamination autour du bio seau. Les logements situés dans des maisons individuelles, souvent plus volontiers en milieu rural, et les logements avec des plantes avaient des concentrations significativement supérieures en moisissures. Ces facteurs de risque étaient déjà connus. Cependant nous savions, dès la conception de l'étude, que l'échantillonnage était trop limité pour mettre en évidence des pratiques individuelles permettant de limiter la contamination. L'analyse des questionnaires montre que les personnes ont des pratiques assez similaires et que ces pratiques diffèrent selon la saison considérée.

Lors des visites dans les domiciles des volontaires, certains se sont plaints de la naissance olfactive du composteur situé parfois sous les fenêtres du logement. D'autres études pourraient être envisagées pour évaluer l'impact microbiologique du composteur extérieur sur la qualité de l'air intérieur des logements. De plus, la pollution n'est pas que d'origine microbiologique. Les épluchures de fruits et légumes peuvent être imprégnées de pesticides libérés lors de la dégradation de la matière organique. Une étude conjointe visant à rechercher les organismes biologiques et des pesticides permettrait d'apporter des éléments supplémentaires sur la caractérisation du risque lié au compostage des déchets organismes.

7. Bilan communications / valorisation

Communications orales (congrès scientifiques):

NAEGELE A, REBOUX G, VACHEYROU M, VALOT B, BARRERA C, MILLON L, ROUSSEL S. Influence des composteurs domestiques sur la flore microbiologique de l'environnement domestique. Congrès MicrobAERO2013. Lundi 7 Octobre 2013. Clermont-Ferrand-La bourboule.

NAEGELE A, REBOUX G, VACHEYROU M, VALOT B, BARRERA C, MILLON L, ROUSSEL S. Compostage et flore microbiologique : quelle conséquence pour l'environnement domestique ? Colloque Environnement Des Maladies Allergiques. Jeudi 14 Novembre 2013. Chambre de Commerce et de l'Industrie, Besançon.

Communications affichées (congrès scientifiques):

NAEGELE A, REBOUX G, VACHEYROU M, VALOT B, BARRERA C, MILLON L, ROUSSEL S. Mode de vie et flore fongique: cas du compostage domestique. Congrès de la Société Française De Mycologie Médicale. Vendredi 29 Novembre 2013. Amphithéâtre Jean Dausset & Cloître Port Royal, Hôpital Cochin, Paris 14e.

Communications écrite grand public :

Impact des composteurs domestiques sur l'environnement intérieur. Dans : Risques sanitaires liés à la pollution des milieux aériens et hydriques, Les cahiers de la Recherche, avril 2013, pp14-15.

Méli-mélo d'épluchures inoffensif. En direct N°251. Janvier-Février 2014. pp 4-5.

Bio déchets et air intérieur ? GreenNews Techno N°121. 24 Janvier 2014. p 6.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Bessot, J., Stenger, R., Pauli, G., 1997. Allergies respiratoires chez les vigneronns. Rev Fr Allergol 37, 732-740.
- Bouillard, L., Michel, O., Dramaix, M., Devleeschouwer, M., 2005. Bacterial contamination of indoor air, surfaces, and settled dust, and related dust endotoxin concentrations in healthy office buildings. Ann Agric Environ Med 12, 187-192.
- Contaminations fongiques en milieux interieurs : Diagnostic,effets sur la sante respiratoire, conduites à tenir. Conseil supérieur d'hygiène publique de France. 2006.
- De Ana, S.G., Torres-Rodríguez, J.M., Ramírez, E.A., García, S.M., Soler, J.B., 2006. Seasonal distribution of *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cladosporium* and *Penicillium* species isolated in homes of fungal allergic patients. J Investig Allergol Clin Immunol 16, 357-363.
- Dutkiewicz, J., 1997. Bacteria and fungi in organic dust as potential health hazard. Ann Agric Environ Med 4, 11-16.
- Eduard, W., 1997. Exposure ton non-infectiuous microoragnisms and endotoxins in agriculture. Ann Agric Environ Med 4, 179-186.
- Fischer, G., Dott, W., 2003. Relevance of airborne fungi and their secondary metabolites for environmental, occupational and indoor hygiene. Archive of Microbiology 179, 75-82.
- Frenkel, M., Timm, M., Hansen, E.W., Madsen A.M., 2012. Comparison of sampling methods for the assessment of indoor microbial exposure. Indoor Air 22, 405-414.
- Furuuchi, I, Baba, K., 1986. Mold allergy (*Alternaria*). Nippon Ika Daigaku Zasshi 53, 108-111.

- Heinrich, J., 2011. Influence of indoor factor in dwellings on the development of childhood asthma. *Int J Hyg Envir Heal* 214, 1-25.
- Hubert, J., Jarosik, V., Mourek, J., Kubatova, A., Zdarkova, E., 2004. Astigmatid mite growth and fungi preference (Acari: Acaridia): comparisons in laboratory experiments. *Pedobiologia* 48, 205-214.
- Hubert, J., Stejskal, V., Kubatova, A., Munzbergova, Z., Vanova, M., Zd'Arkova, E., 2003. Mites as selective fungal carriers in stored grain. *Exp Appl Acarol* 29, 69-87.
- Kaarakainen, P., Rintala, H., Vepsalainen, A., Hyvarinen, A., Nevalainen, A., Meklin, T., 2009. Microbial content of house dust samples determined with qPCR. *Sci Total Environ* 407, 4673-4680.
- Keswani, J., Kashon, M.L., Chen, B.T., 2005. Evaluation of interference to conventional and real-time PCR for detection and quantification of fungi in dust. *J. Environ. Monit* 7, 311- 318.
- Korsgaard, J., 1998. House-Dust mites and asthma. A review on HDM as a domestic risk factor for mite asthma. *Allergy* 53, 77-83.
- Kuhn, D.M., Ghannoum, M.A., 2003. Indoor mold, toxigenic fungi, and *Stachybotrys chartarum*: infectious disease perspective. *Clin Microbiol Rev* 16, 144-172.
- Kurup, V.P., Shen, H.D., Banerjee, B., 2000. Respiratory fungal allergy. *Microbes Infect* 2, 1101-1110.
- Lacey, J., Crook, B., 1988. Review: Fungal and actinomyces spores as pollutants of the workplace and occupational allergens. *Ann Occup Hyg* 32, 515-533.
- Lanier, C., Richard, E., Heutte, N., Picquet, R., Bouchard, V., Garon, D., 2010. Airborne molds and mycotoxins associated with handling of corn silage and oilseed cakes in agricultural environment. *Atmospheric Environment* 44, 1980-1986.

- Le Jeune, R., Battini, J., Ganne, A., Hascoet, J.Y., 2009. Prise en charge de l'asthme de l'adolescent et de l'adulte. Dossier documentaire : groupe qualité.
- Mazur, L.J., Kim, J., 2006. Spectrum of Noninfectious Health Effects From Molds. *Pediatrics* 118, 1909-1926.
- McGinnis, M.R., 2004. Pathogenesis of indoor fungal diseases. *Med Mycol* 42, 107-117.
- Naegele, A., Reboux, G., Scherer, E., Roussel, S., Millon, L., 2012. Fungal food choices of *Dermatophagoides farinae* affect indoor fungi selection and dispersal. *Int J Environ Health Res* 23, 91-95.
- Nesvorna, M., Gabrielova, L., Hubert, J., 2012. Suitability of a range of *Fusarium* species to sustain populations of three stored product mite species (Acari: Astigmata). *J Stored Prod Res* 48, 37-45.
- Nolard, N., Beguin, H., Chasseur, C., 2001. Mold allergy: 25 years of indoor and outdoor studies in Belgium. *Allerg Immuno* 33, 101-112.
- Park, J.H., Cox-Ganser, J.M., Kreiss, K., White, S.K., Rao, C.Y., 2008. Hydrophilic fungi and ergosterol associated with respiratory illness in a water-damaged building. *Environ Health Perspec* 116, 45-50.
- Poulsen, O.M., Breum, N.O., Ebbehøj, N., Hansen, A.M., Ivens, U.I., van Lelieveld, D., Malmros, P., Matthiasen, L., Nielsen, B.H., Schibye, B., Skov, T., Stenbaek, E.I., Wilkins, K.C., 1995. Sorting and recycling of domestic waste. Review of occupational health problems and their possible causes. *Science Total Environ* 168, 33-56.
- Prescott, S.L., 2003. Early origins of allergic disease: a review of processes and influences during early immune development. *Curr Opin Allergy Clin Immunol* 3, 125-132.

- Reboux, G., Bellanger, A.P., Roussel, S., Grenouillet, F., Sornin, S., Piarroux, R., Dalphin, J.C., Millon, L., 2009. Indoor mold concentration in Eastern France. *Indoor Air* 19, 446-453.
- Reponen, T., Willeke, K., Grinshpun, S., Nevalainen, A., 2001. Biological particle sampling. In P.A. Baron and K. Willeke (ed). *Aerosol measurement: Principles, Techniques and Applications*. John Wiley, New York, pp. 751-777.
- Scherer, E., Rocchi, S., Reboux, G., Vandentorren, S., Roussel, S., Vacheyrou, M., Raheison, C., Millon, L., 2014. Dust sampling and qPCR standard operating procedure for measuring microorganisms in dwellings in the elfe study. *Sci Total Environ* 466, 716-724.
- Sergey, A., Grinshpun, M., Buttner, M.P., Willeke, K., 2007. Sampling for Airborne Microorganisms. *Manual of environmental microbiology*. Washington DC, American Society of Microbiology, 939-953.
- Thomas, W.R., 2010. Geography of house dust mite allergens. *Asian Pac. J. Allergy Immunol* 28, 211-224.
- Tischer, C., Chen, C.M., Heinrich, J., 2011. Association between domestic mould and mould components, and asthma and allergy in children: a systematic review. *Eur Respir J* 38, 812-824.
- Van Asselt, L., 1999. Interactions between domestic mites and fungi. *Indoor Built Environ* 8, 216-220.
- Vandentorren, S., Baldi, I., Annesi, M., 2003. Long-term mortality among adults with or without asthma in the PAARC study. *Eur Respir J* 21, 462-467.
- Vandentorren, S., Bois, C., Pirus, C., Sarter, H., Salines, G., Leridon, H., 2009. Rationale design and recruitment for the Elfe longitudinal study. *BMC Pediatr* 9, 58.
- Wurtz, H., Sigsgaard, T., Valbjorn, O., Doekes, G., Meyer, H.W., 2005. The

dustfall collector--a simple passive tool for long-term collection of airborne dust: a project under the Danish Mould in Buildings program (DAMIB). Indoor Air 15, 33-40.

Lexique

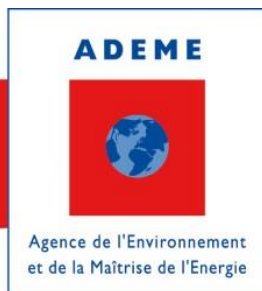
ADEME	Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie
AFPIA	Association pour la Formation Professionnelle dans les Industries de l'Ameublement
CEP	Capteur Electrostatique de Poussière
PCR	Polymerase Chain Reaction

ANNEXE : QUESTIONNAIRE DE SUIVI DE L'ETUDE

L'ADEME EN BREF

L'Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Énergie (ADEME) participe à la mise en œuvre des politiques publiques dans les domaines de l'environnement, de l'énergie et du développement durable. Afin de leur permettre de progresser dans leur démarche environnementale, l'agence met à disposition des entreprises, des collectivités locales, des pouvoirs publics et du grand public, ses capacités d'expertise et de conseil. Elle aide en outre au financement de projets, de la recherche à la mise en œuvre et ce, dans les domaines suivants : la gestion des déchets, la préservation des sols, l'efficacité énergétique et les énergies renouvelables, la qualité de l'air et la lutte contre le bruit.

L'ADEME est un établissement public sous la tutelle conjointe du ministère de l'Écologie, du Développement durable et de l'Énergie et du ministère de l'Éducation Nationale, de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche.



ADEME
20, avenue du Grésillé
BP 90406 | 49004 Angers Cedex 01

www.ademe.fr