



# **ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR L'ÉVALUATION DES RISQUES LIÉS AUX BIO-AÉROSOLS GÉNÉRÉS PAR LE COMPOSTAGE DES DÉCHETS**

**Contrat ADEME / CAREPS n° : 0075038**

**Rapport n° 317**

**Réalisation CAREPS : Anne Deloraine, Lynda Hedreville, Claire Arthus**

**Suivi ADEME : P. Bajeat (DTD, Angers) – I. Déportes (DAGAL, Angers)**

**Mars 2002**

# **ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE SUR L'ÉVALUATION DES RISQUES LIÉS AUX BIO-AÉROSOLS GÉNÉRÉS PAR LE COMPOSTAGE DES DÉCHETS**

Anne DELORAINÉ, Lynda HEDREVILLE, Claire ARTHUS

**Nos remerciements vont à l'ensemble des membres du comité de pilotage et à Isabelle Déportés pour leurs remarques constructives et leur patience.**

<b>Nom</b>	<b>Appartenance</b>
Philippe BAJEAT	ADEME
Corinne BEKAERT	SITA
Jean CARRÉ	Ecole nationale de la Santé publique
Jean-Charles DALPHIN	Université de Franche Comté
Isabelle DEPORTES	ADEME
Boris EFREMENKO	CGEA
Jean-François FABRIES	INRS
Pierre GALTIER	INRA toulouse
Jean-Paul LATGÉ	Institut Pasteur
Michèle LEGEAS	Ecole nationale de la Santé publique
Suzanne MAMAS	Institut Pasteur
Jean-Luc MARTEL	SITA
Gabriel REBOUX	Université de Franche Comté
Olivier SCHLOSSER	Vivendi Environnement
Denis ZMIROU	Institut de Veille Sanitaire

# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION</b>	<b>7</b>
<b>I. OBJECTIF</b>	<b>8</b>
<b>II. MÉTHODE</b>	<b>9</b>
II.1. SCHEMA GÉNÉRAL	9
II.2. SOURCES D'INFORMATION	10
II.3. ORGANISATION DU DOCUMENT	11
<b>III. RAPPEL SUR LES FILIÈRES DE COMPOSTAGE</b>	<b>12</b>
III.1. LE COMPOSTAGE ET LES DIFFÉRENTS PROCÉDÉS DE COMPOSTAGE	12
III.1.1. Définition et principe	12
III.1.2. Principaux déchets potentiellement compostables	13
III.1.3. Les différentes étapes du procédé et les caractéristiques des usines de compostage :	15
III.1.4. Utilisation du compost	18
<b>IV. RAPPEL SUR LES MICRO-ORGANISMES IMPLIQUÉS DANS LE COMPOSTAGE</b>	<b>19</b>
IV.1. INTRODUCTION	19
IV.2. LES BACTÉRIES	20
IV.2.1. Les bactéries à Gram positif	20
IV.2.2. Les bactéries à Gram négatif et les endotoxines	21
IV.3. LES PARASITES	22
IV.4. CHAMPIGNONS	22
IV.4.1. Caractéristiques générales	22
IV.4.2. Mycotoxines	23
IV.5. LES VIRUS	24
IV.6. NOTION D'ORGANISMES INDICATEURS DU RISQUE FECAL	25
<b>V. MÉTHODES DE MESURES DES MICRO-ORGANISMES, ANTIGÈNES, TOXINES PRÉSENTS DANS LE COMPOST ET DANS L'AIR</b>	<b>27</b>
V.1. INTRODUCTION	27
V.2. MÉTHODES D'ÉCHANTILLONNAGE	27
V.2.1. Dans le compost	27
V.2.2. Dans l'air	27
V.2.3. Méthodes d'échantillonnage habituellement utilisées dans les études sur la qualité de l'air dans les usines de compostage	30
V.3. MÉTHODES D'IDENTIFICATION ET DE QUANTIFICATION	31
V.3.1. Micro-organismes cultivables	32
V.3.2. Antigènes allergènes	33

V.3.3. Endotoxines et glucanes	34
V.3.4. Les mycotoxines	35
V.3.5. Méthodes d'identification habituellement utilisées	35
V.3.6. Erreurs de mesure	36
<b>VI. MICRO-ORGANISMES, TOXINES, ANTIGÈNES PRÉSENTS DANS LE COMPOST</b>	<b>38</b>
<b>VI.1. ASPECTS QUALITATIFS</b>	<b>38</b>
VI.1.1. Produits de départ	38
VI.1.2. Durant le procédé : la biologie du compostage	41
<b>VI.2. ASPECTS QUANTITATIFS</b>	<b>45</b>
VI.2.1. Bactéries	46
VI.2.2. Colifformes et <i>E.coli</i>	47
VI.2.3. Actinomycètes	49
VI.2.4. Champignons, <i>Aspergillus</i>	49
VI.2.5. Mycotoxines	53
VI.2.6. Autres	53
<b>VII. MICRO-ORGANISMES, TOXINES ET ANTIGÈNES DANS L'AIR, CARACTÉRISATION DE L'EXPOSITION</b>	<b>55</b>
<b>VII.1. INTRODUCTION</b>	<b>55</b>
<b>VII.2. USINES DE COMPOSTAGE</b>	<b>56</b>
VII.2.1. Poussières	56
VII.2.2. Bactéries	57
VII.2.3. Champignons	63
VII.2.4. Endotoxines	70
VII.2.5. Mycotoxines	71
VII.2.6. Glucanes	72
<b>VII.3. CONCENTRATIONS NATURELLES DANS L'ENVIRONNEMENT</b>	<b>72</b>
VII.3.1. Air extérieur	72
VII.3.2. Air intérieur	74
<b>VII.4. AUTRES MILIEUX</b>	<b>76</b>
<b>VII.5. ESTIMATION DE L'EXPOSITION PAR MODÉLISATION</b>	<b>77</b>
<b>VIII. PRÉSENTATION GÉNÉRALE DES EFFETS POTENTIELS SUR LA SANTÉ</b>	<b>80</b>
<b>VIII.1. INTRODUCTION</b>	<b>80</b>
<b>VIII.2. PRINCIPAUX MÉCANISMES D'ACTION</b>	<b>80</b>
<b>VIII.3. ENTÉROPATHOGÈNES</b>	<b>84</b>
<b>VIII.4. ACTINOMYCÈTES</b>	<b>86</b>
VIII.4.1. Mécanismes d'action	86
VIII.4.2. Effets sur la santé	87
VIII.4.3. Tests diagnostics et fonctionnels	88
VIII.4.4. Voies d'exposition habituelle et populations exposées	89
VIII.4.5. Relations dose-effets	89
VIII.4.6. Facteurs de risque	89
<b>VIII.5. CHAMPIGNONS</b>	<b>90</b>

VIII.5.1. Risque infectieux	90
VIII.5.2. Risques non infectieux	91
VIII.5.3. Aspergillus	92
VIII.5.4. Mycotoxines	96
<b>VIII.6. ENDOTOXINES</b>	<b>100</b>
VIII.6.1. Mécanismes d'action	100
VIII.6.2. Effets sur la santé	100
VIII.6.3. Tests diagnostics et fonctionnels	103
VIII.6.4. Voies d'exposition habituelles et populations exposées	103
VIII.6.5. Relation dose-effets	104
VIII.6.6. Facteurs de risque	104
<b>VIII.7. AUTRES COMPOSÉS ET INTERACTIONS</b>	<b>105</b>
VIII.7.1. (1→3)-β-D-glucanes	105
VIII.7.2. Autres composés	107
VIII.7.3. Interactions	108
<b>IX. RISQUES AÉROPORTÉS LIÉS AU COMPOST</b>	<b>109</b>
<b>IX.1. ETUDE DE CAS</b>	<b>109</b>
IX.1.1. Bronchoalvéolite allergique extrinsèque	109
IX.1.2. Bronchoalvéolite allergique extrinsèque ou syndrome toxique à la poussière organique	109
IX.1.3. Pneumopathie d'hypersensibilité	110
IX.1.4. Aspergillose broncho-pulmonaire	110
IX.1.5. Aspergillose pulmonaire invasive	110
<b>IX.2. ETUDES ÉPIDÉMIOLOGIQUES</b>	<b>110</b>
IX.2.1. Milieu professionnel	110
IX.2.2. Utilisateurs du compost	117
IX.2.3. Population générale	117
<b>IX.3. FACTEURS DE RISQUE ET LIMITES ÉTABLIES POUR L'EXPOSITION PROFESSIONNELLE</b>	<b>117</b>
<b>IX.4. BIOMARQUEURS D'EFFETS</b>	<b>118</b>
<b>X. ÉTUDES ÉPIDÉMIOLOGIQUES DANS D'AUTRES MILIEUX PROFESSIONNELS</b>	<b>119</b>
<b>XI. LES EXPÉRIENCES D'ÉVALUATION DES RISQUES</b>	<b>125</b>
<b>XII. RÈGLEMENTATION ACTUELLE</b>	<b>126</b>
<b>XII.1. - EN FRANCE (Wiert, 2000)</b>	<b>126</b>
XII.1.1. Compost de déchets d'origine urbaine	127
XII.1.2. Les composts de boues d'épuration urbaine	128
<b>XII.2. AU NIVEAU EUROPÉEN (Wiert, 2000)</b>	<b>129</b>
<b>XII.3. AUX USA</b>	<b>130</b>
<b>XIII. SYNTHÈSE ET PROPOSITIONS</b>	<b>131</b>
<b>XIII.1. INTRODUCTION ET OBJECTIFS</b>	<b>131</b>

<b>XIII.2. MICRO-ORGANISMES - ANTIGÈNES - TOXINES IDENTIFIÉS AU COURS DU PROCESSUS DE COMPOSTAGE</b>	<b>132</b>
XIII.2.1. Les organismes pathogènes présents dans les produits de départ	132
XIII.2.2. Micro-organismes apparaissant durant le compostage	134
XIII.2.3. Toxines et autres composés produits par les bactéries et champignons	137
<b>XIII.3. CONCLUSIONS ET PROPOSITIONS</b>	<b>140</b>
XIII.3.1. Connaissance des dangers et relation dose-effet	140
XIII.3.2. Connaissance des expositions	140
XIII.3.3. Connaissance des risques pour la santé	141
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>143</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>160</b>
<b>LISTE DES ABBREVIATIONS ET SYMBOLES</b>	<b>213</b>
<b>TABLE DES ILLUSTRATIONS</b>	<b>215</b>

## **INTRODUCTION**

Le compostage est une filière de valorisation des déchets que l'ADEME souhaite développer compte-tenu de sa valeur ajoutée sur le plan agronomique, de l'augmentation croissante du gisement de matières organiques brutes et des objectifs élevés de recyclage promus par le Ministère de l'Environnement et fixés à 50 % dans la circulaire de Dominique Voynet de l'été 1998. Dans ce cadre, il convient de s'assurer de l'innocuité de ces pratiques et c'est pourquoi l'ADEME a souhaité disposer d'un état des connaissances sur les risques potentiellement générés par les bioaérosols produits lors du compostage des déchets organiques et lors de l'utilisation finale des produits compostés pour, dans un second temps, proposer un programme d'acquisition et de valorisation des connaissances sur les risques microbiologiques aéroportés liés au compostage des déchets. Ceci est l'objet du présent rapport.

## **I. OBJECTIF**

- Réaliser la synthèse des acquis scientifiques sur les risques liés à l'exposition aux bio-aérosols générées par le compostage. La présentation de ce travail doit, entre autres, permettre son utilisation comme outil d'information pour les ingénieurs et techniciens de l'ADEME.
- Proposer des recommandations sur les axes de recherche à développer.

Comme cela est spécifié dans la demande, cette étude doit permettre de surtout mieux connaître le risque lié au danger biologique aéroporté encouru par les riverains des sites de compostage et les utilisateurs du compost.

Les risques liés aux émissions chimiques provenant du compost sont exclus du champ d'investigation de cette étude. Ils ont donné lieu à un autre travail (ENSP, 2002).



## **II. MÉTHODE**

### **II.1. SCHÉMA GÉNÉRAL**

Le CAREPS a procédé à une recherche bibliographique selon différents axes. Ceux-ci se rapprochent des différentes étapes utilisées dans la démarche d'évaluation des risques. Rappelons que les notions de danger et de risque sont bien différentes. Pour un composé, le danger est représenté par l'effet sanitaire indésirable. Il est lié aux propriétés intrinsèques et à la toxicité de la substance ou du micro-organisme étudié. Pour qu'il y ait risque sanitaire pour une substance dangereuse, il est nécessaire qu'il y ait exposition à cette substance. Le risque correspond donc à la probabilité assortie au danger.

En terme de définition, le terme **aérosol** désigne tout ensemble de particules solides ou liquides en suspension dans un milieu gazeux. Les particules sont conventionnellement considérées en suspension si leur vitesse limite de chute maximale n'excède pas 0,25 m/s. Le terme aérosol est générique. Il désigne tous les types de particules en suspension telles que fumées, poussières ou vésicules. Le terme bioaérosol désigne, un aérosol composé de particules d'origine biologique.

#### **Produits et agents pathogènes apparaissant dans les différentes étapes du processus de compostage**

L'objectif était de recenser les agents pathogènes ou autres composés microbiologiques retrouvés dans le compost. En effet, si ceux-ci sont présents dans le compost, ils sont susceptibles de s'aérosoliser lors de la manipulation du produit par exemple. Leur mesure dans le produit ne représente néanmoins qu'un potentiel d'exposition. La recherche a porté sur les micro-organismes et composés dont la présence dans le compost a été documentée ou suspectée : bactéries dont les actinomycètes, champignons dont *Aspergillus fumigatus* et des composés tels que les endotoxines, mycotoxines, les glucanes. Les aspects qualitatifs (types d'organisme) et quantitatifs (dénombrement) ont été étudiés. Dans la mesure où les données le permettaient, le rôle des procédés de compostage, de la qualité des produits de départ et éventuellement du mode de stockage dans la fréquence des agents rencontrés ont été individualisés.

#### **Population cible/expositions/effets**

Afin d'évaluer l'exposition, les concentrations habituellement rencontrées dans les ambiances des sites de compostage et à distance de ceux-ci ont été rapportées. Ces concentrations n'étant pas obligatoirement différentes des valeurs habituelles rencontrées dans notre environnement, un effort particulier a été fait pour disposer de données de "bruit de fond".

La toxicité relative des différents agents ainsi que les pathologies associées ont été étudiées en tenant compte des études expérimentales et des études épidémiologiques disponibles. Il s'agit donc de l'étape d'identification des dangers.

Outre les données relatives aux expositions professionnelles (travailleurs en champignonnières, agriculteurs, travailleurs en usines de compostage) et à d'éventuelles études en population générale, la recherche a porté aussi sur l'identification de populations sensibles ainsi que sur le mode d'exposition possible.

## Risque aéroporté lié au compost

Les expériences d'évaluation du risque microbiologique menées sur le compost ont été recensées.

### Synthèse

Compte tenu des données collectées plus haut, la démarche d'évaluation des risques a été déroulée pour chaque composé afin d'identifier les points où l'on dispose d'assez de données, les incertitudes, les données manquantes. Cette partie se présente comme une synthèse des chapitres précédents et aboutit à la proposition d'axe de recherche pour le futur appel d'offre.

## II.2. SOURCES D'INFORMATION

Pour certains aspects, tels les effets sanitaires de certains micro-organismes, qui ont donné lieu à de nombreuses publications scientifiques, la consultation de synthèses scientifiques déjà existantes a été privilégiée.

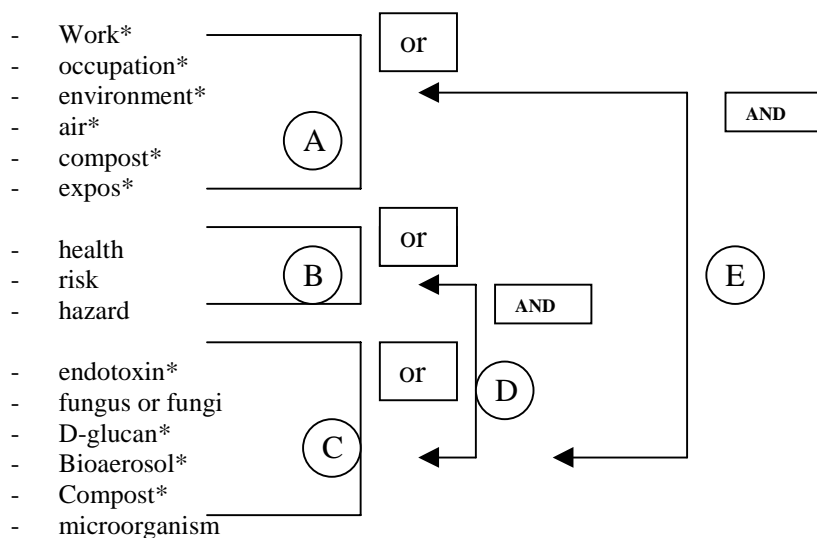
Une première base documentaire est fournie par la base de données du bulletin info santé-déchets qui recense tous les articles publiés sur les déchets sous un éclairage sanitaire depuis 1993.

Les articles supplémentaires à étudier ont été identifiés, soit à partir des synthèses déjà existantes, soit après consultation des principales bases de données bibliographiques : Medline, Pascal, BIOSIS, TOXLINE. Les documents utilisés proviennent pour la plupart de revues scientifiques mais il a pu arriver, en l'absence de données, que des documents extraits de rapports ou de revues de qualité scientifique moindre soit utilisé. Ceci a été précisé dans la mesure du possible dans le texte.

Ces bases de données ont été consultées par Internet ou par le biais de la bibliothèque universitaire de Grenoble.

La liste des mots clés (recherchés dans le titre et résumé) déjà identifiés avait été fixée en accord avec l'ADEME.

Figure 1 : Organigramme de la recherche bibliographique



Les sites internet des grandes instances internationales tel celui de l'OMS, de l'Union Européenne, ou les sites Nord-Américains (CDC, EPA, FDA) et français (INSERM, CNRS, CEMAGREF, ENSP) ont été consultés.

### **II.3. ORGANISATION DU DOCUMENT**

Après une brève présentation du compostage, le document s'articule autour de la recherche des composés présents dans le compost, dans l'air des usines de compostage et à distance. Les méthodes d'échantillonnage et de mesure étant très différentes selon les composés, les études et les époques, celles-ci sont présentées afin de faciliter la comparaison des différents travaux et d'identifier les méthodes habituellement employées.

Les principales données disponibles sur la santé, les populations sensibles, les relations dose-réponse sont ensuite présentées pour chaque micro-organisme, toxine, antigène présent dans le compost ou dans l'air.

La réalité de ces risques est ensuite abordée au travers des études de cas publiées sur des personnes ayant manipulé du compost et au travers des études épidémiologiques réalisées auprès des travailleurs. Ces risques peuvent apparaître théoriques si aucune étude n'a été réalisée mais si l'exposition et les dangers sont réels.

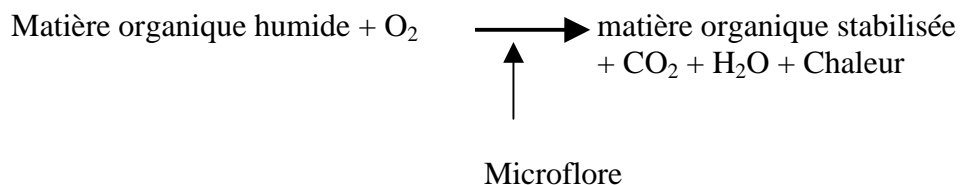
L'ultime étape consiste en une synthèse des données disponibles sur la réalité des risques telle qu'elle apparaît à la lecture des données existantes et sur les données nécessaires afin d'appliquer une démarche d'évaluation des risques.

### III. RAPPEL SUR LES FILIÈRES DE COMPOSTAGE

#### III.1. LE COMPOSTAGE ET LES DIFFÉRENTS PROCÉDÉS DE COMPOSTAGE

##### III.1.1. Définition et principe

Le compostage est un processus aérobie qui facilite et accélère la transformation des matières organiques fermentescibles par de nombreux micro-organismes et qui s'accompagne d'un dégagement de chaleur important. Il aboutit, s'il est bien mené à la formation d'un résidu déshydraté, désodorisé, hygiénisé, stabilisé appelé compost. Les déchets fermentescibles sont ceux qui peuvent faire l'objet d'une fermentation : transformation de certaines substances organiques sous l'action d'enzymes sécrétées par des micro organismes. Les déchets organiques fermentescibles contiennent en proportions très variables et sous des formes plus ou moins accessibles aux micro-organismes aussi bien des produits simples et facilement fermentescibles tels que les sucres, l'amidon, les graisses, les protéines, etc., et d'autres dont la décomposition biologique est beaucoup plus lente (hémicellulose, cellulose, lignine, etc.). Ces matières peuvent être d'origine animale comme végétale. Le terme "hygiénisation" signifie ici destruction des micro-organismes pathogènes (en général d'origine fécale). Ce processus correspond à une oxydation de la matière organique avec formation d'eau, de dioxyde de carbone et dégagement important de chaleur. Il est à signaler que généralement les quantités d'eau formées par cette réaction sont négligeables en regard des quantités d'eau évaporées par le dégagement de chaleur.



Le compostage se traduit donc par (Vandeuve, 2000) :

- Une oxydation de la fraction fermentescible avec stabilisation de la matière organique
- Une déshydratation consécutive à l'échauffement et à l'aération
- Une destruction des germes pathogènes (hygiénisation) résultant essentiellement de l'élévation de température.

La qualité du processus de compostage est fonction de 3 paramètres ou conditions environnementales qui sont nécessaires pour une bonne activité biologique :

- l'humidité : pour le compost de déchets verts l'humidité optimum est de 60%,
- l'aération pour faire face aux besoins en oxygène de la microflore,
- le rapport carbone/azote (C/N) qui tend à diminuer au cours du processus de compostage. Le ratio optimal dans le matériel de départ est de 25 environ pour le compostage de déchets municipaux mélangés ou non à des boues d'épuration et 30-35 pour des déchets verts. Avec des valeurs plus basses, des pertes d'azote se produisent par volatilisation et avec des valeurs plus hautes, le compostage est plus lent.

Le pH doit se situer aux alentours de 6 à 7,5, valeurs auxquelles la croissance de la plupart des micro-organismes est maximale.

L'effet de la température et du pH est variable selon les espèces de micro-organismes.

La température du compost, qui peut atteindre jusqu'à 80° C, doit être maîtrisée car elle peut s'accompagner de l'autodestruction de l'écosystème du compost et par voie de conséquence de celle des micro-organismes. Ces derniers étant à l'origine de la décomposition correcte de la matière organique, il est important de maintenir une température raisonnable par une ventilation adaptée naturelle ou forcée et des arrosages fréquents, raisonnable car une température optimale permet une bonne hygiénisation et maturation du compost (55-60°C)(De Bertoldi M 1983).

### **III.1.2. Principaux déchets potentiellement compostables**

Les déchets fermentescibles entrant dans le processus de compostage sont :

- les papiers-cartons,
- les déchets de cuisine (restes de repas, épluchures, marc de café et son filtre, coquilles d'œuf, ...),
- les déchets de jardin, appelés aussi « déchets verts » (pelouse, branchage, ...),
- les boues de station d'épuration, déjections issues des élevages d'animaux, ...,
- les déjections issues des élevages d'animaux, ...,
- les graisses et sous-produits de l'industrie agro-alimentaire.

Le compostage de la matière organique peut être réalisé à partir de différents matériaux de base. On distingue :

- Les ordures ménagères brutes non triées ou ordures grises collectées après tri des emballages (récipients en plastique ou boîtes de conserve métallique). C'est avec ce type de déchets que fonctionnent les anciennes usines de tri-compostage.
- La fraction fermentescible des ordures ménagères (anciennement appelée FFOM est appelé dans ce document biodéchets) collectées sélectivement et triées à la source par les ménages. La nouvelle génération d'usines de compostage utilise ce gisement beaucoup plus humide que le précédent et qui doit généralement être co-composté avec des déchets verts.
- Les déchets verts (DV) de jardins municipaux ou privés ou d'entreprises liées à l'entretien d'espaces verts. Ils sont constitués de tontes de gazon, de la taille de haies, de branches d'élague, de feuilles mortes et de fleurs mises au rebut.
- Les boues de stations d'épuration (STEP) d'eaux usées urbaines ou industrielles. En général, on mélange à ces boues un agent structurant tel que des copeaux de bois, des déchets végétaux dans le but d'obtenir une structure adéquate et une porosité suffisante du matériel mis à composter.
- Les déchets agricoles (fumiers, excréments d'animaux, ...).
- Les sous-produits de l'industrie agro-alimentaire (IAA). Ceux-ci peuvent être de diverses natures (marc de raisins, graisses, pulpes).

Le paysage du compost évolue. Si le compostage des ordures ménagères en mélange représente près de 80 sites de compostage, ces usines sont pour partie en phase de réhabilitation et de réorientation vers un compostage de déchets triés à la source. Ce dernier

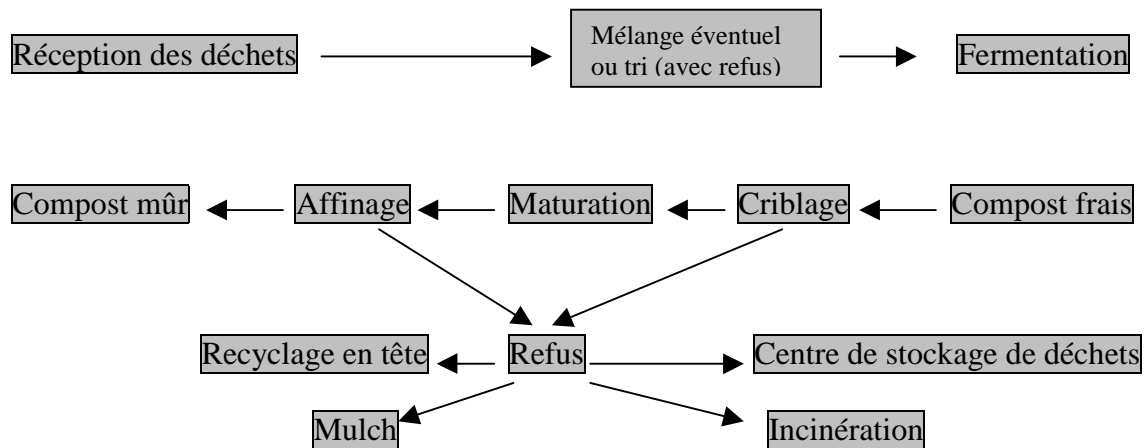
représente maintenant une trentaine de site produisant environ 40 000 tonnes de compost. On observait, au début des années 1990, une dizaine de sites de compostage des déchets verts. On estimait leur nombre en 2000 à 280 plates-formes produisant plus de 900 000 tonnes de compost (source ADEME). Enfin, aujourd'hui ce sont moins de 5 à 10 % des boues d'épuration urbaine qui sont compostées en mélange (souvent avec des déchets verts) et ceci sur 25 installations (ADEME, 2001).

### **III.1.3. Les différentes étapes du procédé et les caractéristiques des usines de compostage :**

#### **III.1.3.1. Aperçu général**

On peut distinguer plusieurs étapes dans le procédé de compostage : une première phase correspond à la réception avec un stockage sur une courte durée des matières premières. Elle est suivie d'une phase de préparation des produits ou de prétraitements qui permettent d'obtenir une composition optimale pour les transformations biologiques. Après ces prétraitements, démarre vraiment le compostage avec une phase de fermentation au cours de laquelle la matière organique est dégradée et recombinaée. A cette phase de fermentation, succède une phase de maturation qui peut être précédée ou pas d'un affinage ou d'un criblage (post traitement) permettant d'atteindre la granulométrie souhaitée en fonction de l'utilisation prévue du compost. Le compost peut ensuite être mélangé à d'autres produits à des fins d'utilisation commerciale. Il est ensuite conditionné et stocké (Vandœuvre, 2000).

Figure 2 : Les différentes étapes du compostage (d'après ENSP, 2002)



### III.1.3.2. La préparation

La préparation varie selon la nature des déchets et leur éventuel malange avec des produits non compostable. Elle consiste à effectuer :

- un tri manuel ou un tri mécanique (criblage) granulométrique ou densimétrique pour certains déchets comme les biodéchets ou les ordures ménagères,
- un broyage qui peut être nécessaire en particulier pour les déchets verts voir les déchets fermentescibles,
- éventuellement une méthanisation (transformation biologique en milieu anaérobie qui permet dans certaines conditions d'assurer la stabilisation et parfois l'hygiénisation de la matière organique fermentescible) des biodéchets. La méthanisation est utilisée traditionnellement pour les eaux usées agro-alimentaires, les effluents d'élevage et les boues de stations d'épuration (Beffa, 1998). Elle se développe progressivement depuis une vingtaine d'années sur les déchets urbains solides triés ou non triés selon des modalités techniques bien différentes liées pour partie à la nécessité de travailler à des teneurs en matière sèche relativement importantes dans les digesteurs ( 10 à 25% de MS).
- un mélange avec un agent structurant (copeaux de bois, sciure...) dans la plupart des cas pour obtenir la structure adéquate.

### III.1.3.3. La fermentation

Il existe de nombreuses techniques de compostage (140 brevets à l'échelle européenne). On peut cependant les regrouper en fonction des critères suivants :

- Le type de système : ouvert ou clos,
- Le mode d'aération,
- Le type de structure du lot de fermentation.

Parmi les différents process utilisés, il faut distinguer ceux qui présentent une ventilation naturelle statique (static pile) de ceux qui présentent une ventilation naturelle avec



retournement. Dans le premier cas, il s'agit du système le plus rustique qui correspond au compostage domestique mais qui est déconseillé dans le cadre d'un objectif de maîtrise du procédé de compostage. La ventilation naturelle avec retournement d'andains (ou tas de matières en compostage) est en général utilisée pour le compostage en plein air de déchets d'espaces verts ou de certains déchets agricoles riches en composés ligno-cellulosiques. Les andains sont des tas allongés disposés sur une aire bétonnée ou asphaltée. Le retournement des andains se fait de façon régulière (hebdomadaire) pour assurer l'aération de la matière et peut être réalisé à l'aide d'appareils enjambeurs adaptés. Un arrosage hebdomadaire est assuré les premières semaines afin de maintenir un taux d'humidité optimum du compost 55 à 60 %. Il est possible de réaliser une ventilation forcée (en tas ou andains, en casiers) sur ces systèmes avec ou sans retournement. Cette aération forcée est assurée par un réseau de drains sous les matières à traiter qui aspirent ou insufflent de l'air. L'aération forcée est recommandée pour les matières fermentescibles telles que les boues ou la fraction fermentescible des déchets ménagers. Le retournement combiné à l'aération forcée permet une meilleure homogénéité du compost.

Ces différentes techniques peuvent être mises en œuvre dans différents environnements, c'est-à-dire soit à l'air libre soit sous bâtiment non fermé et non confiné et enfin sous bâtiment confiné. Dans les deux derniers cas, ceci permet (en cas de ventilation négative) de limiter la dispersion atmosphérique des composés et de réduire le problème de la place nécessaire au stockage.

Dans les systèmes clos, la matière est traitée sans contact avec le milieu extérieur, l'aération étant donc toujours forcée. La fermentation se réalise en tours, en tubes ou caissons. Dans les bioréacteurs ou bioconteneurs, l'air récupéré après process peut être traité sur biofiltre. Cette phase de fermentation est suivie d'une phase de maturation en andains.

Le temps d'aération pour une usine est variable. Il va de 14 à 45 jours. Il peut être très court pour les systèmes clos (2 semaines).

Les systèmes avec un ajustement de l'aération (aération forcée, système clos) permettent une maîtrise du procédé lorsque l'ajustement de l'aération est associé à une mesure de la température, de l'humidité, voir de l'oxygène dans les tas.

Actuellement, il existe ainsi deux grandes stratégies de compostage industriel en fonction de la qualité des déchets :

- pour les déchets très humides et pâteux tels que les boues, les graisses et les déchets agro-alimentaires, le séchage, la ventilation forcée sont privilégiés. Le compostage de ces produits nécessite, de plus, l'utilisation d'un agent structurant qui est recyclé en fin de compostage grâce à une phase de criblage.
- Pour les déchets peu humides et fibreux, le compostage avec retournement d'andains et apport d'eau pour faciliter la dégradation est privilégié.

#### **III.1.3.4. Maturation**

Les termes maturation ou stabilisation ne sont pas employés avec la même signification. Il n'existe pas de définition standardisée précise de ces deux termes.

La stabilisation est évoquée aujourd'hui, et notamment dans le projet de directive européenne sur le traitement biologique des biodéchets, pour déterminer l'aptitude d'un déchet pré-traité

ou non à être mis en décharge sans générer d'impacts importants (production de biogaz et lixiviats).

Selon ce projet, la stabilisation consiste en la « réduction des propriétés de décomposition des déchets de manière à limiter au maximum les odeurs nauséabondes et à maintenir l'activité respiratoire après 4 jours ( $AT_4$ ) au-dessous de 10 mg  $O_2/g$  de MS ou l'indice de respiration dynamique au-dessous de 1 000 mg  $O_2/kg$  MO/h (1 mg  $O_2/g$ MO/h) (ENSP, 2002).

La maturation garde, elle une connotation agronomique, elle exprime le niveau de qualité requis par l'utilisateur final du compost (absence de phytotoxicité, pas de faim d'azote dans les semaines qui suivent l'incorporation au sol, bonne hygiénisation, aptitude à libérer une proportion d'éléments minéraux connue dans l'année qui suit l'épandage...).

De nombreux tests essaient d'appréhender ce niveau de maturation : test du cresson, tests respirométriques, test solvita d'origine américaine, rapport  $NH_3/NO_3$ ...

On peut vraisemblablement considérer que le compost a atteint sa phase de maturité lorsque :

- il ne s'échauffe plus lors du retournement,
- il ne repart pas en anaérobiose au cours du stockage,
- il n'immobilise pas d'azote lorsqu'il est incorporé dans un sol,
- il n'est pas phytotoxique.

Le temps de maturation est variable et dépend à la fois des déchets entrants et du processus de compostage envisagé. Il est parfois absent mais peut aller jusqu'à 5 ans.

Sur la plupart des sites, la température, l'humidité et le taux d'oxygène sont suivis. Selon les usines, la mesure de la  $T^\circ$  et de l'humidité peut être absente, quotidienne, biquotidienne, bihebdomadaire ou continue.

#### **III.1.4. Utilisation du compost**

En France, l'utilisation des composts se fait aujourd'hui dans divers cadres réglementaires que sont l'homologation, la normalisation et le plan d'épandage. (cf. chapitre sur la réglementation).

Les principales voies d'utilisation des produits compostés sont :

- l'utilisation en agriculture (grandes cultures, cultures légumières, et fruitières) comme amendement organique ou organo-calcaïque (compost d'ordures ménagères ou de boues),
- l'utilisation en horticulture ou en jardin amateur en entrant de façon minoritaire dans la formulation de certains supports de culture (terreaux) ou amendement organique commercial (compost de déchets verts),
- l'utilisation en reconstitution du sol ou revégétalisation pour espaces verts ou sites dégradés (centre d'enfouissement technique, friches industrielles),
- l'utilisation en mélange avec d'autres produits pour la fabrication d'engrais organiques ou organo-minéraux.

## IV. RAPPEL SUR LES MICRO-ORGANISMES IMPLIQUÉS DANS LE COMPOSTAGE

### IV.1. INTRODUCTION

Avant de présenter sur le plan quantitatif les concentrations en micro-organismes habituellement retrouvées dans le compost, quelques notions de microbiologie sont présentées dans le chapitre ci-dessous. Les différents effets sur la santé ne sont pas abordés ici mais dans le chapitre IX.

#### Quelques définitions

La flore présente dans notre environnement est constituée de micro-organismes dont seulement certaines espèces sont agressives ou invasives pour le corps humain. Les organismes pathogènes sont ceux qui sont capables de provoquer une maladie (expression de symptômes) chez l'homme. On distingue les pathogènes stricts et les pathogènes opportunistes. Dans ce dernier cas, il s'agit d'organismes commensaux ou saprophytes qui peuvent induire une maladie lorsque la résistance que leur oppose leur hôte est faible ou s'affaiblit. Les micro-organismes, dit commensaux, sont hébergés normalement par l'homme au niveau des cavités naturelles et de la peau. Les micro-organismes, dits saprophytes, réalisent même une symbiose bénéfique pour l'hôte : c'est le cas par exemple des bactéries intestinales qui ont un rôle sur la digestion et la synthèse de vitamines.

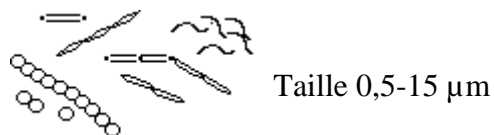
#### Les différents micro-organismes

Les cinq types d'organismes pathogènes sont les virus, les bactéries, les parasites qui regroupent les protozoaires, les helminthes et les champignons. Certains de ces organismes peuvent produire des formes de résistance, à métabolisme ralenti dont la survie peut être excellente (sporulation des bactéries et des champignons, formes kystiques pour certains parasites). La survie de ces organismes dans le milieu extérieur dépend principalement de la température, mais aussi de la disponibilité en eau, de la présence d'autres organismes saprophytes.

Plusieurs classifications des micro-organismes sont disponibles. L'une les distingue en fonction de la température de croissance (Mustin, 1987) :

- les organismes psychrophiles qui croissent à une température inférieure à 25°C et qui se multiplient encore à 0°C.
- Les organismes mésophiles dont la température optimale de croissance est comprise entre 25 et 40°C.
- Les organismes thermotolérants dont la température optimale est comprise entre 40 et 50°C.
- Les organismes thermophiles dont la température optimale se situe autour de 50°C ou plus.

## IV.2. LES BACTÉRIES



### Bactéries

Les bactéries sont des cellules procaryotes : cellules primitives qui ne possèdent pas de vrai noyau mais un appareil nucléaire simplifié. La paroi cellulaire est constituée principalement d'un polymère complexe de sucres et d'acides aminés, appelé peptidoglycane, qui lui confère sa forme et sa rigidité. Leur reproduction est asexuée par division de cellules. Les bactéries forment un groupe d'une grande diversité comprenant plus de 250 genres et plusieurs milliers d'espèces, dont les bactéries pathogènes ne représentent qu'une faible part. Il existe des bactéries adaptées à tous les milieux : inerte, sans oxygène, à haute ou basse pression, à haute ou basse température. Certaines bactéries pathogènes sont capables de sporuler lorsque les conditions de milieu leur sont défavorables (*Bacillus anthracis*, *Clostridium* sp).

La plupart des bactéries peuvent être cultivées sur des milieux de cultures artificiels fournissant les nutriments nécessaires à la croissance. Certaines sont des parasites intracellulaires obligatoires et sont cultivables seulement *in vivo* ou sur des cultures cellulaires. Les bactéries cultivables peuvent pousser sur des milieux nutritifs non sélectifs comme la gélose au sang ou sur des milieux sélectifs dans lesquels la présence d'adjuvant (bile, antibiotique) permet de limiter la pousse à certaines espèces seulement. Il existe des bactéries strictement anaérobies qui ne se développent qu'en atmosphère dépourvue d'oxygène. Outre l'examen microscopique et la mise en culture des bactéries, des examens complémentaires sont nécessaires pour confirmer l'identification des espèces. Il s'agit le plus souvent de tests biochimiques qui permettent de les différencier (Hart, 1997).

La forme (bacilles, cocci ou coccobacilles) des bactéries et leur affinité pour les colorants constituent la base de leur classification. La plupart prennent la coloration de Gram, les bactéries à Gram positif en bleu-violet, les bactéries à Gram négatif en rose. La différence de coloration correspond à des différences fondamentales au niveau de l'enveloppe cellulaire de ces deux classes de bactéries :

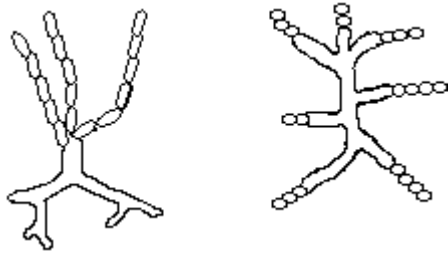
- Les bactéries Gram-positives ont une paroi constituée de plusieurs couches de peptidoglycanes qui lui confèrent une grande résistance.
- Les bactéries Gram-négatives ont seulement une couche fine de peptidoglycane mais entourée d'une membrane externe supplémentaire agissant comme une barrière.

### **IV.2.1. Les bactéries à Gram positif**

Parmi les bactéries aérobies Gram-positives, on distingue les cocci (staphylocoques, les streptocoques) et les bacilles dont certains sporulent tels les genres *Bacillus*, *Clostridium* et d'autres pas (*Listeria*, *Corinebacterium*). Les bactéries anaérobies Gram-positives regroupent principalement les genres *Clostridium* (bacilles) et *Peptostreptococcus* (cocci).

En raison de leur important développement dans le traitement des déchets et dans le compost, il est nécessaire de présenter plus précisément les actinomycètes, groupe important des bactéries Gram-positives.

## Bactéries filamenteuses ou Actinomycètes



### Actinomycètes

Ce sont des bactéries Gram-positives aérobies, plus rarement anaérobies, qui ont tendance à former une sorte de filaments plus ou moins ramifiés (hyphes) comme les filaments des champignons. Elles forment des spores à parois fines appelées conidies ou conidiospores (Delaunay, 1997). Elles ressemblent aussi aux champignons car elles sont adaptées à la vie sur des surfaces solides. Les actinomycètes sont les plus prolifiques de tous les micro-organismes pour la production d'antibiotiques et d'enzymes. Ainsi, les glucosidases des actinomycètes jouent un rôle important dans la dégradation de la biomasse végétale (amylases, xylanases) et animale (chitinases). De plus, les actinomycètes produisent non seulement des enzymes nécessaires à la formation d'antibiotiques mais aussi des enzymes inactivant les antibiotiques pour se protéger de leur action toxique.

La taille des spores s'étend de 0,57  $\mu\text{m}$  (*Thermoactinomyces vulgaris*) à 1,28  $\mu\text{m}$  (*Streptomyces albus*) (Reponen, 1998). Elles comportent dans leur paroi des peptidoglycanes et des déterminants antigéniques. Les actinomycètes thermophiles sont retrouvés dans le milieu industriel et en particulier dans le traitement des déchets et dans les composts (Perdrix, 1997, Millner, 1994).

Leur capacité à être cultivés varie très largement en fonction des espèces et du flux d'air de la pompe utilisée pour l'échantillonnage (Reponen TA, 1998).

### **IV.2.2. Les bactéries à Gram négatif et les endotoxines**

Les bactéries Gram-négatives sont très largement répandues dans l'environnement et le tube digestif animal et humain. *Shigella* sp, *Enterobacter* sp, *Klebsiella* sp, *Salmonella* sp, *Escherichia* sp, sont parmi les genres les plus fréquemment retrouvés (Hart, 1997). Ces bactéries regroupent diverses familles dont la famille des *Enterobacteriaceae* qui, comme son nom semble l'indiquer, regroupe des bactéries qui sont des hôtes du tube digestif de l'homme et des animaux. Néanmoins de nombreuses souches de cette famille ont été isolées de l'environnement aquatique et terrestre. Ce sont des bactéries anaérobies facultatives.

La paroi des bactéries Gram-négatives comprend des molécules d'endotoxines qui contribuent au pouvoir pathogène bactérien. Ces endotoxines sont retrouvées dans la paroi de toutes les espèces de cette classe de bactéries. Pour être actives, les endotoxines doivent être libérées par les bactéries lors de leur destruction ou de leur multiplication (Millner, 1994) . Les endotoxines sont solubles dans l'eau du secteur pulmonaire. Leur toxicité s'exagère lorsqu'elles sont chauffées (Perdrix, 1997). Les endotoxines sont formées d'un complexe lipopolysaccharidique (LPS) responsable de la plupart des effets. Ainsi les termes endotoxines et LPS sont souvent utilisés de la même façon, bien que non synonymes. Le terme *endotoxine*

fait référence à la macromolécule (ou la toxine) présente dans la membrane cellulaire (les effets observés dans des conditions réelles supposent aussi l'exposition à des protéines bactériennes et à divers constituants membranaires) alors que le terme *lipopolysaccharide* (ou LPS) implique une endotoxine purifiée ne comportant pas d'autres constituants cellulaires (Deschamps, 1994). La partie lipidique (lipide A) est responsable de la majorité des propriétés toxiques des endotoxines (Rylander, 1994). Celles-ci ont été identifiées dans les poussières organiques et en particulier dans l'ambiance des usines de compostage.

### **IV.3. LES PARASITES**

Le parasite est un être organisé vivant qui, pendant tout ou partie de sa vie se nourrit au dépend d'un autre organisme vivant que l'on appelle son hôte. Parmi les parasites on distingue :

- les helminthes qui sont des êtres pluricellulaires. Cette catégorie comprend les trématodes (douve, bilharzies), les nématodes (ascaris, oxyures, *toxocara* etc..) et les cestodes (ténia, botriocéphales)
- les protozoaires qui sont des animaux unicellulaires vivant pour la plupart en milieu aquatique mais dont certains vivent en association avec un hôte de façon commensale ou symbiotique dans le tube digestif. Citons *Giardia*, *Cryptosporidium*, *Toxoplasma*.
- les champignons qui se nourrissent à partir de carbone organique et sont donc soit saprophytes, soit commensaux, soit parasites.

En dehors des champignons, les parasites ont un cycle de développement complexe au cours duquel plusieurs stades se succèdent (adulte, œuf, larves).

A l'exception des champignons, les éléments parasitaires sont dénombrés individuellement par observation microscopique directe (nombre d'œufs, nombre de kystes) (ADEME, 1994). Une mention particulière sera faite aux champignons de par leur responsabilité dans le processus du compostage.

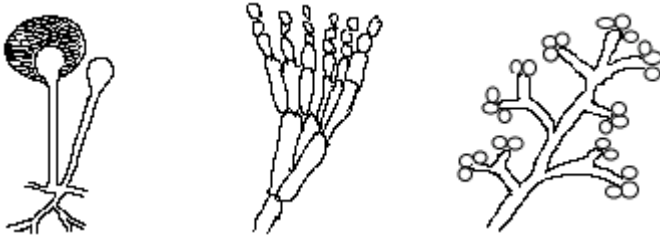
### **IV.4. CHAMPIGNONS**

#### **IV.4.1. Caractéristiques générales**

Les champignons représentent un groupe diversifié de micro-organismes dont le noyau est lié à la membrane et qui comporte plusieurs chromosomes (eucaryotes). Ils peuvent se présenter sous formes unicellulaires (levures) ou pluricellulaires (moisissures), lorsque les cellules s'allongent pour former des filaments qui constituent le mycélium.

La reproduction est essentiellement asexuée, mais un certain nombre de groupes se reproduisent aussi par des spores sexuées. Les principaux champignons pathogènes humains appartiennent au groupe des *Deuteromycetes* appelés champignons imparfaits car on n'a pas pu mettre en évidence chez eux une reproduction sexuée (Hart, 1997). Les spores asexuées appelées aussi conidies sont facilement mises en suspension dans l'air (AFNOR EN 13098:2000).

Les champignons sont difficiles à classer. Pour cela on utilise le plus souvent la morphologie des spores ou des colonies.



Champignons

Taille : 20-100  $\mu\text{m}$

La température de croissance des champignons mésophiliques est de 25°C. On place dans ce groupe (Scheff, 2 000) :

- *Alternaria*
- *Aureobasidium*
- *Cladosporium*
- *Epicoccum*
- *Gliocladium*
- *Mucor*
- *Neurospora*
- *Penicillium spp*
- *Sporotrichium*
- *Trichoderma*
- *Trichothecium*
- *Ullocladium*
- *Wallemia*

Les champignons thermophiles sont cultivés à 35°C. C'est le cas pour les genres *Aspergillus spp*, *Geotrichum* et les levures. *Aspergillus fumigatus* est une des espèces les plus présentes dans les mesures sur le contenu en spores de l'air. Il est capable de croître et de survivre dans une grande gamme de température (12-50° C), d'humidité relative et de substrats. Les spores individuelles sont petites (2 à 3  $\mu\text{m}$ ) et peuvent être transportées par le vent à distance (Millner, 1994). Les principales mycotoxines et les champignons les élaborant sont présentés en annexe 1.

#### **IV.4.2. Mycotoxines**

La structure des champignons montre des déterminants antigéniques et parfois la capacité à élaborer des mycotoxines et des (1→3)- $\beta$ -D-glucanes aux effets propres. Les mycotoxines sont des métabolites secondaires, composés essentiellement d'acides aminés et de terpènes. Ce sont des composés stables à la chaleur, non polarisés et de bas poids moléculaire (Millner, 1994). Toutes les espèces de moisissures ne sécrètent pas des mycotoxines. Les plus impliqués sont les champignons microscopiques de l'espèce *Aspergillus*, *Trichothecium*,

*Penicillium* et *Fusarium* (Perdrix, 1997). *Alternaria*, *Paelomyces*, *Rhizopus*, *Trichoderma* sont aussi des espèces toxigènes (Sorenson, 1999). A l'intérieur d'une même espèce, toutes les souches ne sont pas toxigènes. Ainsi, on considère que *Aspergillus flavus* n'est toxigène que dans une proportion de 50 %. En fait, ce sont les conditions du milieu où pousse le champignon et son adaptation à ce milieu, aussi bien que ses caractères génétiques, qui sont des facteurs de toxigénèse primordiaux (CSHPF, 1990). A l'inverse, une même espèce peut produire différentes mycotoxines. Elles sont ubiquitaires et sont surtout trouvées là où se développent les champignons ainsi que dans les spores de ceux-ci. Ce sont des contaminants naturels de l'alimentation, mais on les retrouve aussi dans les aérosols de poussières organiques ce qui permet leur inhalation (en agriculture lors des moissons, dans l'industrie d'aliments pour animaux, dans la poussière de maison...)(Sorenson, 1999).

Les **aflatoxines** sont produites principalement par *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*, elles ont une large distribution et un haut pouvoir contaminant par voie orale. Les **trichotécènes** regroupent plusieurs dizaines de mycotoxines différentes produites par de nombreuses variétés de champignons (les principales sont la toxine T2, le désoxynivalénol et le nivalénol). On les trouve principalement dans le maïs, le blé et l'orge. Les **ochratoxines** sont produites principalement par *Aspergillus* (*A. ochraceus*...) et *Penicillium* (*P. viridicatum*...), la plus toxique est l'ochratoxine A (OTA) trouvée dans le maïs, l'orge, le blé, le café... *Aspergillus fumigatus* n'est pas cité dans les publications comme producteur d'ochratoxines. Il existe encore bien d'autres mycotoxines : zéaralénone, patuline, citrinine...(Perdrix, 1997). Les principales mycotoxines, et les champignons les élaborant, sont présentés en annexes 1.

Parmi les mycotoxines pouvant être produites par *Aspergillus fumigatus* on retrouve (Fischer, 2000) :

- Fumitremorgène
- Gliotoxine
- Tryptacidine
- Tryptoquivaline
- Verruculogène

#### IV.4.2.1. (1→3)-β-D-glucanes

Les **glucanes** sont des polysaccharides que l'on trouve dans les parois cellulaires de plantes (avoine, orge) et de micro-organismes (champignons, certaines bactéries et actinomycètes). *Actinomyces*, *Streptomyces* et de nombreux champignons produisent ainsi des glucanes. Les glucanes ayant les plus puissants effets immunobiologiques sont les (1→3)-β-D-glucanes, glucanes composés de glucoses unis par des liaisons β-(1→3), dont la source principale est la paroi cellulaire des champignons (Millner, 1994; Williams, 1994).

### IV.5. LES VIRUS

Ce sont les seuls micro-organismes comportant un seul acide nucléique, ADN ou ARN. Ils ne disposent pas de l'équipement enzymatique nécessaire pour leur réplication et leur multiplication est donc strictement intracellulaire. Ils n'ont ni paroi ni organisation cellulaire mais il possède une coque protéique qui protège le génome et certains, de plus, possèdent une enveloppe lipidique (virus enveloppés). Leur taille varie de 20 à 200 nm environ. Les virus non enveloppés sont capables de survivre plus longtemps dans un milieu inanimé que ceux qui possèdent une enveloppe.



Leur pouvoir pathogène est du à l'inactivation de la fonction des cellules qui les hébergent ou à leur destruction. Les virus peuvent infecter l'hôte à travers la peau et les muqueuses au niveau des voies respiratoires, gastro-intestinales ou après contact sexuel. Sans le transfert d'un hôte à un autre hôte, les virus cesseraient de se répliquer.

La classification des virus est basée sur l'organisation du génome (ADN ou ARN), la symétrie de leur coque protéique (capside) et sur l'existence ou non d'une enveloppe lipidique.

Parmi les virus à ARN et dans la famille des *Picornaviridae* se trouvent les *Enterovirus* (*Coxsackie*, *Echo* et *Polio*) dont certains sont pathogènes pour l'homme. Ce sont des virus non enveloppés de très petites tailles (28-30 nm). La transmission des entérovirus peut s'effectuer par voie orofécale, par inhalation d'aérosols, par inoculation directe ou indirecte par voie muqueuse.

Le virus de l'hépatite A fait partie de la famille des *Heparnavirus*. Sa transmission est orofécale ou par inoculation directe par voie muqueuse. Elle n'est pas décrite à partir d'aérosols (Hart, 1997).

#### IV.6. NOTION D'ORGANISMES INDICATEURS DU RISQUE FECAL

Cette notion a été mise au point en microbiologie sanitaire car la détection des pathogènes en routine se révèle difficile, celle-ci étant longue et coûteuse. Les indicateurs sanitaires sont des bactéries pour lesquelles on dispose de techniques analytiques simples et qui font partie de la microflore normale du tube digestif et sont donc résistantes. Par contre leur présence dans un aliment ou dans l'eau de boisson est le signe d'un contact anormal et ils répondent à un principe d'alerte. Ce principe est justifié par la présence possible dans les matières fécales des malades ou des porteurs de germes, de bactéries spécifiquement pathogènes (*Salmonella*, *Shigella*, *Vibrion Cholérique*) ou d'entérovirus également dangereux. Dans le genre *Escherichia*, l'espèce *E. coli* est un hôte commun de l'intestin de l'homme ( $10^8$ /g de selles) et il est recherché à ce titre comme germe témoin de contamination fécale.

Le choix des bactéries test de contamination fécale est basé, entre autre, sur la spécificité d'origine (fécale, tellurique ou aquatique) et ce critère a donné naissance au concept des coliformes fécaux.

Un autre terme souvent employé est celui de coliforme thermotolérant. Il correspond aux coliformes dont la température optimale de croissance se situe entre 36° C et 38° C et qui sont capables de se multiplier à des températures élevées jusqu'à 44° C. Les coliformes fécaux appartiennent à cette catégorie mais d'autres coliformes, pathogènes opportunistes aussi (Leclerc, 1989).

En général, c'est le terme coliforme thermotolérants qui est le plus employé.

Ces germes sont donc des germes témoins de contamination fécale ou germes indicateurs. On range dans cette catégorie (ADEME, 1994) :

- Les coliformes totaux,
- Les coliformes fécaux ou thermotolérants,
- Les streptocoques fécaux,
- Les clostridies ou sporulés sulfitoréducteurs,
- Eventuellement certains coliphages, c'est-à-dire des virus parasites des bactéries coliformes.

Cette notion de germes indicateurs est surtout utilisée dans le cadre de la surveillance des eaux d'alimentation, de baignades ou d'un produit sanitaire.

Pour les boues d'épuration on recherche des organismes témoins dont la densité serait corrélée à celle de certains pathogènes mais les données disponibles montrent que peu d'organismes semblent en fait avoir cette capacité et dans l'état actuel des connaissances cette première propriété n'apparaît pas comme opérationnelle. L'autre propriété de ces germes serait que leur résistance soit liée à celle de certains pathogènes. L'évolution de ces indicateurs traduira donc l'évolution des organismes pathogènes. Les streptocoques fécaux, les clostridies sulfitoréductrices, les coliphages (F2), les œufs d'ascaris et les entérovirus sont des indicateurs de contamination fécale ou des pathogènes qui présentent cette propriété.

Les coliformes comprennent certaines espèces des genres *Escherichia* (*E. coli*), *Klebsiella* (*K. pneumoniae*, *K. oxytoca*), *Enterobacter* (*E. aerogenes*, *E. cloacae*), *Citrobacter* (*C. freundii*, *C. diversus*, *C. amalonaticus*).

## **V. MÉTHODES DE MESURES DES MICRO-ORGANISMES, ANTIGÈNES, TOXINES PRÉSENTS DANS LE COMPOST ET DANS L'AIR**

### **V.1. INTRODUCTION**

Avant d'aborder les aspects concernant les concentrations en micro-organismes dans le compost, il est nécessaire de rappeler les techniques utilisées pour l'échantillonnage et l'identification. En effet, il peut exister une grande variabilité des résultats selon les appareils, le milieu d'identification et il doit en être tenu compte dans l'interprétation et la comparaison des données.

### **V.2. MÉTHODES D'ÉCHANTILLONNAGE**

#### **V.2.1. Dans le compost**

Sur le site : il existe une norme (NF U44-100) fixant les méthodes d'échantillonnage d'un lot d'amendements organiques supports ou de boues solides de traitement des eaux. L'objectif est d'obtenir un échantillon le plus représentatif de l'ensemble du lot. Globalement la méthode fait appel à un prélèvement aléatoire de 1 kg puis à l'utilisation de la méthode des quartiers. Cette norme fait donc référence à la prise d'échantillon sur site et non à la préparation des échantillons pour la mesure de micro-organismes ou d'autres composants d'origine microbiologique dans le compost. A l'analyse de la littérature, on trouve quasiment autant de techniques de prises d'échantillon et de préparation des échantillons que d'études.

Au laboratoire, le principe qui est utilisé est de prélever une certaine quantité de compost et d'ajouter à ce compost une solution mère puis d'homogénéiser. Les quantités prélevées sont tout à fait variables (10 g, 25 g, 50 g ou plus) et la solution mère aussi (eau physiologique tryptonée, eau distillée, pyrophosphate de sodium, eau et chlorure de sodium et "tween" 80). Pour les organismes cultivables, il s'agit ensuite d'ensemencer cette solution sur différents milieux de cultures sélectifs ou pas.

Il existe des méthodes d'échantillonnage normalisées pour la recherche de micro-organismes pathogènes et de mycotoxines dans les aliments. Des méthodes d'analyse des boues sont en cours de normalisation.

#### **V.2.2. Dans l'air**

Les méthodes d'échantillonnage utilisables pour le mesurage de micro-organismes et d'endotoxines en suspension dans l'air sont très nombreuses. Aussi, dans la mesure où l'association française de normalisation a défini une norme à ce sujet, nous nous référons principalement à cette norme (AFNOR, EN 13098-2000). Elle a été surtout établie pour évaluer l'exposition sur les lieux de travail. Certains éléments sont reproduits ici mais pour plus de détails on se référera à la norme.

## Echantillonneurs disponibles

Il existe une grande variété de dispositifs d'échantillonnage des bioaérosols. Ils entrent cependant dans trois catégories : **impaction** sur une surface solide ou semi-solide comme de la gélose, "**méthode impiger**" "barbotage dans un liquide et **filtration**.

➤ **Impaction** sur boîte de Pétri contenant une substance nutritive. L'impaction permet de séparer des particules de tailles différentes présentes dans un courant gazeux à partir de leur inertie des particules. L'impacteur est constitué d'un embout en forme de trou ou de fente de taille variable (sélection de particules de taille variable) et d'une cible ou substrat dans une boîte de Petri (milieu de culture,...). Les boîtes sont directement cultivées et les colonies sont comptées. Les impacteurs sont des instruments principalement à poste fixe mais certains permettent un échantillonnage individuel. Parmi les limites qui sont données dans la norme AFNOR, on note la faible précision, la nécessité d'un temps d'échantillonnage court. Par contre le niveau de détection est élevé ce qui permet une utilisation en atmosphère avec des concentrations faibles. Quelques caractéristiques d'impacteurs sont fournies en annexe 2.

➤ **Impingers** : Les impingers réalisent un échantillonnage des aérosols cultivables dans un fluide. Un échantillon pour laboratoire est mis en culture sur différents milieux. Une quantité plus grande de micro-organismes peut être mise en culture par rapport à l'impacteur. Dans certains cas, des prélèvements sur filtres peuvent être remis en suspension et mis en culture de la même façon.

➤ **Filtration** : Les particules sont ici collectées à partir d'un échantillon d'aérosol sur un filtre de forme membranaire ou fibreuse comme la fibre de verre par exemple. Les membranes peuvent être fabriquées à partir d'ester de cellulose, de chlorure de polyvinyl ou polycarbonate. La taille des pores des filtres peut varier de 0,01 à 10 µm. Les filtres sont ensuite lavés et les micro-organismes sont examinés dans la solution de lavage par mise en culture après une éventuelle refiltration et observés sous microscope. Les solutions de lavage subissent des dilutions avant toute mise en culture. C'est pourquoi cette méthode par filtration reste très flexible pour les micro-organismes qui sont présents en grande quantité dans l'air. Cette technique n'est guère adaptée aux micro-organismes dont les niveaux de concentrations sont très faibles. Les filtres peuvent aussi être analysés en microscopie optique, en microscopie par fluorescence et en microscopie électronique à balayage. Les filtres en polycarbonate, en ester de cellulose permettent d'analyser avec des méthodes de microscopie optique ou électronique les spores de champignons et d'actinomycètes. On les utilise aussi pour la recherche d'endotoxines.

La norme ne précise pas le type d'appareil à utiliser. Il est simplement recommandé que l'échantillonneur choisi ait une efficacité d'échantillonnage connue et documentée et que pour les échantillonneurs physiques le diamètre aérodynamique des particules recueillies soit défini. Pour les pompes, celles-ci doivent satisfaire aux normes sur les pompes pour échantillonnage individuel et échantillonnage à poste fixe (EN 1232, EN 12919).

En complément de la norme AFNOR, on trouvera ci-joint 2 tableaux de synthèse précisant pour chaque appareil les caractéristiques physiques de ceux-ci et un guide sur le

choix approprié d'un échantillonneur en fonction du composant ou micro-organisme recherché (d'après Jensen, 1994)

**Tableau 1: Caractéristiques expérimentales, théoriques et physiques de plusieurs échantillonneurs de bioaérosols habituellement utilisés (Jensen, 1994)**

Echantillonneur	d <sub>50</sub> Vrai (µm)	d <sub>50</sub> Théorique (µm)	Nb de pores	Débit (L min <sup>-1</sup> )	Diamètre des pores ou fentes (mm)	Surface des pores ou fente (mm <sup>2</sup> )	Vitesse de l'air à travers les pores ou fentes (m s <sup>-1</sup> )
Andersen à 6 niveaux (Andersen, 1958, 1984)							
niveau 1	7.0	6.24	400	28.3	1.18	1.10	1.08
niveau 2	4.7	4.21	400	28.3	0.914	0.656	1.80
niveau 3	3.3	2.86	400	28.3	0.711	0.397	2.97
niveau 4	2.1	1.84	400	28.3	0.533	0.223	5.28
niveau 5	1.1	0.94	400	28.3	0.343	0.092	12.8
niveau 6	0.65	0.58	400	28.3	0.254	0.051	23.3
Andersen à 2 niveaux (Phillips, 1990)							
niveau 0	8.0	6.28	200	28.3	1.50	1.77	1.33
niveau 1	0.95	0.83	200	28.3	0.400	0.126	18.8
Andersen à 1 niveau (Andersen, 1958 ; Phillips, 1990)							
niveau N6	0.65	0.58	400	28.3	0.254	0.051	23.3
Mattson-Garvin Slit-to-Agar		0.53	1	28.3	0.152	6.23	75.7
Ace Glass All-Glass Impinger-30		0.30	1	12.5	1.00	0.785	265.
PBI Surface Air Sampler (Lach, 1985)							
Compact	2.0	1.97	219	90	1.00	0.785	8.72
Standard	2.0	1.52	260	180	1.00	0.785	14.7
Biotest Reuter Centrifugal Sampler (BIOTEST n.d. ; Macher and First, 1983)							
Standard RCS ; RCD-Plus		3.8	7.5	280			
Echantillonneur sur filtre à membrane							
Standard Nozzle		3.70	1	10	2.00	28.0	5.95
High-efficiency nozzle		2.17	1	10	2.00	10.0	16.7
Echantillonneur personnel de Burkard							
Slit			1	10			
Seive		4.18	100	20	1.00	0.785	1.94
Impinger multi étages Burkard Type-May							
niveau 1		10	1	20			
niveau 2		4	1	20			
niveau 3			1	20			
Allergenco MK-2			1				

Note D<sub>50</sub> : diamètre aérodynamique en dessous duquel l'efficacité de l'impacteur approche les 100%

Tableau 2 : Guide général pour le choix approprié d'un échantillonneur (Jensen, 1994)

Echantillonneur	Bioaérosols cultivables			Bioaérosols non viables	
	Bactéries libres DAM < 4 µm	Champignons libres DAM < 4 µm	Agglomérats DAM ≥ 4 µm	Bioaérosols DAM < 4 µm	Bioaérosols DAM ≥ 4 µm
Andersen 6 Niveaux	✓ <sup>a</sup>	✓ <sup>a</sup>	✓ <sup>a</sup>		
Andersen 2 niveaux	✓ <sup>a</sup>	✓ <sup>a</sup>	✓ <sup>a</sup>		
Andersen 1 niveau	✓ <sup>a</sup>	✓ <sup>a</sup>	✓ <sup>a, b</sup>		
Mattson-Garvin Slit-to-Agar	✓ <sup>a</sup>	✓ <sup>a</sup>	✓ <sup>a</sup>		
Ace Glass All-Glass Impinger-30	✓ <sup>c, d</sup>	✓ <sup>c, d</sup>	d, e		
PBI Surface Air system					
Compact	f	f	✓ <sup>g</sup>		
Standard	f	f	✓ <sup>g</sup>		
BIOTEST Reuter Centrifugal Sample					
Standard			✓ <sup>g</sup>		
RCS-Plus			✓ <sup>g</sup>		
Echantillonneur du filtre à membrane	✓ <sup>c, b</sup>	✓ <sup>c</sup>	✓ <sup>c</sup>	✓ <sup>c</sup>	✓ <sup>c</sup>
Burkard Spore Trap (1,7 days)					
Standard nozzle					✓ <sup>i</sup>
High-efficiency nozzle				✓	✓
Echantillonneur personnel de Burkard					
Slit					✓
Seive			✓ <sup>g</sup>		
multi-étages Burkard Type-May					
Impinger	✓ <sup>c, d</sup>	✓ <sup>c, d</sup>			
Allergenco MK-2					✓

DAM : Diamètre aérodynamique médian

- a : les concentrations supérieures à 5000-7000 UFC/m<sup>3</sup> surchargeront l'échantillon
- b : peut sous-estimer les concentrations pour des grosses particules (> 10 µm) en raison des pertes à l'entrée de l'impacteur
- c : bon, des très faibles aux très hautes concentrations
- d : les bioaérosols peuvent être remis en suspension ("reaérosolisés") et sortir de l'impinger pendant l'échantillonnage. Ceci amène à une sous-estimation de la concentration et une baisse de précision
- e : peut sur-estimer les concentrations par rupture des agglomérats
- f : peut être acceptable avec les nouvelles têtes d'échantillonneur qui ont été évaluées par PBI/Spiral Biotech
- g : des concentrations supérieures à 1000-2000 UFC/m<sup>3</sup> surchargeront l'échantillon
- h : pour les bactéries résistantes à la dessiccation seulement
- i : peut sous-estimer les concentrations pour les bioaérosols de petite taille

### **V.2.3. Méthodes d'échantillonnage habituellement utilisées dans les études sur la qualité de l'air dans les usines de compostage**

Pour les micro-organismes viables, l'appareil le plus fréquemment utilisé est l'impacteur d'Andersen à 6 étages. La hauteur de positionnement de l'appareil est assez homogène entre les études. Celui-ci est placé à 1,5 ou 2 mètres du sol. Par contre, le temps de pose est beaucoup plus variable (de quelques minutes à quelques heures), ce qui pose un problème dans la comparaison des résultats.

Une étude récente, réalisée sur un campus universitaire du Sud californien, a comparé les performances de l'impacteur d'Andersen à 6 étages avec le Surface Air Sampler de flux élevé portable pour l'échantillonnage de propagules de champignons dans l'air (Bellin P, 2001). Le SAS récupère 2 fois moins d'UFC pour les espèces non sporulantes, *Aspergillus* et *Penicillium* que l'impacteur d'Andersen. Il n'y a par contre pas de différence entre les deux appareils pour *Cladosporium*.

### V.3. MÉTHODES D'IDENTIFICATION ET DE QUANTIFICATION

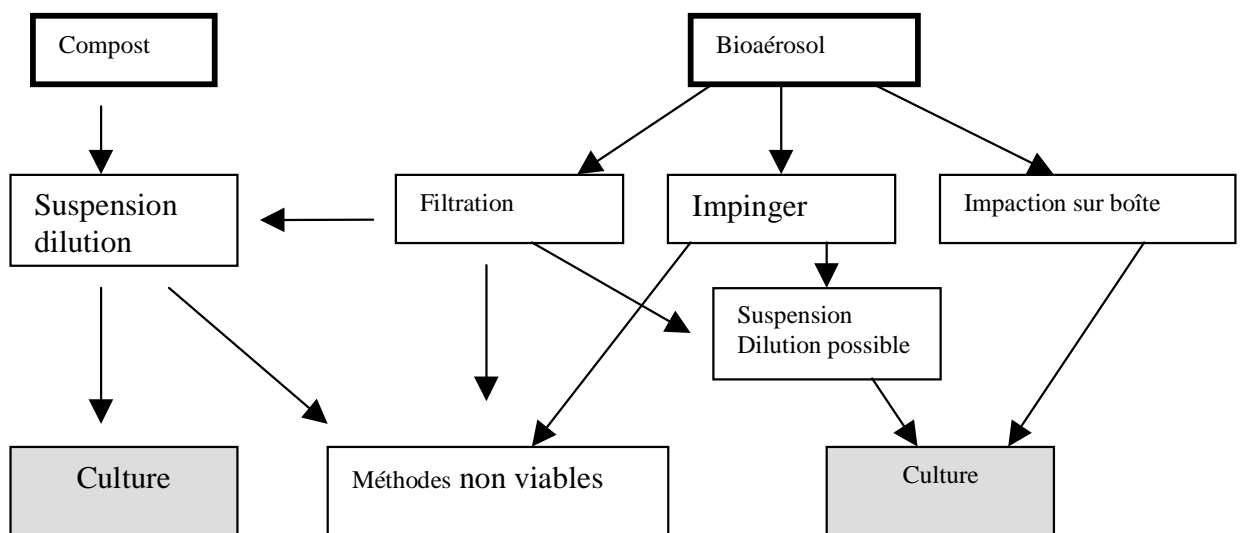
**Les micro-organismes viables** sont des organismes vivants qui ont la capacité de se reproduire et qui ont donc un potentiel d'activité métabolique. Ils sont soit cultivables soit non cultivables. S'ils sont cultivables, ils ont la capacité de former des colonies sur un milieu nutritif solide. Les bactéries se dénombrent en NPP (nombre le plus probable, méthode qui permet d'estimer la densité de micro-organismes dans un liquide) ou en UFC (unité formant colonie).

Ils sont parfois viables mais non cultivables. Cette notion fait référence à un concept encore discuté où les micro-organismes perdent de façon réversible leur faculté à être cultivé (pour *Vibrio cholerae* par exemple). Cela peut aussi être le cas de micro-organismes dont on ne dispose pas de milieux artificiels permettant leur culture (Virus de l'hépatite A par exemple).

Un micro-organisme peut être non viable et non cultivable. Il est dans ce cas mort.

Le choix d'une méthode d'identification ou de quantification dépend de l'état attendu du microorganisme et du mode de recueil de l'échantillon. Le schéma suivant montre que certaines méthodes de recueil sont limitantes pour l'analyse postérieure.

Figure 3 : Les différentes méthodes d'identification selon le produit étudié



### **V.3.1. Micro-organismes cultivables**

#### **V.3.1.1. Milieux de cultures**

Les micro-organismes cultivables peuvent croître sur des milieux nutritifs semi-solides en colonies qui sont ensuite dénombrées. Les micro-organismes sont incubés à une température favorable de croissance et repiqués sur des milieux sélectifs qui seront incubés à différentes températures.

Les milieux de cultures peuvent varier beaucoup selon les micro-organismes et il n'existe pas un seul milieu pour toutes les espèces. Une liste indicative de milieu de cultures est fournie en annexe 4.

Pour un même milieu de culture, les formules décrites varient selon les différents laboratoires qui les fabriquent. Ainsi certains milieux de culture peuvent contenir des agents supplémentaires comme des sucres (glucose, peptone) qui vont favoriser la croissance des micro-organismes.

Des milieux sélectifs peuvent être utilisés pour des bactéries spécifiques d'une classe donnée. Ces milieux inhibent ou détruisent les micro-organismes gênants.

Certains milieux contiennent des indicateurs de reconnaissance de certains micro-organismes. L'ajout de catalase dans les milieux de culture augmente la formation de colonies de bactéries aériennes (Marthi B, 1991).

Le choix de la température et du temps d'incubation est un moyen de sélectionner les micro-organismes. Une température pour un milieu de culture et un temps d'incubation donné peut favoriser ou, à l'inverse, empêcher la croissance d'un micro-organisme. En général, la température la plus appropriée pendant la mise en culture est proche de l'environnement dans lequel se trouvaient les micro-organismes : les bactéries mésophiles et les champignons doivent être cultivés entre 20 et 30°C mais d'autres températures peuvent être requises pour des thermotolérances spécifiques. Des périodes d'incubation allant jusqu'à 14 jours sont normales pour les champignons. Elles varient entre 2 et 7 jours pour les bactéries mésophiles (AFNOR EN 13098- 2000).

Les milieux de cultures généraux couramment utilisés sont (AFNOR 13098-2000) :

Pour les bactéries : - gélose nutritive,  
- gélose à l'extrait de tryptone et glucose,  
- gélose à la peptone et à la farine de soja/caséine,  
- un antibiotique peut être ajouté pour bloquer la croissance des champignons.

Pour les champignons : - gélose à l'extrait de malt,  
- gélose au dichlorane glycérol,  
- un antibiotique peut être ajouté pour bloquer la croissance des bactéries.

Pour Lacey (1991) les meilleurs milieux de cultures non sélectifs sont l'Agar à l'extrait de malt pour les champignons et l'agar de tryptone de soja pour les bactéries et actinomycètes.

Si une grande part des organismes peut être identifiée et dénombrée à l'heure actuelle, c'est souvent à l'aide de techniques complexes, longues et coûteuses. En routine, seuls quelques



organismes peuvent être dénombrés facilement. Outre les germes indicateurs de contamination fécale, les organismes dont le dénombrement peut se faire en routine sont (ADEME, 1994) :

- *Salmonella* spp
- Certains virus et notamment les entérovirus.

### **V.3.1.2. Méthodes non viables**

Les micro-organismes cultivables peuvent être identifiés en utilisant un microscope, la microbiologie classique (observation des caractéristiques de croissance, la morphologie des spores, leur couleur, les divers tests chimiques, physiologiques et nutritionnels pour les bactéries) ou les techniques de biologie moléculaires comme l'analyse appelée RFLP (restriction fragment length polymorphic). Les techniques analytiques comme la méthode PCR (Polymerase chain reaction) ou immunologiques tels que le test ELISA (enzyme linked immunosorbant assay) sont applicables aussi bien pour identifier les micro-organismes viables et non viables spécifiques. Certaines de ces techniques (méthode PCR, RFLP) ne sont pas utilisées en routine.

Gazenko SV (1998) a utilisé une technique avec des substrats fluorogéniques (4 basés sur la 4 méthylumbelliférone, 2 basés sur la fluorescéine, 1 basé sur la résazurine) pour détecter l'activité enzymatique (estérases, lipases, déhydrogénases, phosphatases) de spores de *Streptomyces albus* et *Thermoactinomyces vulgaris*. La mesure est ensuite effectuée par un spectrofluoromètre. Pour cet auteur cette méthode rapide et sensible est susceptible de permettre une énumération et une identification des spores d'actinomycètes de l'air. Elle reste néanmoins expérimentale.

On trouvera en annexe 3 une présentation détaillée des différentes techniques décrites plus haut pour les méthodes qui ne sont pas liées à la culture des micro-organismes.

### **V.3.2. Antigènes allergènes**

Les antigènes ou allergènes sont des protéines ou glycoprotéines qui sont, entre autres, contenus ou produits par les micro-organismes. Les méthodes habituellement utilisées font appel à l'immunochimie.

Ces méthodes utilisent les anticorps (obtenus à partir de sérum d'animal ou de personnes sensibilisées) qui sont spécifiquement dirigés contre des antigènes. On utilise donc ces techniques pour le dosage spécifique d'antigènes ou d'allergènes. Le complexe anticorps-antigène créé peut être identifié grâce à des isotopes, des enzymes, ou des composés luminescents ou fluorescents. La technique ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) est communément utilisée. Cette technique a semble-t-il été peu mise en œuvre pour les antigènes de moisissures probablement parce que peu d'antigènes de champignons ont été identifiés (Eduard, 1998).

Ces méthodes restent expérimentales pour la recherche d'antigènes microbiens dans l'air (AFNOR EN 13098- 2000).

### V.3.3. Endotoxines et glucanes

Les **endotoxines bactériennes** sont recherchées par la **méthode LAL** (Limulus amoebocyte lysate). C'est une méthode d'une grande sensibilité basée sur l'activation d'une enzyme de coagulation présente dans le lysat de l'hémolymphe du limule (crabe). Cette technique détecte une activité biologique endotoxinique et non une quantité pondérale d'endotoxine, et les résultats sont exprimés en Endotoxin Unit (EU). Trois méthodes sont utilisées : la gélification, la turbidimétrie et la colorimétrie. Les résultats sont comparés à un niveau standard d'endotoxines provenant d'*E. coli* et exprimés en unité d'endotoxines ou en équivalent endotoxines d' *E. Coli* (12 unités d'endotoxine ou EU est égal à 1 ng d'endotoxine standard d'*E. coli* O111:B4). Il existe cependant un manque de comparabilité des résultats en raison des différentes méthodes d'extraction utilisées (Jensen, 1994). Une récente étude a montré que **la méthode LAL colorimétrique cinétique quantitative** est plus précise avec une meilleure reproductibilité que la méthode classique (non cinétique) par le test Limulus (Gorny RL, 1999). Il s'agit d'une méthode complètement automatisée dans sa phase d'analyse et de lecture des données et également plus rapide et efficace que le test Limulus classique. Cette étude montre cependant des résultats très acceptables avec le test Limulus classique.

Il faut souligner que la méthode de mesure des endotoxines par le test LAL tend à sous-estimer la concentration réelle en endotoxines dans l'environnement, et que 1  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  d'endotoxines mesurées dans un prélèvement d'air ambiant (environmental endotoxins = EE) correspond à l'inhalation de 10  $\mu\text{g}$  d'endotoxines pures.

Le Comité Européen de Normalisation a réalisé un rapport (draft final en mars 2000) qui développe les méthodes d'échantillonnage, de transport et de stockage des échantillons et la détermination des endotoxines en milieu du travail (Final Draft for Comité Européen de Normalisation, CEN, enquiry 2000-03-28, CENT/TC/137/WG 5, Workplace atmosphere – Determination of airborne endotoxin). La méthode analytique recommandée en routine est la méthode LAL cinétique chromogénique (lecture colorimétrique).

Selon le type de filtre, la méthode d'extraction et de stockage des échantillons contenant des endotoxines de l'air, les quantités peuvent varier. Ainsi, par exemple, Douwes (1995) rapporte une efficacité 7 fois supérieure avec 0,05% de « Tween 20 » dans de l'eau stérile (endotoxines) que sans « Tween 20 ». De même, les quantités d'endotoxines sont 2 fois supérieures en utilisant des filtres de fibres de verre, téflon ou polycarbonate que des filtres d'ester de cellulose (Douwes, 1995, Thorne, 1997).

Kirschner D (1985) a décrit une méthode permettant de mettre en évidence la présence d'acide 3-hydroxymyristique (BHM) dans l'air, jouant le rôle de marqueur chimique des endotoxines des bactéries Gram-négatives. Le BHM est responsable de la toxicité des endotoxines. Cette méthode a été testée sur des échantillons de compost. Cette méthode peut permettre de pallier aux problèmes éventuels de non-spécificité et d'inhibition de la mesure par le test LAL.

Duchaine C (2001), dans une étude récente réalisée dans des porcheries et scieries, a montré que l'utilisation d'un impinger est une méthode acceptable pour la quantification des concentrations en endotoxines dans ces environnements et ceci comparé à la méthode LAL.

La technique LAL, adaptée, est aussi utilisée pour **la mesure des glucanes** dans l'air mais elle est encore expérimentale. (AFNOR EN 13098- 2000).

### V.3.4. Les mycotoxines

Elles peuvent être mesurées par des techniques de chromatographie en couche mince (CCM) ou chromatographie liquide à haute pression (CLHP). La CCM permet une lecture directe sur plaque de gel de silice en lumière UV (apparitions de tâches bleu-vert). La technique de CLHP peut être employée pour rechercher les aflatoxines.

### V.3.5. Méthodes d'identification habituellement utilisées

#### V.3.5.1. Dans le compost

Comme on a pu le voir ci-dessus, pour les organismes cultivables, il y a de nombreux milieux de cultures. Dans les études sur le compost, cette même diversité est retrouvée.

Devant cette diversité, pour les bactéries entéropathogènes et les champignons, on peut se référer à la norme NFU 44-095 sur les composts de boues. Cette norme fait elle-même référence aux normes alimentaires ou dans l'eau de boisson.

Pour chaque micro-organisme l'ensemble des normes existantes est présenté dans le tableau ci-dessous.

**Tableau 3 : Identification des normes utilisables pour les bactéries entéropathogènes et les moisissures**

<i>Micro-organismes</i>	<i>Normes applicables</i>
Entérocoques	NF T90-432 (1997) LV 02-9703 (1997)
<i>Escherichia coli</i>	NF V08-053 (1993) NF T 90-433 (1997)
<i>Clostridium perfringens</i> (spores et formes végétatives)	NF V08-056 (1993) LV 02-9502 (1993)
<i>Salmonella</i> sp.	NF ISO 6579 (1993) NF ISO 6340 (1995) NF V 08-052 (1993)
Coliformes	NF T90-413
<i>Listeria monocytogenes</i>	NF V08-055 (1997) LV 02-9802 (1998)
<i>Pseudomonas</i> sp.	NF ISO 8360-2 NF V 04-504
Levures et moisissures (avec confirmation d' <i>Aspergillus</i> )	XPV08-059 LV 02-9802
<i>Staphylococcus aureus</i> ou à coagulase +	NF V08-057-1 ou 2 (1994) LV 02-9801 (1998)

Pour les Salmonelles, il existe aussi une méthode définie par l'EPA (1992) pour l'épandage des boues.

### Méthodes non viables

Pour les bactéries, à titre expérimental, plusieurs auteurs (Droffner, 1 995 ; Dees, 2 001 ; Ischii, 2 000 ; Monpotheo, 2 001) ont utilisé des techniques PCR amplifiées d'analyse de fragments de séquence d'ARNr ou d'ADNr dans du compost.

La recherche de **mycotoxines** n'a été effectuée que par Deportes (1997a). Elle a utilisé l'analyse par chromatographie en couche mince et l'analyse par chromatographie liquide à haute pression.

### **V.3.5.2. Dans l'air**

Les méthodes de mesures utilisées pour les bioaérosols ont été synthétisées dans le travail de Eduard (1998). Elles correspondent bien à la réalité dans les études qui ont été passées en revue.

Tableau 4 : Méthodes de mesure différentes (viables et non-viables) selon les propriétés et composés des bioaérosols microbiens (d'après Eduard 1998)

<b>Méthodes de mesure</b>	<b>Composés de bioaérosols / propriétés biologiques</b>
Microscope photonique	Micro-organismes, tout particulièrement les spores de champignons – Classification quelque fois possible
Microscope à balayage	Micro-organismes, cellules et spores de champignons et actinomycètes – Classification quelque fois possible
Microscope à fluorescence	Micro-organismes, spores et cellules même dans le cas d'agrégats complexes avec d'autres particules
LAL (Limulus amoebocyte lysate)	Endotoxines, glucanes
Méthode ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay)	Antigènes, allergènes
Spectrométrie de masse et chromatographie en phase gazeuse	Marqueurs chimiques le plus souvent au niveau du groupe
Chromatographie	Mycotoxines
Mise en culture	Micro-organismes viables – Identification par la morphologie, la structure et la croissance des colonies végétatives sur les milieux de culture

### **V.3.6. Erreurs de mesure**

Les erreurs de mesure peuvent, entre autres, être dues à l'échantillonnage ou au comptage lors de la mise en culture.

Le tableau 5 issu de l'article de Bartley (1994) présente les variations dans les évaluations et opérations d'échantillonnage (erreurs instrumentales,...)

**Tableau 5 : Variation dans les opérations d'échantillonnage et d'évaluation (d'après Bartley, 1994)**

<p><b>Variation d'échantillonnage</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Pesée des filtres (d'origine externe puisque les capteurs (sampler heads) sont évalués séparément à partir des filtres et des pompes d'échantillonnage)</li> <li>- Variations des dimensions du matériel de prélèvement (variabilité inter-échantillonneurs)</li> <li>- Incertitude sur le flux moyen des pompes (en partie d'origine externe)</li> <li>- Rebondissement des particules</li> <li>- Fluctuation du flux des pompes (contrôlée en recommandant des "dampeners")</li> <li>- Effets du vent (possible pour des vitesses de vent importantes)</li> <li>- Poids de l'appareil d'échantillonnage</li> <li>- Forme et densité des aérosols (supposées négligeables)</li> </ul>
<p><b>Erreurs d'évaluation</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Amoncellement lié à la concentration des bioaérosols</li> <li>- Amoncellement lié à la taille de la distribution des bioaérosols</li> <li>- Erreurs de comptage des bioaérosols</li> <li>- Charge de l'aérosol ou de l'appareil de prélèvement (contrôlée par l'évaluation de la décharge de l'aérosol en recommandant des appareils de prélèvement conducteurs)</li> <li>- Humidité (contrôlée en utilisant un aérosol non hygroscopique)</li> </ul>
<p><b>Erreurs instrumentales, qui peuvent être estimées en contrôlant :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- La taille de la calibration</li> <li>- Les particules fantômes</li> <li>- La distorsion des aérosols liquides au cours de la mesure de la dimension des particules aérodynamiques (liquide non utilisés)</li> <li>- Effets de la densité des particules</li> </ul>

**Dans le cadre des méthodes de mesure des micro-organismes viables, on peut aussi rajouter :**

la perte des cellules bactériennes végétatives surtout quand elles sont collectées sur filtres (vs les spores sont plus robustes),  
 le rôle des délais de transport des échantillons différents qui peut entraîner une différence dans le comptage des colonies,  
 les pertes lors de la préparation des échantillons pour l'analyse en microscopie à fluorescence (jusqu'à 70%),  
 la surcharge des boîtes de Petri

Le comptage des micro-organismes dans l'air est, par conséquent, toujours sous-estimé. Pour chaque appareil de prélèvement utilisé, il est important de connaître la valeur limite supérieure et inférieure de détection en vue d'éventuelles comparaisons.

On notera que, si les causes de variations sont bien listées qualitativement, quantitativement l'ampleur de ces variations n'est souvent pas précisée.

## **VI. MICRO-ORGANISMES, TOXINES, ANTIGÈNES PRÉSENTS DANS LE COMPOST**

### **VI.1. ASPECTS QUALITATIFS**

Durant le procédé de compostage une large variété de micro-organismes aérobies mésophiles, thermotolérants et thermophiles mais aussi d'allergènes a été retrouvée dans le matériel brut ou dans le compost. Ce sont donc les sources de danger qui sont décrites ici et non pas les risques.

#### **VI.1.1. Produits de départ**

Déportes (1995) a inventorié les micro-organismes pathogènes présents dans les déchets municipaux solides et les boues de stations d'épuration (tableau 6).

Tableau 6 : Micro-organismes pathogènes isolés de déchets urbains solides et de boues de station d'épuration (Déportes, 1995)

<b>Virus</b>	<b>Bactéries</b>	<b>Champignons</b>	<b>Protozoaires</b>	<b>Helminthes</b>
Enterovirus	Arizona hinshawii	Aspergillus fumigatus	Acanthamoeba	Ankylostoma duodenale
Poliovirus	Aeromonas	Candida albicans	Diantamoeba fragilis	Ascaris lumbricoides
Coxsachivirus	Bacillus anthracis	C. guilliermondii	Entamoeba histolytica	Echinococcus granulosus
Echovirus	Bacillus cereus	C. Krusei	Giardia intestinalis	Echinococcus multilocularis
Mixovirus	Brucella sp	C. tropicalis	Isospora belli	Enterobium vermicularis
Adenovirus	Campylobacter perfringens	Cryptococcus neoformans	Naegleria fowleri	Hymenolepis nana lumbricoides
Astrovirus	Campylobacter jejuni	Epidermophyton sp	Balantidium coli	Necator americanus
Calicivirus	Citobacter sp	Geotrichum candidum	Sarcocystis spp	Strongyloides stercoralis
Coronavirus	Clostridium botulinum	Microsporium sp	Toxoplasma gondii	Taenia solium
Parvovirus	Enterobacteriaceae	Phialophora richardsii	Blastocystis hominis	Taenia saginata
Reovirus	Escherichia coli	Trichosporon cutaneum	Cryptosporidium parvum	Toxocara cati
Rotavirus	Leptospira interrogans	Tricophyton sp		Toxocara canis
Norwalk virus	Listeria monocytogenes			Trichuris trichura
Hepatitis A virus	Mycobacterium pseudotuberculosis			
Hépatitis E virus	Pasteurella pseudotuberculosis			
	Proteus sp			
	Providencia sp			
	Pseudomonas aeruginosa			
	Salmonella spp			
	Serratia sp			
	Shigella spp			
	Staphylococcus aureus			
	Streptococcus spp			
	Vibrio parahaemolyticus			
	Vibrio cholerae			
	Yersinia enterocolica			

Dans le cas des déchets municipaux, les micro-organismes pathogènes (responsables de maladie) peuvent provenir de la présence de couches de bébé, de déjections animales, de nourritures avariées. En raison de leur origine, la contamination des boues de station d'épuration existe et l'on peut y retrouver toute une série de bactéries, virus et de formes de résistance de parasites (Déportes, 1995).

La contamination par des organismes fécaux est plus importante dans les produits incorporant des boues d'épuration ou des déchets de ferme alors qu'elle est moindre dans les ordures ménagères (Beffa, 1998).

### Boues de stations d'épuration urbaines

La concentration en micro-organismes varie selon l'origine des boues (urbaines, industrielles ou mixtes), la situation sanitaire de la population considérée et le type de traitement d'épuration (ADEME, 1994). Parmi les différents traitements on peut distinguer les traitements physiques (température, ultra-sons et stockage) et les traitements biologiques (digestion anaérobie, digestion aérobie, et compostage) et enfin les traitements chimiques (chaulage, fertilisants). Comme l'a défini le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (CSHPF), l'hygiénisation des boues vise à réduire à un niveau acceptable les concentrations en pathogènes contenus dans les boues. Les protozoaires étant en principe rapidement éliminés, le CSHPF proposait de rechercher comme indicateur de pathogénicité : les salmonelles pour les bactéries, les entérovirus pour les virus et les œufs d'helminthes pathogènes viables pour la famille des helminthes.

Sur les œufs d'helminthes, parmi les traitements physiques, la température, les ultrasons l'irradiation et le stockage (16 mois à 25° C pour *Ascaris* dans des boues digérées anaérobies) peuvent être efficace sous certaines conditions alors que le froid, la dessiccation et le stockage à 4°C (sur *Toxocara* et *Ascaris*) sont inefficaces. De même parmi les traitements biologiques sont inefficaces une digestion anaérobie et aérobie mésophile ainsi qu'un compostage à 39 °C. Par contre la digestion aérobie ou anaérobie thermophile ou un compostage avec une température de 60 à 75° C pendant 4 heures permet l'inactivation des œufs d'helminthes. En fait, la caractéristique majeure à tous ces traitements est l'aspect thermique, avec une adaptation des durées de traitement en fonction des températures appliquées. Pour les traitements physiques, les œufs d'helminthes présentent une forte résistance à ceux-ci à l'exception du chaulage mais uniquement pour des pH alcalins élevés (12,5) et à la suite d'un stockage long (2 à 4 mois). La chaux vive peut aussi permettre l'élimination des œufs d'helminthes (Schwartzbrod , 1997). Pour les virus la digestion anaérobie provoque une inactivation virale mais celle-ci dépend essentiellement de la température (abattement de 99,9 % à 50°C). En ce qui concerne la digestion aérobie, l'abattement est variable mais là aussi la température joue un rôle essentiel. Néanmoins, comme le fait remarquer Schwartzbrod et en raison de l'infectivité des virus, un abattement de 99 % peut ne pas être suffisant pour conclure qu'il n'y a pas de risque pour la santé (passage d'une concentration de  $10^6$  à  $10^3$ ). Le traitement des boues par la chaux provoque une inactivation des virus par élévation du pH qui est fonction de la chaux ajoutée. Le stockage (1 an) ou la pasteurisation (30 mn à 70°C) des boues serait efficace sur les entérovirus (Schwartzbrod, 1997). Pour les bactéries, les salmonelles, agents infectieux les plus étudiés en raison de leur fréquence de présence dans les boues, ne sont pas éliminées par la digestion mésophile à l'inverse de la digestion thermophile. Ici aussi, c'est le couple température/temps qui est le facteur le plus important (Schwartzbrod, 1997).

Le CSHPF(1998) a fait la synthèse des concentrations retrouvées dans les différentes catégories de boues.



**Tableau 7 : Concentrations en micro-organismes dans les différentes catégories de boues (CSHPF, 1998).**

Micro-organismes	Catégories de boues	Concentrations
Eufs d'helminthes	Boues primaires	$10^3-10^4/\text{kg}$
	Boues digérées	$10^2-10^3/\text{kg}$
	Boues semi-deshydratées	$10-10^3/\text{kg}$
Kystes de protozoaires ( <i>giardia</i> )	Boues primaires	$7,7.10^3-3.10^6/\text{kg}$
	Boues digérées	$3.10^4-4,4.10^6/\text{kg}$
	Boues deshydratées	$7.10-10^2/\text{kg}$
Virus	Boues primaires	$3,8.10^3-1,2.10^5/\text{L}$
	Boues digérées	$10-10^3/\text{L}$
	Boues biologiques	$10^2-8,2.10^3/\text{L}$
Bactéries ( <i>Salmonella</i> )	Boues	$10^1-8,8.10^6/\text{kg}$

On voit donc à la lecture de ce paragraphe que selon les traitements qui auront déjà été appliqués aux boues, celles-ci seront déjà plus ou moins hygiénisées lors de leur utilisation comme produits de départ d'un compostage.

### **VI.1.2. Durant le procédé : la biologie du compostage**

Comme cela a déjà été dit, le procédé de compostage met en jeu, en ce qui concerne la microflore aérobie qui intervient, différents facteurs qui interagissent les uns avec les autres, principalement la libération métabolique de chaleur, la température, la ventilation (c'est à dire l'apport en oxygène), le contenu en moisissures et les éléments nutritifs disponibles. La température dépend à la fois de l'activité microbienne de départ et du taux d'activité durant le processus (Beffa, 1998).

En conditions optimales, le compostage se déroule en trois phases. La montée initiale rapide en température implique le passage rapide d'une flore mésophile (survie à une température optimale de 18 à 45 ° C et maximale de 30 à 50 ° C) à une flore thermophile (survie optimale entre 45 et 60° C). L'écosystème du compost tend alors à s'autolimiter en raison de l'effet inhibant des fortes températures qui résulte de l'accumulation excessive de chaleur. Si le procédé est bien conduit la phase thermogénique continue jusqu'à ce que la production de chaleur devienne inférieure à la dissipation de la chaleur en raison de la disparition des substrats facilement métabolisables. Durant la phase de refroidissement ou phase de maturation la quantité de nutriment directement disponible devient un facteur limitant responsable du déclin de l'activité microbienne et de la production de chaleur. Durant ces différentes phases de température, différents groupes de population microbienne se succèdent, chacune étant adaptée à un environnement particulier (Beffa, 1998).

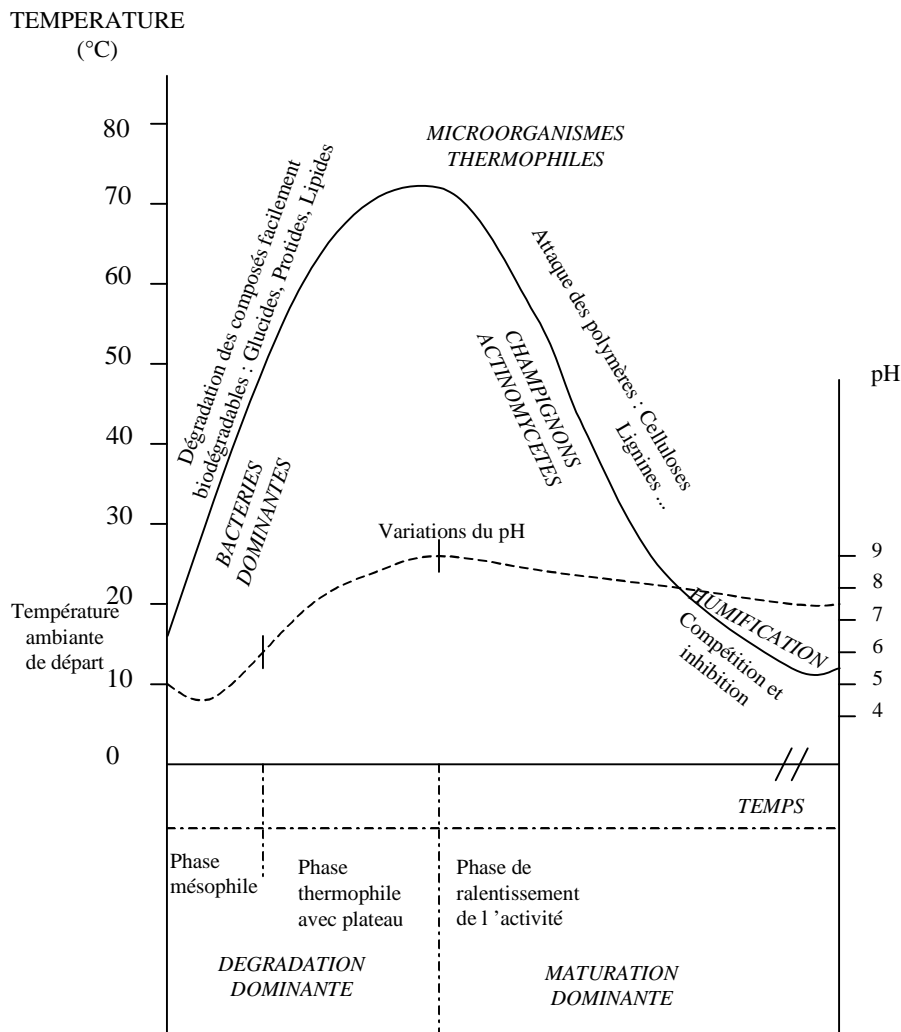
La chaleur produite joue un rôle important dans l'hygiénisation des déchets putrescibles c'est à dire dans la destruction des germes pathogènes (nuisibles pour la santé). En effet la plupart des germes pathogènes sont mésophiles, leur survie étant liée à une température minimale de 5 à 25 ° C, optimale de 18 à 45 ° C et maximale de 30 à 50 ° C (Jehanno, 1995). Les micro-organismes mésophiles sont donc partiellement détruits ou ont une activité limitée durant la phase thermogénique alors que le nombre, la diversité des bactéries thermophiles ou thermotolérantes, des actinomycètes, et des champignons s'accroît (Beffa, 1998). La température optimale pour les champignons thermophiles est de 40- 55 ° C avec un maximum à 50°-60°C mais les champignons peuvent survivre sous forme de spores (conidies) au-delà de 60 ° C et peuvent donc persister sous cette forme durant le stockage.

Parmi les autres paramètres qui interviennent dans la qualité du compostage, il faut citer aussi le rôle de la fréquence de mélange du compost qui permet de redistribuer les micro-organismes au sein du compost afin que tout le matériel subisse les températures élevées retrouvées au centre des andains, l'ajustement de l'aération en terme de fréquence et de durée, la durée totale du processus. Des températures supérieures à 60°C peuvent souvent réduire la biodiversité fonctionnelle et il est donc recommandé que la température ne dépasse pas 55 à 60°C. Des travaux plus récents ont permis de montrer qu'il est possible de « composter » à des températures de 60 à 75°C mais sur une plus longue période (Beffa, 1998).

Dans la phase dite thermophile à 45-60° C (appelée également fermentation active), les micro-organismes décomposent les sucres solubles, les acides organiques et les amidons puis s'attaquent progressivement aux matières plus difficiles à dégrader telles que la cellulose et la lignine. La dégradation des polymères à longue chaîne est principalement réalisée par les champignons et les actinomycètes (De Bertoldi, 1983). Parmi les champignons, l'activité d'*Aspergillus fumigatus* a une importance particulière en raison de sa thermotolérance (croissance optimale à 37 °C, et maximale à 52 °C) et de sa capacité à dégrader presque tous les composants de déchets organiques c'est-à-dire les sucres, les acides gras, les protéines, la pectine, le xylane (Beffa, 1998).

A cette étape succède une seconde phase mésophile (ou phase de maturation) au cours de laquelle ces substances simplifiées concourent, sous l'action de la microflore, à la synthèse de composés organiques stables. On obtient alors un composé prêt à l'emploi.

Figure 4 : Evolution de la température lors du processus de compostage des déchets (d'après Mustin, 1987)



La plupart des auteurs s'accordent à regrouper les organismes ou constituants présents dans le compostage potentiellement dangereux pour la santé en 3 catégories : les organismes pathogènes ; c'est-à-dire capables de provoquer une maladie, d'origine fécale présents dans les produits de départ (bactéries, virus, parasites intestinaux (œufs ou formes adultes)), des micro-organismes pathogènes et/ou allergisants ou opportunistes apparaissant durant le compostage ou le stockage (principalement des moisissures) et enfin des toxines et allergènes libérées par les bactéries et champignons (Beffa, 1998 ; Déportes, 1995 ; Millner, 1995).

#### Le contrôle des pathogènes dans le compost

- Comme cela a déjà été dit, les paramètres qui doivent être contrôlés durant le compostage sont :
- la composition de la masse
- l'aération
- la température,
- l'humidité,
- le rapport carbone/azote
- le pH

La destruction des pathogènes dépend de la température atteinte et de la durée du procédé d'oxydation. Des températures de 55-60°C pendant au moins trois jours sont recommandés. Le tableau 8 fournit la température et le temps nécessaire à la destruction de certains pathogènes présents dans la matière première de compost (Golueke, 1991).

**Tableau 8 : Niveau de température et temps nécessaire pour détruire certains pathogènes présents dans la matière de compostage (Golueke, 1991)**

Organismes	Température létale et temps nécessaire
<b>Bactéries</b>	
<i>Escherichia coli</i>	15-20 mn à 60° C ; 1 heure à 55° C
<i>Salmonella spp</i>	15-20 mn à 60° C ; 1 heure à 55° C
<i>Shigella spp</i>	1 heure à 55° C
<b>Parasites</b>	
<i>Entamoeba histolytica</i>	68* C, temps inconnu
<i>Taenia saginata</i>	5 mn à 71 °C
<i>Necator americanus</i>	50 mn à 45° C

Le compostage apparaît aux yeux de nombreux auteurs comme un traitement hygiénisant très efficace (Alboneti, 1979 ; Boutin, 1987 ; Jehanno, 1995 ; ADEME, 1994 ; Pereira Netto, 1986 ; Savage, 1973). Outre le rôle des différents paramètres décrits plus hauts, certaines bactéries seraient sensibles aux antibiotiques émis dans le compost (Dumontet, 1999) ou à l'activité de la flore indigène. Ceci serait le cas pour les salmonelles. Par contre les particules solides accroissent l'endurance au stress dû à la chaleur et les aident à supporter l'adaptation aux changements de température (Bigot, 1997). En fait la température n'est pas le seul mécanisme par lequel les pathogènes sont inactivés. En effet le compostage transforme la matière organique en un substrat qui devient inutilisable pour la croissance et la survie de la plupart des pathogènes. Ainsi, Dumontet (1999) rapporte les résultats d'une étude (Russ et Yanko, 1981) qui démontre que les salmonelles peuvent croître uniquement si le rapport C/N est supérieur à 15 et le contenu en moisissure supérieur à 20%.

Le contrôle des pathogènes dans le compost peut être réalisé à travers un suivi du couple temps-température de compostage, afin de s'assurer que la phase thermophile remplit bien son rôle d'hygiénisation. L'US EPA recommande un minimum de 15 jours à 55°C avec 5 retournements pour un compostage en andains et 3 jours à 55°C pour un compostage en tunnel ou en pile statique (ADEME, 2 000). Dumontet (1999) rapporte les résultats de 3 autres auteurs et conclue que l'hygiénisation de boues compostées est assurée si le produit est maintenu à 55°C pendant 3 jours. Seul le travail de Pereira-Netto (1986) apporte des résultats comparatifs sur l'efficacité de différents procédés dans l'hygiénisation de boues. Les pathogènes mesurés (*E. coli*, streptocoques fécaux et salmonelles) étaient inactivés de façon plus efficace dans le système de pile statique aérée que dans le système en andains. Dans les piles statiques aérées après 32 jours de compostage *E. coli* était inférieur au niveau de détection, les streptocoques fécaux étaient inférieurs à 10<sup>2</sup> UFC/g de matière fraîche et les salmonelles avaient complètement disparu. Dans le système en andains, celles-ci étaient encore détectables (Dumontet, 1999).

Le rôle de l'agent gonflant utilisé n'est pas négligeable dans la réduction des micro-organismes indicateurs durant le compostage (cf. tableau 9).

Tableau 9 : Effet du compostage sur les salmonelles spp, coliformes thermotolérants (CF) et streptocoques fécaux (SF), (Dumontet, 1999 d'après Strauch, 1986)

Type de compostage	Boues + DMS*		Boues + enveloppe de riz			
Andains retournées	Produit de départ	Compost	Produit de départ	Compost		
Salmonelles (UFC/g MS)	24	ND	ND	ND		
CF	$4,8.10^5$	$5,6.10^4$	$5.10^6$	$3.10^5$		
SP	$2,4.10^5$	$2.10^4$	$1,8.10^5$	$3.10^4$		
Andains statiques avec aération par aspiration	Boues + DMS		Boues + copeaux de bois		Boues + déchets inertes	
	Produit de départ	Compost	Produit de départ	Compost	Produit de départ	Compost
Salmonelles	24	ND	$1.10^5$	ND	$5.10^4$	ND
CF	$4,8.10^5$	$4,1.10^2$	$2.10^7$	$5.10^1$	$7.10^7$	10
SP	$2,4.10^5$	$7.10^2$	$7.10^6$	$3,5.10^1$	$7.10^5$	10
Andains statiques avec aération par ventilation	Boues + DMS		Boues + liège		Boues + paille	
	Produit de départ	Compost	Produit de départ	Compost	Produit de départ	Compost
Salmonelles	24	ND	$3,1.10^1$	ND	$1,2.10^2$	ND
CF	$4,8.10^5$	$1,2.10^3$	$9,3.10^5$	$5,9.10^2$	$8,5.10^6$	$7,8.10^2$
SP	$2,4.10^5$	$8,2.10^2$	$6.10^6$	$8,1.10^2$	$4,8.10^6$	$3.10^3$

DMS : déchets municipaux solides

Lors de la maturation ou du stockage les concentrations en bactéries intestinales, salmonelles et œufs de parasites décroissent. Par contre les Clostridium perfringens semblent insensibles à cette phase (Bigot, 1997).

Le recontamination du compost est de plus possible soit par intervention d'éléments extérieurs (poussières, vecteurs de transmissions tels que les rats, les insectes, les oiseaux) soit par multiplication de germes ayant échappé au traitement (Bigot, 1997).

Le rôle hygiénisant du compost sur les virus et les parasites n'est pas établi de façon certaine en raison du peu de données disponibles et des difficultés d'isolement et d'identification (Bigot, 1997)

## VI.2. ASPECTS QUANTITATIFS

Dans une approche d'évaluation des risques, l'étape préliminaire correspond à l'inventaire des substances émises dans les différents milieux. Dans ce cadre, il importe de répertorier puis de quantifier les agents présents tout au long du processus de compostage. En effet, on peut supposer que si ces micro-organismes sont présents durant le processus, ils sont susceptibles d'être aéroportés.

On tiendra donc compte non seulement des micro-organismes présents dans les produits de départ, principalement les indicateurs de contamination fécale, mais aussi des micro-organismes indigènes qui se développent au cours du compostage.

Nous avons recensé 17 études qui ont porté sur les concentrations en micro-organismes et toxines dans les composts. Mais la plupart concernent du compost de boues d'épuration et seules 6 études portent sur du compost d'ordures ménagères (OM) ou de déchets verts (DV). Deux études se rangent plutôt dans la catégorie expérimentale, puisque, artificiellement, le produit de départ ou le procédé est modifié (inoculation d'une espèce).

Afin de ne pas alourdir le texte, les études avec les procédés de compostage ainsi que quelques détails sur l'échantillonnage et des résultats par type de micro-organismes sont présentés en annexe 5. Pour chaque micro-organisme ou composé, le texte se réfère à un tableau de l'annexe.

### **VI.2.1. Bactéries**

(Cf Annexe 5, tableau 1)

La concentration en bactéries totales n'est pas forcément un indicateur très intéressant puisqu'elle ne fait pas la distinction entre flore pathogène ou non. Elle est, cependant, le reflet de la charge microbienne et 6 auteurs fournissent des informations sur cet aspect. Il est particulièrement difficile de tirer des enseignements de l'analyse de ces publications en raison de l'hétérogénéité des intrants, des procédés de compostage et des méthodes de mesures.

#### Produits de départ

Globalement, la concentration en bactéries totales dans les produits de départ n'apparaît pas quantitativement différente selon que l'on s'intéresse aux boues d'épuration ou aux ordures ménagères. Elle est de l'ordre de  $10^7$  à  $2,2 \cdot 10^{10}$  UFC/g de MS selon les études.

#### Au cours du procédé

La concentration en bactéries mésophiles, importante en début de processus, diminue en cours de compostage (Riachi, 1998 ; Wong, 2000).

La concentration en bactéries thermophiles est également élevée au début du compostage puis diminue à partir du 14<sup>ème</sup> jour et jusqu'à la fin de la période de compostage dans l'étude de Wong sur des boues de station d'épuration alors que dans le travail de Riachi sur des ordures ménagères ou des déchets verts avec une fermentation à l'air libre, la baisse ne survient qu'au 199<sup>ème</sup> jour pendant la phase de maturation. Dans cette même étude, l'évolution du compost de déchets verts est assez similaire, avec toutefois une flore bactérienne un peu plus abondante à toutes les phases du processus. L'ajout de chaux diminue les concentrations en bactéries thermophiles et mésophiles (Wong, 2000). Dans le travail de Strom (1985) sur des usines de compostage de déchets solides les colonies thermophiles étaient composées à 87% du genre *Bacillus*. L'espèce de bacille le plus souvent rencontré est *B. circulans*.

Par contre dans le travail canadien d'Andrews (1994) sur du compost de déchets verts (feuilles et herbes), il n'y avait pas de tendance à la baisse, entre le compost de départ et le compost mature, dans les concentrations de certaines catégories de bactéries (hétérotrophes, lactose +, antibiorésistantes ou métal résistantes) et pour les bactéries thermophiles. Néanmoins, en terme d'hygiénisation, *E. coli* et Salmonelles n'ont pas été retrouvés. Parmi les espèces Gram négatives identifiées sont retrouvées : *Pseudomonas*, *Serratia*, *Xanthomonas* et *Klebsiella*.

Ces travaux sont en accord avec la synthèse de Beffa (1998). Les micro-organismes mésophiles sont partiellement tués ou ont une activité limitée durant le stade thermogénique

initial (T° entre 40 et 60°C) alors que les bactéries thermotolérantes/thermophiles augmentent à ce moment là et sont particulièrement actives entre 50 et 60°C.

### **VI.2.2. Colifformes et *E.coli***

(Cf Annexe 5, tableau 2)

#### **Dans les produits de départ**

Dans les boues de station d'épuration utilisées pour compostage, les concentrations sont rarement déterminées au départ. Ainsi, sur les 3 études portant sur le compostage de boues d'épuration, les colifformes thermotolérants ne sont individualisés que pour l'une d'entre elle.

Les concentrations exprimées en nombre de cellules par cm<sup>3</sup> sont de l'ordre de 6,5 10<sup>3</sup>/cm<sup>3</sup>.

Dumontet (1999) a fait le point sur les concentrations en colifformes thermotolérants mesurées dans les boues. Sur 7 boues d'origines différentes, celles-ci vont de 5.10<sup>5</sup> à 7.10<sup>7</sup>/g de MS

Pereira Neto (1986) a mesuré *E. coli* dans le mélange de départ d'une usine de compostage constitué d'ordures ménagères et de boues secondaires. Les concentrations étaient un peu plus élevées dans les ordures ménagères (4 10<sup>7</sup>/g de MS) que dans les boues (4 10<sup>5</sup> à 4 10<sup>6</sup>/g de MS).

Dans les ordures ménagères, les concentrations en colifformes totaux sont de l'ordre de 10<sup>7</sup>/g MS alors que les colifformes thermotolérants sont plutôt de l'ordre de 10<sup>6</sup>/g MS (Boutin, 1987).

#### **Dans le compost et suivant le procédé**

L'hétérogénéité des procédés et le peu d'études disponibles ne permettent pas de comparer les concentrations finales dans le compost en fonction des procédés. Citons cependant le travail de comparaison de Boutin (1987) sur 4 usines françaises. A l'inverse de ce que décrit Pereira-Neto (1986) pour les boues, les concentrations en colifformes totaux et colifformes thermotolérants sont plus basses dans les systèmes ouverts avec retournement que dans le système clos en aération forcée. Compte-tenu de l'ancienneté de cette étude et de l'évolution actuel des process et des intrants, il est probable que ces résultats ne sont plus d'actualité.

On observe une diminution globale des colifformes entre les produits de départ et le compost final. *E. coli* disparaît de façon quasi complète à J16 lors du compostage de déchets domestiques mélangés à des boues d'épuration (Pereira-Neto, 1986).

#### **Rôle du stockage**

Dans l'étude de Déportes (1998), les colifformes thermotolérants sont rapidement indécélables (j12) lors du compostage. Cependant les populations de colifformes évoluent différemment lors du stockage. Une augmentation (10<sup>6</sup> UFC/g MS) est notée à J174, que le stockage soit intérieur ou extérieur. Pour l'auteur, la croissance des colifformes semblent due à une recolonisation des tas par des populations déjà existantes dans la masse et restées sous le seuil de détection jusque là.

#### **Rôle de l'humidité**

Dans le travail de Soares (1995) sur les boues d'épuration compostées, un taux d'humidité inférieur à 40% à la fin de la maturation des composts était susceptible de constituer des conditions favorables pour permettre la survie, voire même la recolonisation des pathogènes. L'humidité semble être un facteur de stabilité du compost important. Un compost trop sec

peut signifier que l'activité microbienne n'a pas été suffisante pour une dégradation complète de la matière organique.

#### VI.2.2.1. Salmonelles

Annexe 5 (tableau 3)

##### Dans les produits de départ

Assez peu d'études publiées portent sur les concentrations en Salmonelles. Les concentrations dans les produits de départ vont selon les études de 7 à 67/g de MS et **l'abattement est total à la fin du compostage.**

##### Evolution au cours du compostage et facteurs de variation

Il existe une relation entre les concentrations et la position dans le tas de compost. La diminution des *Salmonella* est forte là où la température est élevée (supérieure à 65°C) sur la partie supérieure du tas de compost (Pereira-Neto, 1986). Il n'y a pas, cependant, d'augmentation des *Salmonella* là où l'aération est la plus mauvaise (au centre du tas).

Dans une étude expérimentale, Ugwanyi (1999) a démontré que les salmonelles étaient complètement inactivées à 68°C en 2 heures.

Gerba (1995) a étudié la survie des salmonelles dans du compost d'ordures ménagères avec retournement en présence d'une proportion variable de couches. Un seul des 19 prélèvements était positif dans le produit final, mais ne connaissant pas les concentrations dans le produit de départ, ceci est de peu d'intérêt.

Dans le compost d'ordures ménagères étudié par Déportes (1997), les salmonelles disparaissent entre le 8<sup>ème</sup> et le 21<sup>ème</sup> jour de compostage. Si les salmonelles disparaissent lors du compostage des OM, elles réapparaissent **lors du stockage extérieur** en tas au 57<sup>ème</sup> jour. La détection n'a été cependant que qualitative. Dumontet (1999) a fait, par ailleurs, le point sur les possibilités de **recontamination**. Celles-ci semblent bien réelles puisque sous certaines conditions (extraits de compost dilué dans de l'eau salée, incubation anaérobie de compost de boue commercialisé), la croissance des salmonelles a été objectivée.

En conclusion, le caractère hygiénisant du compostage sur les Salmonelles a été bien mis en évidence. Cependant, pendant les premiers temps (avant la phase thermophile) celles-ci sont susceptibles d'être présentes. De plus il semble exister des possibilités de recontamination lors du stockage.

#### VI.2.2.2. Streptocoques fécaux

Annexe 5 (tableau 4)

Les streptocoques fécaux ont été mesurés dans une étude américaine (Pereira-Neto, 1986) sur un site de compostage de boues d'épuration secondaires et de déchets domestiques. De l'ordre de  $10^5$  à  $10^7$  UFC/g MS dans les produits de départ (OM :  $5.10^6$  à  $9.10^6$ , boues :  $4.10^5$  à  $8.10^5$ ), ils n'étaient plus mesurables dans le compost final au 31<sup>ème</sup> jour dans les données disponibles.

Les concentrations dans les ordures ménagères vont, selon les études, de  $10^6$  à  $10^9$  (Déportes, 1997 ; Boutin, 1987 ; Tolvanen, 1998). L'abattement est variable selon les études ; 3 à 6 log pour Déportes en système fermé, 1 log pour Boutin en système clos avec aération forcée.

Dans l'étude de Boutin qui compare des systèmes avec aération forcée et des systèmes avec retournement, **l'abattement du nombre de germes est plus important avec le système clos en aération forcée.** De même, pour Tolvanen, les résultats en systèmes clos semblent meilleurs.



### **VI.2.2.3. Autres bactéries**

*Clostridium perfringens* a été utilisé comme indicateur d'efficacité du traitement, en raison de sa forte résistance (en particulier à la chaleur) en conditions défavorables (formes sporulées) et de l'absence de possibilité de recontamination, dans deux expérimentations portant sur le compostage de boues biologiques mélangées à des déchets verts et de boues chaulées. Les spores de *Clostridium perfringens* dans les produits se sont révélées très faibles (< 10) ou indétectables alors qu'elles étaient présentes à des concentrations de l'ordre de  $10^2$  à  $10^6$  UFC/g MS dans les produits de départ (Bigot, 1997).

### **VI.2.3. Actinomycètes**

#### Evolution des concentrations selon le produit de départ

Deux études ont mesuré plus précisément les actinomycètes thermophiles dans le compost de boues d'épuration et sciure de bois (Wong, 2000) et dans le compost d'ordures ménagères (Déportes, 1997). Dans le compost de boues les concentrations sont de  $10^3$  UFC/g MS dans le produit de départ (J0) et de  $3.10^6$  UFC/g MS dans le produit final (J100). Les populations augmentent jusqu'à un plateau. La chaux, pour des concentrations de 1 à 0,63%, diminue les populations, mais à 0,63% l'inhibition n'est pas significative.

Dans le compost d'ordures ménagères (Déportes, 1997) les concentrations en actinomycètes thermotolérants étaient de l'ordre de  $8.10^9$  UFC/g de MS au départ quelle que soit la campagne de prélèvements mais les teneurs baissaient dans la première campagne alors qu'elles restaient stables dans les deux autres cas (au printemps et en été). Lors du stockage, l'effectif remonte dans les premiers temps du stockage vers j100 puis il s'abaisse à la fin ( $10^7$  à  $10^8$  UFC/g MS). Les concentrations en stockage extérieur sont plus élevées que pour le stockage intérieur.

#### Evolution des populations d'actinomycètes

En terme qualitatif, les populations en début de compostage sont majoritairement représentées par le genre *Thermomonospora* (75 % des souches) et *Thermoactinomyces* (10 % des souches). Dans les phases suivantes du compostage et lors du stockage les populations sont majoritairement *Saccharomonospora viridis* et *Faenia rectivirgula* (respectivement 56 à 95 % des souches - Déportes, 1997).

### **VI.2.4. Champignons, *Aspergillus***

(Cf. Annexe 5, tableaux 6 et 7)

La plupart des études portent sur du compostage de boues d'épuration et seules les 2 thèses (Déportes, 1997 ; Riachi, 1998) apportent des informations sur le compost d'ordures ménagères.

#### Dans les produits de départ

Dans les boues de STEP, les concentrations en champignons thermophiles sont de l'ordre de  $10^3$  à  $10^5$  UFC/g MS (Wong, 2000 ; Millner, 1977).

Les valeurs sont du même ordre de grandeur dans les ordures ménagères dans les 2 thèses citées plus haut.

## Durant le compostage

Les concentrations en champignons thermophiles diffèrent peu entre le produit de départ et le compost final (Piontek, 2000 ; Wong, 2000). Les champignons mésophiles disparaissent à J7 quel que soit l'importance du traitement à la chaux (Wong, 2000).

Dans le travail de thèse de Riachi (1998) sur le compost d'ordures ménagères, on note une baisse de l'ordre de  $10^6$  UFC/g MS après le premier mois de compostage, puis une stabilisation durant une grande partie du processus et une multiplication de l'ordre de  $10^6$  UFC/g MS en fin de processus. Par contre, les souches thermophiles, en faible quantité au début du compostage ( $10^3$  UFC/g MS) montrent une plus grande abondance au milieu du processus ( $10^6$  UFC/g MS) et baissent à la fin. Pour le compost de déchets verts, la seule différence est qu'il n'y a pas de remontées en fin de processus et que les souches thermotolérantes baissent en milieu de processus au lieu du pic qui est noté avec les ordures ménagères.

Dans le travail de Déportes sur le compost d'OM, les concentrations en champignons thermotolérants sont de l'ordre de  $10^7$  UFC/g MS puis on note une décroissance ( $10^2$  UFC/g MS) jusqu'à j50 et une remontée surtout dans le tas stocké à l'extérieur.

L'inventaire de la population fongique mise en évidence dans l'étude de Riachi est présenté en annexe 7. Les genres et espèces sont regroupés dans la liste ci-dessous :

- *Absidia* (2 espèces)
- *Actinomucor*
- *Aspergillus* (6 espèces)
- *Aureobasidium*
- *Byssoclamys*
- *Chaetomium*
- *Circinella muscae*
- *Emericella*
- *Geotrichum candidum*
- *Umicola grisea*
- Des levures
- *Monascus ruber*
- *Mucor hiemalis et plombus*
- *Myceliophthora fergusii et thermophilum*
- *Ophiostoma*
- *Paecilomyces*
- *Penicillium* (7 espèces)
- *Phialophora*
- *Pseudallescheria*
- *Rhizomucor* (2 espèces)
- *Rhizopus oryzae et pussilus*
- *Scopulariopsis* (3 espèces)
- *Talaromyces flavus et ibadensis*
- *Thermoascus crustacéus*
- *Thermomyces* (4 espèces)
- *Trichoderma* (2 espèces)

### Facteurs de variation

Il y a trop peu d'études pour pouvoir tirer des enseignements sur les variations liées aux procédés.

### Rôle de la chaux

Dans le travail de Wong (2000) sur l'ajout de chaux durant le compostage de boues de STEP, la concentration en chaux n'intervient pas sur les concentrations en champignons thermophiles.

### Variation en fonction de la positions dans le tas

L'étude de Kane (1973) montre que les concentrations en champignons sont les plus importantes dans la couche supérieure des andains (compostage de déchets organiques d'ordures ménagères). Les espèces les plus souvent mises en évidence étaient : *Aspergillus fumigatus*, *H. lanuginosa* et *M. pusillus*.

### Risque de recolonisation

Pour Beffa (1996 et 1998), les spores de champignons allergisantes sont supprimées par la chaleur (65-75°C), mais on observe une fréquence de recolonisation après la phase thermogénique.

Beffa (1998) a comparé les genres de champignons présents dans un vermicompost et dans des composts "classiques". La diversité des espèces est plus grande que dans un compost classique et l'abondance et la fréquence d'espèces pouvant poser des problèmes pour la santé est plus importante. Ceci concerne *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. flavus*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium moniliforme*, *Chrysosporium* spp. Les plus fortes concentrations ont été relevées dans un vermicompost de fumiers de volaille.

## **Aspergillus**

Sur les 6 études recensées la moitié porte sur le compostage de boues.

### Produits de départ

Les concentrations au départ dans les boues vont de  $10^2$  à  $10^3$  UFC/g MS mais elles sont plus importantes dans les copeaux de bois qui ont été rajoutés (jusqu'à  $10^7$  UFC/g MS). Les concentrations dans le compost frais étaient identiques à cette valeur. Gumowski (1992) avec du compost frais de déchets verts et d'ordures ménagères retrouvent aussi des concentrations supérieures à  $10^7$  UFC/g MS.

### Evolution des concentrations au cours du compostage

L'étude de Millner (1977) dans une usine de compostage a cherché à déterminer les quantités d'*A. fumigatus* à tous les stades d'évolution et de maturation du compost. *A. fumigatus* a pu être mesuré dans les produits de départ (7 échantillons de boues collectés au hasard et des échantillons de copeaux de bois pris au hasard dans des andains frais et âgés), à tous les stades d'évolution du compost, à des températures inférieures à 60°C et à différentes profondeurs d'andains. Au stade initial, on mesure près de  $10^3$  à  $10^7$  UFC/g MS. A la fin de la maturation du compost (2-4 mois), *A. fumigatus* représente près de 30% du total des populations thermophiles, soit  $2,1 \cdot 10^4$  UFC/g MS. Le stockage est effectué à l'extérieur, sans aération. *A. fumigatus* est retrouvé dans 16 sur 21 produits commercialisés. Les quantités d'*A. fumigatus* sont inférieures à celles trouvées dans un compost âgé d'un mois, seul un échantillon (terre de rempotage) a des niveaux en *A. fumigatus* avoisinant  $10^5$  UFC/g MS, correspondant à un

compost âgé d'un mois de maturation. Il apparaît que les copeaux de bois, utilisés comme agent gonflant, sont la principale source d'*A. fumigatus* dans le compost.

Dans le travail de Riachi sur les déchets verts et les ordures ménagères, le pourcentage d'*A. fumigatus* par rapport à la population fongique totale s'élève au cours du processus (entre 20 et 15,5%) alors qu'il est négligeable au départ. Il baisse considérablement au cours de la stabilisation du substrat (entre 16 et 19%) et ceci à tous les niveaux de températures d'incubation. **Dans le compost de déchets verts**, l'évolution d'*A. fumigatus* est identique à celle des ordures ménagères, mais on constate un nombre plus important d'*A. fumigatus* au début et durant les premières phases de compostage qu'à la fin. La proportion par rapport à la flore fongique totale est encore plus élevée en milieu de processus (30 à 70%), mais baisse beaucoup à la fin (17 à 25%).

Dans l'autre travail sur le compost d'OM, les *A. Fumigatus* ne représentent qu'une faible part des champignons thermotolérants au départ (moins de 10 %) alors qu'après 20 jours de compostage, ce champignon représente jusqu'à 89 % des champignons incubés à 55°C.

Pour Beffa (1998), les travaux de son laboratoire ont permis de montrer que la présence et l'abondance d'*A. fumigatus* dans le compost et dans l'air peuvent servir de bio-indicateur de la présence et de la dispersion d'autres particules et micro-organismes pathogènes.

Dans une autre étude (Gumowski, 1992), les concentrations en *A. fumigatus* diminuaient nettement en cours de compostage pour atteindre  $2.10^3$  UFC/g MS en fin de processus.

#### Relation entre concentrations en *Aspergillus fumigatus* et position dans le tas de compost

La concentration en *A. fumigatus* est toujours supérieure au niveau de la surface des andains (Kothary, 1984). Les spores viables étaient présentes à 60-70°C, alors que le champignon ne se développe pas à des températures supérieures à 55°C ( $10^3$ - $10^4$  UFC/g MS).

#### Persistance et possibilité de recolonisation par *A. fumigatus*

Les études sur la température du compost montrent qu'il peut exister des gradients de température importants de 30-40°C dans les couches externes ou inférieures par rapport à la température centrale du tas. Dans ces zones plus froides *A. fumigatus* peut proliférer ou persister. En effet la destruction des conidies d'*A. fumigatus* nécessite des températures supérieures à 65° C. La recolonisation par *A. fumigatus* est aussi fréquemment observée après la phase thermogénique bien que les concentrations n'atteignent pas les valeurs initiales. L'importance de cette recolonisation dépend de la maturité du compost qui dépend elle-même de contenu organique du matériel initial (Beffa, 1998).

#### Rôle du procédé

##### *A l'air libre*

Expérimentalement Fischer (1998) a testé le rôle de la fréquence du retournement des andains d'un compost constitué de déchets verts et d'ordures ménagères sur le taux de conidie d'*aspergillus*. Il a comparé ces taux dans une même usine sur des andains retournés quotidiennement et sur des andains retournés une fois par mois. Alors qu'initialement les concentrations étaient élevées dans les deux cas ( $> 10^6$ UFC/g de MS), 15 jours après les concentrations à la surface des andains peu retournés restaient élevées ( $10^4$ UFC/g de MS) comparativement aux andains fréquemment retournés alors qu'au centre celles-ci étaient inférieures à  $10^2$ UFC/g de MS. Cette différence est principalement attribuée à la température qui est montée plus vite, a atteint des valeurs plus élevées et était plus homogène dans les andains retournés.

*Dans les systèmes couverts en boîtes (boîtes), en bâtiments clos avec aération*

Les expérimentations rapportées par Beffa (1998) ne montrent pas l'intérêt de ces systèmes en terme de taux d'*aspergillus* par rapport au compostage à l'air libre en andains.

*Compostage en bioréacteur clos*

Pour Beffa (1998), dans ces systèmes, bien que la plupart des paramètres soient mesurés et ajustés, il n'y a pas de contrôle visuel du compost et la thermohygiénisation est souvent incomplète bien que de hautes températures soient atteintes au centre du compost.

### **VI.2.5. Mycotoxines**

Seule la thèse d'Isabelle Déportes (1997b) et la publication afférente (Déportes, 1997a) apporte des informations sur les mycotoxines dans le compost. Après incubation des spores d'*A. flavus*, *A. parasiticus* et *A. sydowii* les aflatoxines sont extraites avec une solution de méthanol ou de chloroforme. L'analyse a recours à des techniques de TLC (Chromatographie en couche fine) et HPLC (chromatographie à haute pression en phase liquide). La stérigmatocystine est aussi recherchée avec une solution de chloroforme.

Aucune mycotoxine n'a jamais été retrouvée dans les OM ou les composts. Une des explications mise en avant correspond à l'interaction des aflatoxines avec le compost qui ferait disparaître celles-ci. Le même auteur a donc cherché à vérifier cette hypothèse avancée dans la littérature en contaminant artificiellement le compost avec l'aflatoxine B<sub>1</sub> : 73 % de la totalité de l'aflatoxine était récupérée après 8 extractions. Les interactions avec le compost (acide humique) les rendrait plus difficilement extractibles. Une autre explication de l'absence de mycotoxine serait qu'elles ne peuvent pas être produites quand les conditions favorables ne sont pas réunies.

### **VI.2.6. Autres**

Virus et protozoaires

Annexe 5 (tableau 5)

Une étude a cherché à déterminer la présence d'entérovirus et de parasites protozoaires (*Giardia*, *Cryptosporidium*) et de *Salmonella* dans des déchets municipaux solides compostés qui contiennent des couches usagées de bébés (Gerba, 1995). Aucun virus n'a été identifié malgré la méthode employée qui peut détecter jusqu'à 10 UFC et même des virus inactivés (méthode de Yanko pour l'extraction et procédé génétique pour la détection). Aucun *Giardia* ou *Cryptosporidium* n'a été détecté (identification des kystes avec microscope à épifluorescence). Une étude (travail de thèse) des entérovirus dans diverses filières de traitement de boues a montré que la concentration des boues en entrée de traitement variait en fonction du type de boue de non détectable à 900 NPP UFC/g MS. Le suivi d'une filière de compostage pendant 10 mois n'a jamais retrouvé d'entérovirus dans le produit final (Monpotheo, 2001).

La détection d'œuf d'ascaris a été réalisée dans le compost d'OM étudié par Deportes (1997). Dans la première campagne en mars, ils sont observés au départ (0,05 œuf/g) et jusqu'au 13<sup>ème</sup> jour (0,006 œuf/g) puis ils disparaissent définitivement. Ils ne sont observés qu'une fois au départ dans la deuxième campagne et pas du tout dans la troisième campagne.

Dumontet (1999) cite par ailleurs une étude datant de 1969 et démontrant que les œufs d'*Ascaris lumbricoïdes* sont détruits par un compostage en piles aérées. On manque néanmoins de données récentes sur cette question (Bigot, 1997).

### Endotoxines

Le recherche d'endotoxine dans du compost n'a, à notre connaissance, jamais été effectuée. On peut cependant citer l'étude de Nielsen (1994) qui a recherché des endotoxines dans le percolat de déchets ménagers compostables. Ceux-ci sont retrouvés à une concentration de 10 à 300 µg/ml.

## VII. MICRO-ORGANISMES, TOXINES ET ANTIGÈNES DANS L'AIR, CARACTÉRISATION DE L'EXPOSITION

### VII.1. INTRODUCTION

Avant d'aborder ce chapitre, il convient de rappeler quelques définitions.

On retrouve, dans l'ambiance des usines de compostage, la présence d'éléments organiques qui sont regroupés sous le terme de **poussières organiques**. Les poussières organiques sont composées d'un ensemble hétérogène de particules animales, végétales et microbiologiques (bactéries, actinomycètes, champignons, virus, parasites) et de produits d'origine microbiologique tels que des constituants de la paroi des cellules, des enzymes ou des toxines, des spores de champignons ou de bactéries. Bien que la frontière entre les deux termes n'apparaisse pas clairement dans la littérature, il semble donc que les bio-aérosols soient inclus dans le terme "poussières organiques".

Ces poussières contiennent un grand nombre d'agents biologiquement actifs, dont les proportions relatives dépendent principalement des sources de poussières (Rylander, 1997). La taille des particules est très variable ce qui implique un dépôt possible à tous les niveaux de l'arbre respiratoire, depuis le nez jusqu'aux alvéoles (Rylander, 1997).

En milieu du travail, la fraction **inhalable** (ou **inspirable**) d'un aérosol correspond au pourcentage de particules de diamètre aérodynamique inférieur ou égal à 100  $\mu\text{m}$ . La fraction **thoracique** correspond aux particules de diamètre inférieur à 10  $\mu\text{m}$ . La fraction **alvéolaire** (ou **respirable**) est définie par les particules de diamètre inférieur à 4  $\mu\text{m}$  (INRS, 1999).

Dans les études épidémiologiques environnementales, la fraction thoracique correspond aux particules de diamètre inférieur à 10  $\mu\text{m}$  et la fraction alvéolaire correspond aux particules de diamètre inférieur à 2,5  $\mu\text{m}$ .

En milieu du travail, les concentrations moyennes, évaluées sur 8 heures, pour les poussières réputées sans effet, ne doivent pas dépasser 10  $\text{mg}/\text{m}^3$  pour les poussières totales et 5  $\text{mg}/\text{m}^3$  pour les poussières alvéolaires (INRS, 1999).

La taille des micro-organismes étudiés est variable mais on peut voir sur le tableau ci-dessous que la plupart ont la capacité d'atteindre l'étage alvéolaire pulmonaire. Les plus petits organismes peuvent s'agglomérer, accrochés aux poussières ou attachés aux gouttes d'eau et peuvent donc rester en suspension dans un aérosol de plus grosse taille. A l'inverse les plus gros organismes peuvent se fractionner et devenir des fragments respirables en suspension dans l'air (American thoracic society, 1998).

**Tableau 10 : Rappel sur la taille (déterminée en microscopie électronique) des constituants d'un bioaérosol (American Thoracic Society, 1998)**

Bioaérosols	Etendue de taille ( $\mu\text{m}$ )
Champignons	20-100
Conidies de champignons	5-15
Bactéries	8-20
Spores de bactéries	0,5-3
Virus	0,01-0,05

Avant de présenter les résultats des mesures en bioaérosols réalisées dans les usines de compostage, il convient de rappeler que les techniques de mesures utilisées font, la

plupart du temps, référence à la culture des micro-organismes. De ce fait, ne sont mesurés que les organismes vivifiants, capables d'être cultivés et que tout un pan du contenu en bioaérosol n'est ainsi pas mesuré.

De plus, comme cela a bien été démontré dans le chapitre sur les techniques de mesures, la diversité des techniques de prélèvements, des milieux de cultures, des périodes de prélèvements confère aux résultats recensés une grande variabilité qui limite la comparaison entre les études.

## **VII.2. USINES DE COMPOSTAGE**

### **VII.2.1. Poussières**

(Cf Annexe 6, tableau 8)

La plupart des études analysées portent sur des usines de compostage d'ordures ménagères et on ne dispose que d'une seule étude sur le compostage de boues d'épuration. La comparaison des résultats de ces études se révèle un exercice périlleux car les intrants, les procédés les techniques de mesures ne sont pas les mêmes et souvent la taille des particules mesurées n'est pas la même.

On ne peut tirer de conclusion sur l'importance des poussières en fonction des intrants.

#### Rôle des procédés

Les concentrations en poussières mesurées dans l'air ambiant dépassent rarement la valeur seuil recommandée de  $10 \text{ mg/m}^3$  en milieu du travail et sont même souvent nettement inférieures. Ainsi les niveaux de poussières moyens sont souvent inférieurs à  $2 \text{ mg/m}^3$ . Néanmoins, dans le travail de Clark (1983) qui porte sur des mesures de poussières totales en ambiance les concentrations ont atteint  $10,6 \text{ mg/m}^3$  dans la zone de criblage d'une usine traitant des OM additionnées de boues de STEP.

L'étude de Tongeren (1997) qui compare, avec des capteurs individuels sur le personnel, les concentrations en poussières inhalables entre un site de compostage, un site de récupération et de tri de déchets et enfin deux usines de transfert. Les moyennes de concentrations les plus basses se situent dans les usines de transfert de déchets où les travailleurs ne sont pas en contact direct avec les déchets, et les plus hautes dans l'usine de récupération de déchets ( $14,3 \text{ mg/m}^3$  pour la séparation manuelle) et dans l'usine de compostage (de l'ordre de  $9 \text{ mg/m}^3$ ). Il existe une grande variabilité des résultats des mesures selon les jours. Le déchargement est une source importante d'exposition.

Dans l'étude de Delaunay (1997), les concentrations les plus fortes, en particules inférieures à  $20 \mu\text{m}$ , sont retrouvées dans le hall d'entrée au déchargement et lorsque la roue pelleteuse, qui transfère le compost de silos en silos, fonctionne ( $1,8 \text{ mg/m}^3$ ). Il y a assez peu de différences entre le début, le milieu et la fin de poste.

Le travail expérimental de Lacey (1991, 1992) sur du compost en pile statique aéré apporte des informations à partir de mesures en ambiance et auprès des travailleurs (échantillonneurs personnels sur filtre d'acétate de cellulose, débit de pompe à  $2 \text{ l/mn}$ ). Pour les mesures en ambiance, les concentrations en particules sont toujours supérieures après le compostage (post compostage) lors du démantèlement des andains. C'est lors de la mise en containers des déchets triés que les concentrations individuelles les plus hautes ( $80 \text{ mg/m}^3$ ) sont retrouvées (tableau 11).



Tableau 11 : Charge en poussières (mg/m<sup>3</sup>) durant le travail à partir d'échantillonneurs personnels (Lacey, 1991, 1992)

Lieu ou type de travail	Charge en poussières			
	Série n°1		Série n° 2	
	Précompostage	Postcompostage	Précompostage	Postcompostage
Tracteur construction des tas	43	ND	32	ND
Tracteur destruction des tas	ND	61	ND	45
Monte charge (Fork lift)	44	76	22	ND
Chargement des déchets en containers	40	58	32	42
	38	81		42
Général	ND	55	17	47

ND : Non déterminé

### Taille des particules

Le travail expérimental de Lacey (1991) qui utilise un compteur de particule de type Royco pour les mesures en ambiance ne permet pas, de par la méthode utilisée, de comparaison avec les autres études. Par contre, il apporte des informations sur la taille des particules. Presque toutes les particules sont respirables et d'un diamètre inférieur à 5 µm (Lacey, 1991). Si à l'extérieur de l'enceinte de l'usine (zone à quelques mètres prise comme bruit de fond) ces particules sont même à 90 % inférieures à 0,5 µm, leur taille augmente lors du processus des déchets et elles ne représentent alors plus que 20 % de l'ensemble des particules. Les plus grosses particules sont surtout prélevées au niveau de la séparation magnétique des déchets et à leur chargement en containers.

Boutin (1987) fournit des informations sur la taille des particules d'aérosols viables à partir des résultats fournis par son échantillonneur (impacteur d'Andersen). Celles-ci vont de 2 à 5,6 µm.

Au total, si globalement la plupart des études font état de concentrations en poussières dans l'air ambiant des usines, inférieures à 10 mg/m<sup>3</sup>, il semble exister quelques situations où l'exposition des travailleurs est plus importante. C'est en particulier le cas lors du criblage, lors du déchargement des déchets, lors de la manipulation du compost. La taille des particules est toujours inférieure à 5 µm. Celles-ci peuvent donc être inhalées.

## **VII.2.2. Bactéries**

### **VII.2.2.1. Bactéries totales**

(Cf Annexe 6, tableau 9)

La plupart des études qui se sont penchées sur les concentrations en bactéries totales portent sur des usines de compostage à l'air libre de déchets ménagers sauf une. Trois auteurs se sont attachés à comparer des procédés ou différents types d'usine de traitements de déchets.

## **Les procédés**

### Compostage à l'air libre

Les concentrations les plus fortes relevées dans l'ambiance des usines sont de l'ordre de  $10^5$  à  $10^6$  UFC/m<sup>3</sup> selon les situations (Van Tongeren, 1997 ; Lavoie, 1997 ; Rheinthal, 1999). Pour une même usine les lieux où les concentrations les plus fortes sont relevées sont variables. Il s'agit de :

la zone de réception et d'entreposage des déchets (Van Tongeren, 1997 ; Lavoie, 1997),  
la zone de retournement et d'affinage du compost (Riachi, 1998)  
la zone de fermentation (Lavoie, 1997)  
la zone de broyage et criblage (Tolvanen, 1998, Boutin, 1987).

La température extérieure joue un rôle. Ainsi, deux auteurs retrouvent des concentrations plus fortes en été qu'en hiver (Lavoie, 1997, Rheinthal, 1997).

### Système clos

Dans la seule étude portant sur un système clos (Delaunay, 1997) les concentrations les plus fortes ( $9,5 \cdot 10^4$  UFC/m<sup>3</sup>) sont mesurées dans le local des silos de maturation.

### Comparaison de plusieurs procédés

Seule l'étude de Rheinthal (1997) sur les ambiances d'usines avec un compostage en bâtiments clos ou à l'air libre apporte des éléments comparatifs sur cette question. Les concentrations les plus élevées sont retrouvées dans les systèmes clos (usine C : compostage d'andains en table, en bâtiment clos avec retournement automatique) et à l'intérieur de l'usine dans les zones de compostage et de passage au tamis. Les plus faibles se situent dans les zones de compostage par rangées ouvertes (usine A).

### Concentrations à distance de l'usine

Les concentrations à distance de l'usine dans l'étude de Rheinthal (1997) sont constantes au-delà de 150 m des usines. Elles sont de l'ordre de  $10^2$  à  $10^3$  UFC/m<sup>3</sup>, ce qui correspond aux valeurs habituellement retrouvées dans l'air en milieu rural "propre" (d'après cet auteur). Le vent intervient dans ce processus puisque pour deux auteurs (Lavoie, 1997, Rheinthal, 1997) les concentrations sous le vent des usines étaient plus fortes que pour la zone au vent.

### Place du compostage comparativement à d'autres usines de traitement de déchets

Rheinthal (1999) a comparé les ambiances de deux usines de compostage, d'une décharge d'ordures et d'un centre de tri. Des mesures ont été réalisées à distance des usines (entre 400 et 1200 m des usines). Les valeurs médianes mesurées pour les zones résidentielles avoisinantes, l'usine de compostage agricole, la zone de décharge et la zone contrôle ne sont pas significativement différentes entre elles mais elles sont, par ailleurs, significativement plus faibles que celles mesurées dans l'usine de compostage à grande échelle et le centre de tri avec des concentrations médianes proches du bruit de fond ( $10^2$  UFC/m<sup>3</sup>) (Rheinthal, 1999). C'est à l'affinage que celles-ci sont les plus fortes.

## Staphylocoques

Delaunay (1977) a aussi mesuré les concentrations en Staphylocoques (milieu de Chapman) dans son étude sur l'usine de compostage de Muriannette. Il n'a pas été retrouvé de Staphylocoques dorés (les plus pathogènes) mais uniquement des Staphylocoques blancs (Staphylocoques coagulases négatifs) c'est-à-dire des staphylocoques commensaux de la peau et des muqueuses qui sont essentiellement responsables d'infections nosocomiales et iatrogènes. Les concentrations les plus faibles sont retrouvées sur le site de stockage (70 UFC/m<sup>3</sup>) alors que les concentrations les plus fortes se situent sur le site des silos de maturation (17 000 à 57 000 UFC/m<sup>3</sup>).

### **VII.2.2.2. Bactéries Gram-négatives**

(Cf Annexe 6, Tableau 10)

Les concentrations en bactéries Gram négatives peuvent atteindre 104 UFC/m<sup>3</sup> dans les usines de compostage.

Selon les auteurs, pour les systèmes ouverts, les concentrations sont les plus élevées, sont :

- Dans la zone de retournement pour un compostage de feuilles (Van der Werf, 1996)
- Au cours du démantèlement des andains (Lacey, 1991, 1992).
- Dans les zones de réception des déchets (Lavoie, 1997)

Pour les bâtiments clos, les zones de plus fortes concentrations se situent dans le secteur du compostage frais et dans la zone de tamis et criblage (Rheinthal, 1997).

Il semble donc que les concentrations mesurées soient surtout importantes lorsque les déchets ou le compost sont brassés.

Comme pour les bactéries totales, dans le travail canadien (Lavoie, 1997), les concentrations sont plus importantes en été qu'en hiver.

#### Comparaison des procédés

Les concentrations dans l'usine en système clos étudiée par Delaunay apparaissent un peu moins fortes (maximum de 700 UFC/m<sup>3</sup>) que dans les systèmes ouverts. Avec une méthodologie comparable ce résultat n'est pas confirmé par Lavoie (1997) et il n'y a pas de différences entre les deux systèmes.

#### Influence de l'usine sur les concentrations à l'extérieur

L'analyse des études fournissant des données en dehors de l'usine montre qu'en général les concentrations sont plus faibles dès la sortie de l'usine (Heida, 1995 ; Lacey, 1991 ; Delaunay, 1997, Lavoie, 1997). L'abattement est de 1 à 2 log.

#### Espèces de bactéries identifiées

De nombreux types différents de bactéries Gram-négatives ont été détectés. Ce sont principalement des entérobactéries (Rheinthal, 1997) et en particulier le genre *enterobacter*. Une liste indicative des enterobactéries les plus souvent citées par les auteurs (Lacey, 1991 ; Clark, 1983 ; Rheinthal, 1997 ; Delaunay, 1997) est présentée ci-dessous :

- *Enterobacter cloacae et agglomerans*
- *Klebsiella oxytoca*
- *Proteus mirabilis*
- *Xanthomonas maltophilia*

➤ *Serratia rubidea*

Parmi les autres genres retrouvés signalons la présence de *Pseudomonas fluorescens* et *aeruginosa* (22% des bactéries Gram-négatives dans une aire de compostage frais).

Au total, les concentrations en bactéries Gram-négatives sont parfois proches du niveau de sécurité proposé par certains c'est-à-dire  $10^3$  UFC/m<sup>3</sup> (Lacey, 1992). Les zones où le compost est brassé ou bien où les déchets sont déversés présentent les plus fortes teneurs. Il n'y a pas réellement de différence de concentrations entre les usines en systèmes clos et à l'air libre. Les variétés de germes le plus souvent retrouvées appartiennent à la famille des entérobactéries. **On ne retrouve pas de bactéries entéropathogènes ou indicateurs de contamination fécale comme *E. coli*, les salmonelles ou les shigelles.**

### VII.2.2.3. Actinomycètes

(Cf. Annexe 6, Tableau 12)

Il y a assez peu de données sur les concentrations mesurées dans les ambiances des usines. Elles sont de l'ordre de  $10^4$  à  $10^5$  UFC/m<sup>3</sup>. Les valeurs les plus fortes sont mesurées dans les zones de réception de déchets et de fermentation (thermoactinomycètes :  $1,5 \cdot 10^4 \pm 150$  UFC/m<sup>3</sup>) (Lavoie, 1997). Dans l'étude de Lacey 1991, les concentrations sont plus importantes après compostage lors du démantèlement des andains. *Faenia Saccharomonospora*, *Thermoactinomyces* et *Streptomyces* avaient des valeurs qui dépassaient  $10^5$  alors que *Thermomonospora* était moins nombreux (aux alentours de  $10^4$  et  $10^5$  UFC/m<sup>3</sup>).

Les Actinomycètes répertoriés par Millner (1980) sont *Micropolyspora*, *Nocardia*, *Saccharomonospora viridis*, *Streptomyces*, *Thermoactinomyces vulgaris*. L'agitation mécanique du compost augmente la concentration en micro-organismes dans l'air mais elle diminue rapidement pour atteindre des concentrations comprises entre 0 et 42 particules/m<sup>3</sup>, non significativement différente des concentrations de bruit de fond dans un autre endroit (5 à 53 particules/m<sup>3</sup> dans une zone sans compostage dont les caractéristiques n'étaient pas précisées). La dispersion des micro-organismes à partir des andains par le vent est loin d'atteindre la quantité de dispersion par le retournement mécanique (la concentration en bioaérosol peut être 150 à 200 fois supérieure à celle correspondant à une période de non-agitation), la concentration diminue très vite 15 mn après le retournement mécanique.

#### Influence des usines de compostage sur l'air extérieur

Nous ne disposons pas de données à distance éloignée des usines de compostage. Néanmoins dans l'étude de Lacey (1991) les concentrations à quelques mètres de l'usine avaient largement chuté comparativement aux mesures réalisées dans l'enceinte de l'usine. Elles restaient, cependant, supérieures aux valeurs mesurées dans l'environnement (cf. chapitre sur les concentrations dans l'environnement).

Pour Lacey (1991, Lacey et Croock 1988) dans son analyse des résultats sur 1 usine de compostage en système ouvert en aération forcée sans retournement, le compostage amène au développement d'une microflore dans laquelle les actinomycètes thermophiles représente 49 % des bactéries aéroportées. Ces actinomycètes se répartissaient en part égale entre *Thermonospora* et *Thermoactinomyces*.

Seulement deux études permettent des comparaisons entre les concentrations dans l'ambiance des usines et en dehors de celles-ci.

L'étude la plus intéressante est celle de Lavoie (1997) car elle apporte des résultats vraiment comparatifs. A distance des usines, 300 m en amont et 100 m en aval, les concentrations sont

très faibles voir indétectables et toujours inférieures à 60 UFC/m<sup>3</sup> alors que les concentrations dans l'usine atteignent 10<sup>3</sup> UFC/m<sup>3</sup> à certains endroits. Les concentrations relevées à distance sont du même ordre de grandeur que les valeurs retrouvées dans une étude sur les concentrations dans l'air intérieur des habitations (5 à 17 UFC/m<sup>3</sup>).

Tableau 12 : Etudes apportant des informations sur les concentrations en actinomycètes à distance des usines de compostage

<i>Auteur</i>	<i>Type d'usine</i>	<i>Méthode de mesure</i>	<i>Dans l'usine</i>	<i>A distance de l'usine</i>
<i>Lavoie 1997, Canada</i>	<i>Usine A Compostage de la fraction fermentescible en bioréacteur</i>	<i>Andersen à 1 étage à 1.5 m du sol durant 1 mn Milieu : Trypticase soja Agar à 55°C pendant 48 heures</i>	<i>Thermoactinomycètes dans l'usine en été - moyenne (ET) Prise d'air : 60 (20) Contrôle : 730 (300) Sortie du bioréacteur : 160 (140) Triage : 150 (55) Bioréacteur : 700 (230) Réception : 2330 (710) Fermentation : 2790 (1760) Biofiltre : 315 (170)</i>	<i>300 m en amont : indétectable 100 m en aval : 6 (14)</i>
	<i>Usine B Compostage de la fraction fermentescible à l'air libre</i>		<i>Contrôle : 3930 (1340) Réception : 3720 (1550) Fermentation : 15000 (150)</i>	<i>300 m en amont : 60 (40) 100 m en aval : 30 (10)</i>
<i>Millner, 1980</i>	<i>Compostage de boues et copeaux de bois avec retournement et séchage à l'air libre</i>	<i>Méthode de mesure Andersen à 6 étages à 2 m du sol durant 2 à 30 mn selon l'endroit. Incubation à 44°C pendant 24 à 48 heures. Milieu : Trypticase soja Agar</i>	<i>Particules/m<sup>3</sup> 0 à 317 selon les postes mais sous le vent</i>	<i>Site de non-compostage 0 à 35</i>

### **VII.2.3. Champignons**

(Cf. Annexe 6, Tableau 13)

Les concentrations maximales de champignons, et d'*Aspergillus fumigatus* (de l'ordre de  $10^4$  à  $10^6$  UFC/m<sup>3</sup>) sont observées à des endroits très variés selon les études :

à la réception et la fermentation des déchets (Lavoie, 1997)  
près des fosse de décharge (Van Tongeren, 1997 ; Fischer, 2000),  
près des zones de stockage de bois et de criblage du compost (Kothary, 1984 et Passman, 1983)  
lors des opérations de retournement du compost (Van der Werf, 1996, Riachi, 1998) ou d'affinage.

Fischer (2000) a identifié les genres prédominants dans la flore mésophile et selon l'endroit dans l'usine.

#### Aire des andains :

- *Penicillium variable*,
- *P. verruculosum*,
- *canaidus*,
- *eburneocremus*,
- *Paecilomyces variotii*,
- *Penicillium fellutanum*.

#### Zone de chargement :

- *P. crustosom*,
- *P. cyclopium*,
- *P. glabrum*,
- *P. roqueforti*,
- *Absidia corymbifera*,
- *fumigatus*,
- *Cladosporium herbareum*,
- *Doratomyces oligosporus*

#### 11 espèces reconnues comme productrices de mycotoxines ont été identifiées

- *A flavus*,
- *fumigatus*
- *niger*,
- *parasiticus*,
- *versicolor*,
- *Emericella nidulans*,
- *Paecilomyces variotii*,
- *Penicillium brevicompactum*,
- *P. clavigerum*,
- *P. crustosum*
- *P. cyclopium*

Ceci ne signifie pourtant pas que ces espèces produisent des mycotoxines au cours du processus de compostage.

Seul Lacey (1991) apporte des informations sur les concentrations d'autres champignons qu'*Aspergillus fumigatus*. Au moment du démantèlement des andains, les concentrations étaient :

- *Penicillium* spp :  $9,7.10^4$  à  $3,4.10^5$  UFC/m<sup>3</sup>
- *Rhizomucor* spp :  $4,8.10^2$  à  $2,9.10^3$  UFC/m<sup>3</sup>
- Levures spp :  $4,8.10^2$  à  $1,7.10^3$  UFC/m<sup>3</sup>
- *Paelomyces* spp :  $3,3.10^4$  à  $1,4.10^4$  UFC/m<sup>3</sup>

#### Influence des usines de compostage sur l'air extérieur

L'influence des usines est difficile à mettre en évidence car les spores de champignons sont ubiquitaires dans notre environnement. Les concentrations les plus basses mesurées sur les sites de compostage restent généralement supérieures à celles mesurées dans les autres sites sans rapport avec les déchets (respectivement 62 UFC/m<sup>3</sup> contre 0 à 2,3 UFC/m<sup>3</sup>) (Kothary, 1984)).

Dans les 3 études où l'on dispose de données permettant des comparaisons, les concentrations au vent des usines de compostage ont des valeurs comparables aux valeurs habituelles retrouvées dans l'environnement pour des distances de 150 à 900 mètres de l'usine (tableau 13).



**Tableau 13 : Concentrations en champignons dans les usines et à distance**

Auteur	Type d'usine	Méthode de mesure	Dans l'usine	A distance de l'usine
Lavoie 1997, Canada	Usine A Compostage de la fraction fermentescible en bioréacteur	Andersen à 1 étage à 1,5 m du sol durant 1 mn <u>Milieu</u> : Sabouraud Dextrose Agar à température ambiante pendant 7 jours	<b>Mesure dans l'usine en été : Moyenne (+/- ET)</b> Prise d'air : 1 190(180) Contrôle : 2 230 (580) Sortie du bioréacteur : 1 650 (810) Triage : 60(20) Bioréacteur : 1 120 (150) Réception : 1 3670 (425) Fermentation : 1 3670(425) Biofiltre : 1 220 (360)	En dehors de l'usine A 300 m en amont : 6 (14) A 100 m en aval : 1 100 (90)
	<b>Usine B</b> Compostage de la fraction fermentescible à l'air libre		Contrôle : 1 000 (180) Réception : 2 330 (1460) Fermentation : 1 0540 (1720)	A 300 en amont : 1 690 (60) A 100 m en aval : 1 600(60)
Rheinthal, 1997, Autriche	Compostage de la fraction fermentescible des OM  <b>Usine A</b> Système ouvert avec aération forcée	Andersen à 6 étages à 1,5 m du sol <u>Débit</u> : 28,3 l/mn pendant 3 h 30 <u>Milieu de culture</u> : malt + pénicilline et sulfate de streptomycine	Champignons et moisissures Médiane (min-max) n = 36 1,5.10 <sup>4</sup> (8.10 <sup>3</sup> – 3,5.10 <sup>4</sup> )	N = 81 5 m en amont : 290(2-1 235) 5 m en aval : 680 (15-2 800) <b>150 m en amont : 135 (16-1 250)</b> 300 m en amont : 110 (10-540) 500 m : 95 (9-340) 550 m en amont : 78 (10-220) 600 m au sud : 75 (8-280) 650 m au SO : 110 (10-250) 700 m au sud-ouest : 85 (10-220) 30 km aire urbaine "propre" : 45 (5-155) A 5 m ouest : 210 (83-930) 50 m ouest : 230 (110-540) 110 m ouest : 340 (97-670) 140 m ouest : 360 (79-2 600) 220 m nord : 210 (27-540) 400 m est : 255 (70-2 000) 400 m nord-est : 315 (95-550) 2 km : (45-580)

Concentrations en champignons dans les usines et à distance (suite)

Auteur	Type d'usine	Méthode de mesure	Dans l'usine	A distance de l'usine
	<b>Site B</b> Système clos en container taille des lettres		n = 18 – A l'intérieur 6,5.10 <sup>4</sup> (4,2.10 <sup>4</sup> – 9,5.10 <sup>4</sup> )	
	<b>Site C</b> taille Système en table avec retournement automatique		n = 45 Déchargement : 7,1.10 <sup>4</sup> (6,4.10 <sup>4</sup> - 7,9.10 <sup>4</sup> ) Aire de compostage : matériel frais : 1,1.10 <sup>5</sup> (> 8.10 <sup>4</sup> -1,5.10 <sup>5</sup> ) Aire de compostage mûr 6-8 sem. : 1,1.10 <sup>5</sup> (> 8.10 <sup>4</sup> -1,4.10 <sup>5</sup> ) Tamis criblage : 5,8.10 <sup>4</sup> (5,3.10 <sup>4</sup> – 6,3.10 <sup>4</sup> ) Aire de tri : 4,2.10 <sup>4</sup> (3,7.10 <sup>4</sup> -8.10 <sup>4</sup> )	A 5 m dans le voisinage du biofiltre : 9 500 (8 000-12 000) 50 m ouest : 532 (284-780) 150 m ouest (trafic routier +++): 1 400 (1 250-2 213) 300 m ouest : 265 (205-280) 300 m est (site en construction) : 690 (513-900)
Rheinthal 1999 Allemagne	Usine de compostage de déchets fermentescibles d'OM Grande échelle En système clos. En containers pendant 8-10 jours et retournement à l'air libre hebdomadaire	Andersen à 6 étages à 1,6 m pendant 2 mn <u>Milieu</u> : Malt agar + Streptomycine = Ch. mésophiles Dichlorane-glycérol-Agar + chloramphénicol = Ch.Xerophiles Culture à 25°C pendant 120 h.	Médiane (min-max)  A 3 m du biofiltre : 65.10 <sup>3</sup> (8,5.10 <sup>2</sup> -1,2.10 <sup>4</sup> ) A 75 m vers la sortie de l'aire de retournement : 1,8.10 <sup>3</sup> (5.10 <sup>2</sup> -9,7.10 <sup>3</sup> )	A 200 m : route forestière en bordure de rivière : 1,7.10 <sup>3</sup> (9,9.10 <sup>2</sup> -3,2.10 <sup>3</sup> ) A 500 m en bordure de forêt : 1,3.10 <sup>3</sup> (7,2.10 <sup>2</sup> -2,1.10 <sup>3</sup> ) 600 m : route forestière : 1,3.10 <sup>3</sup> (6,4.10 <sup>2</sup> -3,5.10 <sup>3</sup> ) 700 m : rue avec trafic important : 1,1.10 <sup>3</sup> (7,8.10 <sup>2</sup> -3,1.10 <sup>3</sup> )

### *Aspergillus fumigatus* (AF)

(cf. annexe 6tableau 13)

La proportion d'AF semble très variable selon les auteurs :

Dans un centre de compostage de déchets verts et de *FFOM*, le genre *Aspergillus* représente environ 60% du total des champignons mesurés, *Penicillium* 20%, *Mucor* et *Rhizopus*, chacun 10% (Heida, 1995). Les AF atteignent des concentrations maximales de  $9.10^3$  UFC/m<sup>3</sup>.

Dans une usine de compostage, à l'intérieur des bâtiments, les *A. fumigatus* peuvent représenter 28 à 64% des champignons, et 15 à 52% en air extérieur, soit  $3,5.10^2$  sous l'influence du vent (Rheinthaler, 1997). Dans l'usine de compostage d'OM étudiée par Riachi elle est au maximum de 77 % des champignons thermotolérants sur l'aire de compostage (54 % pour le compost vert) alors que le prélèvement témoin en dehors de celle-ci indiquait 11 %. Dans les travaux français de Delaunay (1997), elle est très variable (en moyenne 60 %) avec un maximum de 90 % auprès des silos de fermentation. Cette proportion est beaucoup plus faible dans l'air extérieur (2,4 %). Par contre, dans le travail de comparaison de plusieurs sites de Rheinthaler (1997), la proportion d'AF atteint 90-95% aux alentours du site B dans la zone comprise entre 50 et 110 m et cette proportion est de 8% à 2 km (valeurs mesurées sur une journée seulement).

### Facteurs de variations

Les variations sont importantes dans le temps (avec une pointe au moment de l'agitation du compost), selon la direction du vent (concentrations sous le vent toujours supérieures à celles contre le vent et au fur et à mesure qu'on s'éloigne des andains). Les concentrations les plus élevées en AF sont celles mesurées sous le vent près des andains (à 1 m :  $2.10^3$  à  $4.10^3$  UFC/m<sup>3</sup>). Entre 0 et 50 m sous le vent, les concentrations sont comprises entre 160 et  $4.10^3$  UFC/m<sup>3</sup> (Kothary, 1984). Ces résultats sont concordants avec ceux d'autres études (Millner, 1980 et Clark, 1983).

La pluie tend à diminuer les concentrations dans l'air d'AF (passant d'environ  $3.10^3$  UFC/m<sup>3</sup> à 80 UFC/m<sup>3</sup> sous le vent tout près des andains). A proximité d'une zone résidentielle (environ 250 m du site de compostage), la concentration est toujours inférieure à 30 UFC/m<sup>3</sup> et atteint 50 UFC/m<sup>3</sup> un jour de criblage du compost, niveaux tout de même supérieurs à ceux mesurés dans des zones de non-compostage.

### Procédés de compostage

Une étude montre que ce sont certaines activités de manipulation du compost, telles que le criblage, la construction et la destruction des andains, le mélange copeaux + boues qui engendrent les plus fortes concentrations en AF dans l'air, avec des concentrations de l'ordre de  $10^3$ - $10^4$  et ce jusqu'à des distances de 50 m sous le vent à partir de la zone d'activité en question. La disposition des copeaux de bois en couches génère les plus grandes quantités d'aérosports viables ( $\approx 10^4$  UFC/m<sup>3</sup> à 15 m de l'activité, sous le vent), suivie du travail du mélange (copeaux de bois + boues  $\approx 10^3$  UFC/m<sup>3</sup>) et de la construction des andains (idem). Après 2 heures d'activité, la concentration diminue jusqu'à environ 3 UFC/m<sup>3</sup>. Les concentrations observées à 10 m ne varient guère de celles mesurées à 50 m sous le vent. Au-delà de 50 m, il ne semble pas y avoir d'influence de l'usine (Passman, 1983). Dans cette étude, AF n'a été retrouvé que dans deux usines sur 3.

Selon le procédé de compostage, les concentrations en spores d'AF peuvent également varier (Beffa, 1998) :

- à l'air libre en tas triangulaires : la fréquence des retournements et le degré d'humidité sont les 2 facteurs influençant la prolifération d'AF. A 10 m de l'appareil de retournement des rangées de compost, la concentration en conidies d'AF est réduite de 100 à 1000 fois et à 500 m on ne mesure plus que des concentrations de l'ordre de 0-20 UFC/m<sup>3</sup>.
- en boîte avec un toit ou dans un hall fermé : il faut ici en plus tenir compte de l'aération. Les retournements sont plus difficiles du fait de la profondeur du matériel à composter, d'où des températures non homogènes et une thermostérilisation insuffisante. Le compostage en zone fermée entraîne des concentrations permanentes de conidies dans l'air supérieures à 10<sup>3</sup> UFC/m<sup>3</sup>.
- en bioréacteurs clos : la thermohygiénisation est souvent incomplète. Ce système n'entraîne aucune émission de conidies dans le bâtiment où est placé le bioréacteur, excepté pendant son chargement et à la sortie du compost final.
- Biofiltres : ils sont surtout utilisés pour éliminer les mauvaises odeurs et non pour retenir les micro-organismes. Ils diminuent les quantités de conidies dispersées dans l'air sans les éliminer complètement.

Au total, les concentrations d'AF sur les sites de compostage sont d'environ 10<sup>3</sup>UFC/m<sup>3</sup>.

A distance des sites de compostage, les données sont très parcellaires. Dans certains cas, les concentrations en AF sont de l'ordre de 10<sup>2</sup> à 10<sup>3</sup> UFC/m<sup>3</sup> jusqu'à 100 m du site (Lavoie, 1997 ; Gumowski, 1992), alors que dans une autre publication, à 200 m du site, elles sont de 60 UFC/m<sup>3</sup> pour une concentration sur le site allant jusqu'à 390 UFC/m<sup>3</sup> (Rheinthalder, 1999) Il est intéressant de noter dans une autre étude (Rheinthalder, 1997) que la proportion d'*Aspergillus* sur les champignons reste encore de 80% à 110 m d'un site. Ceci indiquerait une influence jusqu'à cette distance.

Tableau 14 : Concentrations en *A. fumigatus* dans les usines et à distance

Auteur	Type d'usine	Méthode de mesure	Dans l'usine	A distance de l'usine
Millner 1980	Compostage de boues de STEP avec agitation mécanique par chargeur frontal	?  <u>Vitesse du vent</u> : 3m/s	Concentrations dans l'usine d'AF. Particules/m <sup>3</sup>  <u>Pendant l'agitation des andains</u> : . en amont des engins : 2 . 3 m en aval : 1390 . 30 m en aval : 1820 . 60 m en aval : 5020  15 mn après l'arrêt de l'agitation : . 3 m en aval : 39 . 30 m en aval : 0	Dans un site ne pratiquant pas le compostage : 0 à 24 particules/m <sup>3</sup>
Lavoie 1997	Usine A Compostage de la fraction fermentescible en bioréacteur	Andersen à 1 étage à 1,5 m du sol durant 1 mn. <u>Milieu</u> : Sabouraud Destrose Agar à 45°C pendant 7 j	Concentrations en été : . moyenne (+/- écart-type) . prise d'air : 11 (18) . contrôle : 1040 (270) . sortie du bioréacteur : 55 (30) . triage : non détecté . bioréacteur : 70 (30) . réception : non détecté	A 300 en amont : 6 (14) A 100 m en aval : 1100 (90)
Rheinthal, 1999	Usine de compostage de déchets fermentescibles et d'OM Grande échelle En système clos. En containers pendant 8-10 jours et retournement à l'air libre hebdomadaire	Andersen à 6 étages à 1,5 m du sol pendant 2 mn <u>Milieu</u> : Agar + Sang à 37° pendant 48 h <u>Mesures</u> : 6 j successifs toutes les 2 à 4 semaines pendant 6 mois (mai à octobre)	Médiane (min-max) . A 3 m du biofiltre : 120 (18 – 3700) . A 75 m vers la sortie de l'aire de retournement : 150 (35 – 390)	A l'extérieur A 200 m : route forestière en bordure de rivière : 62 (0–390) A 500 m : en bordure de forêt : 80 (0–190) A 600 m : route forestière : 53 (0–230) A 700 m : rue avec trafic important : 80 (0–700)
Gumowski 1992	Compostage de déchets organiques + copeaux de bois à l'air libre avec agitation mécanique	?	Durant l'agitation mécanique : . A 10 m sous le vent : > 10 <sup>6</sup> UFC/m <sup>3</sup> . A 50 m : 10 <sup>3</sup> -10 <sup>4</sup> UFC/m <sup>3</sup>	A 100 m du site aux alentours : 10 <sup>2</sup> UFC/m <sup>3</sup>  Bruit de fond dans les usines en dehors du fonctionnement : 0 à 60 UFC
Lacey 1991	Compostage d'OM en andains statiques aérés par la base expérimentale	Andersen 6 étages Débit : 25 l/mn <u>Milieu</u> : Malt agar à 25 et 37°C Dichlorane Rose Bengal + Chloramphénicol à 25 et 37°	Avant la phase de compostage : 9,6.10 <sup>3</sup> à 5.10 <sup>4</sup>  Après compostage durant la destruction des andains : 2,7.10 <sup>5</sup> à 2,7.10 <sup>6</sup>	Bruit de fond à quelques mètres à l'extérieur de l'usine : 2.10 <sup>3</sup>  Bruit de fond : 1,2.10 <sup>2</sup> à 9,2.10 <sup>2</sup>

#### VII.2.4. Endotoxines

(Cf. Annexe 6, Tableau 11)

Quelques études donnent des informations sur les concentrations en endotoxines dans l'air ambiant des usines de compostage ou à hauteur des voies respiratoires des travailleurs (prélèvements individuels). Les résultats sont très variables au sein d'une même série de prélèvements, et d'une étude à l'autre.

Sigsgaard (1994), dans une étude sur la fonction respiratoire des employés de collecte et de traitement des déchets au Danemark, rapporte une concentration d'endotoxines moyenne dans l'ambiance de centres de compostage de  $0,8 \pm 1,1 \text{ ng/m}^3$ .

Van der Werf (1996) a étudié les niveaux d'exposition de travailleurs dans une usine de compostage de déchets verts à l'air libre. Les travailleurs portaient des filtres individuels d'acétate de cellulose (mais la méthode de mesure des endotoxines n'est pas précisée et le nombre de travailleurs concernés non plus). Les concentrations les plus élevées sont mesurées chez les travailleurs à la vidange (déballage) avec tracteur de feuilles et déchets verts (tableau 15).

**Tableau 15 : Concentrations personnelles en endotoxines pour différentes activités du compostage (Van der Werf, 1996)**

Activités	Endotoxine (ng/m <sup>3</sup> )
Déballage des déchets	47
Retournement des andains actifs	1,7
Retournement et chargement du compost mur	19
Expédition du compost	< 0,2

L'autre travail qui rapporte des données d'exposition du personnel compare les valeurs entre 4 types d'usine de traitement de déchets (Van Tongeren, 1997). Dans l'usine de compostage de déchets biologique à l'air libre et dans le centre récupération de déchets, les concentrations mesurées en endotoxines (filtres de fibre de verre et méthode LAL) sont plus importantes que dans les centres de transfert (tableau 16).

**Tableau 16 : Résultats de l'exposition personnelle aux endotoxines (ng/m<sup>3</sup>) par usine (Van Tongeren, 1997)**

Usines	Nombre d'échantillons	Moyenne arithmétique	Etendue
Compostage "opérateur de compost	20	9,7	0,7-55,1
Centre de récupération	9	9,4	2,5-33,4
Centre de transfert A	9	1,5	0,3-3,4
Cebtre de transfert B	8	2,6	0,3-7,9

On notera dans le tableau 16 l'étendue des résultats et on peut alors se poser la question de la confiance que l'on peut apporter à ceux-ci en terme de précision, répétabilité et reproductibilité.

Seule l'étude déjà ancienne de Clark (1983) apporte des éléments de comparaison de plusieurs usines de compostage et de plusieurs lieux de travail. Il s'agit de mesures en ambiance (tableau 17).

Tableau 17 : Concentrations moyennes en endotoxines (filtre d'acétate de cellulose et méthode LAL) dans 4 usines différentes (Clark, 1983).

Lieu de l'échantillon	Nombre d'échantillons	Endotoxine ((ng/m <sup>3</sup> ))
<b>Usine de compostage de déchets municipaux : compostage intensif avec aération forcée</b>		
Tremis des déchets en fonctionnement	4	14
Tremis des déchets à l'arrêt	2	10
Tambour de séparation	2	10
Salle de contrôle	3	1
Autres lieux	2	10
<b>Usine de compostage d'OM + boues (20% de MS) : bioréacteur puis maturation avec aération</b>		
Zone de déchargement	2	1
Local de traitement des déchets	2	38
Salle de contrôle	1	2
<b>Usine de compostage d'OM + boues (15% de MS) : tambour DANO puis maturation avec aération forcée</b>		
Zone de déchargement	2	15
Local de traitement des déchets	2	2,6
Salle de contrôle	1	1
Zone de criblage	2	42
<b>Usine de compostage de boue et écorces de bois en aération naturelle avec retournement périodique</b>		
Aire mécanique	3	9
Andains	3	2

Citons enfin l'étude récente de Douwes (2000) chez 15 travailleurs d'une usine de compostage de FFOM avec aération en tunnel. Les concentrations d'endotoxines mesurées par des capteurs individuels étaient de 29 à 527 EU/m<sup>3</sup> soit environ 2,9 à 52,7 ng/m<sup>3</sup>. Les concentrations les plus élevées étaient retrouvées pour les travailleurs affectés à la production. Ces valeurs apparaissent plus élevées comparativement aux études citées précédemment. On déplore dans cet article que la méthode de mesure ne soit pas décrite.

Darragh (1997) a étudié les concentrations en bioaérosols dans une plate-forme de co-compostage (recevant des boues de STEP) du Colorado. Les concentrations mesurées les plus faibles étaient de 28,9 ng/m<sup>3</sup>, et les plus élevées, lors des opérations de criblage et de nettoyage, de 5930,6 ng/m<sup>3</sup>.

Enfin, il faut souligner l'étude de Weber (1993) qui, à la suite de l'observation d'un cas de pneumonie toxique (ODTS) chez un employé de plate-forme de compostage, a mesuré les concentrations atmosphériques en endotoxines lors de la reproduction de l'activité de manipulation du compost. Les concentrations d'endotoxine mesurées étaient très élevées, entre 636 et 16 300 EU/m<sup>3</sup>.

### VII.2.5. Mycotoxines

Un seul auteur (Fisher, 1999, 2000) s'est penché sur la présence de mycotoxines dans l'air des usines d'incinération. Sa première étude porte sur des dosages de mycotoxines et d'*Aspergillus fumigatus* et de poussières dans trois usines de compostage (procédé non précisé) et à trois lieux différents dans chaque usine.

Dans les poussières, les seuls composés retrouvés sont la Tryptoquivaline (substance responsable de tremblements) et la Tryptocidine qui n'a pas de toxicité identifiée (entre 1 et 50 µg/10<sup>9</sup> spores), pour les trois usines. Les mycotoxines ont été mesurées dans les extraits de

cultures pures, dans les spores en suspension et dans les poussières. Les composés retrouvés dans l'air sont :

- Citrinine
- Fumaginine
- Fumigatine
- Fumigaclavine H
- Fumigaclavine C
- Fumitrenorgine A
- Fumitrenorgine met.
- Tryptoquivaline
- Verruculogène

La présence des mycotoxines dépend de la quantité de spores dans l'air et non de la quantité de poussières.

Verruculogène est un métabolite secondaire reconnu comme toxique (responsable de tremblements). Néanmoins il n'a été retrouvé qu'à l'état de trace et dans les spores en cultures et non dans les bioaérosols. Pour cet auteur ces toxines ont donc peu de chance d'être produites sur des substrats naturels comme le compost et ou les déchets biologiques.

Tryptocidine et Tryptoquivaline sont des mycotoxines spécifiques d'*A. fumigatus*, et pourraient donc être de possibles marqueurs d'exposition potentielle à ce champignon. Ceux-ci sont retrouvés pour des quantités de spores de  $10^9$  spores/m<sup>3</sup>.

#### **VII.2.6. Glucanes**

Seule une étude (Douwes, 2000) rapporte des concentrations de  $\beta(1-3)$ D-glucans en centre de compostage. Les concentrations en air ambiant les plus élevées ont été mesurées dans le hall de process avec 16 210 ng/m<sup>3</sup> (moyenne géométrique  $650 \pm 4100$  ng/m<sup>3</sup>). Les concentrations en prélèvement individuel les plus élevées ont été observées chez le personnel de maintenance (spp) avec 53 230 ng/m<sup>3</sup> (moyenne géométrique  $4850 \pm 5000$  ng/m<sup>3</sup>) et le personnel de production (spp) avec 13 180 ng/m<sup>3</sup> (moyenne géométrique  $3 620 \pm 2 400$  ng/m<sup>3</sup>).

### **VII.3. CONCENTRATIONS NATURELLES DANS L'ENVIRONNEMENT**

#### **VII.3.1. Air extérieur**

##### **VII.3.1.1. Bactéries**

Les concentrations retrouvées dans l'air ambiant sont assez proches dans les deux publications qui ont traité de cette question. Elles **dépassent rarement 200 UFC/m<sup>3</sup>**. L'étude américaine se proposait de connaître le bruit de fond pour la qualité microbiologique de l'air et ceci avant l'implantation d'une usine de compostage. Plusieurs sites de mesure autour du futur lieu d'implantation ont été mesurés. Il y avait assez peu de différence de concentrations entre les lieux. Par contre, il y avait une relation avec la saison, les concentrations les plus élevées étant relevées en été.

Dans le travail autrichien, les bactéries dominantes étaient des staphylocoques. Les bactéries Gram-négatives représentaient 2% de l'ensemble des bactéries et le genre prédominant était *Entérobacter sp.* Les concentrations les plus fortes étaient relevées dans le village entouré de fermes.



Heida (1995) donne des valeurs de référence en micro-organismes dans l'air extérieur aux Pays Bas. Les valeurs tournent autour de 500 UFC/m<sup>3</sup>.

**Tableau 18 : Concentrations en bactéries relevées dans l'environnement extérieur**

Auteurs	Méthode de mesures	Type d'environnement	Bactéries UFC / m <sup>3</sup>
<b>Jones</b> (1983) USA	Andersen 2 étages : Niveau 1 : > 8µm Niveau 2 : < 8µm 1,5 m du sol Débit : 28l/min Culture sur Agar	Zones suburbaines : - Résidentielle - Commerciale - Agricole - Industrielle 1 à 2 mesures/mois sur 2 ans	Selon la zone. Bactéries viables (Moy. Géo. et IC) : 1979 : 37 [24-57] – 144 [103 – 200] 1980 : 31 [20-48] – 115 [65 – 203]  Streptocoques fécaux : 0 à 57 (médiane à 0) Coliformes thermotolérants : 0
<b>Kock</b> (1998) Autriche	- Andersen 6 étages : Débit : 113,2l/min  - RCS Débit : 16l/min Temps de collecte : 4 min Culture : peptone + sang humain, Malt agar pour les moisissures	- Village rural - Terres agricoles - Ferme isolée - Zone d'activité (bureaux + route) - Zone montagneuse - Habitations avec parc - Zone proche d'une usine de compostage.	Médianes : 327 155 150 146 115 75 97

### VII.3.1.2. Champignons

Les spores de champignons sont presque toujours présents dans l'air mais leur nombre et leurs types changent avec la période du jour, le temps, la saison, la localisation géographique et la présence de sources locales de spores. Les espèces *Cladosporium*, et *Alternaria* prédominent durant les jours secs dans la plupart des endroits, dans le monde, en particulier en été. Par contraste *Ascospores* et *Basidiospores*, avec un mécanisme actif de relargage des spores, prédominent la nuit et après la pluie. Leur nombre peut dépasser 10<sup>6</sup> spores/m<sup>3</sup> quand le temps est favorable mais habituellement les concentrations sont de l'ordre de 10-10<sup>3</sup> spores/m<sup>3</sup> (Beffa, 1995).

Les champignons mésophiles ont le plus souvent été mesurés. Les résultats sont difficilement comparables entre les auteurs. Si les températures et la durée d'incubation sont identiques, les échantillonneurs, le temps de pose des appareils et les milieux de culture sont différents. Pour les deux études avec un impacteur d'Andersen, les médianes ou moyennes géométriques sont assez proches et sont d'environ 200 UFC/m<sup>3</sup>. Par contre, les valeurs extrêmes relevées vont jusqu'à 7,2.10<sup>4</sup> UFC/m<sup>3</sup> (tableau 19). Ces écarts posent donc le problème de la représentativité de la mesure.

Pour le genre *Aspergillus*, celui-ci est communément trouvé dans les sols, les matières végétales en décomposition, les matériaux de construction et les systèmes de ventilation. Les concentrations d'*Aspergillus fumigatus* (AF) sont au maximum de 71 UFC/m<sup>3</sup> dans l'étude américaine alors que celles du genre *Aspergillus* spp sont de 406 UFC/m<sup>3</sup> dans l'étude chinoise mais la méthode de mesure n'est pas la même. Les concentrations en été sont toujours plus hautes qu'en hiver. Millner, (1994) rapporte les résultats de différents travaux de

mesures des AF dans l'air extérieur. En général les concentrations vont de 0 à 700 UFC/ m<sup>3</sup> en environnement urbain (tableau 19).

**Tableau 19 : Concentrations habituelles en champignons et Aspergillus relevées dans l'environnement extérieur**

Auteurs	Méthode de mesures	Type d'environnement	Champignons UFC / m <sup>3</sup>	Aspergillus spp UFC / m <sup>3</sup>
<b>Jones (1983)</b> USA	- Andersen 2 étages : Niveau 1 : > 8µm Niveau 2 : < 8µm 1,5 m du sol Débit : 28l/min Culture sur Agar Champignons : Milieu Oxgall de Littman avec antibiotique  - Température incubation : Champ. mésophiles : 22 à 25°C pendant 5j Champ thermophiles : 45°C pendant 3j	Zones suburbaines : - Résidentielle - Commerciale - Agricole - Industrielle 1 à 2 mesures/mois sur 2 ans	Champignons mésophiles : Moy. Géom (étendue) : 273 (0 à 7220)  Champignons thermophiles : Moy. géom (étendue) : 2,1 (0 à 193)	<i>Aspergillus fumigatus</i> : 1 (0 à 71)
<b>Kock (1998)</b> Autriche	- Andersen 6 étages : Débit : 113,2L/min  - RCS Débit : 160l/min Temps de collecte : 4 min Culture : Peptone + sang humain, Malt agar pour les moisissures Incubation à 25°C pendant 168 h	- Village rural - Terres agricoles - Ferme isolée - Zone d'activité (bureaux + route) - Zone montagneuse - Habitations avec parc - Zone proche d'une usine de compostage.	Médianes : 185 124 136 168 150 97 150	ND
<b>Wu (2000)</b> Taiwan	- Burkard à 1 étage à 1,5 m du sol Débit 10l/min pendant 30s - Culture : Malt agar Incubation : 25°C pendant 5j	Zone urbaine  Zone suburbaine	Moy. géom. (étendue) Hiver : 1,2.10 <sup>4</sup> (5,7.10 <sup>3</sup> – 2,3.10 <sup>4</sup> ) Eté : 4,6.10 <sup>3</sup> (1,9.10 <sup>3</sup> – 1,2.10 <sup>4</sup> )	Moy. Géom. (étendue) Hiver : 75 à 81 selon la zone (29 – 228) Eté : 130 à 178 (78 – 406)

L'étude de Wu (2000) apporte par ailleurs des informations sur d'autres champignons (tableau 20).

**Tableau 20 : Concentrations en certains genres de champignons selon la saison et le site (moyenne géométrique, UFC/m<sup>3</sup>)(Wu, 2 000)**

Espèces	Urbain		Suburbain	
	Eté	Hiver	Eté	Hiver
<i>Penicillium sp</i>	169	149	419	148
<i>Alternaria sp</i>	255	110	272	64
<i>Cladosporium sp</i>	852	12	1 353	8 408

### VII.3.2. Air intérieur

#### VII.3.2.1. Bactéries

Les concentrations en bactéries totales ont été mesurées en ambiance de bureau (Luoma, 2001) et dans une école (Scheff, 2000). Les deux auteurs ont utilisé des impacteurs d'Andersen à 6 étages. Les concentrations moyennes sont relativement proches et vont de **233 UFC/m<sup>3</sup>** (bureaux) à **950 UFC/m<sup>3</sup>** (écoles). Dans l'étude sur les écoles, les bactéries Gram-négatives variaient selon le lieu et le jour de 310 à 550 UFC/m<sup>3</sup>.

C'est aussi la seule étude qui apporte des éléments sur les concentrations en **actinomyètes**. Les concentrations moyennes vont de **5 à 17 UFC/m<sup>3</sup>**.

### VII.3.2.2. Champignons

Dans l'air intérieur, les deux auteurs (Scheff, 2000 ; Wan, 1999) qui ont utilisé un impacteur d'Andersen trouvent des résultats similaires. La concentration en champignons mésophiles (incubés à 25°C) varie de **195 à 811 UFC/m<sup>3</sup>**. Ce sont dans les bureaux qu'elle est la plus faible alors que les centres de santé ont la valeur la plus forte.

L'étude dans les habitations à Taiwan retrouve des valeurs bien plus élevées mais l'appareil utilisé est différent.

Pour *Aspergillus* spp, les concentrations mesurées sont de 177 UFC/m<sup>3</sup> (Wan, 1999) et la seconde étude chinoise avec un appareil de Burkard retrouve 868 UFC/m<sup>3</sup>. Une étude plus ancienne (Solomon, 1978) et utilisant une méthode différente d'identification des colonies (microscopie et scanner) retrouve en clinique des valeurs de 1,2 isolats/m<sup>3</sup>.

Tableau 21 : **Concentrations en champignons et Aspergillus dans l'environnement intérieur (UFC /m<sup>3</sup>)**

Auteurs	Méthode de mesures	Type d'environnement	Champignons UFC / m <sup>3</sup>	Aspergillus sp UFC / m <sup>3</sup>
<b>Scheff, (2000)</b> USA	- Andersen 6 étages : 1,1 m du sol Débit : 45l/min Durée : 12s à 2min 3 fois/j pendant 3j Culture : Malt agar + chloramphénicol T°Incubation : 25°C et 35°C	Ecole	Moyenne selon le lieu : A 25°C : 460 à 811 A 35°C : 81 à 106	Moyenne selon le lieu : 1 à 16
<b>Wu (2000)</b> Taiwan	- Burkard à 1 étage à 1,5 m du sol Débit 10l/min pendant 30s - Culture : Malt agar Incubation : 25°C pendant 5j	Zone urbaine  Zone suburbaine	<b>Moy. géom. (étendue)</b> Hiver : 8,9.10 <sup>3</sup> (4,4.10 <sup>3</sup> – 1,8.10 <sup>4</sup> ) Eté : 4,3.10 <sup>3</sup> (1,9.10 <sup>3</sup> – 1,2.10 <sup>4</sup> )	Moy. Géom. (étendue) Hiver : 78 à 148 selon la zone (28 – 463) Eté : 233 à 232 (57 – 868)
<b>Wan GH (1999)</b> Chine	- Andersen à 1 étages : 1,5 m du sol Débit : 28,IL/min Durée : 2-3min Culture : Malt agar T°Incubation : 25°C pendant 3-4j	8 centres de santé 8 maisons 8 bureaux	Médianes : 850 695 195	0-177

### VII.3.2.3. Endotoxines et glucanes

#### Endotoxines

Nous disposons de deux études seulement sur les concentrations en endotoxines (Park, 2000 ; Wan, 1999) dans l'air intérieur.

Les filtres utilisés sont différents mais c'est la même méthode (L.A.L) qui a été utilisée. La médiane des concentrations est d'environ 0,065 ng/m<sup>3</sup>.

## Glucanes

L'étude de Wan est la seule à donner des indications sur les concentrations en glucanes. La valeur la plus élevée est de 5,7 ng/m<sup>3</sup>.

Rylander (1998) rapporte par ailleurs plusieurs valeurs extraites de différentes publications. Les valeurs dans des logements variaient de 0,4 à 32 ng/m<sup>3</sup> et jusqu'à 46 ng/m<sup>3</sup> dans une étude suisse portant sur des enfants présentant des symptômes respiratoires.

Tableau 22 : **Concentrations habituelles en endotoxines dans l'environnement intérieur (ng / m<sup>3</sup>)**

Auteurs	Méthode de mesures	Type d'environnement	Endotoxines (Médiane) ng / m <sup>3</sup>
<b>Park</b> (2000) USA	Pompe 2l/min pdt 24h Filtre de polycarbonate Méthode LAL	- Poussières de 20 maisons - Air intérieur de 15 maisons - Air extérieur	4,4 (lit) à 11 (sol de cuisine) [0,28 – 110] 0,064 [0,002 – 2]
<b>Wan GH</b> (1999) Chine	Pompe 2l/min pdt 8h Filtre de fibre de verre Méthode LAL Glucan : extraction à l'hydroxyde de sodium Méthode : Glucan specific lysate	8 centres de santé 8 maisons 8 bureaux	Endotoxines :                      Glucan : 0,0157    5,7 0,065     3,7 0,058     3,2

## **VII.4. AUTRES MILIEUX**

Les poussières organiques sont présentes dans de nombreux environnements, mais surtout en milieu industriel (Rylander, 1994). Les environnements et procédures avec exposition aux poussières organiques sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 23 : **Environnements qui exposent aux poussières organiques (Rylander, 1994)**

Environnement agricole	Environnements industriels	Environnement général des bâtiments	Déchets
<u>AGRICULTURE</u> Manipulation et récolte de céréales, de foin Industrie de la canne à sucre Travail en silos, serre	Industrie de traitement de fibres végétales (coton, jute, etc.) Fermentation, biotechnologie Industrie du bois Boulangeries	Humidificateurs contaminés Système de ventilation	Eaux usées et boues Ordures ménagères Compostage
<u>ANIMAUX</u> Travail en porcherie Elevage de volaille et dindes Animaux de laboratoire de ferme et domestiques			

L'exposition dans ces différents milieux n'est cependant pas comparable à celle du compostage. En effet, outre les micro-organismes ou autres composés organiques qui sont retrouvés dans les ambiances des usines de compostage, d'autres composés chimiques (dérivés ammoniacés pour les porcheries) ou biologiques (autres spores de champignons dans les champignonnières) peuvent être aussi présents.

A titre indicatif on trouvera néanmoins en annexe 8 un tableau rassemblant les résultats des concentrations en poussières organiques mesurées dans les ambiances d'autres milieux professionnels.

## VII.5. ESTIMATION DE L'EXPOSITION PAR MODÉLISATION

Dans le cadre d'une démarche d'évaluation des risques et devant la difficulté à obtenir des résultats d'analyse microbiologique fiables et reproductibles, la question de l'utilisation de modèle de dispersion pour estimer les concentrations à distance des sites se pose.

La dispersion de bioaérosols dans l'atmosphère a donné lieu à quelques publications en particulier de la part de Lighthart B. et Mohr B. Les modèles de dispersion proposés sont des modèles Gaussien développés par Pasquill dont le principe est la distribution normale de l'aérosol sur l'axe central du panache. A ces modèles a été rajouté pour les particules viables, un paramètre lié à la survie (Lighthart, 1987) et au dépôt microbien. Les variables qui interviennent entre autres sont (Peterson, 1977 ; Lighthart, 1987, 1994) :

- la concentration à la source,
- le volume d'émission ( $m^3/s$ ),
- la vitesse moyenne du vent,
- les déviations standard de l'étendue horizontale et verticale du panache qui sont fonction de la distance sous le vent et de la stabilité de l'atmosphère,
- la hauteur du panache,
- la proportion de particules microbiennes de la taille  $i$ ,
- la vitesse de dépôt des gouttelettes microbiennes pour la taille  $i$  de particules.

Signalons que ce type de modèle n'est pas valable pour l'estimation de concentrations à moins de 100 m de la source (Peterson, 1977).

Comme le fait remarquer Peterson (1977) dans le cadre d'un travail sur une estimation de la dispersion aérienne de micro-organismes viables à partir d'une tour de refroidissement, les difficultés d'utilisation de ce modèle mathématique proviennent de la détermination du volume d'émission mais aussi des facteurs biologiques tels que la vitesse de déposition et le taux de mort des micro-organismes qui est déterminé expérimentalement dans des conditions éloignées de la réalité.

La vitesse de dépôt suit la loi de Stokes et dépend de facteurs tels que (Gregory, 1973) :

- la densité de la particule,
- la densité et la viscosité de l'air,
- l'accélération liée à la gravité,
- le diamètre de la sphère.

Pour les spores d'AF, la vitesse de sédimentation a été déterminée à 0,03 cm/s (Gregory, 1973 ; Millner, 1980).

Le taux de décès (ou de survie) des micro-organismes dépend (Lighthart, 1987) :

- de la température,
- des radiations solaires,
- du temps de présence dans le panache,
- de l'humidité.

Pour les spores d'AF et d'Actinomycètes, Millner (1980) a considéré dans sa tentative de modélisation qu'il n'y avait pas lieu de rajouter un facteur d'inactivation puisque ces spores sont résistantes aux radiations et à la dessiccation durant le temps de dispersion considéré.

En ce qui concerne l'humidité, Walter (1990) a démontré que la survie de bactéries (*Pseudomonas*) aérosolisées était bien plus importante quand le taux d'humidité était fort (80% versus 40%) et quand la température est basse.

### **Validation du modèle**

La description et la validation de ces modèles ont surtout été réalisés dans le cadre de la dispersion de bioaérosol humide provenant en particulier des tours de refroidissement (Lighthart, 1989 ; Ganio, 1995 ; Peterson, 1977) et à notre connaissance assez peu d'études ou d'auteurs ont tenté de modéliser le transport de bioaérosols dans le cas spécifique d'usine de compostage. Millner (1994) fait état d'une expérience de modélisation sur une usine du Maryland aux USA ; usine compostant 400 tonnes de boues de STEP fraîche par jour. Des échantillons ont été prélevés et analysés deux fois par mois, durant une année et ceci sur le site, sous le vent et au vent de l'usine. Les paramètres principaux qui interviennent dans la dispersion sont :

- les conditions micrométéorologiques,
- la hauteur de libération du bioaérosol à partir du site,
- la taille de l'usine,
- le taux d'émissions de bioaérosols.

Ce taux est fonction du type d'usine et du traitement mis en œuvre et Millner (1994) insiste donc sur le fait que les résultats d'une évaluation du risque ne peuvent être extrapolés d'une usine de compostage à une autre.

Dans le cas de cette usine du Maryland, sur les 4 groupes de micro-organismes étudiés (bactéries aérobies totales, champignons mésophiles, champignons thermophiles et AF) seule la concentration estimée en bactéries aérobies totales était significativement supérieure en aval de l'usine comparativement à celle en amont de l'usine (respectivement 160 UFC/m<sup>3</sup> et 83 UFC/m<sup>3</sup>). La comparaison avec les résultats de la modélisation n'est cependant pas décrite.

Déportes (1996 et 1997b) a modélisé la dispersion atmosphérique des poussières d'une usine de compostage de la FFOM en silos dans un bâtiment clos avec maturation sur une plate forme recouverte. Le débit à la source a été déterminé expérimentalement en utilisant un système de tamisage. 95% du compost est composé de particules de diamètre inférieur à 32 µm. En tenant compte de la quantité de compost manipulé chaque jour et du temps de manipulation, le taux d'émission a été déterminé. Celui-ci a été utilisé comme paramètres d'entrée d'un modèle de dispersion atmosphérique de type gaussien et les concentrations estimées à l'émission ont alors été comparées aux résultats de mesures avec un échantillonneur Grimm. Les ordres de grandeurs étaient comparables (0,4 mg/m<sup>3</sup> avec le modèle et 0,18 mg/m<sup>3</sup> avec le Grimm).

Une seule mesure à distance a été réalisé pour évaluer le modèle et ceci est insuffisant pour valider ou invalider la modélisation. La modélisation de la dispersion de bioaérosols de compost nécessite donc encore d'être validé sur le terrain.

L'expérience la plus ancienne a été réalisée par Millner en 1980 dans une usine de compostage de boues de STEP à ciel ouvert. Il s'agissait de déterminer le taux de dispersion

d'*Aspergillus fumigatus* puis de prédire par l'utilisation d'un modèle de dispersion les concentrations en aval de l'usine jusqu'à 1 km de celles-ci. Pour déterminer le taux d'émission, la concentration en AF a été mesurée lors de la destruction ou de la construction des andains avec un engin motorisé, c'est-à-dire au moment où l'agitation mécanique est la plus importante. Le taux d'émissions (nombre de spores émis/s) a été déterminé en utilisant un modèle de Pasquill pour une source ponctuelle et pour différentes stabilités de vent. Ceci à l'inverse de ce qui est habituellement réalisé où l'on rentre un taux d'émission, dans l'équation pour obtenir une concentration à une certaine distance de la source. Ici les résultats des concentrations mesurées et les coordonnées géographiques du lieu de prélèvement ont été rentrés dans le modèle afin de définir le taux d'émission. Ce taux a ensuite été utilisé pour estimer dans un second temps les concentrations à distance de l'usine mais les valeurs estimées n'ont pas été validées par des mesures dans l'environnement. Le taux maximum d'émission était de  $4,6 \cdot 10^6$  particules d'AF/s et ceci correspondant à une concentration d'environ  $5 \cdot 10^3$  particules d'AF/m<sup>3</sup>.

En modélisant la dispersion et dans des conditions de vent stable, les concentrations en aval à 1 km pour le taux maximum d'émission étaient de  $10^3$  particules d'AF/m<sup>3</sup>.

Enfin, bien qu'il ne s'agisse pas d'une expérience de modélisation du compost, l'étude menée par Dowd (2000) sur l'évaluation du risque microbiologique lié à l'épandage de boues de STEP, ayant subies une digestion anaérobie, apporte des informations sur le méthode utilisable. L'étude a porté sur le risque lié aux bactéries pathogènes et aux virus. Deux modèles différents, correspondant à 2 situations différentes (émissions à partir d'un tas et émissions linéaires provenant d'une zone épandue), ont été utilisés. Comme dans le travail de Millner, le taux d'émission a été déterminé en utilisant dans le modèle les résultats de mesures actuelles et la position de ces mesures. Une constante d'inactivation microbienne a été déterminée pour les Rotavirus, Coronavirus, *Salmonella* sp, *E. coli* à partir de publications expérimentales. L'évaluation du risque a porté sur *Salmonella typhi* et *Coxsackie* virus B3 pour lesquels des relations dose-réponse existent. La probabilité d'infection virale et bactérienne pour les travailleurs chargés de l'épandage, exposés durant 1 heure et à 2 mètres au vent a été déterminée respectivement à 3% et 2%. Les auteurs concluent que le risque est absent pour les bactéries aérosolisées et très faible pour les virus, dans le cas de l'exposition d'une population immunocompétente située à 10 km du champ d'épandage.

Cet exemple est intéressant dans la mesure où il montre qu'il est techniquement possible d'appliquer une démarche d'évaluation des risques dans le cadre d'un risque microbiologique aéroporté. On pourra d'autant plus se poser la question pour les particules inertes telles que les endotoxines pour lequel il existe une relation dose-réponse et qui ont à priori un comportement identique aux poussières.

## **VIII. PRÉSENTATION GÉNÉRALE DES EFFETS POTENTIELS SUR LA SANTÉ**

### **VIII.1. INTRODUCTION**

Dans le chapitre suivant seront présentés les mécanismes d'action et les principaux tableaux cliniques mis en cause dans la poussière organique. Puis les effets sur la santé des principaux organismes, antigènes et toxines identifiés dans le compost ou dans les ambiances des usines ou autour des usines seront passés en revue. Nous porterons notre attention sur l'existence de populations sensibles et sur d'éventuelles relations dose-effet. Dans le cadre de la poussière organique, une distinction doit être faite entre les effets des particules elles-mêmes et les effets des agents biologiques qu'elles contiennent. Les effets résultant des propriétés physiques des particules elles-mêmes ont été largement étudiés et les observations initiales d'effets attribués aux particules « inertes » ont souvent par la suite été attribués à des agents ayant des propriétés toxiques spécifiques. Pour les poussières organiques, la possibilité que les particules elles-mêmes aient des effets toxiques est largement dépassée par les importants effets exercés par les nombreux agents biologiques présents (Rylander, 1997).

### **VIII.2. PRINCIPAUX MÉCANISMES D'ACTION**

Les micro-organismes pathogènes présents dans la matière à composter sont en majeure partie inactivés par les procédés de compostage. Les micro-organismes qui se développent lors du processus de compostage et qui jouent un rôle dans la dégradation de la matière organique sont des bactéries thermophiles et mésophiles ainsi que des champignons. Or certains de ces organismes peuvent se révéler, dans certaines conditions, pathogènes en eux-mêmes ou par la production de spores ou la sécrétion de toxines.

La pathologie liée aux poussières organiques a particulièrement été étudiée par des auteurs scandinaves, allemands et néerlandais.

Les enseignements proviennent pour une grande part du monde agricole et de certains environnements industriels. Les mécanismes d'action mis en jeu sont de trois ordres :

- Un mécanisme infectieux pour certains micro-organismes ,
- Un mécanisme d'irritation et d'inflammation locale,
- Un mécanisme immunoallergique

Selon la taille des particules, la pénétration dans l'arbre respiratoire est plus ou moins profonde, et nous distinguons les particules inhalables (diamètre aérodynamique < 100µm), la fraction thoracique ( < 30 µm) et la fraction alvéolaire pour les particules les plus fines (< 10 µm).

Les 3 principaux mécanismes d'action (Perdrix, 1997 ; Millner, 1994 ; Déportes, 1997) ainsi que le type d'effets sont présentés dans le tableau 24.



Tableau 24 : Mécanismes d'action et atteintes respiratoires associées à l'inhalation de poussières organiques

TYPE DE REPONSE	PATHOLOGIES
Inflammatoire (non allergique)	irritation de la muqueuse oculaire et voies aériennes (MMI) ) Bronchoconstriction aiguë Bronchites chroniques Organic Dust Toxic Syndrome (ODTS) ou pneumopathie toxique Asthme non-allergique (ou asthme intrinsèque)
Allergie	Alvéolite allergique extrinsèque (ou pneumopathie d'hypersensibilité) Rhinite allergique Asthme allergique
Infection	Pneumonie nécrosante (invasive, systémique) Bronchopneumopathie (non invasive, non systémique)

#### Mécanisme infectieux

L'infection causée par des micro-organismes aéroportés présents dans les poussières organiques peut être due à des pathogènes humains ou à des organismes opportunistes (c'est-à-dire des organismes qui induisent une maladie quand la résistance que leur hôte leur oppose est faible ou s'affaiblit). La voie de transmission peut être cutanée (germes pyogènes, tétanos), digestive (ingestion de poussières déposées sur les mains, déglutition secondaire de poussières inhalées) et respiratoires (ORL et broncho-pulmonaire). L'infection par des opportunistes concerne principalement *A. fumigatus* (Millner et al, 1994).

#### Mécanisme immuno-allergique

Ce terme regroupe les phénomènes de stimulation de défense (réponse spécifique ou non), la dépression immunitaire, et ceux générant l'hypersensibilité. La distinction avec les phénomènes inflammatoires n'est pas très claire, les mêmes cellules étant impliquées. Ces mécanismes concernent les endotoxines libérées par les bactéries Gram-négatives, des allergènes de champignons ou des actinomycètes, les mycotoxines et les protozoaires (Millner, 1994).

#### ▪ Mécanismes immunologiques

Habituellement l'inhalation de composés biologiques entraîne la stimulation du système immunitaire qui aboutit à une neutralisation et une destruction de l'agresseur. Les modifications des réactions immunitaires concernent les endotoxines, les glucanes et les mycotoxines.

**Les endotoxines** ont un très faible pouvoir antigénique et ne mettent donc pas en cause un mécanisme allergique. Leur action est peu spécifique et met en jeu le système immunitaire. A faibles doses, les endotoxines ont un effet de stimulation de la prolifération de cellules qui interviennent dans le système immunitaire (lymphocyte B) in vivo, ainsi qu'un effet

d'activation de la voie alternée du complément. Selon la quantité inhalée, les endotoxines ont un effet bénéfique à faible concentration et néfaste à forte concentration.

Les **glucanes** des parois cellulaires sont de puissants immunostimulateurs (Perdrix, 1997) qui ont la capacité d'activer différents systèmes cellulaires.

A l'inverse, une dépression immunitaire a été observée lors de l'action de différentes **mycotoxines**, favorisant ainsi une moins grande résistance aux infections.

#### ▪ Mécanismes allergiques

L'allergie est définie comme la capacité d'un individu à réagir de manière différente lors d'un deuxième contact avec un antigène. La notion d'hypersensibilité spécifique fait référence à une réaction immunitaire exacerbée ou inappropriée (défavorable) et ceci à l'inverse de l'état de protection habituel (immunité favorable).

Cet état résulte de la conjonction de plusieurs facteurs :

- Prédisposants (génétiques): c'est le terrain atopique
- Déclenchants (acquis) tenant à l'environnement et à l'exposition aux allergènes.

On distingue 4 mécanismes allergiques :

- Le type I est une réaction d'hypersensibilité immédiate médiée par les anticorps de type E ou Immuglobuline E (IgE) principalement,
- Le type II est une réaction de cytotoxicité médiée par les IgG et IgM. Ces anticorps sont dirigés contre les Ag de membrane cellulaire qui produisent une lyse cellulaire.
- Le type III est une réaction semi-retardée médiée par des complexes immuns (Ag-Ac) tissulaires comme c'est le cas dans l'alvéolite allergique extrinsèque ou par des complexes immuns circulants.
- Le type IV est une réaction retardée qui apparaît 24 à 72 heures après l'introduction de l'antigène. Elle est à médiation cellulaire (lymphocytes T et macrophages). C'est le cas des manifestations allergiques microbienne, virale ou mycotique.

**La plupart des micro-organismes** (bactéries, actinomycètes, champignons) et certaines spores peuvent entraîner des phénomènes d'hypersensibilité. L'hypersensibilité peut correspondre à une médiation par des anticorps (immunoglobulines IgE , IgG) ou par des cellules activées (des lymphocytes). De très nombreuses moisissures sont impliquées dans des phénomènes d'hypersensibilité qui s'expriment sous forme de rhinite, sinusite et asthme. Dans d'autres cas, le rôle de complexes immuns circulants (complexe antigènes-anticorps) est évoqué à l'origine de bronchioalvéolites allergiques extrinsèques (BAAE) qui coexiste simultanément avec une forte stimulation de l'immunité cellulaire donnée par les corps bactériens, les moisissures, les débris végétaux dont le foin, les écorces... Différentes formes d'hypersensibilité sont isolées chez un même sujet et peuvent se succéder donnant un polymorphisme clinique.

Au niveau nasal, cette allergie est responsable d'une rhinite allergique : nez qui coule, qui gratte, éternuements, conjonctivite, trachéite. A l'étage inférieur dans le poumon, il s'agit alors d'un asthme allergique ou d'une pneumopathie d'hypersensibilité dénommée aussi bronchoalvéolite allergique extrinsèque (BAAE).

La BAAE se caractérise par l'apparition, plusieurs heures après l'inhalation, d'un épisode de broncho-pneumopathie d'allure grippale : c'est la maladie du « poumon de fermier ». La forme aiguë se traduit par un syndrome pseudo-grippal accompagné de troubles respiratoires (toux sèche et dyspnée). Ces symptômes apparaissent brutalement 6 à 10 heures après l'inhalation de l'allergène.

Dans la forme subaiguë, les symptômes respiratoires se manifestent progressivement, la fièvre et la toux étant inconstantes. Cette forme associe une dyspnée d'évolution insidieuse, parfois invalidante, à une altération de l'état général.

Cette maladie peut exceptionnellement se compliquer d'atteintes pulmonaires (pneumopathies) ou d'inflammation des enveloppes du cœur (péricardites) ou du poumon (pleurésies).

Les formes suraiguës sont exceptionnelles, se manifestant par un œdème pulmonaire de type lésionnel parfois mortel. En revanche, les complications chroniques, en particulier les bronchites chroniques et les fibroses pulmonaires sont fréquentes. Leur délai d'apparition comme leur évolution sont très variables. Le plus souvent la forme chronique fait suite à une forme subaiguë évoluant de façon insidieuse et n'ayant donc pas entraîné d'éviction de l'allergène (Toubas, 1995).

Les images radiologiques sont variées : syndrome interstitiel avec opacités réticulo-nodulaires, miliaires, et fibrose pulmonaire à un stade évolué. Si les accès se répètent, ils peuvent aboutir à l'insuffisance respiratoire progressive.

### Mécanismes inflammatoires, irritatifs et cytotoxiques

La réaction inflammatoire est une réaction de défense très générale face à un agresseur (microbiologique, chimique, mécanique). Elle est constituée d'un afflux de cellules sanguines, de phénomènes de vasodilatation des capillaires et de l'apport de facteurs humoraux (facteurs non cellulaires transportés par les liquides).

L'inflammation dans les tissus exposés aux micro-organismes aéroportés peut être due à de nombreux composants qui leur sont associés : **endotoxines des bactéries Gram-négatives, protéases, formes hydrosolubles des (1→3)-β-D-glucanes et mycotoxines** sont les plus étudiés. La réponse inflammatoire peut aller d'une réaction faible, presque bénigne, à une réaction sévère. Les réponses inflammatoires ne passent pas par des mécanismes immunoallergiques bien que les symptômes puissent être assez semblables.

A un premier stade, les expositions répétées aux poussières organiques en milieu professionnel peuvent entraîner un syndrome respiratoire non spécifique (SRNS ou MMI) caractérisé par une irritation oculaire, nasale et de la gorge dont le mécanisme implique une augmentation de la sécrétion des médiateurs de l'inflammation. Ce syndrome peut se développer après plusieurs semaines d'exposition à des niveaux relativement faibles d'agent causal. Les personnes souffrant de SRNS chez lesquelles apparaît aussi une hyper réactivité bronchique peuvent développer une bronchoconstriction. On ne sait pas encore si un tel syndrome respiratoire chronique lié à de forts niveaux d'exposition peut progressivement entraîner une bronchite chronique.

Le niveau suivant en terme de gravité correspond à la pneumopathie toxique ou syndrome toxique de la poussière organique (ODTS). Dans les poumons, le premier stade inflammatoire est l'activation de cellules impliquées dans l'inflammation (des macrophages) qui sécrètent une série de composants inflammatoires responsables de cette pneumopathie. Les effets aigus de l'inhalation de poussières organiques (et notamment d'endotoxines), réalisent un syndrome pseudo-grippal avec des signes généraux qui l'emportent sur la discrétion habituelle des signes respiratoires : réaction fébrile, sensation de malaise, frissons, céphalées et douleurs articulaires, toux sèche et parfois dyspnée, survenant en quelques heures après l'exposition.

Ces symptômes sont souvent repris sous le terme de fièvre d'inhalation ou fièvre du lundi. Ces effets aigus ont été démontrés aussi bien dans les études expérimentales humaines que dans les études épidémiologiques chez des travailleurs exposés. Les explorations fonctionnelles respiratoires sont normales ou montrent simplement un simple trouble ventilatoire obstructif des petites bronches et/ou un syndrome restrictif. Les examens sanguins montrent une augmentation des leucocytes sanguins et n'aident pas au diagnostic. Il n'y a pas de précipitines sériques (anticorps soluble formant avec l'antigène correspondant un précipité soluble). Le liquide de lavage alvéolaire montre une augmentation des polynucléaires neutrophiles.

Il s'agit d'une réaction aiguë 4 à 5 heures après le début de l'exposition dont l'évolution est habituellement bénigne avec une disparition des symptômes en 24 heures, même si les récurrences sont fréquentes. Il peut survenir à la première exposition, nécessite dans tous les cas une exposition massive et inhabituelle aux substances organiques et s'accompagne d'un phénomène de tolérance (Rylander, 1994 ; Heederik, 2000 ; Perdrix, 1997 ; Dalphin, 1998). Certains auteurs évoquent une évolution possible vers une broncho-pneumopathie obstructive (BPCO) ou une bronchite chronique, non confirmée par d'autres. Ce syndrome a en particulier été décrit chez les ouvriers des silos à grains et dans les élevages de porcs et de volailles (Dalphin, 1998).

De très nombreuses substances biologiques ont un rôle irritant direct sur les voies respiratoires. Un mécanisme cytotoxique permet de comprendre les phénomènes locorégionaux, voire systémiques, les voies respiratoires étant une porte d'entrée. Néanmoins, nombre de mécanismes physiopathologiques sont mal connus (Perdrix, 1997).

#### Action mutagène / cancérogène

Certaines mycotoxines sont classées cancérogènes par le CIRC (IARC, 1997).

### **VIII.3. ENTÉROPATHOGÈNES**

Parfois présents dans le matériel brut à composter, ils disparaissent au cours du compostage, en phase thermophile. Néanmoins, dans certaines conditions, ils sont susceptibles de ne pas être complètement inactivés. L'étude des publications sur les concentrations en pathogènes dans le compost souligne des situations où les entérobactéries sont susceptibles de réapparaître :

- Si le taux d'humidité est trop faible
- Les premiers jours de compostage en phase mésophile
- Si la température n'est pas homogène dans l'andain,
- Lors du stockage où il peut y avoir une possibilité de recolonisation.

Rappelons que les *Salmonella typhi* et *paratyphi* sont pathogènes chez l'homme.

Dans le genre *Escherichia*, l'espèce *E. coli* est un hôte commun de l'intestin de l'homme ( $10^8/g$  de selles) et il est recherché à ce titre comme germe témoin de contamination fécale. Certains sérotypes (types d'*E. coli* qui se différencient par la présence d'antigènes) sont pathogènes chez l'homme (infections intestinales, méningites néonatales ou infections du tractus urinaire).

Les *Shigella* sont pathogènes uniquement pour l'homme et les primates (Leclerc, 1989).

Le tableau ci-dessous rappelle les principales infections liées aux entéropathogènes ainsi que leur mode de transmission (Hart, 1997).

**Tableau 25 : Type d'infections et mode de transmission des entérobactéries**

Organismes	Infections	Transmission			
		Oro-fécale	Aérosol	Directe	Nosocomiale
Escherichia Coli	Infections urinaires, de plaie, septicémie, méningite, gastro-entérite	+	-	+	+
Klebsiella oxytoca	Infections urinaires	-	-	+	+
Klebsiella pneumoniae	Infections urinaires Pneumopathies	-	+	+	+
Enterobacter cloacae	Infections urinaires et de plaie	-	-	+	+
Shigella dysenteriae	Dysenterie bacillaire	+	-	-	-
Salmonella typhi	Fièvre typhoïde	+	-	-	-
Salmonella paratyphi A	Gastroentérites	+	-	-	-
Salmonella paratyphi B	Gastroentérites	+	-	-	-
Salmonella typhimurium	Gastroentérites	+	-	-	-

La transmission par aérosol n'est décrite que pour *Klebsiella pneumoniae*. Or celui-ci n'a jamais été signalé dans les ambiances d'usines de compostage.

Ces entérobactéries sont potentiellement dangereuses essentiellement par ingestion pour les travailleurs lors des différentes étapes du compostage, lors des manipulations et par contamination des mains.

Quant aux entérovirus, une étude expérimentale (Gerba, 1995) fait référence à la recherche de ceux-ci dans le compost. Une étude (travail de thèse) des entérovirus dans diverses filières de traitement de boues a montré que le suivi d'une filière de compostage pendant 10 mois n'a jamais retrouvé d'entérovirus dans le produit final (Monpotheo, 2001). Même si ces recherches se sont révélées négatives, il est difficile d'en tirer des conclusions. Il en est de même pour les protozoaires.

Dans ce contexte on en est réduit à étudier leur probabilité d'occurrence en fonction de la qualité des produits de départ. Leur présence dans les produits de départ est a priori variable. S'il s'agit de boues d'épuration, tout dépend de la température du traitement appliqué à la boue avant que celle-ci soit compostée. Ainsi, la digestion anaérobie, le chaulage, la pasteurisation, le stockage de longue durée serait efficace sur l'inactivation des entérovirus (Schwartzbrod, 1997). Dans les autres situations (ordures ménagères), la présence d'entérovirus est probable. Des études complémentaires sur la présence de virus pathogènes dans le compost et dans l'air semblent néanmoins nécessaires.

Pour les parasites, leur présence dans les produits de départ a été objectivée surtout dans des boues d'origine urbaines. Les entéroprotozoaires présents lors du compostage sont les *Cryptosporidium* et les *Giardia* (Delaunay, 1997). Des helminthes peuvent également être présents. Or l'inactivation des œufs d'helminthes dans les boues dépend aussi du traitement appliqué et de la température. La digestion aérobie ou anaérobie thermophile, le chaulage à la chaux vive, un stockage long seraient efficaces à l'inverse de certains traitements physiques tels que la dessiccation, le froid et la digestion mésophile (Schwartzbrod, 1997). Les travaux de Déportes ne mettent pas en évidence d'œufs d'*Ascaris* dans les produits finaux d'un compostage d'ordures ménagère. Un travail expérimental a été mené dans une usine de compostage. Pour ce type de micro-organismes la probabilité de diffusion par voie aérienne

semble limitée compte tenu de la taille (40-60  $\mu\text{m}$ ) et du poids de ces œufs qui sédimentent rapidement (Wickman, 1994).

Certains auteurs se sont interrogés sur le risque d'infection respiratoire par des pathogènes digestifs lors de la dispersion du compost dans l'air. Pour Millner (1994), celui-ci est rare même pour des ouvriers fortement exposés comme dans les stations d'épuration.

En l'absence de données pour le compostage, les études chez le personnel des step exposé à des aérosols contenant des germes d'origine fécale peuvent apporter des enseignements. La transmission féco-orale inclut la transmission directe par projection et aérosol dégluti et la transmission indirecte par l'intermédiaire des mains sales et objets souillés. Il n'est pas possible actuellement de considérer la part respective de l'une ou de l'autre de ces modes de transmission, mais il est fort probable que la contamination par l'intermédiaire des mains sales soit la plus fréquente, loin devant une transmission par bioaérosols. Plusieurs études européennes ont mis en évidence une augmentation du risque de parasitose intestinale (Knobloch, 1983 ;Heap, 1991 ; Schlosser, 1999), non retrouvée par Clark (1984b) aux USA. Une relation significative entre infection par le virus de l'hépatite A et travail au contact des eaux usées a été mesurée dans plusieurs études de séroprévalence, mais l'incidence d'hépatites A cliniques chez le personnel exposé aux eaux usées est très peu documentée (Glas 2001). Le risque d'infection par d'autres virus entériques (virus de Norwalk et rotavirus notamment) peut être évoqué considérant les concentrations importantes dans les eaux usées en périodes épidémiques et les faibles doses infectantes. Ce risque est néanmoins très peu documenté, et les quelques rares études publiées ne permettent pas de conclure (Iftimovici, 1980 ; Clark 1985, Sekla 1980). Quelques études transversales de prévalence de symptômes chez les employés de STEP indiquent une augmentation de troubles digestifs, céphalées, syndromes pseudo-grippaux (Khuder 1998, Douwes 2001) auxquels il est difficile d'attacher une cause précise (bactéries, endotoxines, toxiques, ...).

Dans le domaine des déchets, Ivens (1999) lors du congrès danois sur les déchets collectés et recyclés, a rapporté les résultats d'une étude transversale auprès de 2412 collecteurs de déchets et d'un groupe témoin de 1460 personnes. Un indice d'exposition aux spores de champignons, aux micro-organismes totaux avait été créé et il y avait statistiquement plus de nausées ou diarrhées dans le groupe fortement exposé aux spores de champignons et aux micro-organismes totaux. L'auteur concluait qu'il y avait une association entre les problèmes gastro-intestinaux et l'exposition aux bioaérosols.

#### **VIII.4. ACTINOMYCÈTES**

##### **VIII.4.1. Mécanismes d'action**

Les actinomycètes comportent dans leur paroi des peptidoglycanes et des déterminants antigéniques. Ils sont connus pour agir par des mécanismes immunoallergiques, responsables de bronchoalvéolite allergique extrinsèque (Perdrix, 1997).

Les deux principaux mécanismes immunoallergiques impliqués dans la survenue de BAAE sont l'hypersensibilité de type III (à médiation humorale) et IV (à médiation cellulaire. Les réactions asthmatiformes précoces suggèrent également la participation d'une hypersensibilité de type I

L'inflammation initiale, non spécifique, est suivie par une sensibilisation et une réponse inflammatoire, avec formation de granulome, qui serait contrôlée génétiquement et modulée par des facteurs suppresseurs provenant des lymphocytes T ou des macrophages (Toubas, 1995).

### VIII.4.2. Effets sur la santé

Le risque est bien connu pour les travailleurs en champignonnières sous le nom de poumon des champignonnistes, une forme de BAAE (Shen, 1991 ; Van den Bogart, 1993). Ces micro-organismes sont aussi responsables du poumon de fermier et concernent d'autres professions en contact avec les poussières organiques (Déportes, 1997).

La prévalence du syndrome clinique « poumon de fermier » était de 1,4% dans une population de 5703 fermiers laitiers en France, et de 9,3% pour la bronchite chronique (Dalphin, 1993). Elle était de 1,7 % dans une étude sur des fermiers danois (Terho, 1987).

On ne connaît pas de facteur de prédisposition (Déportes, 1997). Pour certains auteurs, une exposition massive et soudaine à ces bactéries ( $10^8/m^3$ ) lors de l'utilisation des composts pourrait déclencher une sensibilisation ou une réaction allergique chez des sujets (Moline, 1986 ; Lacey, 1991) avec présence d'anticorps circulants (Shen, 1991). On peut dès lors concevoir que des personnes sensibilisées puissent déclencher des réactions allergiques aux actinomycètes à la suite d'utilisation de compost à titre privé. Ce risque se confirme par les teneurs relevées dans l'air aux alentours du compost mature qui correspondent aux doses auxquelles on observe des réactions allergiques chez des travailleurs exposés (Mattsby, 1978).

Les espèces thermophiles d'actinomycètes, les plus souvent impliquées en pathologie, se développent dans les produits stockés qui atteignent des températures de l'ordre de 65-70°C comme le compostage. On peut trouver jusqu'à  $10^{10}$  spores/g substrat (avec jusqu'à 98% d'actinomycètes). Les principales sources d'antigènes sont *Faenia rectivirgula* et *Thermoactinomyces vulgaris*. Des actinomycètes mésophiles peuvent aussi être impliqués : *S. olivaceus*, *S. albus* dans le foin moisi, les graines et l'air ambiant des fermes (Lacey, 1988).

#### Bronchoalvéolite allergique extrinsèque

Les actinomycètes peuvent être responsables d'une BAAE. Il n'y a pas de BAAE asymptomatique, mais les manifestations cliniques sont souvent discrètes, ce qui explique la difficulté du diagnostic.

Les actinomycètes impliqués dans la BAAE et le réservoir antigénique habituel sont présentés dans le tableau 26.

**Tableau 26 : Actinomycètes impliqués dans l'alvéolite allergique (d'après Dalphin, 1998; Lacey, 1988)**

RÉSERVOIR D'ANTIGÈNES	ACTINOMYCÈTES IMPLIQUÉS
Foin, fourrages, paille, céréales, substances végétales moisies	<i>Micropolyspora faeni</i> <i>Thermoactinomyces vulgaris</i> , <i>T. sacchari</i> , <i>viridis</i> <i>Streptomyces</i>
Compost de champignons	<i>Actinobifida dichotomica</i> <i>M. Faeni</i> <i>T. vulgaris</i> , <i>T. dichotomycus</i> , <i>Thermonospora alba</i> , <i>curvata</i> , <i>fusca</i> <i>Sacharomonospora viridis</i> <i>Exelospora flexuosa</i>
Humidificateurs	<i>Thermoactinomyces thalagophilus</i> , <i>T. vulgaris</i> , <i>intermedius</i> <i>S. viridis</i>
Chaume	<i>Streptomyces olivaceus</i>
Industrie de déchets	<i>Streptomyces albus</i>

\*T: Thermoactinomyces

S: Sacharomonospora

M : Micropolyspora

### **VIII.4.3. Tests diagnostics et fonctionnels**

Les résultats de la NFS et de l'électrophorèse des protéines ne sont pas spécifiques : syndrome inflammatoire, souvent associé à une hyperleucocytose avec parfois une hyperéosinophilie (Toubas, 1995).

**Les résultats des explorations fonctionnelles respiratoires (EFR)** sont comparables à ceux des autres pneumopathies interstitielles : c'est un syndrome restrictif associé à une diminution de la diffusion de l'oxyde de carbone, accompagné ou non d'une hypoxie pouvant n'apparaître qu'à l'effort. Dans 20% des cas, une note obstructive accompagne le syndrome restrictif et dans 20% des cas, les EFR sont normales. (Toubas, 1995).

En phase aiguë, **la radiographie pulmonaire** montre un aspect particulier micronodulaire. A distance des troubles fonctionnels, il n'existe généralement plus aucune image pathologique. Pour les stades évolués, on peut constater l'apparition d'images caractéristiques d'une fibrose pulmonaire (Toubas, 1995).

**Le lavage broncho-alvéolaire (LBA)** permet d'étudier les aspects cytologiques, biochimiques et immunologiques de la maladie. Dans les heures qui suivent le contact antigénique, il existe une prédominance de polynucléaires neutrophiles. A distance de l'épisode aigu, il apparaît en général une hyperlymphocytose évocatrice de pneumopathie d'hypersensibilité.

Le LBA présente, par ailleurs, certaines anomalies biochimiques qui reflètent l'atteinte des pneumocytes.

Des anticorps spécifiques des allergènes en cause peuvent être détectés dans le LBA (Toubas, 1995).

**L'immunologie** occupe une place privilégiée dans le diagnostic des BAAE. Les tests immunologiques spécifiques peuvent être réalisés à partir d'injections intradermiques d'antigènes purifiés, mais ils sont peu pratiqués devant la difficulté à disposer d'une solution antigénique parfaitement purifiée. Les tests immunologiques réalisés *in vitro* peuvent explorer l'immunité à médiation cellulaire (test de transformation lymphoblastique (TTL), test d'inhibition de migration leucocytaire (TIML) ou humorale. Les tests cellulaires sont de réalisation délicate et c'est l'exploration de l'immunité humorale qui présente un intérêt diagnostic certain. Il existe de nombreuses techniques mais actuellement on utilise surtout la Co-IED : co-immuno-électrodifusion qui permet de discriminer les malades des sujets qui ont été simplement en contact avec l'allergène (Toubas, 1995). Plus classiquement on détecte les arcs de précipitation entre anticorps-antigènes sur gel par immunoélectrophorèse ou double diffusion. On dose alors des précipitines. Le dosage des précipitines de type IgG dans le sérum (ou parfois dans le liquide de LBA) est un indicateur biologique d'exposition à des déterminants antigéniques différents. Plus le nombre d'arcs de précipitation des anticorps sériques est élevé, plus l'exposition est importante et donc plus le risque de développer une maladie est important.

Diverses études en milieu agricole ou en champignonnières montrent que l'exposition peut être suivie par des études sérologiques mais que la pathologie n'est pas entièrement reliée aux résultats des analyses sanguines (Brummund, 1988 ; Khan, 1995).

Les résultats d'une étude auprès d'une même famille de fermiers dont certains avaient une alvéolite allergique et d'autres pas indiquent que les niveaux d'anticorps spécifiques dirigés contre *F. rectivirgula*, détectés par test particulier, le test BALISA, et par la présence d'arcs de précipitation peut différencier les fermiers symptomatiques et asymptomatiques



(Brummund, 1988). Dans un autre travail français, les auteurs ont observé une relation quasi linéaire entre la prévalence des précipitines (anticorps qui créent une réaction de précipitation) dirigées contre les extraits de foin moisi (*Micropolyspora faeni*) et détectées par immunoelectrophorèse et la symptomatologie (Dalphin, 1994).

Les sérums de 10 travailleurs souffrant de poumon des champignonnistes ont été testés par technique dot-ELISA pour les anticorps contre les spores de divers actinomycètes (*Excellospora flexuosa*, *Thermomonospora alba*, *T. curvata* et *T. fusca* soit  $10^9$  ufc/m<sup>3</sup> dans l'air des tunnels de fermentation) et de champignons (*Aspergillus*, *Clasporidium*, *Penicillium* et *Scytalidium* :  $10^3$  UFC/m<sup>3</sup> d'air). Tous étaient positifs pour au moins l'un de ces actinomycètes, et les concentrations d'anticorps augmentaient avec l'ancienneté du début de l'emploi dans cette champignonnière. Aucun anticorps n'a été trouvé contre *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium* et *Scytalidium* (Van den Bogart, 1993).

Dans le cas de la **bagasse**, pneumopathie immunologique observée surtout dans les Antilles ou en Inde chez les ouvriers qui manipulent des résidus fibreux moisissés de canne à sucre ce sont les actinomycètes thermophiles *T. sacchari* et *S. rectivirgula* qui sont en cause. La présence de précipitines a pu être montrée chez 22,2% des travailleurs dans une étude en Inde mais il n'y avait pas de corrélation entre la présence de précipitines et la durée de l'exposition (Khan, 1995).

#### **VIII.4.4. Voies d'exposition habituelle et populations exposées**

La voie habituelle d'exposition est l'inhalation, et dans le domaine agricole, les circonstances de contact sont très nombreuses : fermes d'élevage, agriculture, champignonnières... En milieu industriel, les actinomycètes thermophiles sont également retrouvés dans l'agro-alimentaire, les systèmes de conditionnement d'air, le traitement des déchets... (Perdrix, 1997).

#### **VIII.4.5. Relations dose-effets**

Il n'y a pas de données permettant d'étayer une relation dose-effets dans les documents étudiés. Il semble qu'une BAAE apparaît lors d'exposition forte ( $10^{6-10}$  spores/m<sup>3</sup>) et qu'une teneur de  $10^8$  UFC/m<sup>3</sup> soit nécessaire pour une sensibilisation (Miller, 1992 in Lavoie, 1997). Cependant il peut exister des risques avec une exposition chronique à des teneurs  $10^{5-7}$  spores/m<sup>3</sup> avec dégénérescence en fibrose sans manifestations aiguës (Déportes, 1997).

Bien que le mécanisme d'action ne soit par le même, Lacey (1991) suggère que des concentrations supérieures à  $10^6$  UFC/m<sup>3</sup> présentent un risque accru de BAAE et d'ODTS.

#### **VIII.4.6. Facteurs de risque**

Tous les sujets exposés ne sont pas victimes de BAAE, seul un sur dix environ développe cette maladie. La sensibilité individuelle occupe une place prépondérante dans la survenue des alvéolites. Le système HLA (human leucocyte antigen) pourrait expliquer en partie ce phénomène (Toubas, 1995).

Les actinomycètes sont moins communs que les champignons dans l'environnement naturel et il est difficile de prévoir les réactions pathologiques des populations sensibles (enfants,

asthmatiques) à l'exposition d'un nouvel antigène, lors de la dispersion des poussières de compost, même si les observations enregistrées lors du suivi des travailleurs laissent penser que le risque est faible (Déportes, 1997).

## VIII.5. CHAMPIGNONS

### VIII.5.1. Risque infectieux

Les champignons ou mycètes constituent un règne important, dont seul un petit nombre de représentants sont pathogènes pour l'homme.

Certains champignons ont une affinité particulière pour la kératine et sont responsables de mycoses superficielles. Ils appartiennent aux genres *Epidermophyton*, *Microsporium*, *Candida*, *Pityrosporum*. D'autres sont responsables de mycoses sous-cutanées en particulier dans les régions tropicales ou subtropicales. La transmission se fait par contact direct et pour cette raison, leur pathogénicité ne sera pas détaillée dans le cadre de ce travail sur les risques aéroportés.

Les mycoses systémiques résultent de l'inhalation de spores (à l'exception de *Candida albicans* qui provient plutôt du tube digestif ou de matériel hospitalier). La plupart de ces infections sont opportunistes. Les mycoses systémiques regroupent :

- les aspergilloses dues au genre *Aspergillus* dont la pathologie sera développée dans le chapitre suivant,
- les blastomycoses rencontrées en Amérique du Nord, en Afrique et en Asie,
- les candidoses dues à *Candida albicans* qui est responsable d'infections superficielles ou systémiques et dans ce dernier cas chez des patients immunodéprimés,
- les Cryptococcoses dues à *Cryptococcus neoformans*, responsable après passage dans les poumons de méningite cryptococcique chez les patients immunodéprimés,
- l'histoplasmosse, infection pulmonaire aiguë ou chronique due à *Histoplasma capsulatum*,
- les zygomycoses, infections pulmonaires ou gastriques de patients immunodéprimés et dont les principaux agents pathogènes sont *Mucor pusillus* et *Absidia corymbifera*.

A l'inventaire des spores de champignons retrouvées dans les ambiances des usines, on ne retrouve que *Absidia corymbifera* qui a été signalé dans un travail de thèse sur le contenu d'un compost (Riachi, 1998) et dans l'inventaire très précis de Fischer (2000) et *Aspergillus* dont la présence est largement majoritaire dans les ambiances d'usine. Il serait nécessaire de vérifier, à l'exception d'*Aspergillus* dont la présence dans l'air est bien connue, si ces champignons pathogènes sont effectivement présents dans les usines de compost.

S'agissant de pathologies opportunistes, la population à risque porte principalement sur les personnes immunodéprimées.

Beffa (1998) s'est interrogé sur la réalité de ce risque pour la Cryptococcose. Il rapporte les résultats de l'exposition de patients HIV positifs durant 3-4 mois à *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus*, *Mucoraceae* et *Dermatiaceae* retrouvés dans des fientes de pigeon et dans des déchets. Seul le patient qui avait un taux de lymphocytes CD4 inférieur à 50/ $\mu$ l a développé une cryptococcose.

Dans un autre travail, il a été démontré que les infections causées par *Mycobacterium avium*, *Mycobacterium intracellulare* et *C. neoformans* apparaissaient si le taux lymphocytaire (CD4) était inférieur à 3-20/ $\mu$ l. Or *Mycobacterium avium* et *intracellulare* peuvent être présents dans les fientes des oiseaux domestique de la famille des Psittacés et *C. neoformans* dans les fientes des oiseaux et donc être composté avec les ordures ménagères. Ces champignons

appartiennent à la famille des basidiospores qui peuvent pousser à 26°C. Sous certaines conditions, ceux-ci pourraient donc être présents dans le compost (Beffa, 1998).

### **VIII.5.2. Risques non infectieux**

En dehors du risque infectieux, les champignons et leurs produits allergisants ou toxiques peuvent être responsables d'effets chroniques ou aigus chez des individus sensibles. La petite taille (2-10 µm) des spores d'*Aspergillus*, *Penicillium*, *Stachybotris* ou d'autres champignons explique leur pénétration profonde dans le poumon (Johanning, 1999). Elles peuvent alors être responsables de manifestations inflammatoires locales, de réponse toxique ou allergisante (de type III ou IV retardé de 24 heures) avec pneumonie, d'ODTS, de bronchite et d'asthme. Les toxines fongiques réagissent avec les macrophages alvéolaires libérant alors des médiateurs de l'inflammation et de cytotoxicité, responsable alors de réactions immunologiques complexes (Johanning, 1999).

Les principales sources d'allergènes fongiques proviennent des champignons microscopiques suivants : *Alternaria*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Cladoporium* et *Aspergillus* (Millner, 1994).

Les marqueurs d'exposition aux moisissures aéroportées sont des anticorps précipitants (précipitines IgG, IgA, IgM) dosés dans le sérum des personnes exposées. Ils permettent de suivre l'exposition des individus au cours du temps.

Les champignons sont, par ailleurs, producteurs de mycotoxines dans certaines conditions et certaines d'entre elles sont pathogènes chez l'homme. Cet aspect sera abordé dans un chapitre à part.

Les spores de champignons (ou leurs mycotoxines) pourraient être impliquées dans l'asthme professionnel. Les environnements professionnels pour lesquels les champignons ont été impliqués sont (Lacey, 1988) :

#### Environnements extérieurs:

- Céréales et paille
- Roseau (rotin)

#### Environnements intérieurs :

- Culture de champignons
- Production d'enzyme
- Culture de protéines animales
- Farine
- Fabrication de soupe
- Fromagerie
- Cabinet de pédicure

De même des champignons ont été impliqués dans la BAAE (Lacey, 1988) à partir des sources d'antigènes suivantes:

- Grains moisissés
- Orge fermenté
- Fermentation d'acide citrique
- Ecorce d'érable
- Sciure de séquoia
- Fromage
- Paille
- Rideau de douche
- Liège
- Culture de champignons
- Grains d'avoine
- Foin
- Humidificateurs
- Bois de construction
- Murs moisissés
- Bois de construction pourri
- Compost
- Tabac
- Saucisses
- Elevage de lapins
- Stockage de pommes

### **VIII.5.3. Aspergillus**

Les champignons poussent en grand nombre dans le compost, d'où la crainte de voir se développer des espèces pathogènes ou opportunistes. Les recherches sont centrées sur les *Aspergillus*, champignons filamenteux qui sont connus comme pathogènes pour l'homme. Ces champignons sont présents sous forme de spores dans l'air, le sol, sur des débris organiques aussi bien à l'extérieur qu'à l'intérieur des habitations. *Aspergillus fumigatus* cause les infections les plus graves, il est constamment retrouvé lors du compostage des déchets verts, des copeaux de bois, des déchets municipaux solides, des boues d'eaux usées et du foin (Millner et al, 1980). Les spores d'*Aspergillus fumigatus* libérées dans l'environnement ont un diamètre suffisamment petit (2 à 3  $\mu\text{m}$ ) pour permettre une pénétration jusqu'aux alvéoles pulmonaires (Latgé, 1999).

#### **VIII.5.3.1. Mécanismes d'action**

Tout aérosol fongique à de fortes concentrations est susceptible d'entraîner des troubles toxiques ou d'hypersensibilité. Les champignons présentent des déterminants antigéniques et ils ont parfois la capacité d'élaborer des mycotoxines. De plus la paroi cellulaire est composée de l'association de glycoprotéines et de polysaccharides dont les (1→3)- $\beta$ -D-glucanes et le galactomannane qui est reconnu antigénique sont les constituants majoritaires (Latgé, 1999; Perdrix, 1997).

Les *Aspergillus* peuvent être pathogènes par des mécanismes immuno-allergiques, par colonisation saprophyte de cavités aériennes (sinus, cavité bronchiques ou pulmonaires séquellaires) et par risque infectieux systémique chez les personnes immunodéprimées (champignon opportuniste) (Ault, 1994).

#### **VIII.5.3.2. Effets sur la santé**

L'inhalation de conidies d'*Aspergillus* par des sujets immunocompétents a rarement des effets néfastes puisqu'elles sont normalement éliminées par les mécanismes immunitaires habituels. Récemment encore, *A. fumigatus* était considéré comme un agent faiblement pathogène, responsable de troubles allergiques tels que le « poumon de fermier » et d'aspergillome (développement du champignon dans une cavité pré-existante). Avec l'augmentation du

nombre de personnes immunodéprimées et de la sévérité des thérapeutiques immunodépressives, la situation a dramatiquement changé ces dernières années. Depuis une dizaine d'années, *A. fumigatus* est devenu le plus prévalent des champignons pathogènes aéroportés, responsable d'infections invasives sévères et souvent mortelles chez les sujets immunodéprimés des pays développés. On a assisté à la multiplication par 4 des aspergilloses invasives en 12 ans. Bien que *A. fumigatus* soit le principal pathogène du genre *Aspergillus*, responsable d'environ 90% des infections humaines, il n'est pas le seul en cause. *A. flavus*, *A. terreus*, *A. niger* et *A. nidulans* peuvent aussi entraîner des infections (Latgé, 1999).

Les spores pénètrent après inhalation dans l'arbre trachéo-bronchique, ce qui fait de l'appareil pulmonaire une cible privilégiée de la pathologie aspergillaire. C'est un allergène pulmonaire souvent responsable de BAAE et d'asthme professionnel. Bien que de nombreux champignons et leurs spores puissent donner des réactions d'hypersensibilité pulmonaire, il semble que *Aspergillus fumigatus* arrive au premier plan chez les individus exposés. *Aspergillus*, champignon opportuniste, ne devient pathogène que s'il rencontre des facteurs généraux (déficit immunitaire) et / ou locaux (cavités résiduelles dans le poumon) favorables (Lacey, 1988). Exceptionnellement, d'autres sites d'infections ont été décrits chez des personnes normales ou immunodéprimées : il peut y avoir une contamination du conduit auditif externe, des surinfections cutanées, une atteinte des reins, des os, du tractus gastro-intestinal... (Latgé, 1999). Ainsi *Aspergillus niger* est retrouvé dans les otites du conduit auditif externe alors qu'*Aspergillus nidulans* est signalé dans les sinusites (Koenig, 1995).

On différencie deux types d'atteinte aspergillaire : celles dues à une réaction allergique (asthme, sinusite et alvéolite) qui apparaissent après exposition répétée aux spores ou aux antigènes d'*Aspergillus*, sans colonisation mycélienne, dans lesquels la suppression de l'exposition environnementale entraîne une amélioration clinique, et celles dues à une croissance mycélienne d'*A. fumigatus* dans le corps (aspergillose broncho-pulmonaire allergique, aspergillome, aspergillose invasive) nécessitant généralement une intervention thérapeutique (Latgé, 1999).

### Réaction allergique

**La BAAE** dans laquelle l'organisme produit des précipitines est une pneumopathie d'hypersensibilité correspondant à une réponse immunitaire à médiation cellulaire. Elle se développe chez des sujets atopiques et non atopiques exposés à de grandes quantités de spores d'*Aspergillus* par inhalation. *A. clavatus* est souvent incriminé, mais *A. fumigatus* peut être trouvé.

**La sinusite et l'asthme aspergillaire** se rencontrent le plus souvent chez les sujets atopiques. Les spores d'*Aspergillus* entraînent un bronchospasme médié par des IgE.

**L'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA)**, encore appelée asthme avec éosinophilie pulmonaire ou maladie de Hinson-Pepys, est caractérisée par des crises de dyspnée asthmatiforme au cours d'épisodes d'allure infectieuse avec fièvre et expectoration abondante, voire hémorragique. Elle apparaît chez des sujets souffrant d'asthme atopique ou de mucoviscidose. Elle apparaît chez environ 1 à 2% des sujets asthmatiques (15% des sujets asthmatiques sensibilisés à *A. fumigatus*) et chez 7 à 35% des sujets atteints de mucoviscidose. La radiographie pulmonaire peut montrer des infiltrats susceptibles d'évoluer vers des dilatations des bronches proximales et une fibrose pulmonaire. L'ABPA suit le même cours que l'asthme classique, avec une réponse cellulaire immune et des résultats physiopathologiques dus aux produits des lymphocytes T. Ses effets vont de

l'asthme à la destruction progressive des poumons avec évolution possible vers une insuffisance respiratoire irréversible.

Les critères habituels de diagnostic sont : un asthme, une hyperéosinophilie sanguine ( $> 1000/\text{mm}^3$ ), un test cutané de réactivité immédiate aux extraits antigéniques d'*A. fumigatus* positif en  $15 \pm 5$  mn, des précipitines sériques (IgG et IgM) et des IgE dirigés contre *A. fumigatus*, un niveau élevé d'IgE sériques totales ( $>1 \mu\text{g/ml}$ ), des infiltrats pulmonaires et des bronchiectasies centrales (Latgé, 1999).

#### Pathologie associée à la croissance mycélienne d'*Aspergillus*

**L'aspergillome** survient lorsque les *Aspergillus* colonisent des cavités anormales préexistantes (dilatations de bronches, cavités séquellaires de tuberculose, de sarcoïdose...), il apparaît ainsi chez 10 à 15% des patients ayant de telles cavités pulmonaires et correspond au développement d'un feutrage mycélien sur l'épithélium bronchique, sans envahissement. Les patients sont habituellement asymptomatiques et la découverte de la maladie peut se faire par une radiographie pulmonaire fortuite, sous forme d'opacité ronde. Il y a parfois un peu de fièvre, une toux productive et/ou hémorragique (hémoptysie). L'évolution est imprévisible : le champignon peut mourir, se stabiliser, mais aussi entraîner le décès par hémoptysies abondantes et récidivantes. Le diagnostic se fait sur la radiographie pulmonaire, et les concentrations élevées d'anticorps anti *A. fumigatus*. Aujourd'hui, on voit plutôt des aspergillomes quand une lésion d'aspergillose invasive érode la surface pulmonaire chez une personne immunodéprimée (Latgé, 1999).

**L'aspergillose invasive** est une pneumopathie opportuniste particulièrement redoutable. Les symptômes associent une fièvre, une douleur thoracique, une toux, une sensation de malaise, une perte de poids et une dyspnée. Elle évolue très rapidement vers la mort en une à deux semaines chez plus de la moitié des patients. C'est actuellement une infection nosocomiale qui touchent particulièrement les patients immunodéprimés. On estime son incidence entre 5 et 25% chez les patients ayant une leucémie aiguë, entre 5 et 10% chez les patients ayant subi une allogreffe de moelle, et entre 0,5 et 5% après traitement cytotoxique d'hémopathies ou après autogreffe de moelle ainsi qu'après transplantation d'organe. Bien que l'aspergillose invasive soit reconnue aujourd'hui comme la principale infection fongique chez les cancéreux, son incidence réelle est probablement sous-estimée en raison de la faible sensibilité des tests diagnostics. Elle est également signalée chez 1 à 12% des personnes ayant le SIDA. *Aspergillus fumigatus* mais aussi *Aspergillus flavus* sont les organismes le plus souvent mis en cause dans les aspergilloses pulmonaires invasives (Ambroise-Thomas, 1997; Latgé, 1999 ; Koenig, 1995).

Quatre types d'aspergillose invasive ont été décrits : l'aspergillose pulmonaire aiguë ou chronique (forme la plus courante), la trachéo-bronchite et la maladie bronchique obstructive (principalement chez les sujets atteints de SIDA), la rhinosinusite invasive aiguë et l'aspergillose disséminée (cerveau et autres organes). L'aspergillose invasive reste encore difficile à diagnostiquer aujourd'hui, en particulier au début de la maladie et il n'y a pas de consensus en ce qui concerne les critères les plus appropriés, d'où l'habitude d'établir un diagnostic d'aspergillose invasive comme étant « hautement probable », « probable », « possible » ou « suspecté » (Latgé, 1999).

Outre la réalisation d'un scanner thoracique, le diagnostic repose sur la recherche d'antigènes solubles aspergillaires dans le sérum ou dans le liquide de LBA. Un test diagnostic ELISA à partir d'un antigène (galactomannane) est utilisé dans le diagnostic de l'aspergillose invasive chez le patient immunodéprimé. Ce test qui mesure la présence d'antigènes sériques est à la

fois sensible et spécifique pour le diagnostic d'aspergillose invasive. Deux autres antigènes (catalase et dipeptyl peptidase V) peuvent être utilisés pour la recherche d'anticorps anti *Aspergillus* permettant le diagnostic de l'aspergillome (IgG) et de l'ABPA (IgG et IgE) chez le patient immunocompétent (Latgé, 1999), valeur seuil pour le risque chez les immunodéprimés.

### VIII.5.3.3. Tests fonctionnels

**La radiographie pulmonaire**, utile pour l'aide au diagnostic d'aspergillome, est supplantée par le scanner thoracique pour le diagnostic d'aspergillose invasive.

Il existe des tests cutanés (Prick-tests) avec des extraits antigéniques d'*Aspergillus* pour le diagnostic d'asthme aspergillaire et d'aspergillose broncho-pulmonaire allergique. On peut aussi rechercher la présence de nodules bronchiques contenant de l'*Aspergillus* et des polynucléaires éosinophiles dans les expectorations ainsi que la présence d'une hyperéosinophilie sanguine, une élévation sérique des IgE totales et spécifiques et des IgG.

### VIII.5.3.4. Voies d'exposition habituelle et populations exposées

Parmi les organismes les plus souvent étudiés, *Aspergillus fumigatus* est un sujet de controverse. L'exposition a lieu par inhalation et les teneurs observées dans l'air sont souvent élevées, mais les études sérologiques effectuées sur des travailleurs exposés ne montrent pas la présence d'anticorps circulants, bien que l'on mesure de forts dépôts sur les personnes en contact (Déportes, 1997 ; Shen, 1991).

Si certaines évidences existent pour le risque professionnel chez les agriculteurs, les personnes travaillant dans l'industrie du bois et des déchets, le risque environnemental des populations avoisinant un site de manipulation de composts est presque inconnu. La dispersion environnementale d'*A. fumigatus* lors de la manipulation des composts a attiré l'attention de nombreux auteurs (Ault al., 1994 ; Clark, 1983 ; Millner, 1980 ; Kothary, 1984) dont un seulement rapporte le cas d'une exposition, dans les environs d'une usine de compostage de déchets verts, associée à une invasion aspergillaire chez un asthmatique (Epstein, 1994).

### VIII.5.3.5. Relations dose-effets

Pour deux des principales moisissures responsables d'allergies, des seuils de concentrations (pour l'apparition de symptômes allergiques) ont été estimés à 100 spores /m<sup>3</sup> pour *Alternaria* et 3000 spores /m<sup>3</sup> pour *Cladosporium* (Millner, 1994). Il semble raisonnable d'estimer que la sensibilisation à *Aspergillus* pourrait apparaître pour des concentrations de même ordre, mais on n'a pu donner de limite à la dose infectante de ce champignon, qui ne représenterait un risque que pour les personnes hypersensibles ou immunodéprimées, ni établir de relation dose-réponse pour les spores d'*A. fumigatus* responsables d'une infection (Kothary, 1984 ; Millner, 1980 ; Epstein, 1996).

On ne dispose pas de données sur la relation dose-effets pour la santé humaine, que ce soit en exposition aiguë ou chronique, de l'exposition par inhalation d'*A. fumigatus* dans des bioaérosols de compost (Millner, 1994).

### VIII.5.3.6. Facteurs de risque

**Les sujets atopiques** présentent un plus grand risque de sensibilisation à *A. fumigatus* et la sensibilisation peut apparaître alors pour de faibles doses, comme celles pouvant exister dans l'air ambiant des habitations. Ces personnes réagiront lors de nouvelles expositions et pourront voir se développer des réactions asthmatiques (Epstein, 1994).

Les sujets en bonne santé sans problème pulmonaire ont des capacités de défense suffisantes si bien que l'inhalation de spores d'*Aspergillus* ne cause pas d'infection. Chez les personnes immunocompétentes, mais avec des **cavités séquellaires de maladie pulmonaire dues à une tuberculose ou une sarcoïdose**, les colonies d'*Aspergillus* peuvent se développer dans ces cavités (Millner, 1994). Ces personnes présentent un risque particulier pour les infections aux pathogènes classiques et opportunistes. Chez les personnes dont **l'immunité est compromise** (génétiquement, ou par immunodéficience acquise comme dans le SIDA ou par immunodépression en raison d'un traitement corticoïde, ou immunosuppresseur après transplantation, d'une hémopathie maligne...) les *Aspergillus* peuvent être à l'origine d'aspergillose invasive. Pour les immunodéprimés, les travaux de l'European Organization for Research and Treatment for Cancer ont établi qu'une valeur inférieure à 500 polynucléaires neutrophiles/mm<sup>3</sup> persistant pendant 10 jours est un facteur de risque d'aspergillose invasive.

**En milieu hospitalier**, les malades à risque sont ceux présentant des altérations quantitatives ou qualitatives de la fonction phagocytaire : neutropénie chimio-induite avant allogreffe de moelle osseuse, traitement par cyclosporine des patients transplantés (greffes pulmonaires surtout), chimiothérapie anticancéreuse intense, corticothérapie massive. En revanche le SIDA n'est qu'exceptionnellement compliqué d'aspergillose invasive (Ambroise-Thomas, 1997).

### VIII.5.4. Mycotoxines

#### VIII.5.4.1. Introduction

Rappelons que les mycotoxines sont des métabolites secondaires élaborés par certains champignons microscopiques notamment *Aspergillus*, *Trichotecium*, *Penicillium*, *Fusarium*. Elles sont ubiquitaires et sont trouvées là où se développent les champignons ainsi que les spores de ceux-ci. Comme on a pu le voir dans les études portant sur les concentrations en champignons dans l'air des usines, certaines de ces espèces (*Aspergillus*, *Penicillium*) sont présentes dans les ambiances. Les connaissances sur la toxicité des mycotoxines par inhalation seront donc abordées ci-dessous.

Les plus connues sont les aflatoxines produites principalement par *A. flavus*, les trichotécènes produites par *Stachybotris atra* et les Ochratoxines.

#### VIII.5.4.2. Mécanismes d'action

De nombreuses mycotoxines sont cytotoxiques selon des mécanismes complexes et mal inventoriés, généralement étudiés uniquement par voie d'exposition orale.

Lorsqu'elles ont été inhalées, elles peuvent être responsables d'effets locaux et à distance du poumon. Une étude auprès de travailleurs de l'industrie alimentaire exposés par inhalation aux aflatoxines B1 a montré leur capacité à pénétrer dans l'organisme puisque celles-ci étaient dosables au niveau sanguin pour 7 des 45 travailleurs étudiés (Sörenson, 1999). L'inhalation de poussières contaminées peut entraîner un dépôt pulmonaire de ces mycotoxines susceptible d'affecter les macrophages alvéolaires en inhibant leur activation (phagocytose). Des études expérimentales ont montré que **le trichotécène T-2** était jusqu'à 20 fois plus toxique, chez les



rats et cobaye, par inhalation que par voie intraveineuse. Dans ces études, les animaux étaient exposés à différentes concentrations de toxine dans un aérosol. Les dommages dans le tissu pulmonaire étaient modestes mais constants quelle que soit la voie d'exposition. Pour Miller (1994), si cela est un phénomène général, les expositions aux mycotoxines par inhalation pourraient constituer un risque pour des expositions nettement inférieures à celles rencontrées par voie orale.

Les effets à distance se font par l'intermédiaire de la libération de médiateurs de l'inflammation (cytokines): atteinte hépatique, gastro-intestinale, hématologique ou neurologique, mais aussi du fait de leur solubilité dans l'eau pulmonaire des alvéoles qui leur permet de passer dans la circulation sanguine. Leur action est non infectieuse (Perdrix, 1997). L'exposition aux aflatoxines par inhalation a montré des atteintes de l'ADN dans le tissu hépatique (Miller, 1994)

Un possible passage transplacentaire des aflatoxines chez l'homme est évoqué par certains auteurs, en raison d'expérimentations animales concluantes (Jesenska, 1993).

Les trichotécènes sont aussi immunotoxiques chez le rat et la souris et sont responsable d'une inhibition des anticorps (Sorenson, 1999).

#### **VIII.5.4.3. Effets sur la santé**

Les effets de l'exposition chronique aux mycotoxines telles que les aflatoxines, ochratoxines, fumonisines et trichotécènes sont considérés comme importants pour les populations humaines. Les trois premières toxines seraient susceptibles d'augmenter l'incidence de cancers dans plusieurs parties du monde. Tous ces composés sont responsables d'une immunosuppression dans les expérimentations animales (Miller, 1994).

La connaissance des effets de mycotoxines sur la santé provient principalement d'études sur la consommation des mycotoxines dans l'alimentation: certaines sont cancérogènes (aflatoxines, sterymatocystines et fumonisines), d'autres tératogènes ou néphrotoxiques (ochratoxines), immunotoxiques (aflatoxines, ochratoxines), hépatotoxiques (aflatoxines, phomopsines), neurotoxiques (ergotoxines) ou encore hémorragiques (trichothécènes) (Delaunay, 1997 ; Ball, 1995).

Les effets dus à l'exposition par ingestion ne seront pas envisagés puisque ici, il s'agit d'envol de poussières organiques et que, par conséquent, la voie d'exposition est l'inhalation.

#### **Exposition par inhalation**

Si l'exposition par inhalation semble marginale, même en milieu professionnel, la question d'un éventuel risque reste posée. Bien que nettement moins bien documentés, les risques de l'exposition par inhalation ont été corrélés à des effets digestifs et respiratoires dans certaines études (Déportes, 1997). Des cas de pneumopathie aiguë hémorragique ont été observés à de très fortes concentrations de spores dans l'air ( $10^{9-10}/m^3$ ) sans que l'on sache s'ils étaient dus à des mycotoxines ou aux (1-3)- $\beta$ -D-glucanes contenus dans les spores (Miller, 1994).

Un ODTS, autrefois dénommé **mycotoxicose** (ou parfois encore appelé fièvre d'inhalation ou *grain fever*, *farmer's fever*, *mill fever*, *toxic alveolitis*), de mécanisme non allergique, peut aussi être déclenché par l'exposition massive à des particules organiques. S'il existe une multitude d'arguments en faveur du rôle déterminant des endotoxines, d'autres substances telles que les mycotoxines et certaines poussières de céréales ont également des propriétés pro-inflammatoires proches de celles des endotoxines, et peuvent ainsi être en cause. Ce syndrome se rencontre presque exclusivement en milieu agricole, en particulier

chez les ouvriers des silos à grains et dans les élevages de porcs et de volailles (Dalphin, 1998).

L'exposition à *Penicillium* a été rapportée dans des maladies pulmonaires, des problèmes rénaux et des atteintes neurologiques. Ce champignon est toxigénique.

*Stachybotrys*, identifié dans une usine de compostage utilisant du vieux bois, a été rapporté associé à des syndromes immunitaires, des maladies opportunistes, des atteintes rénales, une toxicité neurologique et enfin dans une épidémie d'atteinte pulmonaire hémorragique chez l'enfant (Johanning, 1999).

On a rapporté que l'exposition aux spores de *Stachybotrys atra* (*chartarum*) entraîne des **troubles respiratoires**, les symptômes sont en fait, **variés** : pharyngite, rhinorrhée, fièvre modérée, leucopénie, céphalées et fatigue ainsi que dermatite. Les chercheurs d'Europe de l'Est pensaient qu'il s'agissait « d'une toxicose généralisée par absorption de substances toxiques à travers la peau ou par inhalation de poussières de moisissures ». des cas de pneumopathies hémorragiques chez l'enfant ont aussi été attribués aux spores de champignons. Les spores de cette espèce, identifiées dans les composts faits à partir de déchets de bois, aussi bien que dans les poussières du substrat contiennent des trichotécènes qui sont très toxiques. Les symptômes ci-dessus sont comparables à ceux observés chez les animaux exposés aux trichotécènes. Les expositions à  $10^3$  UFC/m<sup>3</sup> de *S. atra* peuvent théoriquement conduire à des concentrations sériques de trichotécènes proches du NOAEL (seuil d'absence d'effet) pour cette famille de composés (Miller, 1994 ; Johanning, 1999).

### **Risque de cancer**

Certaines données suggèrent des relations possibles entre l'inhalation de mycotoxines et l'augmentation des cancers parmi les populations exposées professionnellement. Le risque cancérigène par inhalation concerne **les aflatoxines**. En effet, dès les années 1960, on a répertorié un nombre important de cancers du foie liés à l'aflatoxine B1. Les relations admises entre l'incidence de cancers primitifs du foie observés dans certains pays tropicaux et l'exposition par ingestion aux aflatoxines ont conduit les experts du CIRC à classer celles-ci dans le groupe 1 - cancérigène certain - des agents cancérigènes pour l'homme (IARC, 1993). Cependant 3 études en milieu de travail font poser la question d'un éventuel risque par inhalation. Les cancers mis en évidence ne sont cependant pas les mêmes (cancer du poumon, cancer du foie) et les cohortes étudiées parfois de petite taille.

Une augmentation d'incidence des cancers du foie chez les travailleurs de l'industrie alimentaire pour animaux a également été observée. Ces données sont concordantes avec les relations dose-effets trouvées en Afrique pour l'exposition par ingestion d'aflatoxines et les cancers du foie (Miller, 1994). Des études expérimentales animales et in vitro ont montré que les cellules trachéales et pulmonaires, comme les cellules hépatiques, étaient capables de transformer les aflatoxines B1 en composés mutagènes, laissant supposer que l'inhalation de poussières contaminées par l'aflatoxine B1 constitue un risque cancérigène potentiel (Alavanja, 1987 ; Ball, 1995).

- Plusieurs études ont été effectuées dans des minoteries où les ouvriers agricoles sont exposés aux mycotoxines, mais aussi aux insecticides destinés à protéger les grains. En Suède on observait un excès de cancers du foie mais pas d'excès de lymphomes non hodgkiniens alors qu'aux USA une augmentation de ces lymphomes était notée (Alavanja, 1987).

**L'ochratoxine** est un contaminant courant des céréales en Europe et l'inhalation de cette toxine dans les greniers de céréales, dans les élevages de porc et de volailles aurait entraîné des **néphropathies graves**. Elle serait aussi cancérigène (l'ochratoxine A a été classée dans le groupe 2B - cancérigène possible - par le CIRC), l'apparition secondaire de tumeurs de l'appareil urinaire étant en liaison étroite avec la néphropathie endémique des Balkans, et tératogène (Delaunay, 1997 ; Riachi, 1998).

**Les fumonisines** sécrétées par le champignon *Fusarium moniliforme* (groupe 2 B du CIRC) seraient associées au cancer de l'œsophage chez l'homme en Afrique du sud et en Chine (American Thoracic Society , 1998).

#### **VIII.5.4.4. Tests diagnostics et fonctionnels**

Dans une étude Autrup (1991), la présence d'aflatoxines dans le sang a été retrouvée chez 7 travailleurs sur 45 pour une exposition estimée à 64 ng/kg de poids corporel/j, ce qui rend compte de l'exposition et non de la pathologie.

#### **VIII.5.4.5. Voies d'exposition habituelle et populations exposées**

Il faut des conditions écologiques particulières pour que prolifèrent les moisissures et qu'il y ait synthèse de mycotoxines (humidité...). Par ailleurs la synthèse des toxines est fonction de l'origine du substrat : riz, arachides, grains divers, et des souches pour une même espèce. Les réservoirs sont donc extrêmement cosmopolites : végétaux comme les céréales, les tourteaux d'arachides, les fruits secs avec conservation défectueuse, culture, ramassage, stockage, transformation et conditionnement. Comme cela a déjà été dit, les mycotoxines sont retrouvées aussi dans certaines fromageries, scieries, industries du bois, locaux à air conditionné... (Perdrix, 1997). La voie habituelle d'exposition à ces mycotoxines est digestive, mais la voie respiratoire n'est pas négligeable dans certains environnements professionnels (travail dans les silos à grains).

L'exposition professionnelle aux aflatoxines touche deux catégories de personnes : celles qui manipulent des grains, des aliments pour les animaux, des cacahuètes, de la farine de cacahuètes... (exposition par inhalation de poussières contaminées) et celles qui travaillent expérimentalement sur des toxines (Jesenska, 1993).

#### **VIII.5.4.6. Relations dose-effets**

Il n'existe pas d'étude qui ait corrélé des niveaux d'exposition par voie aérienne avec un effet sanitaire.

Par voie orale, des valeurs limites de contamination de certains aliments ont été fixées par le comité du Codex Alimentarius sur les additifs alimentaires et les contaminants (CCFAC) et par le comité d'experts joint sur les additifs alimentaires (JEFCA) pour les aflatoxines, l'ochratoxine A et la patuline.

Le JEFCA a fixé une dose journalière tolérable de 0,4µg/kg de poids corporel/jour pour la patuline et une dose hebdomadaire tolérable de 0,1 µg/kg de poids corporel/semaine pour l'ochratoxine A. Pour l'aflatoxine, le JEFCA a réévalué en 1997 les études animales et humaines. Il a conclu que les aflatoxines devaient être considérées comme des contaminants carcinogènes alimentaires et que son apport devait être au niveau le plus bas possible mais il n'a pas établi en 1998 de dose journalière tolérable (Boutrif, 1998).

#### **VIII.5.4.7. Facteurs de risque**

Il n'y a pas de facteur de risque identifié dans les documents étudiés.

## VIII.6. ENDOTOXINES

### VIII.6.1. Mécanismes d'action

Rappelons que les endotoxines sont présentes dans la paroi de toutes les bactéries Gram-négatives largement répandues dans l'environnement et le tube digestif.

Pour être actives, les endotoxines doivent être libérées par les membranes des bactéries lors de leur lyse ou de leur multiplication. Elles ont un faible pouvoir antigénique et n'ont pas d'action spécifique. Selon la concentration inhalée, les effets seront différents voire opposés : effet bénéfique à faible concentration, néfaste à forte concentration (Perdrix, 1997). Les endotoxines associées à des particules qui se déposent au niveau des voies aériennes supérieures peuvent être éliminées par transport mucociliaire. Les endotoxines déposées plus profondément dans les voies aériennes peuvent être en partie éliminées par les macrophages et par phagocytose (ingestion) leucocytaire.

Dans l'organisme contaminé, le LPS agit **par des mécanismes inflammatoires, toxiques et immunologiques** (Delaunay, 1997). L'endotoxine recrute des cellules particulières qui sécrètent des médiateurs dont les effets interviennent localement ou de façon diffuse dans l'organisme. Les macrophages tissulaires ou sanguins sont les cellules les plus sollicitées, mais les plaquettes, les cellules endothéliales et épithéliales produisent également des médiateurs de l'inflammation après exposition aux endotoxines (Rylander, 1994).

Normalement, les macrophages absorbent et détruisent toute substance pouvant s'avérer dangereuse pour l'hôte. Activés, ils sécrètent différentes molécules qui agissent de concert, de façon séquentielle ou indépendante, pour **initier ou amplifier une réponse immune, spécifique ou non**, dirigée contre l'intrus (Deschamps, 1994). Le macrophage activé par le LPS libère alors des médiateurs protéiques (TNF $\alpha$ , interleukines IL-1, IL-6, IL-8), lipidiques (prostaglandine E2, thromboxane A2 et Platelet Activating Factor ou PAF) et des radicaux libres (oxygène O<sub>2</sub>, peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et oxyde nitrique NO) (Deschamps, 1994 ; Perdrix, 1997 ; Rylander, 1994).

Certaines protéines synthétisées par les macrophages activés (IL-1 et TNF $\alpha$ ) provoquent un afflux d'autres cellules dans l'alvéole et le parenchyme pulmonaire, qui pourraient être responsables des **modifications du tonus bronchique** (Deschamps, 1994). Ainsi le LPS inhalé peut provoquer une hyperréactivité bronchique, mais aussi une hyporéactivité bronchique, en fonction de la voie d'apport, de la dose et de la durée d'administration du LPS. Il existe un **phénomène de tolérance clinique à la fièvre des endotoxines** lors d'une exposition chronique. Celui-ci serait dû à l'absence d'augmentation (habituellement vu en exposition aiguë) d'un des médiateurs de l'inflammation lors des expositions répétées (Rylander, 1994).

### VIII.6.2. Effets sur la santé

En pratique, les effets sur l'organisme sont fonction de la quantité d'endotoxines impliquées et donc du taux de médiateurs libérés. Si ce dernier est modéré, les effets sont bénéfiques : fièvre modérée (Deschamps, 1994), stimulation générale du système immunitaire et lutte antibactérienne. S'il est très élevé, les effets sont néfastes : fièvre élevée, choc léthal, trouble de la coagulation et hypertension artérielle.

#### Fièvre d'inhalation

Les effets aigus de l'inhalation d'endotoxines constituent un syndrome pseudo-grippal repris sous le terme de fièvre d'inhalation ou fièvre du lundi (Organic dust toxic syndrome = ODTS).

Cette fièvre d'inhalation est bien connue comme **maladie des climatiseurs et humidificateurs**, et **chez les travailleurs du coton**. Les symptômes surviennent à la reprise du travail d'où ce nom de fièvre du lundi. Les travailleurs du coton ou de la laine sont victimes d'une dyspnée fébrile le lundi, moins forte les autres jours de la semaine avec des modifications cliniques et ventilatoires qui sont fonction de la quantité d'endotoxines inhalées et non de la poussière totale (Rylander, 1987).

Les travailleurs des **plantations de coton** ont été les premiers atteints d'une maladie appelée **byssinose** (toux chronique, gêne respiratoire, baisse de l'état général) La byssinose concerne principalement les ouvriers des filatures de coton, mais aussi les tisseurs de tapis et les ouvriers de l'industrie du sisal, du chanvre, du jute et des fibres de coco, ce qui confirme qu'elle n'est pas due à la fibre de coton elle-même. Elle se manifeste par une toux chronique et parfois une dyspnée aiguë, ces symptômes étant classiquement observés le lundi à la reprise du travail, mais pouvant s'étendre graduellement aux autres jours de la semaine : la gêne respiratoire devient permanente, un arrêt de travail entraîne une amélioration et la reprise du travail une rechute. Deux hypothèses ont émergé : 1) l'agent serait un composé chimique produit par le plant de coton, 2) des micro-organismes, particulièrement des bactéries Gram-négatives et leurs endotoxines, auraient contaminé le coton. Il est démontré que les altérations de la fonction pulmonaire sont directement liées à la quantité d'endotoxines présentes dans l'environnement, mais non à l'empoussièrément lui-même. Il existe, en effet, une relation dose-effets entre le niveau d'exposition aux poussières de coton et la prévalence de la byssinose, mais avec des différences de pente selon les études. En fait, la prévalence est plus fortement associée aux concentrations en endotoxines qu'en poussières totales, ce qui a été confirmé par des études expérimentales (Heederik, 1994). Par ailleurs il est prouvé qu'à côté des endotoxines, il existe d'autres agents toxiques dans la poussière de coton, notamment les tannins et le gossypol (Deschamps, 1994).

L'exposition expérimentale pendant 4 heures aux endotoxines des poussières de coton à des concentrations inférieures à 10 ng/m<sup>3</sup> n'entraînait pas de diminution significative du VEMS, alors que les périodes d'exposition à des concentrations supérieures à 50 ng/m<sup>3</sup> entraînaient une diminution significative de ce paramètre de la fonction respiratoire (Castellan; 1987; Jacobs, 1989).

**Tableau 27 : Nombre de périodes d'exposition aux poussières de coton avec une baisse du VEMS (Castellan, 1987)**

Poussières		Endotoxines	
mg/m <sup>3</sup>	Réponse / total	ng/m <sup>3</sup>	Réponse / total
0-0,2	4 / 8 (50%)	< 10	0 / 8 (0%)
0,2-0,5	67 / 89 (75%)	10-50	28 / 49 (57%)
> 0,5	8 / 11 (72,7%)	> 50	51 / 51 (100%)
Nombre de périodes: 108		Nombre de périodes: 108	

Une BAAE peut aussi se voir chez des personnes travaillant dans des locaux équipés de climatiseurs et d'humidificateurs.

## Potentialisation de l'asthme

Indépendamment des effets sur l'asthme allergique, pour lequel de multiples contaminants peuvent être en cause, plusieurs études ont démontré que l'inhalation d'air contaminé par des endotoxines est associée avec des **caractéristiques de l'asthme** : obstruction réversible et inflammation des voies aériennes, hyperréactivité bronchique et remaniement des voies aériennes.

Des études épidémiologiques ont montré que la concentration d'endotoxines inhalées dans les bioaérosols est fortement et régulièrement associée à **des obstructions réversibles des voies aériennes** chez les ouvriers du coton, les travailleurs du secteur agricole et des fibres de verre. Expérimentalement, l'inhalation d'endotoxines peut entraîner une obstruction réversible et une inflammation des voies aériennes chez des personnes en bonne santé sans antécédent d'une telle exposition (Schwartz, 2001). Cette manifestation se développe 4 à 6 heures après l'exposition et elle serait dose-dépendante. Elle a aussi été retrouvée expérimentalement (Rylander, 1994). Pourtant, tous les sujets exposés aux poussières contenant des endotoxines ne développent pas d'atteinte des voies aériennes : environ 10-15% des sujets développent une telle réponse après inhalation de quantités minimales de LPS et autant ont une réponse négligeable pour de fortes doses de LPS inhalé (Kline 1999).

## Bronchite chronique

Les études épidémiologiques et expérimentales animales suggèrent que l'exposition chronique aux endotoxines peut entraîner une **bronchite chronique** et une diminution de la fonction pulmonaire.

La bronchite chronique des fumeurs de cigarettes partage de nombreux traits cliniques et histologiques avec les maladies pulmonaires attribuées aux endotoxines bactériennes. Hasday (1999) a dosé du LPS et des bêta-D-glucanes dans la fumée avalée et exhalée. Ils ont estimé que la dose de LPS délivrée en 1 jour par la fumée de 20 cigarettes est comparable (2 400 ng) au niveau de l'exposition des travailleurs du coton exposés à la byssinose.

On suppose que l'exposition chronique par inhalation d'endotoxines peut augmenter la réponse immunitaire aux antigènes chez les hommes (effet adjuvant). On a observé, par exemple, que les sujets atopiques réagissent aux endotoxines à des niveaux inférieurs aux non atopiques (Heederik, 2000). Les réponses d'obstruction bronchique associée à une augmentation de la réactivité bronchique ont été démontrées chez les personnes asthmatiques ou souffrant de rhinite, exposées à des LPS purs (Heederik, 2000). Pour Michel (1996), chez les patients allergiques aux acariens, la sévérité de l'asthme est reliée à la concentration en endotoxines présentes dans la poussière de maison.

Des signes inflammatoires, souvent modérés, des voies aériennes supérieures, regroupés sous le terme de syndrome respiratoire non spécifique (SNRS ou MMI) peuvent également être associés à l'exposition aux endotoxines par inhalation. Ce syndrome peut se développer après plusieurs semaines d'exposition à des doses relativement faibles. Des travaux expérimentaux ont quantifié, après administration locale de LPS, la réaction inflammatoire (par la mesure des médiateurs de l'inflammation et des cellules impliquées dans ce mécanisme) au niveau des muqueuses nasales et du liquide bronchoalvéolaire (Sigsgaard, 2000 Sandström 1992). Dans l'étude du liquide nasal (Sigsgaard, 2000), la réaction apparaissait 6 heures après l'exposition et elle était moins forte chez les sujets symptomatiques.

### **VIII.6.3. Tests diagnostics et fonctionnels**

**La radiographie pulmonaire** lors d'un ODTS est normale.

**L'exploration fonctionnelle respiratoire** (EFR) permet d'évaluer le syndrome obstructif et ou restrictif

**La NFS et l'analyse du liquide de lavage bronchoalvéolaire (LBA)** permettent d'évaluer l'état d'inflammation. Le bilan biologique n'indique qu'une hyperleucocytose modérée.

**La méthode du lavage nasal** a été proposée pour établir les effets inflammatoires de l'exposition aux endotoxines (et aux (1→3)-β-D-glucanes) sur les voies aériennes chez des travailleurs exposés. Le test Limulus (LAL) semble être le test le plus sensible et spécifique pour détecter et mesurer les endotoxines bactériennes. L'hémolymphe d'un crabe le *Limulus polyphenus* contient des cellules sanguines nommées amœbocytes qui contiennent un système enzymatique qui est activé par l'endotoxine. Il reconnaît également le (1→3)β-D-glucane mais une inhibition enzymatique de la voie de reconnaissance alterne permet de discriminer entre ce dernier et le LPS (EU 1 unité internationale correspond à environ 0,1 nanogramme d'endotoxine standard *E. coli* 055:B5). Le (1→3)β-D-glucane est aussi dosé par enzymoimmunos dosage.

Des lavages ont ainsi été réalisés avant et après poste de travail chez des travailleurs dans des sites de compostages en 1995 (n = 14) et en 1996 (n = 16), la population de référence n'étant pas exposée. Dans la première étude, les concentrations d'endotoxines dans l'air allaient de 75 à 527 EU/m<sup>3</sup> (0,54-4,85 μg/m<sup>3</sup> pour les (1→3)-β-D-glucanes), dans la seconde étude : 29-285 EU/m<sup>3</sup> pour les endotoxines (0,36-4,44 μg/m<sup>3</sup> pour les (1→3)-β-D-glucanes). Dans la première étude, les concentrations en cellules totales et en marqueurs de l'inflammation (IL-8, myéloperoxydase...) avant prise du poste étaient significativement plus élevées chez les travailleurs de compost que dans la population de référence. Les ratios après / avant poste de travail étaient significativement plus élevés chez les travailleurs de compost dans les deux études. Les résultats ne permettaient pas de définir une relation dose effet avec un seuil sans risque (Douwes, 2000).

L'exposition professionnelle au compost peut entraîner des réactions d'inflammation (sub) chroniques dans les voies aériennes supérieures, induites par des agents pro-inflammatoires tels que les endotoxines et les (1→3)-β-D-glucanes. L'étude de **produits d'expectoration** a montré une augmentation des polynucléaires neutrophiles et des IL-8 chez les sujets exposés expérimentalement aux LPS, qu'ils soient asthmatiques ou non (Nightingale, 1998).

Comme on peut le voir, il n'existe pas de biomarqueurs spécifique d'effet ou d'exposition.

### **VIII.6.4. Voies d'exposition habituelles et populations exposées**

Les principales populations exposées sont les personnels des stations d'épuration, des stations de tri de déchets et de compostage, des industries textiles et de l'industrie agro-alimentaire (coton, sisal, chanvre, jute, fibre de coco, élevage d'animaux en milieu confiné...), et des sujets travaillant dans des locaux avec humidificateurs et climatiseurs. Le réservoir de bactéries Gram-négatives est directement lié à leur forte concentration aérienne dans ces milieux professionnels et l'exposition se fait par inhalation (Delaunay, 1997).

### **VIII.6.5. Relation dose-effets**

Pour Heederik (1996), le niveau sans effet pour la santé va selon les effets de 170 ng/m<sup>3</sup> à 9 ng/m<sup>3</sup>.

Un seul organisme international a réalisé une évaluation pour l'exposition professionnelle aux endotoxines, d'après l'American Thoracic Society (1998) : l'ICOH (International Commission on Occupational health) en 1993 a suggéré des seuils de réponse pour différents effets liés aux endotoxines des bactéries Gram-négatives :

- 1000-2000 ng/m<sup>3</sup> pour ODTS,
- 100-200 ng/m<sup>3</sup> pour la bronchoconstriction aiguë
- 20-50 ng/m<sup>3</sup> pour le syndrome respiratoire non spécifique.

Ce rapport précise que ces niveaux doivent être plus bas pour les sujets sensibles. Un rapport plus récent du même organisme suggère des valeurs guide pour des doses sans effets, d'endotoxines environnementales, nettement plus basses :

- 200 ng/m<sup>3</sup> pour l'ODTS
- 100 ng/m<sup>3</sup> pour les effets systémiques
- 10 ng/m<sup>3</sup> pour l'inflammation des voies respiratoires

Ce sont ces valeurs qui font actuellement référence

Aux Pays Bas le conseil national sur la santé (National Health Council) a proposé une valeur limite moyenne d'exposition de 50 EU/m<sup>3</sup>, soit un équivalent de 45 EU/m<sup>3</sup> sur 8 heures.

Pour les effets chroniques, l'ICOH a suggéré une valeur en milieu du travail :

- dans les filatures de coton: 1,0-20 ng endotoxines/m<sup>3</sup>
- dans l'industrie d'aliments pour animaux: 0,2-470 ng endotoxines/m<sup>3</sup>, en se basant sur les effets respiratoires (en particulier la bronchoconstriction).

Une TLV (Threshold Limit Value: Valeur limite d'exposition ; TWA : Time Weight Average) de 100 à 200 ng/m<sup>3</sup> a été proposée pour les endotoxines dans une usine de tri des déchets danoise (Sigsgaard, 1990 *in* Millner, 1994), avec une valeur moyenne d'exposition sur 8 heures (TWA) de 1000 UFC/m<sup>3</sup> pour les bactéries Gram-négatives et maintien du niveau moyen de bactéries totales entre 5 000 et 10 000 UFC/m<sup>3</sup> (Sigsgaard, 1990).

### **VIII.6.6. Facteurs de risque**

Chez les asthmatiques l'inhalation aiguë d'endotoxines entraîne une bronchoconstriction et une baisse du seuil de réactivité bronchique associée à une réponse inflammatoire au niveau sanguin et le seuil de non réponse chez ces personnes est probablement très inférieur à 0500 ng de LPS (soit 50 ng/m<sup>3</sup> pendant 10 heures) par inhalation (Michel, 1998). Chez les sujets sensibilisés, l'exposition aux acariens semble être seulement l'un des nombreux facteurs conduisant à l'asthme et les endotoxines pourraient agir comme des composés pro-inflammatoires en association avec l'exposition à ces allergènes et influençant la sévérité de l'asthme. Dans une étude chez 69 personnes sensibilisées aux acariens, la sévérité de l'asthme n'était pas liée aux concentrations d'acariens dans les poussières de maison, alors qu'elle était liée à l'exposition concomitante aux endotoxines dans les poussières de maison. En effet, cette concentration d'endotoxines était significativement et inversement corrélée avec certains



paramètres respiratoires (VEMS, VEMS/CVF), la consommation quotidienne de corticoïdes inhalés et de  $\beta$ -2 mimétiques, et les scores cliniques. Chez les sujets sensibilisés aux acariens des poussières de maison exposés à un fort niveau d'allergènes, la concentration d'endotoxines mesurée dans les poussières est un facteur important pour la sévérité de l'asthme (Michel, 1996). L'inhalation d'endotoxines peut donc exacerber l'obstruction et l'inflammation des voies aériennes chez les personnes souffrant d'asthme allergique et les résultats des diverses études expérimentales ont montré d'une part que l'allergie respiratoire peut augmenter la réponse à l'inhalation d'endotoxines et d'autre part que l'inhalation d'endotoxines peut augmenter la réponse des voies aériennes aux allergènes (Schwartz, 2001).

De même que les effets seraient majorés chez les asthmatiques, une détresse respiratoire pourrait apparaître si certains facteurs favorisants sont présents : **hypoxie, brûlures ou pathologie pulmonaire concomitante** (Deschamps, 1994).

Des **facteurs génétiques** peuvent également influencer les réactions à l'inhalation d'endotoxines : dans une étude chez 72 volontaires sains avec des doses croissantes de LPS par inhalation, 8 sujets étaient « sensibles » avec une diminution de VEMS de 20% après l'inhalation de 6,5  $\mu$ g de LPS ou moins, tandis que 11 étaient « hyposensibles » maintenant leur VEMS à plus de 90% de leur niveau de base même après inhalation de 41,5  $\mu$ g de LPS. Des séries de tests ont montré que ces réponses étaient reproductibles. Les sujets sensibles étaient plus souvent des femmes et les hyposensibles plus souvent des hommes (Kline, 1999).

## VIII.7. AUTRES COMPOSÉS ET INTERACTIONS

### VIII.7.1. (1→3)- $\beta$ -D-glucanes

#### VIII.7.1.1. Introduction

Les **glucanes** sont des polysaccharides que l'on trouve dans les parois cellulaires, entre autres, des champignons, certaines bactéries et actinomycètes. *Actinomyces*, *Streptomyces* et de nombreux champignons produisent ainsi des glucanes. Les glucanes ayant les plus puissants effets immunobiologiques sont les (1→3)- $\beta$ -D-glucanes, glucanes composés de glucoses unis par des liaisons  $\beta$ -(1→3), dont la source principale est la paroi cellulaire des champignons (Millner, 1994; Williams, 1994).

#### VIII.7.1.2. Mécanismes d'action

Les (1→3)- $\beta$ -D-glucanes ont une action immunologique, ils pourraient jouer un rôle seuls ou en interaction avec les endotoxines ou d'autres agents environnementaux dans le développement des asthmes professionnels qui apparaissent chez des travailleurs exposés aux poussières organiques (Delaunay, 1997).

Les (1→3)- $\beta$ -D-glucanes peuvent induire des réactions biologiques chez les vertébrés, aboutissant à une augmentation de la résistance aux infections et à une activité anti-tumorale. Les (1→3)- $\beta$ -D-glucanes peuvent induire une activation et une prolifération des lymphocytes T dans les expérimentations animales. Les mécanismes biologiques en jeu dans les effets respiratoires présumés qui leur sont attribués doivent être néanmoins clarifiés (Heederik, 2000).

Le principal mécanisme d'action des (1→3)- $\beta$ -D-glucanes passe par la stimulation de l'activité de phagocytose des macrophages. Une des principales conséquences de cette activation est la sécrétion de facteurs de stimulation, (en particulier IL-1 et IL-2). On pense que la stimulation de la libération de l'IL-1 par les macrophages, induite par les glucanes,

initie la cascade d'effets immunologiques qui culminent dans l'activation de divers paramètres immuns.

Les (1→3)-β-D-glucanes ont la capacité d'amorcer différents systèmes cellulaires résultant en une sensibilisation, en particulier aux endotoxines bactériennes et à l'infection. Des données expérimentales par inhalation chez des animaux ont montré que l'exposition aux endotoxines associées aux glucanes aboutit à une réponse cellulaire inflammatoire moindre que celle observée avec les LPS seules (Sigsgaard, 2000 ; Williams, 1994).

#### **VIII.7.1.3. Effets sur la santé**

Il n'y a pas de données d'effets sur la santé que l'on puisse spécifiquement relier à la présence de (1→3)-β-D-glucanes lors d'exposition aux poussières organiques. Puisqu'ils sont de puissants stimulateurs des macrophages, des lymphocytes T et des cytokines, Williams (1994) a soulevé l'hypothèse qu'ils puissent, par eux-mêmes ou par interaction avec des endotoxines ou d'autres composés, jouer un rôle dans le développement d'asthme professionnel qui apparaît chez des personnes exposées aux poussières organiques. Ils pourraient aussi induire des granulomes pulmonaires en expérimentation animale et pourraient donc également contribuer au développement de BAAE (Williams, 1994). Une étude expérimentale a montré une légère augmentation de la sévérité des symptômes d'irritation du nez et de la gorge chez 26 sujets exposés pendant 4 heures à des aérosols de (1→3)-β-D-glucanes, à environ 210 ng/m<sup>3</sup>. Dans cette même étude, 16 sujets non atopiques et asymptomatiques avaient une diminution faible mais significative du VEMS en cours d'exposition et 3 jours après (Heederik, 2000).

Dans une étude portant sur 75 logements humides où l'exposition aux glucanes, bien que non significative, variait de 9 à 19 ng/m<sup>3</sup>, une relation entre l'exposition et une augmentation de la prévalence de l'allergie, de marqueurs non spécifiques de l'inflammation, et avec le VEMS, était retrouvée (Thorn, 1998).

Au total, des études expérimentales ont montré l'action des (1→3)-β-D-glucanes sur le système immunitaire cellulaire et son rôle inhibiteur sur l'action des endotoxines. On dispose de peu d'études sur les effets sur la santé. Les travaux existants font état d'atteinte de la fonction respiratoire (baisse du VEMS) mais des études supplémentaires sont nécessaires.

#### **VIII.7.1.4. Relation dose-effet**

Quelques études ont utilisé les mesures des (1→3)-β-D-glucanes dans l'air intérieur des habitations pour estimer l'exposition aux moisissures et évaluer la relation avec les effets sur la population exposée. Les études revues par Rylander ont montré une relation entre l'exposition aux (1→3)-β-D-glucane comme indicateur de la biomasse de moisissure, et l'importance des symptômes d'inflammation des voies aériennes et des yeux (irritation nasale, oculaire et de la gorge, toux sèche), la fatigue et les céphalées. Certaines données montrent que les mesures objectives de l'inflammation étaient aussi liées à l'exposition. Dans certaines de ces études, une relation dose-effets a pu être démontrée, pour des teneurs en (1→3)-β-D-glucanes de moins de 0,1 ng/m<sup>3</sup> à 5,2 ng/m<sup>3</sup>. Les mesures de terrain de (1→3)-β-D-glucanes peuvent donc être utilisées comme indicateur de risque. Mais même s'il existe une relation entre effets de l'air intérieur et quantité de (1→3)-β-D-glucanes, cela n'apporte pas la preuve d'une relation causale car si les β-D-glucanes sont un indicateur de biomasse fongique, les champignons contiennent de nombreux autres composés susceptibles d'avoir des effets biologiques (Rylander, 1999). Ce même auteur a proposé en 1997 une valeur guide de 10 ng/m<sup>3</sup> pour les risques d'inflammation respiratoire (Rylander, 1998).

### VIII.7.2. Autres composés

L'inflammation des voies respiratoires n'est pas nécessairement due à l'exposition aux LPS mais peut être associée à la concentration de **peptidoglycanes** dans l'air comme cela a été montré chez 38 volontaires sains exposés à des poussières en élevage confiné de porcs (Heederik, 2000). Les peptidoglycanes sont principalement trouvés dans les parois cellulaires des bactéries Gram-positives, bien qu'ils puissent être trouvés en petites quantités dans les parois cellulaires des bactéries. Ils peuvent servir de marqueurs de la présence de bactéries Gram-positives qui sont connues pour produire des réactions inflammatoires systémiques similaires à celles engendrées par les endotoxines ou les bactéries Gram-négatives. La paroi cellulaire des bactéries Gram-positives est connue pour contenir plusieurs éléments qui peuvent intervenir sur les cellules des voies aériennes.

Dans l'étude citée plus haut, la concentration de peptidoglycanes était associée à la température corporelle 3 heures après l'exposition, aussi bien qu'aux niveaux d'IL-6 sériques et aux nombres de polynucléaires et leucocytes sanguins. Les niveaux de LPS dans l'air étaient uniquement associés avec les niveaux d'IL-6.

Les **protéases** (Stewart, 1994) sont des enzymes ubiquitaires qui hydrolysent les protéines et les peptides. Elles jouent un rôle important dans des processus biologiques variés comprenant la digestion, l'activation hormonale, la coagulation et la formation de médiateurs de l'inflammation, et ont des propriétés liées à leur capacité à digérer les protéines. Elles sont présentes dans les poussières organiques, venant d'un certain nombre de sources dont les extraits de tissus animaux et de plantes. Le fait que l'exposition aux protéases soit associée à des effets sur la santé est connu depuis plusieurs dizaines d'années, mais c'est surtout l'introduction de protéases bactériennes dans les détergents dans les années 60 qui a mis en relief les conséquences d'une telle exposition. Les protéases concernées étaient les 27-kDa subtilisines et l'exposition était liée à l'apparition de symptômes par des mécanismes immunologiques et non immunologiques. L'exposition aux poussières organiques contenant des protéases peut entraîner une grande variété de troubles non immunologiques tels que des dermatites de contact, des lésions buccales, une irritation pulmonaire, une inflammation et un emphysème. Les effets sont probablement dose-dépendants de la concentration et liés à la capacité des protéases à dégrader les protéines, à stimuler la libération des protéases de l'hôte, à activer les cellules pro-inflammatoires telles que les mastocytes, à induire une hyperréactivité aux médiateurs mastocytaires, à activer des composés du complément, à entraîner une hyperplasie et une sécrétion des glandes muqueuses, et à modifier la perméabilité épithéliale.

De plus, l'exposition aux protéases a une importance dans l'asthme allergique domestique et professionnel aussi bien que dans la rhinite. Bien que la nature précise de cette relation ne soit pas claire, les individus génétiquement susceptibles développent des réactions médiées par les IgE avec une relative facilité. Il est donc possible que les propriétés des protéases puissent augmenter l'immunogénicité.

Les études chez les travailleurs de l'industrie du coton suggèrent une corrélation entre la concentration de protéases aéroportées et les symptômes de bronchite chronique ou de byssinose. Il est aussi possible que l'exposition aux enzymes des poussières de coton puisse induire des réactions d'hypersensibilité immédiate et puisse jouer un rôle pour le développement d'asthme professionnel après exposition aux poussières de coton.

L'exposition aux protéases entraîne probablement le développement d'asthme et de rhinite par hypersensibilité immédiate. L'ACGIH a recommandé une TLV pour les protéases bactériennes de 60 ng/m<sup>3</sup> (1989).

### VIII.7.3. Interactions

Expérimentalement, l'activation des cellules de LBA chez des cobayes par des **spores fongiques** seules est supérieure à celle produite par **des LPS**. Mais les cellules prétraitées par des LPS montraient une plus grande réaction quand elles étaient ensuite stimulées par des spores fongiques, ce qui laisse supposer que l'inhalation concomitante de LPS et de spores pourrait peut-être provoquer des pathologies pulmonaires anormales (Shahan, 1994).

Expérimentalement, il existe une synergie d'action entre **les endotoxines et les (1→3)-β-D-glucanes** et l'exposition combinée à ces deux composés entraîne une inflammation pulmonaire étendue. D'autres agents pourraient également agir en synergie avec les endotoxines : protéases, tannins et mycotoxines (Rylander, 1997).

Expérimentalement, des macrophages de souris ont été traités, *in vitro*, avec des suspensions concentrées de particules aéroportées. La présence d'**endotoxines** à l'état de traces dans ces particules entraînait une production plus importante de cytokines inflammatoires que celle attendue pour des particules seules, montrant une synergie d'action avec d'autres composants des particules pour l'activation des macrophages pulmonaires (Ning, 2000).

Les interactions entre endotoxines et agents xénobiotiques ont été étudiées expérimentalement (Roth, 1997). Il y a ainsi beaucoup d'études dont les résultats montrent que l'exposition aux endotoxines peut influencer l'importance des atteintes hépatiques pour certains produits hépatotoxiques tels que le tétrachlorure de carbone, le cadmium, l'éthanol, l'halothane, les alcools allyles. L'activation des cellules inflammatoires par l'exposition aux LPS est probablement responsable de l'augmentation de la réponse toxique, plutôt que d'une action hépatotoxique directe des LPS.

Expérimentalement, l'infection virale augmente la réponse pulmonaire chez les souris (étude du LBA : augmentation du nombre total de cellules et des médiateurs de l'inflammation) soumises à une provocation par *Micropolyspora faeni* (responsable du poumon de fermier). Cette augmentation de réponse est plus grande que les effets combinés du virus et de *Micropolyspora faeni*, et persiste au-delà de l'infection virale. Ces résultats supportent l'hypothèse que l'infection virale pourrait jouer un rôle d'initiation dans la pneumopathie d'hypersensibilité (Cormier, 1994).

## **IX. RISQUES AÉROPORTÉS LIÉS AU COMPOST**

### **IX.1. ETUDE DE CAS**

Très peu d'études rapportent des effets sur la santé liés à l'exposition aux émissions atmosphériques du compost. Six cas sont cités dans la littérature.. Deux concernent des employés en usine de compostage alors qu'un troisième est un paysagiste ayant manipulé du compost de copeaux de bois et de feuilles. Un cas est rapporté chez un particulier ayant manipulé son propre compost pendant plusieurs week-end (épandage sur la pelouse). Le cinquième cas se rapporte à un particulier résidant aux alentours d'une aire de compostage et le sixième est un jardinier ayant manipulé du compost pendant 14 ans.

#### **IX.1.1. Bronchoalvéolite allergique extrinsèque**

Un homme de 20 ans en bonne santé a consulté en raison d'une dyspnée, une toux sèche et une fièvre évoluant depuis 3 jours. Il avait commencé à travailler 2 mois auparavant dans une usine de compostage de végétaux où il était régulièrement exposé aux poussières, lors du brassage des tas de compost en cours de fermentation. Aucune mesure de micro-organismes dans l'air ou dans le compost n'est fournie. L'état du patient s'est rapidement amélioré. Un second épisode eut lieu trois semaines plus tard, 6 heures après la visite d'un collègue venu en vêtement de travail, visite que l'on peut assimiler à un test de provocation. Les examens complémentaires étaient similaires et un test sérique à la recherche de précipitines contre *A. fumigatus* était fortement positif, alors que la recherche de précipitines contre des actinomycètes thermophiles et contre d'autres champignons était négative. Ce patient, bien qu'immunocompétent et n'ayant reçu que des doses modérées de cortisone, développa alors une aspergillose broncho-pulmonaire invasive. Les modifications du parenchyme pulmonaire dues à la BAAE avaient probablement altéré ses défenses immunitaires locales, le prédisposant alors à une aspergillose invasive. L'évolution fut rapidement favorable sous traitement antifongique, du fait de l'absence d'immunodépression (Vincken, 1984).

Un cas de BAAE à *A. fumigatus* a été rapporté chez un employé de centre de compostage en Allemagne par Schappler-Scheele (1999).

#### **IX.1.2. Bronchoalvéolite allergique extrinsèque ou syndrome toxique à la poussière organique**

Un paysagiste de 52 ans a présenté une atteinte pulmonaire avec fièvre, myalgies, céphalées et dyspnée 12 heures après la manipulation d'un compost de déchets verts (copeaux de bois et feuilles). L'auscultation montrait des crépitations à l'inspiration, il y avait une hypoxie et des infiltrats pulmonaires bilatéraux à la radiographie. Les tests sérologiques (précipitines) pour les antigènes habituels, effectués dans deux laboratoires, n'étaient pas concluants : l'un ne trouvait pas de précipitines pour 10 antigènes courants dans la BAAE, alors que l'autre trouvait des titres élevés d'anticorps anti *A. flavus* et *A. niger*. L'état du patient s'est amélioré en 3 jours et un mois plus tard, toutes les explorations fonctionnelles respiratoires étaient normales. Les résultats des tests sériques effectués à nouveau par les deux laboratoires étaient identiques aux résultats initiaux. Lors de la reconstitution de l'exposition, l'examen microscopique des poussières montrait une prédominance de spores et on a mesuré dans l'air  $1,4 \cdot 10^6$  à  $4,7 \cdot 10^8$  UFC/m<sup>3</sup> de champignons,  $6,3 \cdot 10^5$  à  $7,7 \cdot 10^8$  UFC/m<sup>3</sup> de bactéries (majoritairement des bactéries Gram-négatives), 636 à 16 300 EU (endotoxin units)/m<sup>3</sup> (63,6 ng à 1630 ng/m<sup>3</sup>) et de

$1,3.10^8$  à  $3,7.10^9$  spores/m<sup>3</sup>. Pour les auteurs il est très difficile de différencier BAAE et ODTs, les symptômes étant très similaires et la présence de signes radiologiques n'étant pas toujours reconnue comme spécifique d'une BAAE (Weber 1993).

### **IX.1.3. Pneumopathie d'hypersensibilité**

Dans ce troisième cas (Brown, 1995), il s'agissait d'une personne de 39 ans qui a présenté à 3 reprises, 2 heures après l'épandage de son compost sur sa pelouse, des difficultés respiratoires, une fatigue, une toux productive, une petite fièvre, frissons et douleurs articulaires. La clinique et les examens complémentaires étaient en faveur du diagnostic de pneumopathie d'hypersensibilité et la recherche de précipitines (technique de gel en double diffusion) était positive pour thermoactinomycètes et pour un mélange de son propre compost. Ce patient avait par ailleurs des antécédents de rhinite allergique. Aucune mesure de concentrations en micro-organismes n'a été réalisée.

### **IX.1.4. Aspergillose broncho-pulmonaire**

Aux Etats-Unis, dans une aire de compostage municipal de feuilles, un cas d'aspergillose broncho-pulmonaire a été rapporté. La résidence du patient était située à environ 75 m de l'aire de compostage et la concentration élevée de spores aéroportées provenant de ce lieu a été rendue responsable de cette atteinte. Les échantillons d'air prélevés ont révélé aussi la présence de spores d'autres micro-organismes, mais celles d'*A. fumigatus* dominaient. Les auteurs signalaient toutefois que le patient était atteint d'asthme depuis l'enfance et affirment que la présence d'*A. fumigatus* aurait seulement aggravé sa maladie sans la provoquer (Lessard, 1992). Les prélèvements d'air dans la résidence du patient montraient des concentrations d'*A. fumigatus* de 1,2-2,4 UFC/m<sup>3</sup> et à 5 autres sites de prélèvement dans un rayon de 1,5 miles autour du site de 1,6 à 11,8 UFC/m<sup>3</sup>. Les concentrations au niveau du site de compostage étaient de 60 à 385 UFC/m<sup>3</sup> et il n'y a pas eu d'échantillonnage entre la résidence du patient et le site de compostage. D'autre part, la zone entre ce site et la résidence comportait des sources possibles d'*Aspergillus* (Kramer, 1989).

### **IX.1.5. Aspergillose pulmonaire invasive**

Un cas d'aspergillose pulmonaire invasive a été aussi rapporté chez un homme de 34 ans ayant travaillé comme jardinier, et donc manipulé du compost, pendant 14 ans. Celui-ci n'avait pas de facteurs prédisposants, était hétérosexuel et n'était pas toxicomane (d'après ses dires). *Aspergillus fumigatus* a été isolé des crachats la veille de son décès. Il n'y avait pas de précipitines à *Aspergillus*. On ne dispose pas de données sur les concentrations environnementales sur son lieu de travail (Zuk, 1989).

## **IX.2. ETUDES EPIDEMIOLOGIQUES**

### **IX.2.1. Milieu professionnel**

L'étude du risque microbiologique aéroporté dans le compostage des déchets municipaux solides est encore restreinte. On recense 5 études épidémiologiques de type transversale (déchets verts + FFOM) qui ont porté sur cette question. Parmi les études recensées, il faut distinguer des travaux auprès de travailleurs du compost chez lesquels différents

symptômes cliniques ont été recensés. En parallèle des mesures de bioaérosols ont parfois été réalisées sans qu'un lien de causalité puisse être établi. On notera la difficulté à réaliser des études épidémiologiques en raison des petites tailles de population de travailleurs concernés.

Heida (1995), dans une station de compostage industriel en système couvert produisant un compost en 8 semaines, rapporte des plaintes fréquentes de troubles respiratoires et d'infections des voies aériennes supérieures parmi le personnel. Le nombre de personnes concernées par l'étude n'est pas précisé. Les résultats microbiologiques montraient une concentration de bactéries totales dans l'air supérieure à  $28.10^3$  UFC/m<sup>3</sup>, dont 3,6 à  $9.10^3$  UFC/m<sup>3</sup> de bactéries Gram-négatives (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Shigella* et *Yersinia*) et 5,8 à  $9.10^3$  UFC/m<sup>3</sup> de champignons dont 60% d'*A. fumigatus*, 20% de *Penicillium* et 10% de *Rhizopus* et *Mucor* ; les actinomycètes thermophiles n'ont pas été mesurés.

Ces résultats sont assez similaires à ceux trouvés lors de l'évaluation du risque microbiologique aéroporté d'une station de compostage industriel d'ordures ménagères de Muriannette (Delaunay, 1997). Pour les 7 agents d'exploitation, les plaintes principales étaient des signes d'irritation ORL (gorge sèche), oculaires et respiratoires (toux sèche) survenant 4 à 12 heures après la prise de poste, tandis que les troubles digestifs et les céphalées étaient récurrents. Les résultats des EFR n'ont pas montré de variation significative.

Millner (1994) rapporte aussi les résultats d'une étude publiée par Lundholm (1980). Chez 4 sur 13 des travailleurs d'une usine expérimentale de compostage des déchets (ordures ménagères biodégradables et boues de STEP), il était rapporté une plus forte incidence de symptômes subjectifs tels que des nausées, des maux de tête et des diarrhées, attribués à l'exposition possible aux endotoxines (concentrations en bactéries Gram-négatives :  $3.10^4$  à  $5.10^5$  UFC/m<sup>3</sup>).

Compte-tenu du petit nombre de personnes étudiées et de la mauvaise documentation sur ces études, ceci ne permet pas de tirer des conclusions.

La seule étude longitudinale est rapportée par Epstein (1996) et par Millner (1994) mais elle fait référence à une publication (Chesapeake Occupational Health Services, 1991) à laquelle nous n'avons pu avoir accès. Ces résultats sont donc présentés à titre d'information et doivent donc être interprétés avec prudence. Dans cette étude sur 5 ans, conduite auprès de 242 travailleurs (46 participants en moyenne chaque année) dans une usine de compostage aux USA (Maryland), les 242 examens sanguins n'ont jamais détecté la présence d'anticorps contre *A. fumigatus*. Les données ont montré que les symptômes respiratoires diminuaient ou restaient inchangés durant les 5 ans. Les épisodes rapportés d'asthme, de bronchite et de difficulté respiratoire étaient très peu nombreux. Les faibles modifications spirométriques observées pouvaient être attribuées au tabagisme et les radiographies pulmonaires n'ont rien montré de spécifique. L'étude concluait qu'il n'y avait pas de preuve d'effet adverse lié à *A. fumigatus*.

Plus intéressantes sont les études transversales qui ont comparé l'importance de manifestations cliniques et paracliniques entre différents groupes de travailleurs et parfois avec des groupes témoins. Néanmoins, les études transversales ont tendance à sous-estimer le risque pour la santé de l'exposition à un environnement professionnel du fait de l'effet bonne santé des travailleurs (effet du travailleur sain) ce qui pourrait expliquer aussi pourquoi ces différentes études trouvent souvent des concentrations d'IgE sériques significativement moins élevées et une moindre proportion de sujets atopiques chez les travailleurs exposés aux bioaérosols. Aucune étude longitudinale n'a été

conduite, incluant les travailleurs ayant quitté leur travail pour des raisons allergiques ou autres. Comme on le verra dans les études présentées ci-dessous, la causalité des problèmes de santé liée à l'exposition aux bioaérosols n'a pas été démontrée pour les travailleurs du recyclage des déchets.

Les deux premières publications sont assez mal documentées et il est difficile d'en tirer des enseignements.

Ainsi la publication de (Marth, 1996) fait état des plaintes de 137 salariés de trois usines de compostage et de deux stations de tri des ordures ménagères. Le résumé de cette étude est cependant succinct. Les plaintes principales étaient la gorge sèche (signalée par 38% des travailleurs), une toux sèche (35%), une infection pulmonaire (23%), des diarrhées (18%), des douleurs articulaires (13%) et des conjonctivites (12%). Les EFR effectuées en début et fin de poste de travail étaient normales et ne montraient pas de différence entre les groupes. Il n'y avait pas de différence significative de maladies allergiques. Bien que les niveaux d'IgE des employés de stations de tri soient augmentés, il n'a pas été établi de lien de causalité entre les concentrations en IgE et la durée d'emploi dans l'usine. L'incidence des IgE spécifiques contre les antigènes de champignons était significativement supérieure parmi les employés de ces centres de traitement comparativement à 1 groupe de référence (qui n'est pas décrit).

Le travail de Clark (1984) sur une station de compostage mixte de boues et de déchets de bois est déjà ancien. Cette étude cas-témoins (107 sujets exposés et 42 témoins) a été menée pendant 2 ans dans une station de compostage mixte de boues et copeaux de bois (Clark, 1984). Durant la première année, les sujets exposés se sont surtout plaints de brûlures oculaires et, à l'examen clinique, il était observé des infections cutanées et des atteintes auriculaires, oculaires et nasales. Trois employés ont présenté des infections auriculaires aiguës et une infection auriculaire chronique pour laquelle le seul organisme pathogène retrouvé était *Aspergillus niger*. La différence n'était cependant pas significative pour les atteintes cutanées et d'après Epstein (1996), une des atteintes auriculaires ne pouvait être reliée au compost. 70% des personnes travaillant au contact du compost étaient des porteurs sains d'*A. fumigatus* dans les narines. Dans le sérum des sujets fortement exposés, on trouvait de hauts niveaux d'IgG dirigés contre les LPS des bactéries du compost. En revanche, il n'a pas été trouvé d'augmentation significative des anticorps contre *A. fumigatus*. Les concentrations de bactéries Gram-négatives étaient de  $10^5$  à  $37.10^4$  UFC/m<sup>3</sup>, celles d'endotoxines étaient relativement basses (1-42 ng/m<sup>3</sup>) mais ce dosage n'était pas très fiable en 1984. Des champignons du genre *Aspergillus* étaient également identifiés.

Les travaux les plus intéressants sont ceux de Sigsgaard (1994) et de Bünger (2000).

Une étude transversale danoise (Sigsgaard, 1994a) a évalué les symptômes respiratoires et d'irritation dans différentes populations de travailleurs exposés aux micro-organismes aéroportés : dans une usine de tri de papiers (n = 20), dans un site de compostage (n = 8) et dans une usine de tri des déchets (n = 44). La population de référence (n = 119) concernait des travailleurs d'une usine de traitement d'eau potable. Il n'y avait pas de différence significative dans la consommation de tabac de ces différents groupes. Le nombre total de micro-organismes était significativement plus élevé dans les sites de tri de déchets et de compostage par rapport au site de tri de papier et à la station d'épuration. Les concentrations de bactéries Gram-négatives étaient significativement plus élevées dans le site de compostage et le tri des déchets que dans le site témoin. Les concentrations d'endotoxines étaient faibles et ne différaient pas significativement : le tableau 29 résume l'ensemble de ces paramètres.



Tableau 28 : Concentrations moyennes (écart-type) en bioaérosols dans différents types d'usine d'après Sigsgaard, 1994a

	Témoins	Tri du papier	Compost	Tri des déchets
<b>Poussières totales (mg/m<sup>3</sup>)</b>	0,42 (0,25)	0,83 (0,57)	0,62 (0,57)	0,74 (0,77)
<b>UFC / m<sup>3</sup></b>	76 (38)	4733 (5891)*	54369 (77070)*♦	46133 (125503)*♦
<b>Bactéries Gram négatives (UFC/m<sup>3</sup>)</b>	10 (1)	4092 (10092)	4521 (5220)*	4828 (11514)*
<b>Endotoxines (ng/m<sup>3</sup>)</b>	2,5 (3,9)	1,3 (1,5)	0,8 (1,1)	2,5 (4,4)♦
<b>Moisissures (UFC/m<sup>3</sup>)</b>	10 (1)	5229 (5449)*	26884 (67556)	14372 (30990)*
<b>Nombre d'échantillons</b>	6	18	13	50

\*comparaison avec les témoins p < 0,05

♦comparaison avec le groupe tri du papier p < 0,05

L'état de santé des travailleurs était évalué par un interrogatoire à l'aide d'un questionnaire. Les auteurs ont observé une prévalence significativement augmentée de différents symptômes chez les sujets travaillant au tri des déchets par rapport à ceux du site témoin : oppression thoracique, syndrome pseudo-grippal, irritation oculaire et nasale, toux sèche ou d'irritation, mais aussi nausées et vomissements (tableau 30). L'ODTS était exclusivement associé au travail dans le tri des déchets (et à une prédisposition familiale à l'atopie, en analyse multivariée).

Dans cette étude les troubles gastro-intestinaux n'étaient pas augmentés chez les travailleurs du compost. On peut noter néanmoins qu'une autre analyse (Malmros, 1991) sur les mêmes données et citée par Poulsen (1995) fait état de nausées, diarrhées et vomissements significativement plus fréquents parmi les travailleurs d'une usine de compostage de déchets verts (OR = 7,5 ; IC<sub>95%</sub> = 1,2-48,1) par rapport site témoin.

Tableau 29 : Symptômes respiratoires parmi les travailleurs de centre de recyclage danois d'après Sigsgaard, 1994a

Symptômes	Témoins (n%)	Tri du papier (n%)	Compost (n%)	Tri des déchets (n%)
	<b>Asthme</b>	9 (7,6)	1 (5,0)	1 (12,5)
<b>Bronchite chronique</b>	16 (13,4)	5 (25,0)	2 (25,0)	5 (11,4)
<b>Toux sèche chronique</b>	18 (15,1)	4 (20,0)	3 (37,5)	8 (18,2)
<b>Antécédents de gêne respiratoire au travail</b>	1 (0,8)	1 (5,0)	0 (-)	6 (13,6)*
<b>Antécédents de symptômes de grippe ou de rhinite allergique au travail</b>	1 (0,8)	0 (-)	0 (-)	6 (13,6)*
<b>Souffle de dyspnée avec un travail léger</b>	4 (3,4)	0 (-)	0 (-)	5 (11,4)
<b>Yeux qui grattent au travail</b>	13 (10,9)	3 (15,0)	1 (12,5)	12 (26,7)*
<b>Nez qui gratte plus d'une fois par semaine</b>	0 (-)	1 (5,0)	1 (12,5)	6 (13,6)
<b>Rhinorrhée plus d'une fois par mois</b>	11 (9,2)	2 (10,0)	0 (-)	4 (9,1)
<b>Maux ou irritation de la gorge plus d'une fois par semaine</b>	2 (1,7)	2 (10,0)	0 (-)	9 (20,5)*
<b>n</b>	119	20	8	44

\* test exact de Fischer p < 0,05

Dans cette étude, la fonction respiratoire, étudiée avant (après une période de 48 heures sans travail) et après chaque poste de travail ne montrait pas de différence des différents

paramètres de base (CVF, VEMS, VEMS/CVF) entre les travailleurs des différents sites, et il n'y avait pas non plus de différence de réactivité bronchique selon les sites. Pour les travailleurs en centre de tri de déchets les résultats montraient une association entre l'augmentation de concentration des poussières et d'endotoxines et une diminution de la fonction pulmonaire durant les heures de travail. En revanche, la proportion de sujets ayant des variations de débit expiratoire de pointe (peak flow), témoin d'un syndrome obstructif, supérieures à 20%, au cours d'une période de 24 heures, était significativement plus importante pour les travailleurs du compost et du tri de déchets, montrant un effet aigu de l'environnement de travail sur les poumons.

En ce qui concerne la mesure de paramètres sérologiques reflète de l'allergie, les personnes travaillant au tri des papiers et à la manipulation des déchets avaient une concentration d'IgE significativement moindre par rapport aux personnes travaillant dans le site témoin, alors que celles travaillant au compostage avaient un niveau significativement plus élevé d'IgE, mais ceci était dû à une unique concentration très élevée chez une personne souffrant d'asthme et de rhinites allergiques. Les personnes travaillant au compostage avaient également une concentration moyenne élevée d'IgG, comparée aux sujets travaillant en site témoin. Aucun des travailleurs manipulant des déchets n'avait un test cutané fortement positif à un ou plusieurs des allergènes, alors qu'ils étaient 8% dans la population de référence.

Le même auteur (Sigsgaard, 2000) a retraité ces informations pour analyser la fonction respiratoire et en incluant quelques travailleurs du tri de papier en plus.

L'ensemble des travailleurs a été classé en fonction du niveau d'exposition. Trois classes ont été créées pour les poussières et les endotoxines (Tableau 30).

**Tableau 30 : Classes d'exposition aux endotoxines\* et poussières\***

	CLASSE I	CLASSE II	CLASSE III
<b>Poussières (mg/m<sup>3</sup>)</b>	< 0,4	0,4 – 0,79	≥ 0,8
<b>Endotoxines (ng/m<sup>3</sup>)</b>	≤ 3	3 – 10	> 10

\*Mesures sur des postes fixes sur les lieux de travail

L'exposition aux poussières organiques était responsable d'une chute significative du VEMS (témoin d'un syndrome obstructif) en fin de poste alors qu'aucune association n'était retrouvée pour les endotoxines. Les données avaient été ajustées sur l'âge, la consommation de tabac et l'atopie pour les endotoxines. On notera que cette nouvelle classification regroupe des travailleurs de différents centres de traitement de déchets et ne permet pas d'individualiser un niveau de risque pour les travailleurs en centre de compostage.

Pour l'auteur, cette absence de résultats sur les endotoxines était contradictoire avec ceux d'une autre étude dans l'industrie du coton, l'explication la plus probable étant le faible niveau d'exposition aux endotoxines (2 travailleurs > à 50 ng/m<sup>3</sup> et aucun > à 100 ng/m<sup>3</sup>).

Au total cette étude transversale ne met pas en évidence d'augmentation des symptômes pour les travailleurs en centre de compostage comparativement à la population témoin. Les seules variations portent sur une modification de la fonction respiratoire en fin de poste et sur une augmentation des marqueurs sérologiques (IgE, IgG). Pour les IgE, ceci est principalement dû à un seul sujet qui présentaient des valeurs élevées. Non notera que le faible nombre (n = 8) de travailleurs en site de compostage étudiés, peut expliquer l'absence de résultats significatifs.

L'étude menée par Bünger (2000) en Allemagne dans différents sites entre 1996 et 1998 a l'avantage d'avoir concerné un plus grand nombre de travailleurs en site de compostage. L'état

de santé et les biomarqueurs d'exposition auprès de personnes travaillant à la collecte des ordures ménagères (n = 53) et au compostage (n = 58), la population de référence comportait 40 sujets a été évalué. Ces personnes ont répondu à un interrogatoire évaluant leurs symptômes, les conditions d'exposition à leur poste de travail, l'exposition éventuelle à d'autres bioaérosols, les maladies atopiques et le tabagisme. Les rippeurs (collecteurs d'ordures) étaient significativement plus jeunes que les travailleurs du compost et avaient une durée d'emploi significativement plus courte (1,5 ans / 3ans). Elles ont également subi un examen clinique et une recherche d'IgG spécifiques contre les antigènes de 7 champignons et 4 actinomycètes habituellement rencontrés sur leurs lieux de travail (test d'immunofluorescence indirecte et technique ELISA). Il n'y a pas eu de mesures de concentration en micro-organismes sur les lieux de travail, mais un ordre de grandeur moyen était estimé d'après plusieurs études multicentriques allemandes (tableau 31) :

**Tableau 31 : Ordre de grandeur de l'exposition (UFC/m<sup>3</sup>) aux spores de champignons, bactéries totales (à l'exclusion d'actinomycètes) et actinomycètes (Bünger, 2000)**

Lieu de travail	Bactéries totales	Actinomycètes	Spores de champignons
Centre de compostage	10 <sup>7</sup>	10 <sup>5</sup>	10 <sup>7</sup>
Taux dans les centres après la fermeture	10 <sup>3</sup>	10 <sup>3</sup>	10 <sup>4</sup>
Collecte des déchets putrescibles (biodégradables)	10 <sup>5</sup>	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>
Zones de référence	< 10 <sup>2</sup>	< 10 <sup>2</sup>	< 10 <sup>2</sup>

Pour les manifestations cliniques, il a été observé une augmentation significative des symptômes et maladies des voies aériennes et, dans une moindre mesure, de la peau chez les travailleurs du compost par rapport à la population de référence (tableau 32), alors qu'il n'y avait pas de différence significative pour les collecteurs d'ordures par rapport à la population de référence.

**Tableau 32 : Atteintes respiratoires et de la peau diagnostiquées par les médecins du travail chez les travailleurs du déchet (atteinte principale si plusieurs maladies) (Bünger 2000)**

	Rippeurs	Composteurs	Témoin
Irritation de la muqueuse	0	2	0
Trachéobronchite	2	7 p = 0,04	0
Sinusite	1	4	1
ODTS	0	1	0
Atteintes respiratoires combinées	3	14 p = 0,03	1
Eczéma	0	3	0
Dermatomycose	0	2	0
Pyodermite	0	1	0
Otite externe	0	2	0
Maladies de la peau combinées	0	8 p = 0,02	0
Total	3	22 p < 0,0001	

Le p est calculé par test (bilatéral) exact de Fischer et par comparaison au groupe témoin

Pour les manifestations allergiques, les sujets atopiques porteurs d'une rhinite allergique étaient sous-représentés parmi les travailleurs du compost, ce qui peut être considéré comme un effet du travailleur sain. Un sujet travaillant au compostage se plaignait d'un ODS typique, il n'y avait aucun cas d'infection sévère ni de BAAE ou d'asthme.

Les concentrations d'IgG dirigés contre *A. fumigatus* étaient significativement augmentées chez les travailleurs des sites de compostage, alors qu'il n'y avait pas de différence significative entre les collecteurs d'ordures et la population de référence (ce qui peut s'expliquer par une plus faible exposition aux bioaérosols, mais aussi par une plus courte durée d'emploi puisqu'une association entre durée d'emploi et titre d'anticorps spécifiques était trouvée chez les travailleurs du compost). Lorsque les 6 autres antigènes fongiques (*A. nidulans*, *A. niger*, *A. versicolor*, *Penicillium brevicompactum*, *Penicillium crustosum*), ont été testés, les travailleurs du compost avaient également des titres d'anticorps plus élevés pour chaque test, comparés aux collecteurs d'ordures et à la population de référence. Des concentrations significativement augmentées d'anticorps ont également été trouvées contre les actinomycètes (*Saccharopolyspora rectivirgula*, *Streptomyces thermovulgaris*) chez les travailleurs du compost. Il y avait une association significative entre les maladies diagnostiquées et l'augmentation des titres d'anticorps chez les travailleurs du compost et les résultats restaient significatifs après exclusion des sujets ayant des expositions à d'autres bioaérosols pouvant être considérées comme facteur de confusion. Cette association n'est probablement pas causale mais les effets observés témoignent tous deux d'une forte exposition aux bioaérosols chez ces travailleurs. Pour les auteurs, la prévalence significativement plus faible de rhinite allergique chez les travailleurs du compost par rapport aux collecteurs d'ordures et à la population de référence indique un biais de sélection (effet du travailleur sain) dans cette étude.

Au total cette étude va dans le sens d'une augmentation de symptômes respiratoires et de manifestations cutanées dans la population des travailleurs en site de compostage. Les manifestations allergiques étaient plutôt diminuées alors que les résultats des dosages sérologiques montraient une augmentation d'anticorps contre la plupart des allergènes de champignons et d'actinomycètes témoignant d'une exposition certaine à ces composés.

La réalité de l'effet de l'exposition aux bioaérosols a bien été mise en évidence dans le travail de Douwes (2000). L'effet inflammatoire, mesuré par l'augmentation des cellules et des marqueurs de l'inflammation, sur les voies aériennes supérieures (n = 14 sujets) de l'exposition aux poussières organiques, dans un site de compostage, a été évalué d'après les caractéristiques du liquide de lavage nasal effectué 2 fois par semaine pendant 3 semaines en 1995. Les concentrations moyennes mesurées étaient :

- de 0,4-3,1 mg/m<sup>3</sup> pour les poussières (avec parfois des pointes > 10 mg/m<sup>3</sup>),
- 5-100 ng/m<sup>3</sup> pour les endotoxines,
- 10<sup>3</sup>->10<sup>6</sup> UFC/m<sup>3</sup> pour les spores fongiques,
- plus de 10<sup>9</sup> UFC/m<sup>3</sup> pour les bactéries totales et
- 400-24.10<sup>3</sup> UFC/m<sup>3</sup> pour les Gram-négatives.

Des comparaisons ont montré chez les travailleurs exposés, par rapport à la population de référence, une augmentation significative des cellules totales et une tendance similaire pour les leucocytes, les neutrophiles et les cellules épithéliales. Certains médiateurs de l'inflammation étaient également significativement augmentés. Cette étude montre donc que qu'une forte exposition aux bioaérosols est associée à une augmentation de l'inflammation des voies aériennes supérieures durant le poste de travail.

### **IX.2.2. Utilisateurs du compost**

On ne dispose pas d'informations, à l'exception du cas d'aspergillose pulmonaire survenue chez un jardinier ayant manipulé du compost, sur un risque microbiologique aéroporté liés à l'utilisation du compost que ce soit à titre individuel ou dans le cadre d'une pratique agricole d'épandage. A titre d'information Beffa (1998) décrit le cas de jardiniers qui ont développé une réaction inflammatoire toxique sur les doigts suite à la manipulation de pots compostés de fleurs. Une croissance importante de *Stachybotris chartarum* a alors été mise en évidence dans les pots. Le mode de transmission est *a priori* cutané et non aérien.

### **IX.2.3. Population générale**

Une étude conduite en 1994 dans l'état de New-York (Department Of Health, state of New York, 1994; Millner, 1994) a cherché à évaluer les effets des concentrations de spores d'*A. fumigatus* sur la santé des personnes vivant à proximité d'une usine de compostage. La population étudiée (n = 63) vivait à environ 550 m de l'usine et la population de référence (n = 82) 8 km plus loin. Les échantillonnages d'air et la surveillance de la population ont été effectués pendant 72 jours durant l'année 1994 (dont 20 jours avec 4 mesures quotidiennes des niveaux de spores). Les niveaux moyens de spores dans l'air de la population étudiée (100 spores/m<sup>3</sup>) étaient 2 fois ceux de la population de référence (50 spores/m<sup>3</sup>), les niveaux moyens mesurés sur le site de compostage étant de 500 spores/m<sup>3</sup>. Pendant les périodes de vent défavorable, les niveaux moyens dans l'air de la population étudiée atteignaient 4 fois le niveau mesuré pour la population de référence. Les auteurs n'ont pas observé de relation entre les niveaux de spores d'*A. fumigatus* mesurés et l'incidence des symptômes d'allergie ou d'asthme, alors que ces symptômes étaient associés avec le niveau des pollens, d'ozone et de température. Cette étude ne permet pas d'exclure un risque car ces derniers facteurs ont pu masquer une relation, d'autre part, elle ne permet pas d'exclure le risque inhabituel que fait courir l'exposition à *A. fumigatus* pour les personnes immunodéprimées.

## **IX.3. FACTEURS DE RISQUE ET LIMITES ÉTABLIES POUR L'EXPOSITION PROFESSIONNELLE**

Deux catégories de personnes présentent des facteurs de risque plus importants: celles ayant une capacité particulière à réagir en raison de caractéristiques génétiques ou individuelles (atopie, asthme...), et celles simultanément exposées à d'autres agents toxiques (Rylander, 1997).

Le risque infectieux, quasi-inexistant pour les sujets sains, est nettement augmenté pour les personnes immunodéprimées, comme cela a été montré pour les infections à *Aspergillus*.

On trouvera ici un rappel des différentes valeurs qui apparaissent à l'analyse des effets sur la santé liés aux bioaérosols.

Rappelons que la valeur moyenne d'exposition professionnelle aux poussières en France est de 10 mg/ m<sup>3</sup>

En 1995, il n'existait pas de limite fixée pour l'exposition professionnelle aux micro-organismes et aux toxines microbiologiques aéroportés, mais certains auteurs ont fait des propositions en fonction de leurs observations (Poulsen, 1995) :

- bactéries totales < 10<sup>4</sup> UFC/m<sup>3</sup>(Poulsen, 1995 ; Malmros, 1992)

- bactéries Gram-négatives <  $10^3$  UFC/m<sup>3</sup> dans l'air (Rylander, 1983) :

Un groupe de travail de l'association hollandaise pour la santé en milieu professionnel a statué que les concentrations en champignons ou en bactéries supérieures à  $10^4$  cfc/m<sup>3</sup> en tout et pour chaque espèce potentiellement pathogène supérieures à 500 UFC/m<sup>3</sup> étaient à risque pour la santé des travailleurs (Heida, 1995).

D'autres auteurs (Dutkiewicz, 1989) ont suggéré  $2 \cdot 10^4$  UFC/m<sup>3</sup> pour les bactéries Gram-négatives et les actinomycètes thermophiles et  $10^5$  UFC/m<sup>3</sup> pour les micro-organismes totaux. Ces mêmes auteurs proposent un seuil de  $5 \cdot 10^4$  UFC/m<sup>3</sup> pour les champignons, alors que d'autres proposent  $10^6$ - $10^9$  spores fongiques/m<sup>3</sup> pour le risque de développement d'une BAAE. (Malmberg, 1988) ou  $10^6$  spores fongiques pour les travailleurs de la sciure en relation avec symptômes respiratoires (MMI, ODTS) (Eduard, 1993). Pour les actinomycètes, une valeur de 108UFC/ m<sup>3</sup> ou des expositions répétées à 105-106 UFC/ m<sup>3</sup> ont été proposées comme seuil de sensibilisation alors que d'autres fixent la barre à 108UFC/m<sup>3</sup> ou à 106UFC/m<sup>3</sup> pour le risque de BAAE ou d'ODTS (bien que le mécanisme d'action soit différent) (Millner, 1994 ; Lacey, 1991).

Pour les endotoxines, les seuils les plus récents fixes le niveau sans risque à 10 ng/ m<sup>3</sup>(ICOH).

#### **IX.4. BIOMARQUEURS D'EFFETS**

Nous ne disposons d'aucun marqueur spécifique biologique permettant l'évaluation de l'exposition aux poussières organiques issues du compostage. L'hyperleucocytose et l'augmentation de paramètres de l'inflammation n'ont que peu de valeur. Les EFR et les mesures de peak-flow dépistent et évaluent l'intensité d'un syndrome obstructif et / ou restrictif. Les radiographies pulmonaires aident au diagnostic de BAAE et au diagnostic différentiel avec l'ODTS.

Les recherches d'IgG spécifiques contre des antigènes de champignons (dont *A. fumigatus*) et contre des actinomycètes permettent surtout d'évaluer l'exposition. La relation concentration – exposition n'est pas clairement établie.

## X. ÉTUDES ÉPIDÉMIOLOGIQUES DANS D'AUTRES MILIEUX PROFESSIONNELS

Comme on a pu le voir dans l'analyse des effets sur la santé liée aux poussières organiques, d'autres milieux professionnels sont soumis à cette même poussière. L'apport des études épidémiologiques et expérimentales réalisées dans ces autres milieux dans la compréhension des effets pour les travailleurs en usines de compostage est néanmoins limité dans la mesure où les conditions d'exposition sont différentes (travail en milieu bien plus confiné pour les éleveurs de porc et de poulets par exemple) et où les constituants de la poussière organique ne sont pas les mêmes ou dans les mêmes proportions. Les études portant sur les fermiers et les travailleurs dans l'industrie du coton ont bien montré le rôle respectif des actinomycètes et des endotoxines. Ces aspects ainsi que les doses seuils ont déjà été décrits dans les chapitres sur les effets sur la santé.

Les études sur les éleveurs de porcs et de volaille montrent l'existence de symptômes d'irritation respiratoire et de troubles de la fonction respiratoire et elles mettent en cause les endotoxines, l'ammoniac et les poussières totales mais n'apportent pas d'informations claires sur des niveaux seuils (Von essen, 1999 ; Donham, 1990).

De même, les travailleurs de l'industrie du bois présentent des symptômes d'irritation pulmonaire non spécifiques mais aussi des signes d'ODTS et des troubles de la fonction respiratoire. L'exposition aux spores de champignons y est importante et les endotoxines et (1→3)-β-D-glucanes ont été aussi mis en cause dans ces études (Mandryk, 1999 ; Mandryk, 2000).

En complément, le tableau ci-dessous, issu d'une synthèse de Poulsen (1995a), rassemble les principales études ayant mis en relation l'exposition de micro-organismes et les effets sur la santé.

**Tableau 33 : Etudes reliant l'exposition microbienne et les effets sur la santé (Poulsen, 1995a)**

Industrie	Nombre de personnes	Exposition	Relation dose-réponse	Auteurs
Filature de coton	445	Endotoxine: 33-325ng/m <sup>3</sup> Poussière: 0,4-1,2 mg/m <sup>3</sup>	Relation avec prév. byss, VEMS, CVF  Relation avec VEMS mais pas la byssinose	Sigsgaard(1992)
Filature de coton	882	Endotoxine: 2-550ng/m <sup>3</sup>  Poussière: 0,2-2,5mg/m <sup>3</sup>	Relation avec VEMS, bronchite chronique. Relation avec prév. byss et VEMS% (sauf dans le groupe le plus exposé) Pas de relation avec la fonction pulmonaire ou les symptômes variables	Kennedy (1987)
Filature de coton	248	Gram-négatifs : 10 <sup>3</sup> -10 <sup>5</sup> UFC/m <sup>3</sup> Poussière: 0,3-2,0 mg/m <sup>3</sup> Bactérie et poussière en corrélation	Relation avec prévision byssinose	Haglund (1981)
Filature de coton (conditions contrôlées)	720	Endotoxine: 0-1,6 mg/g poussière  Gram-négatifs : 10 <sup>2</sup> -4.10 <sup>3</sup> UFC/m <sup>3</sup> Total bactéries viables: 10 <sup>3</sup> -10 <sup>5</sup> UFC/m <sup>3</sup> Champignons: 10 <sup>3</sup> -10 <sup>5</sup> UFC/m <sup>3</sup>  Poussière: 0,3-15 mg/m <sup>2</sup>	Pas de relation avec prév. byss.  Relation avec prév. byss. Relation avec prév. byss.  Pas de relation avec prév. byss. Pas de relation avec prév. byss.	Cinkotai (1977)

Industrie	Nombre de personnes	Exposition	Relation dose-réponse	Auteurs
Filature de coton (conditions contrôlées)	15 (13 sessions)	Endotoxine: 70-5600 ng/m <sup>3</sup>  Poussière: 0,09-4,0 mg/m <sup>3</sup>	Relation avec VEMS%, prev. byss., augmentation des neutrophiles durant le temps de travail Pas de relation avec le VEMS	Rylander (1987)
Filature de coton	107 (23 sessions)	Endotoxines: 80-12060 ng/m <sup>3</sup> Poussière: 0,5-6,9 mg/m <sup>3</sup> Endotoxine et poussière en corrélation	Relation avec VEMS% Relation avec VEMS%	Haglund and Rylander (1984)
Porcherie	62	Endotoxine: 31-340 ng/m <sup>3</sup>  Gram-négatifs : 10 <sup>3</sup> -10 <sup>5</sup> UFC/m <sup>3</sup>  Total bactéries: 10 <sup>3</sup> -3 x 10 <sup>6</sup>  Poussière: 0,5-23,5 mg/m <sup>3</sup>	Relation avec VEMS, CVF, symptômes respiratoires aigus Pas en relation avec des symptômes respiratoires chroniques Relation avec symptômes aigus Pas en relation avec la fonction pulmonaire Relation avec des symptômes aigus Pas de relation avec la fonction pulmonaire Pas de relation avec un quelconque variable	Heederik(1991)
Porcherie	57	Endotoxine: 40-330ng/m <sup>3</sup>	Relation avec VEMS%	Donham (1989)
Ferme laitière	28	Endotoxine: 10-50000 ng/m <sup>3</sup>	Pas de relation avec des réactions alvéolaires allergiques et fébriles	Rask-Andersen(1989)
Abattoirs de volaille	23	Endotoxine: 20-1500 ng/m <sup>3</sup>	Pas de relation avec la fonction pulmonaire et des symptômes respiratoires	Hagmar (1990)
Elevage de volaille	47	Endotoxine: 130-1090 ng/m <sup>3</sup>	Relation avec VEMS% et symptômes respiratoires	Theilin 1984
Usine de nourriture animale	440	Endotoxine: 0,2-470 ng/m <sup>3</sup>  Poussière: 0,2-150 mg/m <sup>3</sup>	Relation avec CVF, VEMS, PEF Relation avec la fonction pulmonaire mais pas autant que l'endotoxine	Smid (1992)
Sciure	47	Moisissures viables: 3.10 <sup>3</sup> UFC/m <sup>3</sup>  Moisissures totales: 10 <sup>5</sup> spores/m <sup>3</sup> Poussière: 0,3 mg/m <sup>3</sup>	Relation avec VEMS, MEF en diminution en semaine de travail	Dahlqvist (1992)
Sciure	473	Moisissures totales : 10 <sup>6</sup> spores/m <sup>3</sup> (et le niveau d'anticorps IgG aux spores de moisissures)	symptômes respiratoires et autres symptômes suggestifs de l'irritation de la membrane muqueuse, d'alvéolites allergiques, du syndrome toxique de poussière organique	Eduard (1993)

\*Prev. Byss. : Prévalence de byssinose  
VEMS%: Variation du VEMS

Globalement pour cet auteur une relation causale a pu être montrée pour des problèmes pulmonaires et gastro-intestinaux survenant dans d'autres industries (élevages de cochons et de poulets, fabrication d'aliments pour le bétail...) et de fortes expositions aux poussières organiques aéroportées contenant des micro-organismes (bactéries totales viables, bactéries Gram-négatives viables, champignons totaux viables) et des agents microbiologiques (endotoxines) (Poulsen, 1995a).

Une attention particulière sera porté sur les études portant sur la collecte ou le tri des déchets dans la mesure où l'exposition se rapproche plus de celle des travailleurs en usine de compostage.



## Collecte des ordures ménagères

Une étude de terrain menée auprès de 25 sujets travaillant à **la collecte des ordures ménagères**, dont 17 en collecte globale et 8 en collecte sélective de matières organiques, a cherché à évaluer les rapports entre l'état de santé, les signes inflammatoires des voies aériennes et les concentrations en endotoxines et en (1→3)-β-D-glucanes (n = 24) mesurées par capteur individuel dans leur environnement de travail (population de référence : n = 24 personnel municipal administratif) (Thorn, 1998). Les concentrations moyennes en (1→3)-β-D-glucanes et endotoxines sont présentées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 34 : *Concentrations aériennes (moyennes [min-max]) d'endotoxines et 1→3)-β-D-glucan chez les travailleurs du déchet (Thorn, 1998)*

		Collecteurs de déchets compostables	Collecteurs de déchets	Témoins
<b>Filtres</b>	<b>n</b>	7	7	6
(1→3)β-D-glucane	ng/m <sup>3</sup>	19,1 (10,8-36,4)	9,2 (2-13,7)	1,1 (0-5,9)
Endotoxine	ng/m <sup>3</sup>	0,5 (0,1-1,2)	0,7 (0,3-1,2)	0,1 (0-0,2)

Il y avait une plus forte proportion de riveurs présentant différents symptômes (diarrhée, nez bouché, fatigue inhabituelle) parmi les travailleurs collectant les ordures compostables, la différence était significative pour la diarrhée (38% versus 4%; p = 0,04) et à la limite de la significativité (25% versus 0%; p = 0,056) pour la fatigue, par rapport à la population de référence. Il n'y avait pas d'influence de la consommation de tabac ou de l'atopie sur ces symptômes. Les résultats des spirométries montraient plutôt des résultats meilleurs chez les travailleurs comparativement à la population de référence ("effet du travailleur sain") et les tests de réactivité bronchique ne montraient pas de différence entre populations exposées ou non.

L'étude des marqueurs de l'inflammation et des cellules sanguines impliquées (des lymphocytes, des monocytes et des neutrophiles) dans les mécanismes inflammatoires montrait une augmentation du nombre de ces dernières parmi les collecteurs d'ordures et en particulier chez les collecteurs de déchets compostables. Les concentrations de (1→3)-β-D-glucanes étaient corrélées à certains marqueurs de l'inflammation. Curieusement, les marqueurs cellulaires d'inflammation étudiés dans les produits d'expectoration : étaient globalement inférieurs et parfois de façon significative parmi les collecteurs d'ordures pris globalement ou par catégorie.

Lors du colloque international sur la collecte des déchets qui a eu lieu en 1996 au Danemark, Hansen a présenté une étude transversale sur les symptômes respiratoires **des éboueurs danois**. La prévalence des symptômes respiratoires des travailleurs exposés, ajustée sur les facteurs de confusion, a été comparée aux non exposés (travailleurs en parking). Les travailleurs ont été aussi classés en trois groupes d'exposition à trois types de micro-organismes (champignons viables, spores de champignons, total des bactéries et des champignons). A l'exception d'un risque augmenté de bronchite chronique pour les travailleurs les plus exposés, cette étude transversale n'a donc pas montré en général de problèmes respiratoires chroniques majeurs parmi les collecteurs d'ordures. Mais les personnes souffrant de problèmes respiratoires ont très bien pu quitter leur travail dès le début de leur emploi, ce qui pourrait expliquer le manque de troubles chroniques. Dans un petit sous-groupe de travailleurs, la prévalence de la bronchite chronique augmente avec les

niveaux d'exposition aux micro-organismes, évoquant une relation dose-effets (Hansen, 1996). Malheureusement, les niveaux d'exposition ne sont pas fournis.

Lors du même colloque, Coenen (1996) a présenté les effets de l'exposition aux bioaérosols sur les niveaux d'immunoglobulines (IgG, IgA et IgE) et du débit de pointe (PEF) qui ont été évalués chez des travailleurs exposés lors de **la collecte d'ordures** (n = 73, répartis dans 5 zones du Danemark dont l'une utilisait un système expérimental avec séparation des ordures compostables et résiduelles à la source). La population étudiée était répartie en deux sous-groupes, selon que l'exposition était considérée comme faible ou forte, d'après les mesures effectuées durant la période d'évaluation. Le groupe fortement exposé avait un taux d'IgG significativement augmenté par rapport au groupe faiblement exposé. Le groupe collectant les ordures compostables avait des niveaux d'IgG et d'IgA significativement plus élevés par rapport à tous les autres collecteurs d'ordures exposés. Il n'y avait pas de différence significative pour les taux d'IgE pour les différents groupes. Le débit de pointe était significativement affecté par l'exposition aux *A. fumigatus*. Alors qu'aucun signe clinique particulier n'était observé parmi les collecteurs d'ordures, les auteurs concluent que les modifications du débit de pointe et du taux d'IgG observés dans cette étude peuvent être dus à une inflammation infra-clinique des voies aériennes liée à de relativement faibles niveaux d'exposition aux poussières organiques (Coenen, 1996).

Dans l'étude de Ivens (1999) sur 1747 travailleurs à la collecte municipale (et 1111 personnes non exposées), des relations dose-effets (p de tendance = 0,005) entre les nausées et l'exposition aux endotoxines et entre les diarrhées (p = 0,001) et l'exposition aux endotoxines et aux champignons ont été mises en évidence.

Dans l'étude comparative de Bünger (2 000) entre des travailleurs témoins et un groupe de collecteurs de biodéchets et enfin un groupe de travailleurs en usine de compostage, il n'a pas été mis en évidence d'excès de plaintes sanitaires ou d'augmentation d'anticorps contre les champignons et les actinomycètes pour les collecteurs de biodéchets par rapport au groupe témoin.

Dans une étude taiwanaise (Yang, 2001) sur 533 ripeurs et 320 travailleurs non exposés, le premier groupe présente un risque plus élevé de développement de symptômes respiratoires chroniques, de troubles musculosquelettiques et de blessures par des objets contondants.

Un cas d'aspergillose broncho-pulmonaire allergique (ABPA) a été décrit chez un ripeur de 29 ans (Almers, 2000).

### Déchargement et tri des ordures ménagères

Poulsen (1995a) rapporte les résultats d'une étude (rapport non publié) chez 134 sujets travaillant sur **des sites de déchargement des ordures ménagères, des usines d'incinération et des décharges**, les risques de toux, d'épisodes à répétition de toux productive, de diarrhée fréquentes et de répétition des épisodes fébriles étaient augmentés par rapport à ceux des 114 travailleurs de la population de référence. Les concentrations en bioaérosols sont présentées dans le tableau 12 en fonction du type de travail.

**Tableau 35 : Concentrations en micro-organismes en fonction du type de travail (Poulsen, 1995a)**

Type d'usine	Activité	Technique de mesure	Poussières (mg/m <sup>3</sup> )	Bactéries				Champignons
				Total	Gram-négatifs	Streptocoques fécaux	Actinomycètes thermophiles	
<b>Gare de transfert</b>	<b>Zone de déversement compacteurs convoyeurs</b>	A, b, c		lod-10 <sup>6</sup>	lod-2x10 <sup>5</sup>	lod-10 <sup>4</sup>	lod-10 <sup>5</sup>	10 <sup>2</sup> -3x10 <sup>6</sup>
<b>Décharges</b>	<b>Cabines de bulldozers camions grues</b>	A, b, c		9x10 <sup>1</sup> -9x10 <sup>6</sup>	lod-2x10 <sup>4</sup>	lod-10 <sup>4</sup>	lod-10 <sup>5</sup>	10 <sup>2</sup> -3x10 <sup>5</sup>
<b>Incinération</b>	Stockage Déversement	A, b, c		6x10 <sup>2</sup> -10 <sup>6</sup>	lod-4x10 <sup>4</sup>	lod-2x10 <sup>4</sup>	2x10 <sup>1</sup> -3x10 <sup>5</sup>	3x10 <sup>2</sup> -10 <sup>7</sup>

Lod : limite de détection

A : dans l'aire de travail ; b : filtre à membrane ; c : impacteur Andersen 6 étapes

Dans une usine expérimentale de **tri des déchets domestiques**, aucun des 20 travailleurs n'avait de symptôme de maladie respiratoire ni de test cutané positif contre une série d'antigènes de champignons présents dans leur environnement de travail. Mais 10 des 20 sujets avaient des précipitines contre au moins l'un des antigènes de champignon utilisés. *Penicillium* était prédominant à des concentrations de 5,8.10<sup>4</sup> à 5,0.10<sup>6</sup> spores/m<sup>3</sup> (Constable, 1979).

En revanche, 9 personnes sur les 15 qui travaillaient au **tri manuel des ordures ménagères** dans une usine danoise, ont développé après une durée moyenne de 6 mois d'emploi des problèmes respiratoires sévères : diagnostic d'asthme pour 8 d'entre eux et de bronchite chronique pour le dernier. Les concentrations d'endotoxines mesurées en différents endroits de l'usine allaient de 480 à 990 ng/m<sup>3</sup>, elles étaient de 7.10<sup>2</sup>-1.10<sup>5</sup> UFC/m<sup>3</sup> pour les spores de champignons, < 5.10<sup>2</sup>-2.10<sup>4</sup> UFC/m<sup>3</sup> pour les bactéries Gram-négatives et 1.10<sup>3</sup>-3.10<sup>5</sup> UFC/m<sup>3</sup> pour les bactéries totales (Malmros, 1992).

Les effets sur la santé associés aux poussières organiques ont été évalués dans le cadre d'une **usine de recyclage des ordures ménagères**. Les résultats des mesures concernant la qualité de l'air montraient des niveaux de bactéries et de champignons jusqu'à 1,8.10<sup>5</sup> UFC/m<sup>3</sup> et des niveaux de poussières allant jusqu'à 18 mg/m<sup>3</sup>. Parmi les 39 opérateurs interrogés, 51% se plaignaient d'irritation nasale, 38% d'irritation de la gorge et 20% d'irritation oculaire. 23% des opérateurs signalaient une toux productive et 2 se plaignaient de symptômes de bronchite chronique. 2 sujets se plaignaient également de syndrome pseudo-grippal (Gladding, 1996).

En conclusion, dans les études chez les travailleurs affectés au tri ou à la collecte des déchets on retrouve de façon inconstante des symptômes d'irritation respiratoire, allergiques et parfois gastrointestinaux pour des concentrations en micro-organismes qui sont souvent inférieures (pour les actinomycètes, spores fongiques) à celle des usines de compostage. Il faut souligner la grande variabilité des résultats de métrologie d'une étude à l'autre et dans une même série de prélèvement ce qui rend difficile la comparaison et l'interprétation des résultats. Le tableau 36, rassemble quelques données d'exposition.

**Tableau 36 : Exposition aux bioaérosols en relation avec la collecte des déchets(d'après Poulsen, 1995 b)**

Type de collecte	Matériel	Procédé d'échantillonnage *	Poussière (mg/m <sup>3</sup> )	Bactérie (UFC/m <sup>3</sup> )	Champignon (UFC/m <sup>3</sup> )	Endotoxine (ng/m <sup>3</sup> )	Référence
Vrac	Poubelles Camion- Compresseur	A : a		10 <sup>2</sup> -10 <sup>3</sup>	4.10 <sup>3</sup> -1.10 <sup>6</sup>		<i>Ducel, 1976</i>
Vrac	Containers	P : c	0,30-0,43	4.10 <sup>3</sup> -2.10 <sup>4</sup>	5.10 <sup>4</sup> -2.10 <sup>5</sup>	0,1-0,5	<i>Nielsen, 1994 b</i>
Biodégradable	Camion 1* Camion 2 Camion 3	A : bc A : bc A : bc	0,09 0,20 < 0,04	< 10 <sup>3</sup> < 10 <sup>3</sup> -2x10 <sup>3</sup> < 10 <sup>3</sup>	1.10 <sup>4</sup> -6.10 <sup>4</sup> 7.10 <sup>4</sup> -1.10 <sup>5</sup> 5.10 <sup>3</sup>	0,3-3 0,3-3 2-3	Sørensen and Biørnstrup, 1993

\* Stratégie d'échantillonnage : A, aire de travail ; P, échantillonnage personnel. Procédé d'échantillonnage : a, échantillonneur d'Anderson ; b, "impinger" de liquide ; c, filtre de membrane

♦ 3 types de camions

## **XI. LES EXPÉRIENCES D'ÉVALUATION DES RISQUES**

Traditionnellement l'évaluation des risques se divise en 4 phases :

- identification des dangers,
- caractérisation de l'exposition,
- analyse des relations dose-réponse,
- caractérisation des risques.

L'identification des dangers, les relations dose-réponse et les connaissances sur l'exposition ont été traités dans les chapitres précédents. On notera, qu'en ce qui concerne l'exposition, l'essentiel des connaissances portent sur l'exposition par inhalation. Or s'agissant de poussières, la question de la redéposition sur les sols, avec une possible contamination de produits végétaux de consommation, peut se poser. Cette question n'est pas abordée dans la littérature consultée. Pour les bactéries pathogènes, celles-ci n'ont pas été retrouvées dans les ambiances des usines et il est donc peu probable que ce risque soit réel. S'il s'avérait que les poussières organiques libérées par les usines de compostage soient porteuses de mycotoxines, cette voie d'exposition devra néanmoins être envisagée compte-tenu de la toxicité des mycotoxines par ingestion.

Nous n'avons pas retrouvé de travaux qui aient tenté d'appliquer la démarche d'évaluation des risques au cas des risques microbiologiques aéroportés dans son ensemble. Ceci se conçoit facilement compte-tenu des incertitudes qui existent sur la mesure et la réalité de l'exposition et la variabilité des résultats qui en limitent leur validité.

La plupart des travaux qui portent sur cette question sont des synthèses des connaissances avec une démarche relativement proche de celle qui a été utilisée dans ce document.

Ainsi en est-il du travail de Patricia Millner (1994). Les conclusions à cette époque étaient :

- *"La population générale n'est pas à risque d'une infection systémique (infection généralisée comme une atteinte hématologique ou du système lymphatique) en raison des émissions de bioaérosols des usines de compostage.*
- *Les personnes immunodéprimées présentent un risque augmenté d'infections par différents germes opportunistes tels que A. fumigatus qui est présent dans le compost mais aussi dans d'autres matériaux susceptibles de fermenter et présents dans l'environnement naturel.*
- *Les asthmatiques et les personnes allergiques ont un risque accru de présenter une réaction à partir de sources différentes de poussières organiques et dans ce cadre A. fumigatus n'est pas le seul ni le plus important bioaérosol responsable de BAAE, de MMI ou d'ODTS. La quantité d'allergènes aéroportés qui est nécessaire pour une sensibilisation et ensuite pour déclencher des épisodes asthmatiques ou allergiques ne peut pas être définie en l'état actuel des connaissances compte-tenu des grandes variations de sensibilité de l'hôte, du nombre important de sources naturelles dans l'environnement et enfin de la diversité des bioaérosols et de constituants présents dans la poussière organique.*

- *Bien que certains types de bioaérosols puissent être responsables de maladies ou d'allergies professionnelles et que ces mêmes bioaérosols soient présents dans les ambiances des usines de compostage, les données épidémiologiques disponibles ne suggèraient pas que des maladies allergiques, asthmatiques ou pulmonaires aiguës ou chroniques puissent apparaître en population générale autour des usines de compostage.*
- *L'exposition professionnelle aux bioaérosols peut être significative dans certaines circonstances et les travailleurs en usine de compostage sont clairement plus exposés que la population environnante. Cependant, actuellement, les travailleurs ne montrent pas de différence d'atteinte respiratoire ou d'autres organes du corps lorsque les résultats sont comparés à un groupe de personnes non exposées. A l'inverse des effets adverses ont été mis en évidence chez les travailleurs de certaines industries telles que les champignonnières ou travail du bois. Une recherche de MMI, ODS devrait être réalisée lorsque l'exposition en bactéries totales atteint des concentrations de  $10^4$ - $10^5$  UFC/m<sup>3</sup>.*
- *En raison des préoccupations du public et de la grande variété des réponses respiratoires à la poussière organique, des études doivent être menées pour vérifier l'absence d'effets négatifs liés aux usines de compostage".*

On verra dans la synthèse qui suit, qu'à l'exception de quelques éléments (en particulier pour les études auprès des travailleurs), ces conclusions restent toujours d'actualité.

## **XII. RÈGLEMENTATION ACTUELLE**

Dans ce chapitre, l'ensemble de la réglementation qui entoure les procédés de compostage ou l'utilisation du compostage ne sera pas traité. Seuls seront abordés les textes portant sur les divers composants microbiologiques dans le compost lors de son utilisation ou dans l'air lors de sa fabrication. L'ensemble des textes portent sur l'hygiénisation par compostage et concernent donc les germes d'origine fécale et non les micro-organismes générés par le compostage.

Certaines normes sont en cours d'élaboration et les tableaux présentés sont parfois issus de documents provisoires à l'heure de la rédaction de ce rapport.

### **XII.1. - EN FRANCE (Wiert, 2000)**

Le cadre réglementaire et normatif français actuel pour les amendements organiques et composts est basé sur la loi du 13 juillet 1979 relatif à l'organisation du contrôle des matières fertilisantes et des supports de culture.

*"Les matières fertilisantes comprennent les engrais, les amendements et d'une manière générale, tous les produits dont l'emploi est destiné à assurer ou à améliorer la nutrition des végétaux ainsi que les propriétés chimiques, physiques et biologiques des sols. Les supports de culture sont des produits destinés à servir de milieu de culture à certains végétaux".*

Cette loi stipule que ces matières fertilisantes ou supports de culture qui incluent donc les composts doivent avoir fait l'objet d'une homologation ou à défaut d'une autorisation provisoire de vente sauf s'il s'agit :

- de produits qui répondent à une norme d'application obligatoire,
- de produits qui répondent aux dispositions réglementaires européennes,
- de produits réglementés par l'application de la loi sur l'eau ou des installations classées pour la protection de l'environnement,
- de produits organiques bruts (déjections d'animaux) cédés directement par l'exploitant,

et ceci sous réserve de l'innocuité pour l'homme, les animaux et l'environnement.

Un dossier d'homologation correspond à un dossier qui est déposé à la direction générale de l'agriculture (au Ministère de l'agriculture et de la pêche) afin de vérifier l'efficacité et l'innocuité du produit pour l'homme, les animaux et l'environnement.

C'est une procédure qui est peu utilisée et seuls 4 produits organiques d'origine non agricole ont reçu une autorisation provisoire de vente. La plupart des composts mis sur le marché sont soit conformes à un label CE, soit conformes à une norme rendue d'application obligatoire.

### **XII.1.1. Compost de déchets d'origine urbaine**

Ces composts peuvent entrer dans la catégorie des amendements organiques et ils peuvent compléter les supports de cultures.

S'il s'agit d'un amendement organique, ils sont donc soumis à la norme **NF U 44-051**.

Dans cette norme ancienne (1981), rien ne figure sur les agents microbiologiques animaux et végétaux. Il est simplement spécifié que les producteurs ou importateurs doivent, s'il y a lieu, procéder à une évaluation régulière des risques qui peuvent résulter de la présence éventuelle de germes pathogènes pour l'homme et les animaux.

Cette norme est actuellement en cours de révision mais il n'y a pas de document de travail disponible. Cette nouvelle norme devrait voir le jour en 2002 ou 2003.

Si le compost intervient en tant que support de culture, il est alors soumis à la norme **NF U 44-551**. Cette norme est actuellement en cours de révision et dans le document de travail disponible fourni par l'ADEME, les critères d'innocuité pour les micro-organismes pathogènes sont les suivants :

Tableau 37 : Teneurs limites en pathogènes

Micro-organismes pathogènes	Teneurs limites à respecter
<i>Escherichia coli</i>	10 <sup>4</sup> /g MB*
Salmonelles	absence dans 1 g
Entérocoques	10 <sup>5</sup> /g MB
<i>Clostridium perfringens</i>	10 <sup>3</sup> /g MB
<i>Listeria monocytogenes</i>	absence dans 1 g
(Eufs de nématodes viables	absence dans 1 g

\* MB matières brutes

## **XII.1.2. Les composts de boues d'épuration urbaine**

Pendant longtemps on a considéré que ce type de compost rentrait dans le cadre de la norme NF U 44-051 mais en février 1999, la Commission des Matières Fertilisantes et des Supports de Culture a précisé qu'aucune rubrique de cette norme ne fait référence aux boues urbaines.

Ces composts doivent donc, soit être homologués, soit être épandus dans le cadre d'un plan d'épandage s'ils sont fournis gratuitement aux agriculteurs. Dans ce dernier cas, le règlement sanitaire départemental fixe les règles d'épandage. L'arrêté du 8 janvier 1998 sur les boues hygiénisées stipule que les boues hygiénisées doivent vérifier les concentrations suivantes dans le cadre des épandages agricoles :

- moins de 8 NPP<sup>1</sup> pour 10 grammes de matière sèche en salmonelles,
- moins de 3 NPPUC<sup>2</sup> pour 10 grammes de matière sèche en entérovirus,
- moins de 3 œufs d'helminthes pathogènes viables / 10 g de MS (*Toxocara*, *Ascaris Trichuris*)

Cet arrêté préconise aussi un suivi de coliformes thermotolérants au moment de l'usage. Le CSHPF préconisait que le compost remplisse ces trois conditions dans un précédent avis.

Dans ce contexte une norme NF U 44-095 relative aux composts de boue a été créée. Elle a pour objectif de fixer les dénominations, définitions et spécifications, le marquage, les teneurs à déclarer et les doses limites d'emploi des amendements organiques contenant des matières fertilisantes issues du traitement des eaux d'intérêt agronomique.

Les critères d'innocuité dans les conditions d'emploi préconisés proposent des valeurs limites différentes pour l'utilisation sur les cultures maraîchères et pour les autres cultures. Dans ce dernier cas, celles-ci sont identiques aux valeurs limites de la norme NF U 44-551 en révision. Les valeurs pour un amendement organique de cultures maraîchères sont fournies dans le tableau suivant.

Tableau 38 : Valeurs limites en agents pathogènes pour les cultures maraîchères

Agents pathogènes	Valeurs limites
<i>Escherichia coli</i>	10 <sup>3</sup> /g MB*
<i>Clostridium Perfringens</i>	10 <sup>2</sup> /g MB
<i>Salmonelles</i>	absence dans 25 g de MB
(Œufs de nématodes viables	absence dans 25 g de MB
Entérocoques	10 <sup>5</sup> /g MB
<i>Listeria Monocytogènes</i>	Absence dans 25 g de MB

\* MB matières brutes

<sup>1</sup> NPP : Nombre le plus probable

<sup>2</sup> NPPUC : Nombre le plus probable d'unité cytopathique



## XII.2. AU NIVEAU EUROPEEN (Wiart, 2000)

### Normes européennes

Dans le cadre du Comité Européen de Normalisation (CEN), il existe un Comité technique sur les amendements organiques et supports de cultures.

4 groupes de travail ont été créés : dénominations et marquages, sécurité (contaminants et qualité hygiénique), échantillonnage et quantité et méthodes d'analyse. Les deux premiers groupes n'ont pas obtenu un consensus et aucune norme n'a été produite. Il n'y a donc pas de valeurs limites pour les micro-organismes.

### Ecolabel Européen

Un écolabel a été adopté en 1994 dans le but de favoriser les amendements organiques n'utilisant pas de tourbe (préservation de l'environnement) mais ce texte n'a jamais été utilisé en France car jugé trop ambitieux par les professionnels.

Ce texte révisé en 1998 fixait comme valeurs limites pour les agents biologiques une absence de salmonelles dans 25 g et moins de 12000 NPP/g pour *E. coli*.

### Projet de directive européenne sur le traitement biologique des biodéchets (CE, document de travail, février 2001)

Il s'agit donc là, non plus d'utilisation de compost mais de traitement.

Par "biodéchet" est entendu, les déchets dits biodégradables, c'est-à-dire "tout déchet pouvant fait l'objet d'une décomposition aérobie ou anaérobie, tels que les déchets alimentaires, les déchets de jardin, le papier et le carton".

Les exigences d'assainissements portent sur les usines de plus de 500 tonnes de déchets verts ou ligneux traités par an ou 250 tonnes de biodéchets par an.

L'organisme indicateur d'efficacité du traitement est *Salmonella senftenberg* W 775 (en cours de révision). Les conditions pour que les exigences d'assainissement soient atteintes sont présentées dans le tableau ci-après.

Tableau 39 : Conditions optimales pour le traitement de biodéchets

	Température	Durée de traitement	Retournements
Compostage en andains	≥ 55° C	2 semaines	5
Compostage en andains	≥ 65° C	1 semaine	2
Compostage en système fermé	≥ 60° C	1 semaine	pas de consigne

Pour le produit final, le compost est réputé assaini s'il satisfait aux critères suivants (ceux-ci sont en révision) :

- *Salmonella* spp : absence dans 50 g de compost/digestat
- *Clostridium perfringens* : absence dans 1 g de compost/digestat

### XII.3. AUX USA

Pour les boues d'épuration, les procédés permettant la réduction des pathogènes dans le produit final sont détaillés dans la réglementation du 1er juillet 1993, 40 CFR part 503.

L'US-EPA a établi et décrit 2 grandes catégories de boues selon le degré de réduction des pathogènes souhaité.

Pour les boues de classe A, par le procédé d'hygiénisation et le compostage une réduction significative des pathogènes doit être obtenue, quelle que soit la méthode de compostage utilisée, en maintenant une température d'au moins 40°C pendant 5 jours au cours desquels la température doit dépasser 55°C pendant 4 heures.

Pour les boues de classe B (pour une diminution encore plus importante des pathogènes), avec une méthode de compostage par ventilation forcée, en réacteur ou en andain statique, le compost doit être maintenu à une température supérieure ou égale à 55°C pendant 3 jours. Avec une méthode de compostage par retournement, L'US-EPA recommande un minimum de 15 jours à 55°C avec 5 retournements pour un compostage de boues de stations d'épuration en andain (la probabilité d'inactivation des pathogènes, coliformes et salmonelles, est alors de 98%) et 3 jours à 55°C pour un compostage en tunnel ou en pile statiques. D'autre part, la réduction du risque de transport de vecteur de maladie dans le compost est garantie si le compost a subi un procédé aérobie pendant 14 jours avec une température moyenne de 45°C. (Source ADEME compost de boue de STEP municipales, 2000)

Les exigences et l'usage des boues ne sont pas les mêmes selon leurs catégories d'appartenance. Les boues doivent rentrer dans l'une ou l'autre des deux classes de boues A et B qui ont été définies par l'US-EPA (CSHPF, 1998) :

Tableau 40 : Exigence et usages selon la catégorie de boue

Boues	Qualité microbiologique	Usages
Classe A	<p><u>Exigence :</u>            &lt; 1 000 CF* exprimé en NPP/g MS            ou            &lt; 3 salmonelles exprimé en NPP/4g MS</p> <p><u>Alternatives :</u>            &lt; 1 PFU** virus entériques/4g MS            &lt; 1 œuf d'helminthe viable/4g MS            ou            boues traitées par un procédé reconnu efficace (compostage, séchage thermique,...) sur la réduction des agents pathogènes</p>	Boues de haute qualité sanitaire pour : Epandages quels qu'ils soient, y compris jardins familiaux
Classe B	< 2.10 <sup>6</sup> CF exprimés en NPP/g MS (moyenne sur 7 échantillons)	Seulement pour épandage en agriculture, forêt, réhabilitation de sites avec certaines règles d'usage.

\* : CF : coliformes fécaux

\*\* : PFU : plage formant unité

Les boues de classe A ou B doivent en plus satisfaire des critères de "réduction d'attraction des vecteurs", les vecteurs étant les organismes susceptibles de pouvoir transporter des agents infectieux.

### **XIII. SYNTHÈSE ET PROPOSITIONS**

#### **XIII.1. INTRODUCTION ET OBJECTIFS**

Le compostage est une filière de valorisation des déchets que l'ADEME souhaite développer compte-tenu de sa valeur ajoutée sur le plan agronomique et de l'augmentation croissante du gisement de déchets organiques. Dans ce cadre, il convient de s'assurer de l'innocuité de ces pratiques et c'est pourquoi l'ADEME a souhaité disposer d'un état des connaissances sur les risques potentiellement générés par les bioaérosols des composts pour, dans un second temps, proposer un programme d'acquisition et de valorisation des connaissances sur les risques biologiques aéroportés liés au compostage des déchets. Les risques liés aux émissions chimiques provenant du compost ne sont donc pas couverts par cette étude.

La présentation de ce travail doit permettre son utilisation comme outil d'information pour les ingénieurs et techniciens de l'ADEME. Il doit ensuite déboucher sur des propositions de recommandations sur les axes de recherche à développer. Comme cela était spécifié dans la demande, cette étude doit permettre de surtout mieux connaître le risque lié au danger biologique aéroporté encouru par les riverains des sites de compostage et les utilisateurs du compost.

La présentation de cette synthèse est articulée dans une première partie sur les connaissances concernant les micro-organismes, toxines, antigènes identifiés dans le compost et dans l'air des usines de compostage et dans une seconde partie sur des propositions de recherche basées sur les lacunes identifiées dans l'état des connaissances. Seul le transfert dans l'air a été abordé et les autres voies de transfert avec leurs éventuels risques ne seront pas envisagées.

Rappelons que les notions de dangers et de risque sont bien différentes. Le danger est un effet sanitaire indésirable. Il est lié aux propriétés intrinsèques et à la toxicité de la substance ou du microorganisme étudié. Pour qu'il y ait risque sanitaire pour une substance dangereuse, il est nécessaire qu'il y ait exposition à cette substance et que de plus cette exposition soit quantitativement suffisante pour que le risque puisse apparaître. Le risque correspond donc à la probabilité assortie au danger.

La présentation des connaissances reprendra la démarche d'évaluation des risques développée par le National Research Council (NRC, 1983) :

- *Les dangers* liés aux composés étudiés c'est-à-dire la connaissance des effets sur la santé et l'identification de population sensible.
- *Les relations dose-réponse* qui ont été mises en évidence
- L'inventaire de *l'exposition*. Celui-ci est fait au travers du recensement des concentrations mesurées d'une part dans les composts et d'autre part sur les sites de compostage ou aux alentours. Si les micro-organismes sont présents dans le compost, ils sont susceptibles de s'aérosoliser lors de la manipulation du produit par exemple. Leur mesure dans les produits ne représente qu'un potentiel d'exposition mais afin de faciliter la lecture, les concentrations mesurées dans le compost ont été regroupées avec celle des mesures atmosphériques sous le terme "exposition".
- *Les risques* pour ces substances tels qu'ils ont été objectivés dans les études épidémiologiques auprès des travailleurs ou en population générale. Ces risques peuvent apparaître théoriques si aucune étude n'a été réalisée mais si l'exposition et les dangers sont réels.

## **XIII.2. MICRO-ORGANISMES - ANTIGÈNES - TOXINES IDENTIFIÉS AU COURS DU PROCESSUS DE COMPOSTAGE**

Le compostage est un procédé microbiologique où la matière organique est stabilisée par transformation en des composés proches de l'humus. L'activité microbienne durant le compostage s'accompagne d'une élévation de température et cette phase thermophile permet, si le compostage est bien mené, l'élimination des microorganismes pathogènes d'origine fécale. Néanmoins le compostage génère de nouvelles populations microbiennes (Albonetti, 1979 ; Boutin, 1987 ; Jehanno, 1995 ; ADEME, 1994 ; Pereira Netto, 1986). Ces populations et les constituants qu'elles libèrent peuvent présenter des risques par inhalation. La plupart des auteurs s'accordent à regrouper les microorganismes ou constituants présents dans le compostage et potentiellement dangereux pour la santé en 3 catégories (Millner, 1994 ; Beffa, 1998) :

- organismes pathogènes, d'origine fécale, présents dans les produits de départ : bactéries, virus, parasites,
- organismes pathogènes ou allergisants se développant durant le compostage ou le stockage : c'est surtout le cas des actinomycètes thermophiles et des champignons,
- toxines et allergènes libérés par les bactéries et les champignons

### **XIII.2.1. Les organismes pathogènes présents dans les produits de départ**

De par leur origine, les déchets compostés contiennent un certain nombre de microorganismes d'origine entérique. Il s'agit de bactéries, de virus et de parasites. Parmi ceux-ci, certains sont pathogènes par voie digestive (*Salmonella spp*). Parce que certains germes entériques sont faciles à mesurer et plus résistants que les pathogènes, ils ont été mesurés, plus souvent que les pathogènes eux-mêmes, en tant qu'indicateurs d'efficacité du traitement. On range ainsi dans cette catégorie les coliformes thermotolérants (dont *Escherichia Coli*), *Clostridium perfringens* ou encore les streptocoques fécaux.

#### *L'exposition*

##### Produits de départ

Quantitativement, les indicateurs qui ont été mesurés sont :

- les coliformes thermotolérants (Boutin, 1987 ; Pereira Neto, 1986) :
  - $10^6$  /g de matières sèches (MS) dans les OM (ordures ménagères),
  - $10^5$  à  $10^7$ /g de MS dans les boues.
- *E.coli* (Pereira Neto, 1986) :
  - $10^5$  à  $10^6$ /g de MS dans les boues,
  - $10^7$ /g MS dans les OM.
- Streptocoques fécaux (Pereira Neto, 1986 ; Boutin, 1987 ; Tolvanen, 1998) :
  - $10^5$  à  $10^7$  g/MS dans les boues secondaires,
  - $10^6$  à  $10^9$ /g de MS dans les OM.

Parmi les bactéries pathogènes seules les salmonelles ont été mesurées. Les quantités sont de l'ordre de 7 à 32/g MS (Pereira Neto, 1986).

Pour les parasites, seule la recherche d'œufs d'ascaris a été effectuée à deux reprises sans que ceux-ci soient retrouvés dans le compost final (Gerba, 1995 ; Deportes, 1997).

Les entérovirus sont parfois présents dans les boues avant compostage (Monpoeho 2001).

La plupart des auteurs s'accordent pour admettre que le compostage est un excellent traitement hygiénisant s'il est bien conduit. En effet, les germes entériques et en particulier les bactéries pathogènes sont mésophiles et sont inactivées par la chaleur. Pour *Escherichia coli*, *Salmonella spp* et *Shigella spp*, la température létale est de 55° C pendant 1 heure et 60° C pendant 15 à 20 mn. Dans le compost, les études montrent effectivement une disparition des espèces tels que *E.coli*, *Salmonella spp* ou *Clostridium perfringens*. Néanmoins, certains travaux démontrent que, dans certaines conditions, la persistance des bactéries d'origine fécale est possible. Parmi les conditions défavorables on retrouve le rôle :

- des paramètres influençant la montée en température (taux d'humidité, aération) (Soares, 1995 ; Beffa, 1998 ; Pereira Neto, 1986 ; ADEME, 2000)
- de la qualité de la maturation ou du stockage avec des possibilités de recontamination ou de recroissance bactériennes lors de ces étapes (Deportes, 1997 ; Bigot, 1997 ; Sidhu, 2001).

#### Dans l'atmosphère des usines

Globalement, les concentrations en bacilles Gram négatifs (qui incluent entre autres les coliformes, les salmonelles, les shigelles) peuvent atteindre  $10^4$  UFC/m<sup>3</sup> dans les ambiances des usines. Les germes cités appartiennent à la famille des enterobacteries et aux genres *Klebsiella*, *Proteus*, *Xanthomonas* et *Serratia* (Clark, 1983 ; Lacey, 1991 ; Delaunay, 1997 ; Rheinthal, 1997). Parmi ceux-ci, leur mode de transmission habituelle est la voie orale. Après inhalation, il peut néanmoins y avoir déglutition et passage dans le tube digestif.

On dispose de très peu de données à distance des usines de compostage (Heida, 1995 ; Delaunay, 1997). L'abattement mesuré pour les bactéries Gram négatives est d'environ 1 à 2 log ( $10$  à  $10^2$ ) selon les études et ceci dès la sortie de l'usine. Il est néanmoins difficile de savoir si les concentrations sont proches des concentrations naturelles dans l'air ambiant car nous ne disposons pas de publications où les concentrations en bactéries Gram négatives sont clairement individualisées dans un environnement hors activité de compostage.

A notre connaissance, la recherche de virus ou de parasites n'a jamais été effectuée dans l'air des sites de compostage.

#### *Les dangers et la connaissance des risques*

Les germes fécaux pathogènes identifiés dans les produits de départ du compost sont notoirement responsables de troubles gastro-intestinaux pour une exposition par voie orale. Bien que leur mode habituel de transmission soit l'ingestion, la question a été posée d'une possible contamination digestive après inhalation par phénomène de déglutition. Les études auprès des travailleurs en usine pourraient apporter des éléments de réponse mais celles-ci ont rarement objectivé des risques gastro-intestinaux attribuables aux entérobactéries. Seule une étude (Poulsen 1995) rapporte des résultats significativement

plus élevés de nausées, diarrhées, vomissements pour les travailleurs d'une usine de compostage de déchets verts comparativement à ceux d'une usine de production d'eau potable. Les auteurs attribuent cette augmentation aux bactéries Gram négatives ou aux endotoxines mais la relation de causalité n'est pas certaine. Plusieurs publications (Burgei, 1997) sur les travailleurs des stations d'épuration rapportent une augmentation des troubles digestifs dans les mois qui suivent l'embauche chez les travailleurs inexpérimentés mais on ne peut attribuer cette augmentation de symptômes à l'inhalation de microorganismes, le mode de transmission étant probablement plus lié à une contamination de type main bouche.

Quant aux virus et aux parasites, si ceux-ci sont bien présents dans les produits de départ, ils n'ont quasiment jamais fait l'objet de mesures dans le compost ou dans l'air. Les virus sont présents dans les boues et en début de traitement (Monpoeho 2001) et certains ont la capacité de survivre dans le milieu extérieur. La transmission de virus dans les aérosols est donc possible mais le risque en milieu professionnel du compostage n'a pas été étudié.

En ce qui concerne les parasites, la taille des œufs (helminthes) et leur poids rendent peu probable une dissémination par voie aérienne.

### **XIII.2.2. Micro-organismes apparaissant durant le compostage**

Durant le compostage, la flore mésophile est remplacée par une flore thermophile parmi laquelle certains organismes présentent, dans certaines conditions, un risque infectieux, allergique ou toxique. Rentrent dans ces catégories les actinomycètes, les champignons et leurs spores.

#### **XIII.2.2.1. Actinomycètes**

##### *L' exposition*

##### Dans le compost

Les concentrations peuvent atteindre des valeurs de  $10^8$  à  $10^9$ /g MS (Deportes, 1997 ; Wong, 2000).

Les genres ou espèces majoritaires sont *Thermonospora* et *Thermoactinomyces* au début du compostage et *Saccharomonospora viridis* et *Faenia rectivirgula* en fin de compostage ou lors du stockage.

##### Dans les ambiances des usines

Les concentrations sont de l'ordre de  $10^4$  à  $10^5$  UFC/m<sup>3</sup> (Lavoie, 1997 ; Millner, 1980 ; Lacey, 1991 ; Tolvanen, 1998). Les genres identifiés sont : *Saccharomonospora*, *Thermoactinomyces*, *Streptomyces* et *Faenia*.

##### Les concentrations à distance des usines

Seulement deux études (Lavoie, 1997 ; Millner, 1980) permettent des comparaisons entre les concentrations dans l'ambiance des usines et en dehors de celles-ci.

L'étude la plus intéressante est celle de Lavoie (1997) car elle apporte des résultats réellement comparatifs. A distance des usines, 300 m en amont et 100 m en aval, les concentrations sont très faibles voir indétectables et toujours inférieures à 60 UFC/m<sup>3</sup> alors que les concentrations dans l'usine atteignent  $10^3$  UFC/m<sup>3</sup> à certains endroits. Les concentrations relevées à distance sont du même ordre de grandeur que les

valeurs retrouvées dans une étude sur les concentrations dans l'air intérieur des habitations (5 à 17 UFC/m<sup>3</sup>) (Scheff, 2000).

#### *Les dangers*

Les effets des actinomycètes identifiés sont essentiellement de nature allergique. Ceux-ci sont responsables de rhinite allergique et de bronchoalvéolite allergique extrinsèque (Dalphin, 1998) qui ont bien été mis en évidence chez les agriculteurs manipulant du foin (poumon du fermier). Les actinomycètes mis en cause dans ces atteintes sont les mêmes que ceux qui sont retrouvés dans les ambiances des usines de compostage. Pour certains auteurs (Lacey, 1991 ; Molines, 1986) l'exposition à une concentration supérieure à 10<sup>6</sup> UFC/m<sup>3</sup> augmente le risque de broncho-alvéolite allergique extrinsèque (BAAE). La valeur d'un seuil de sensibilisation n'est pas établie, néanmoins, il est fort probable qu'un niveau d'exposition élevé soit nécessaire pour déclencher une sensibilisation et les manifestations sont observées avec plusieurs semaines ou mois de latence. Ainsi les notions de niveau, de durée et de répétition de l'exposition sont des éléments qui demandent des recherches complémentaires.

#### *Les risques*

Dans les faits, seul un cas de BAAE lié aux actinomycètes chez un particulier ayant manipulé son compost à plusieurs reprises a été recensé (Brown, 1995).

Les études auprès des travailleurs n'apportent que peu d'enseignements. Aucun cas de BAAE n'est signalé mais l'effet du travailleur sain (changement de poste ou de travail pour les personnes allergiques) est probablement important dans ces études transversales. Ceci est suggéré dans une étude (Bünger, 2000) qui indique une prévalence plus faible de rhinite allergique parmi les travailleurs du compostage comparativement à d'autres travailleurs. Dans cette même étude, l'exposition semble bien réelle puisque, les travailleurs en usine de compostage, présentaient des concentrations d'anticorps plus élevées que la population témoin contre *Faenia rectivirgula* et *Streptomyces thermovulgaris*.

Au total, si le risque peut être évoqué pour certains sujets allergiques lors du travail en compostage et lors de la manipulation individuelle du compost, la réalité du risque pour les populations riveraines semble beaucoup moins évidente compte-tenu des concentrations retrouvées à distance qui sont très faibles (inférieures à 60 UFC/m<sup>3</sup>). On manque néanmoins d'études comparatives sur cet aspect.

Une seule étude (Scheff, 2000) apporte des informations sur les concentrations ambiantes en milieu naturel où il semble que les concentrations soient très basses et la possibilité d'utiliser les actinomycètes comme indicateur d'exposition pourrait être étudiée.

### **XIII.2.2.2. Champignons**

#### *L'exposition*

De nombreuses espèces mésophiles et thermophiles sont identifiées dans le compost et dans l'air des usines de compostage. La flore mésophile est présente à des concentrations qui varient selon les études entre 10<sup>4</sup> et 10<sup>7</sup> UFC/m<sup>3</sup> avec des concentrations particulièrement importantes au déversement des déchets, au broyage et lors du retournement des andains (Passman, 1983 ; Kothary, 1984 ; Van der Werf, 1996 ; Lavoie, 1997 ; Van Tongeren, 1997).

La flore fongique thermophile ou thermotolérante est présente à des concentrations de  $10^3$  à  $10^4$  UFC/m<sup>3</sup> (Boutin, 1987 ; Tolvanen, 1998 ; Fischer, 2000). Les genres prédominants sont (Lacey , 1991 ; Fischer, 2000) : *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Mucor*, *Penicillium* et *Rhizopus*.

Les proportions sont très variables selon les études. *Aspergillus* représente souvent 60 à 90% des espèces thermotolérantes. Dans d'autres travaux *Penicillium* ou *Cladosporium* sont prédominants. Les concentrations sont de l'ordre de  $10^3$ - $10^4$  UFC/m<sup>3</sup>.

L'influence des activités de compostage sur la qualité de l'air extérieur n'est pas facile à mettre en évidence car les spores de champignons sont ubiquitaires dans notre environnement (Beffa, 1995). Les concentrations naturelles dans l'environnement varient de 0 à  $10^3$  UFC/m<sup>3</sup> mais peuvent atteindre en présence d'une source  $10^6$  UFC/m<sup>3</sup> (Jones, 1983 ; Kock, 1998 ; Wu, 2000). Dans les 3 études (Lavoie, 1997 ; Rheinthalier, 1997 ; Rheinthalier, 1999) où l'on dispose de données permettant des comparaisons, les concentrations au vent des usines de compostage ont des valeurs comparables aux valeurs retrouvées dans l'environnement pour des distances variant de 150 à 900 mètres de l'usine.

Pour *Aspergillus fumigatus*, des valeurs de  $10^3$  UFC/m<sup>3</sup> sont fréquemment retrouvées dans les ambiances des usines et dans les quelques études fournissant des éléments de comparaison, des valeurs du même ordre de grandeur sont retrouvées jusqu'à 100 m des usines (Millner, 1980 ; Lacey, 1991 ; Gumowski, 1992 ; Lavoie, 1997 ; Rheinthalier, 1999). Au-delà de cette distance, il est difficile de se prononcer car peu d'études sont disponibles.

#### *Les dangers*

Les dangers liés à l'inhalation de spores de champignons sont de type infectieux, allergiques ou toxiques.

Les risques infectieux liés à l'inhalation de spores de champignons concernent principalement les patients immunodéprimés ou porteurs de cavités pulmonaires séquellaires (Latgé, 1999 ; Koenig 1995). Les genres mis en cause sont *Aspergillus*, *Mucor*, *Absydia* et *Fusarium*. Le premier est largement présent dans les usines de compostage mais on connaît mal son influence au-delà de 100 mètres d'une usine de compostage. Les risques infectieux les plus importants sont liés à *A. fumigatus*. Il peut être responsable d'aspergillose invasive chez le patient immunodéprimé (moins de 500 polynucléaires neutrophiles/mm<sup>3</sup>) et d'aspergillome chez les personnes porteuses de cavités séquellaires pulmonaires (colonisation par *A. fumigatus* de ces cavités) (Latgé 1999). Il n'existe pas de seuils à risque défini pour cette espèce. Des cas d'otite externe sont aussi décrits pour *Aspergillus niger* (Koenig 1995).

Les spores de champignons sont responsables de rhinites allergiques, d'asthme, de bronchoalvéolite allergique extrinsèque et, pour *Aspergillus*, d'aspergillose bronchopulmonaire allergique (Latgé, 1999 ; Johanning, 1999). Un seuil de concentration de 3000 spores/m<sup>3</sup> pour l'apparition de symptômes allergiques a été proposé pour *Cladosporium* mais aucune valeur n'est disponible pour *Aspergillus* (Millner, 1994).



### *Les risques*

Dans la littérature, *Aspergillus* a été mis en cause dans 4 cas. Chez un ouvrier en usine de compostage (Vincken, 1984) et chez un paysagiste (Weber, 1993), il aurait été responsable de bronchoalvéolite allergique extrinsèque. *A. fumigatus* était concerné dans un des cas alors que dans l'autre il s'agissait d'*A. niger* et *flavus*. Un cas d'aspergillose bronchopulmonaire allergique (Kramer, 1989) a aussi été signalé chez une personne résidant à 75 m d'une usine de compostage mais il est difficile d'imputer à l'usine cette atteinte car d'autres sources d'*Aspergillus* étaient aussi présentes dans l'environnement. Enfin, un cas d'aspergillose invasive (Zuk, 1989), assez mal documenté, est rapporté chez un jardinier qui a priori n'était pas immunodéprimé.

Les études auprès des travailleurs n'apportent pas d'informations supplémentaires sur l'exposition à *A. fumigatus* ou sur les effets sur la santé.

## **XIII.2.3. Toxines et autres composés produits par les bactéries et champignons**

### **XIII.2.3.1. Les endotoxines**

Les endotoxines sont des constituants de la paroi des bactéries Gram négatives qui sont libérés lors de la lyse et de la multiplication de celles-ci. Les bactéries Gram négatives étant présentes dans l'atmosphère des usines de compostage, il était donc logique de rechercher aussi la présence des endotoxines. Très peu d'études ont néanmoins porté sur cette question jusqu'alors.

### *L'exposition*

Les concentrations mesurées dans l'atmosphère des usines varient selon les études de 1,7 à 55 ng/m<sup>3</sup> (Clark, 1983 ; Van der Werf, 1996 ; Von Togerren, 1997). Des données à distance de site de compostage sont absentes et la comparaison avec le peu de données disponibles (Park, 2000 ; Wan, 1999) pour les concentrations naturelles ne permet pas non plus de conclure bien qu'il semble que les concentrations sur site soient plus fortes que dans l'air ambiant. Il faut de plus souligner la grande variabilité des résultats en fonction de la méthode de mesure et dans une même série de prélèvements.

### *Les dangers*

Les effets des endotoxines sur la santé des travailleurs en site de compostage n'ont jusqu'alors pas été démontrés. Par contre, ceux-ci ont bien été mis en évidence chez les travailleurs du coton. Ils sont de plusieurs ordres (Rylander, 1994 ; Kline, 1999 ; Heederik, 2000 ; Schwartz, 2001) :

- un effet inflammatoire qui se caractérise par soit une inflammation des voies aériennes et des muqueuses (irritation des yeux, de la gorge, du nez, toux sèche et possible développement d'une hyper réactivité bronchique non spécifique) soit par un syndrome toxique de la poussière organique (ODTS) appelée aussi fièvre d'inhalation (syndrome pseudogripale avec fièvre, frissons, fatigue, malaise, maux de tête, douleurs musculaires et articulaires) apparaissant pour des niveaux d'exposition élevés avec une latence de 4 à 6 heures et une disparition en 24 heures.
- les endotoxines sont responsables d'une obstruction réversible des voies aériennes. Ces manifestations se rapprochent de celles de l'asthme. Il existe de plus un effet potentialisateur chez les personnes porteuses d'asthme allergique.
- l'exposition chronique aux endotoxines peut entraîner une bronchite chronique

- les endotoxines seraient un facteur de protection contre le développement de l'atopie chez l'enfant
- un effet protecteur sur le risque de cancer du poumon est évoqué, en raison des mécanismes d'action..

Les seuils moyens d'apparition des symptômes sont : 10 ng/m<sup>3</sup> pour les signes d'inflammation des voies aériennes, 100 ng/ m<sup>3</sup> pour les effets généraux (bronchoconstriction, potentialisation de l'asthme) et 200 ng/ m<sup>3</sup> pour l'ODTS (American Thoracic Society, 1998). Au Pays Bas, le conseil national de la santé a même proposé une valeur limite d'exposition de 4,5 ng/m<sup>3</sup>.

#### *Les risques*

Dans les études épidémiologiques transversales publiées sur les travailleurs du compost, les endotoxines n'ont pas clairement été incriminées avec un lien de causalité certain avec les effets sanitaires ou biologiques mesurés.

Par contre un travail récent (Douwes 2000) met en évidence une augmentation de marqueurs d'inflammation dans le liquide de lavage des fosses nasales chez le personnel exposé aux endotoxines par rapport à un groupe témoin non exposé et ,dans le groupe exposé, avant/après la prise du poste. Cette étude sur un petit nombre de personnes ne permettait néanmoins pas d'établir de relation dose-réponse

En raison de son effet potentialisateur, il faut souligner que les personnes à risque sont surtout les atopiques et les asthmatiques.

### **XIII.2.3.2. Les mycotoxines**

#### *L'exposition*

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires élaborés, dans certaines conditions, par certains champignons microscopiques notamment *Aspergillus*, *Trichocetium*, *Penicillium* et *Fusarium*. Certains de ces champignons étant présents dans les composts, la question de la présence de mycotoxines dans le compost et dans l'ambiance des usines s'est posée.

En fait, les études sur cette question sont très peu nombreuses et les mycotoxines n'ont été recherchées dans le compost qu'à une seule reprise (Deportes, 1997). Les recherches se sont révélées négatives. Dans la seule étude (Fischer, 2000) qui a mesuré des mycotoxines dans une usine de compostage dans les spores en suspension, dans les bioaérosols et dans les cultures pures, sur les 8 composés retrouvés, un seul avait un potentiel toxique. Mais son identification n'a eu lieu que dans les cultures, ce qui implique des conditions de production particulière probablement différentes de la réalité. Il serait donc nécessaire de disposer de plus de données sur ces aspects.

#### *Les dangers*

Les dangers liés aux mycotoxines sont assez bien connus par ingestion (Millner, 1994 ; Johanning, 1999). En effet certains de ces composés sont cancérogènes (aflatoxines, ochratoxines), embryotoxiques (aflatoxines), immunotoxiques (fumonisines et trichothécènes, gliotoxines), hépatotoxiques et neurotoxiques. Néanmoins, par voie respiratoire, leurs effets sont moins bien connus. Ils seraient mis en cause dans un syndrome d'ODTS dénommé mycotoxicose, dans des troubles respiratoires (*Stachybotris atra*). La question d'un risque de cancer ou d'immunodépression par inhalation de mycotoxines reste posée, les quelques études en milieu du travail n'étant pas concordantes. Les cancers mis en évidence étaient

différents selon les études. De plus, ces populations étaient exposées à d'autres substances cancérigènes.

#### *Les risques.*

Les risques liés à l'exposition aux mycotoxines pour les travailleurs et pour la population avoisinante demeurent non documentés car aucune étude ne les a mis en évidence.

Il importe donc dans un premier temps de mesurer la réalité de l'exposition aux moisissures productrices de mycotoxines puis aux mycotoxines elles-mêmes.

### **XIII.2.3.3. Les glucanes**

Les **glucanes** sont des polysaccharides que l'on trouve dans les parois cellulaires de plantes (avoine, orge) et de micro-organismes (champignons, certaines bactéries et actinomycètes). *Actinomyces*, *Streptomyces* et de nombreux champignons produisent ainsi des glucanes. Les glucanes ayant les plus puissants effets immunobiologiques sont les (1→3)-β-D-glucanes, glucanes composés de glucoses unis par des liaisons β-(1→3), dont la source principale est la paroi cellulaire des champignons

#### *L'exposition*

Compte-tenu de la présence d'actinomycètes et de champignons, la question de l'exposition aux (1→3)-β-D-glucanes se posait. Néanmoins, une seule (Douwes, 2000) des études consultées a mesuré ce constituant. Les concentrations mesurées auprès de travailleurs en centre de compostage variaient de 540 à 4850 ng/m<sup>3</sup>.

#### *Les dangers*

Expérimentalement les glucanes sont des substances immunostimulantes qui ont la capacité d'amorcer différents systèmes cellulaires résultant en une sensibilisation aux endotoxines et à l'infection (Heederick, 2000). La question se pose donc de leur interaction possible avec les endotoxines mais aussi de leur rôle favorisant sur l'allergie. Chez l'homme les effets ont encore été peu étudiés. Une étude fait état de modifications de la fonction respiratoire et d'augmentation des symptômes d'irritation des voies aériennes supérieures. La connaissance des effets chez l'homme est donc limitée et nécessite un complément d'études (Sisgaard, 2000 ; Williams, 1994).

#### *Les risques*

Pour Dowes (2000) la mesure des endotoxines et des glucanes dans l'air environnant des travailleurs collectant des ordures ménagères montrent des résultats à la limite de la signification pour la relation entre l'exposition aux glucans et l'augmentation de certains marqueurs de l'inflammation nasale.

Les risques pour les travailleurs en site de compostage et pour la population riveraine n'ont pas encore été étudiés.

### **XIII.3. CONCLUSIONS ET PROPOSITIONS**

#### **XIII.3.1. Connaissance des dangers et relation dose-effet**

Les dangers liés aux différents composants d'un bioaérosol sont associés à trois mécanismes : un mécanisme infectieux (pour *Aspergillus* essentiellement), un mécanisme inflammatoire pour les endotoxines, les glucanes et les mycotoxines et enfin un mécanisme allergique pour les actinomycètes et les champignons. Les dangers infectieux et allergiques liés aux actinomycètes et champignons et les manifestations liées à l'inhalation d'endotoxines sont connus. Par contre la connaissance des risques pour la santé liés aux mycotoxines (pour une exposition par inhalation) et surtout aux glucanes est plus récente et assez peu d'études sont disponibles. De plus, on connaît peu les interactions entre ces différents produits. Il est donc nécessaire de développer des études expérimentales sur les bioaérosols dans leur ensemble qui permettent d'ajuster les résultats sur les autres composés présents. Un auteur s'est penché sur les composés organiques volatils d'origine microbiologique (Fischer, 2000) mais l'importance des émissions et les risques pour la santé sont mal connus.

L'existence d'une relation dose-effet n'a été objectivée que pour les endotoxines à partir d'études expérimentales surtout et de quelques études en milieu du travail.

Pour le risque allergique lié aux actinomycètes et aux champignons, des travaux supplémentaires doivent être menés afin de mieux préciser les concentrations et/ou la durée d'exposition au-delà duquel il existe un risque de sensibilisation.

De même, les connaissances sont insuffisantes concernant l'implication des mycotoxines et des glucanes dans la nocivité des champignons.

#### **XIII.3.2. Connaissance des expositions**

##### **XIII.3.2.1. Exposition des travailleurs**

La plupart des études recensées fournissent des résultats sur les concentrations en bactéries et champignons dans l'atmosphère des usines de compostage. Quelques études indiquent des concentrations en endotoxines et en glucanes. Les concentrations les plus élevées de bactéries aérobies, de champignons thermophiles sont détectées lors d'opération de brassage du compost. Les méthodes de mesure des bactéries sont le plus souvent basées sur la culture des bactéries viables et ignorent les concentrations en bactéries non cultivables, viables et non viables. Il existe une grande variabilité des lieux et du matériel de prélèvement ainsi que des milieux de cultures qui limitent la comparaison des résultats entre études. Pour cette raison, il n'a pas été possible de comparer les concentrations mesurées selon différents procédés de compostage ou le type de déchets compostés. De plus, il n'existe pas de données sur l'exposition aux glucanes et aux mycotoxines dans l'air des usines. Il est donc recommandé que de nouvelles études d'exposition utilisant un même protocole standardisé de mesures et comparant différents types d'usines de compostage ainsi que différents déchets intrants soient réalisées.

### **XIII.3.2.2. Exposition de la population résidant aux alentours des usines.**

Assez peu d'études fournissent des données sur les concentrations à distance des usines. Leur interprétation est d'autant plus difficile que les données sur l'exposition habituelle des populations aux agents pathogènes pris en compte dans ce travail sont parcellaires et peu nombreuses. Pour les spores de champignons, il existe d'autres sources naturelles dans l'environnement qui rend difficile l'interprétation des résultats à distance des usines. L'analyse de la littérature disponible serait en faveur d'une absence d'influence des émissions des usines au-delà d'une distance de 150 à 200 mètres. Il serait nécessaire de confirmer cette appréciation.

Par ailleurs, les concentrations naturelles en actinomycètes thermophiles sont très basses, en dehors d'une autre source de matériel organique susceptible de s'échauffer (de l'ordre de 10 UFC/m<sup>3</sup>). Dans ces conditions, la possibilité d'utiliser ce micro-organisme comme indicateur de la dispersion aérienne peut être étudiée plus avant.

Une attention particulière doit être attachée aux travaux de recherche actuels concernant l'utilisation d'indicateurs chimiques des biomasses bactériennes et fongiques et des endotoxines.

Dans ce cadre et dans une optique de caractérisation de l'exposition, il serait utile de mettre au point et de valider des modèles de prédiction de concentrations en bioaérosols autour d'une source telle qu'une usine de compostage. Les modèles actuellement décrits sont des modèles gaussiens qui intègrent des paramètres de survie des micro organismes mais qui ont le plus souvent été développés pour des aérosols de gouttelettes et non dans le cadre d'un produit sec tel que la poussière organique (constituant la majeure partie du bioaérosol généré par les composts). Des travaux sur la modélisation, les facteurs d'émissions d'une usine de compostage sont donc nécessaires.

### **XIII.3.2.3. Exposition des utilisateurs de compost.**

Nous n'avons pas recensé de données sur l'exposition des utilisateurs du compost utilisé à titre privé (épandage de compost ensaché par exemple) ou dans le cadre d'une utilisation agricole et il serait donc nécessaire que des études d'exposition de ces populations soient réalisées.

## **XIII.3.3. Connaissance des risques pour la santé**

### **XIII.3.3.1. Connaissance des risques pour les travailleurs**

La connaissance des risques pour les travailleurs est limitée. Seules des études épidémiologiques transversales, avec comparaison de l'état de santé et de paramètres paracliniques, entre des populations de travailleurs de différents types d'usines de traitements de déchets sont disponibles. Il est difficile d'en tirer des conclusions sur la réalité d'un risque dans la mesure où l'exposition n'est pas toujours bien caractérisée et où il existe un possible effet du travailleur sain (les travailleurs malades en raison de leur travail quittent leur travail et sont donc exclus du champ d'investigation des études transversales). Compte-tenu des données disponibles le risque semble principalement d'ordre allergique ou toxinique. L'étude la plus récente et la plus fiable recense des atteintes respiratoires et dans une moindre mesure cutanées chez les travailleurs du compost et comparativement à un groupe témoin mais ces résultats mériteraient d'être confirmés. Il serait nécessaire de réaliser une

étude associant un suivi longitudinal clinique, biologique et au suivi de l'exposition afin de valider ces résultats. Un travail international sur 3 ans de ce type est actuellement en cours de réalisation (cité dans Johanning 1999).

### **XIII.3.3.2. Les connaissances sur le risque pour la population riveraine et pour les utilisateurs du compost**

Les données sur cette question sont quasiment absentes.

Dans certain cas, il a été proposé que les connaissances pour les travailleurs soient un des éléments d'information sur l'existence de risque pour les populations générales. Néanmoins, pour le sujet traité ici, l'extrapolation des résultats d'une population à une autre doit être envisagée avec une extrême prudence. Les travailleurs sont des personnes a priori en bonne santé exposées 8 heures par jour, 5 jours par semaine et la population riveraine peut inclure des populations sensibles avec une exposition moindre mais qui peut être permanente. Par exemple, le seuil de sensibilisation à *A.fumigatus* ou aux actinomycètes nécessite des niveaux d'exposition élevés correspondant à des concentrations plus fréquemment retrouvées sur les sites qu'autour. En raison de caractéristiques différentes d'exposition et de l'absence de populations sensibles dans leur rang, les travailleurs ne peuvent être considérés comme une population sentinelle

Compte-tenu des micro-organismes mis en cause et s'il s'avérait que les émanations atmosphériques d'une usine sont susceptibles d'atteindre une zone résidentielle avec de fortes concentrations, le risque théorique pourrait être d'ordre allergique et pour les personnes immunodéprimés. En effet, l'exposition à *Aspergillus fumigatus* n'est susceptible de générer des infections graves que chez les personnes immunodéprimés ou porteuses de cavités pulmonaires séquellaires. La mise en place d'étude épidémiologique en population générale est nécessairement complexe, longue et coûteuse. Il est donc nécessaire dans un premier temps de mieux caractériser l'exposition avant d'envisager une étude du risque sanitaire.

## **BIBLIOGRAPHIE**

---

ADEME. Ecole Nationale Vétérinaire de Nantes, Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, ENSP, 1994. Les germes pathogènes dans les boues résiduelles des stations d'épuration. Collection valorisation agricole des boues d'épuration. Collection ADEME, Editions 1994.

ADEME. Suivi d'une unité de compostage de déchets verts. Collection Connaître pour agir. Mai 1998.

ADEME, recyval SA. Compostage des boues de stations d'épuration municipales. Qualité, performances agronomiques et utilisations. Collection données et références. 2000. 424 pages.

ADEME. Les boues d'épuration municipales et leur utilisation en agriculture. 2000. Dossier documentaire n° 3832.

AFNOR. Norme européenne, norme française. NF-EN 13098:200. Atmosphères des lieux de travail. Règle pour le mesurage de micro-organismes et d'endotoxine en suspension dans l'air. 28 pages.

ALAVANJA MC, MALKER H, HAYES RB. Occupational cancer risk associated with the storage and bulk handling of agricultural foodstuff. *Journal of toxicology and environmental health* 1987;22:247-54.

ALBONETTI SG, MASSARI G. Microbiological aspects of municipal waste composting system. *European J Appl Microbiol Biotechnol* 1979;7:91-8.

ALLMERS H, HUBER H, BAUR X. Two year follow-up of a garbage collector with allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Am J Ind Med* 2000 Apr;37(4):438-42.

ALVAREZ AJ. PCR for bioaerosol monitoring: sensitivity and environmental interference. *Appl Environ Microbiol* 1995;61(10):3639-44.

AMBROISE-THOMAS P. La prévention de l'aspergillose nosocomiale. *Association pour la recherche en hygiène hospitalière* 1997;(1).

AMERICAN THORACIC SOCIETY. Respiratory health hazards in agriculture. *Am J Respir Crit Care Med* 1998 Nov;158, (5):S1-S76.

AMISHIMA M, MUNAKATA M, OHTSUKA Y. Dairy farmers have increased methacholine bronchial responsiveness independent of sensibilization to mold antigens. *Am J Respir Crit Care Med* 1995;151(6):1794-98.

ANDREWS SA, LEE H, TREVORS T. Bacterial species in raw and cured compost from a large-scale urban composter. *Journal of Industrial Microbiology* 1994;13:177-82.

ANONYME. A prospective study of health symptoms and bioaerosol levels near a yard waste composting facility. March 1994. State of New-York. Report from the Department of Health.

AULT SK, SCHOTT M. Aspergillus, aspergillosis, and composting operation in California. Technical bulletin N°1 1994. California intergrated waste management board. Eds EPA, Sacramento, USA.

AUTRUP L, SCHMIDT J, SEREMET T, AUTRUP H. Determination of exposure to aflatoxins among danish workers in animal-feed production through the analysis of aflatoxin B1 adducts to serum albumin. Scand J Work Environ Health 1991;17:36-40.

BALL RW, HUIE JM, COULOMBE RA. Comparative activation of aflatoxin B1 by mammalian pulmonary tissues. Toxicology letter 1995;75:119-25.

BARTLEY DL. Respirable aerosol sampler performance testing. Am Ind Hyg Assoc 1994;55(11):1036-46.

BEFFA T, LOTT FISCHER J, ARAGNO M. Industrial sources and dispersion in the air of fungal spores. Mycologia Helvetica 1995;7(2):125-130.

BEFFA T. Installation de compostage, pas sans danger pour la santé. Des spécialistes recommandent le compostage "à chaud". Sciences et recherches - L'image du mois. février 1996.

BEFFA T, STAIB F, LOTT FISCHER J. Mycological control and surveillance of biological waste and compost. Medical Mycology 1998;36 suppl 1 : 137-145.

BELLIN P. Comparison of field performance of the Andersen N6 single stage and the SAS sampler for airborne fungal propagules. Indoor Air 2001 Mar;11(1):65-8.

BIGOT V, BOURNEAU E, LEGEAS M. Le compostage et son effet hygiénisant. ADEME, Journées Techniques des 5 et 6 juin 1997 ; Aspects sanitaires et environnementaux de l'épandage des boues d'épuration urbaines, 90-103.

BOUTIN P, TORRE M, MONINE J. Bacterial and fungal atmospheric contamination at refuse composting plants: a preliminary study in Compost : production, quality and use. Elsevier applied science publishers ltd, London and New york 1987;853:266-75.

BOUTRIF E, CANET C. Mycotoxin prevention and Control : FAO programmes. Revue Med Vét 1998;149(6):681-94.

BROWN JE, MASOOD D, COUSER JI, PATTERSON R. Hypersensitivity pneumonitis from residential composting: residential composter's lung. Ann Allergy Asthma Immunol 1995 Jan;74(1):45-7.

BRUMMUND W, KURUP VP, RESNIK A. Immunologic response to *Faenia rectivirgula* (*Micropolyspora faeni*) in dairy farm family. J Allergy Clin Immunol 1988;82:190-95.



BUNGER J, ANTLAUF-LAMMERS M, SCHULZ TG. Health complaints and immunological markers of exposure to bioaerosols among biowaste collectors and compost workers. *Occup Environ Med* 2000;57:458-64.

BURGEI E, LEDRANS M, JOUAN M, LE GOASTER C, QUENEL P. Effets de la station d'épuration des eaux usées d'Achères sur la santé et le bien-être des riverains : bilan des données disponibles et recommandations vis-à-vis de la mise en place d'une surveillance épidémiologique. RNSP, St Maurice sept.1997;32 pages.

CASTELLAN RM, OLENCHOCK SA, KINSLEY KB, HANKINSON JL. Inhaled endotoxin and decreased spirometric values. *N Engl J Med* 1987;317:605-610.

CE Commission Européenne. Direction générale de l'environnement. Env.A.2. Ressources durables. Traitement biologique des biodéchets. Document de travail 2ème version 12 février 2001.

CINKOTAI FF, LOCKWOOD MG, RYLANDER R. Airborn micro-organisms and prevalence of byssinotic symptoms in coton mills. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 1997. 38:554-559.

CLARK CS, LINNEMANN CC JR, GARTSIDE PS, PHAIR JP, BLACKLOW N, ZEISS CR. Serologic survey of rotavirus, Norwalk agent and *Prototheca wickerhamii* in wastewater workers. *Am J Public Health* 1985 Jan;75(1):83-5.

CLARK CS, LINNEMANN CC JR, CLARK JG, GARTSIDE PS. Enteric parasites in workers occupationally exposed to sewage. *J Occup Med* 1984b Apr;26(4):273-5.

CLARK SC, RYLANDER R, LARSSON L. Levels of Gram-negative bacteria, *Aspergillus fumigatus*, dust and endotoxin at compost plants. *Appl Environ Microbiol* 1983;45(5):1501-05.

CLARK SC, BJORONSON HS, SCHWARTZ-FULTON J, HOLLAND JW, GARTSIDE PS. Biological health risks associated with the composting of wastewater treatment plant sludge. *J. Water Poll. Cont. Fed.* 1984a; 56:1269-1276.

COENEN GJ, EBBEHØH H, IVENS UL, STENBOEK EI. Immunoglobulins, peak expiratory flow and respiratory symptoms in waste collectors. International meeting on waste collection and recycling bioaerosol exposure and health problems. Abstract. 1996. 13-14 Sep. Programme and Abstract Collection. p 22.

CONSTABLE PJ, RAY DJ. Consideration of health hazards associated with the recycling of household waste. *Environ Health* 1979 September:1-3.

CSHPF (Conseil Supérieur d'Hygiène Public de France). Section de l'alimentation. Les mycotoxines. Août, 1990.

CSHPF Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France. Risques sanitaires liés aux boues d'épuration des eaux usées urbaines. Ed. Lavoisier Tec et doc. 1998, 107 pages.

CORMIER Y, ASSAYAG E, TREMBLAY G. Viral infection enhances lung response to *Micropolyspora faeni*. *Am J Ind Med* 1994;25:79-80.

DALPHIN JC, DEBIEUVRE D, PERNET D. Prevalence and risk factors for chronic bronchitis and farmer's lung in french dairy farmers. *British Journal of Industrial Medicine* 1993;50:941-44.

DALPHIN JC, POLIO JC, PERNET D. Influence of barn drying of fodder on respiratory symptoms and function in dairy farmers of the Doubs region of France. *Thorax* 1994;49(1):50-3.

DALPHIN JC, TOSON B, MONNET E. Farmer's lung precipitins in Doubs (a department of France) : prevalence and diagnostic value. *Allergy* 1994;49:744-50.

DALPHIN JC. Pathologie respiratoire en milieu agricole. *Revue du praticien* 1998;48:1313-18

DAHLQVIST M, JOHARD U, ALEXANDERSSON R, BERGSTRÖM B , EKLUND A, MILOSEVITCH B, TORNLING B, ULFVARSON U. Lung function and precipitativ antibodies in low exposed wood trimmers in Sweden. *Am. J. Ind. Med.* 1992. 21: 549-559.

DARRAGH AH, BUCHAN RM, SANDFORT DR, COLEMAN RO. Quantification of air contaminants at a municipal sewage sludge composting facility. *Appl occup environ hyg* 1997;12(3):190-194.

DE BERTOLDI M. *Biology of composting: Waste Management and research* 1983;1:157-76.

DEES PM, GHIORSE WC. Microbial diversity in hot synthetic compost as revealed by PCR-amplified rRNA sequences from cultivated isolates and extracted DNA. *FEMS Microbiol Ecol* 2001 Apr;35(2):207-16.

DELAUNAY N. Une approche du risque microbiologique aéroporté dans une station de compostage industriel d'ordures ménagères. Thèse de doctorat en médecine, 1997. Grenoble.

DEPORTES I, BENOIT-GUYOD JL, ZMIROU D. Hazard to man and the environment posed by the use of urban waste compost : a review. *Journal: Science of the total environment* 1995; 172(2,3):197-222.

DEPORTES I, ZMIROU D, BENOIT-GUYOT JL. Modelling composting plant dust in a neighbouring population. In: *International meeting on waste collection and recycling. Bioaerosols exposure and health problems. Abstract collection.* 1996, 13-14 september. Koge. Denmark.

DEPORTES I, KRIVOBOK S, SEIGLE-MURANDI F, ZMIROU D. Aflatoxins in municipal solid wastes compost. A first answer. *Journal of agricultural and food chemistry* 1997a;45(7):2788-92.

DEPORTES I. Contribution à l'évaluation des risques liés au compostage des ordures ménagères – Thèse de doctorat 1997b, Grenoble.

DEPORTES I, BENOIT-GUYOT JL, ZMIROU D, BOUVIER MC. Microbial disinfection capacity of municipal solid waste (MSW) composting. *J applied Microbiology* 1998 ;85:238-46.

DESCHAMPS S, MOMAS I, FESTY B. Quelques aspects du risque professionnel lié à l'inhalation d'endotoxines. Arch Mal Prof 1994 ;55(5):327-33.

DONHAM KJ. Health effects from work in swine confinement buildings. Am J Ind Med 1990;17(1):17-25.

DONHAM KJ, HAGLIND P, PETERSON Y, RYLANDER R, BELIN L. Environmental and health studies of farm workers in Swedish swine confinement buildings. Br. J. Ind. Med. 1989;46:31-37.

DONHAM KJ, CUMRO D, REYNOLDS SJ, MERCHANT JA. Dose-response relationships between occupational aerosol exposures and cross-shift declines of lung function in poultry workers: recommendations for exposure limits. J Occup Environ Med 2000 Mar;42(3):260-9.

DOUWES J. Influence of various dust sampling and extraction methods on measurement of airborne endotoxin. Applied and Environ Microbio 1995;61(5):1763-9.

DOUWES J, MANNETJE A, HEEDERIK D. Work-related symptoms in sewage treatment workers. Ann Agric Environ Med 2001;8(1):39-45.

DOUWES J, WOUTERS I, DUBBELD H, VAN ZWIETEN L, STEERENBERG P, DOEKES G, HEEDERIK D. Upper airway inflammation assessed by nasal lavage in compost workers: A relation with bio-aerosol exposure. American Journal of Industrial Medicine 2000 May; 37(5):459-68.

DOWD SE, GERBA CP, PEPPER IL. Bioaerosol transport modeling and risk assessment in relation to biosolid placement. J Environ Qual 2000; 28:343-48.

DROFFNER ML, BRINTON WF. Survival of E. coli and Salmonella populations in aerobic thermophilic composts as measured with DNA gene probes. Zentralbl Hyg Umweltmed. 1995 Jun;197(5):387-97.

DUCEL G, PITTELOUP JJ, RUFENER-PRESS C, BAHY M, REY P. Importance de l'exposition bactérienne chez les employés de la voirie chargés de la levée des ordures. Médecine sociale et préventive. 1976;21: 136-138.

DUCHAINE C. Comparison of endotoxin exposure assessment by aerosol impinger and filter-sampling methods. Appl Environ Microbiol 2001;67(6):2775-80.

DUMONTET S, DINEL H, BALODA SB. Pathogen reduction ion sewage sludge by composting and other biological treatments: A review Journal: Biological agriculture & horticulture 1999;16(4):409-30.

DUTKIEWICZ J. Bacteria, fungi and endotoxin in stored timber logs and airborne sawdust in Poland. Biodegradation research 1989;2:533-47.

DUTKIEWICZ J. Bacteria and their products as occupational allergens. Pneumologia J Alergologia Polska 1992;60(2):14-21.

DUTKIEWICZ J, POMORSKI JHZ, SITKWKA J. Airborne micro-organisms and endotoxin in animal houses. *Grana* 1994;33:85-90.

EDUARD W, SANDVEN P, LEVY F. Serum IgC antibodies to mold spores in two Norwegian sawmill populations : relationship to respiratory and other work-related symptoms. *Am. J. Ind. Med.* 1993. 24:207-222.

EDUARD W. Measurement methods and strategies for non-infectious microbial components. In: *bioaerosols at the workplace. Analyst* 1996 Sep;121(9):1197-201.

EDUARD W. Methods for quantitative assessment of airborne levels of non infectious micro-organisms in highly contaminated work environment. *Am Ind Hyg Asso J* 1998;59:113-27.

EPSTEIN E. Composting and Bioaerosols.1994. *BioCycle* Final draft for CEN enquiry 93 pages.

EPSTEIN E. Protecting workers at composting facilities. *BioCycle* 1996;37(9)69-77.

ENSP: CARRE J, LEGEAS M. Risques non microbiologiques associés au compostage des déchets. Rapport pour le compte de la FNADE, le Ministère de l'aménagement du territoire et de l'environnement, l'ADEME. 2002 (en préparation).

FISCHER JL, SCHWALBE R, OSTROWSKI R, DOTT W. Airborne fungi and their secondary metabolites in working places in a compost facility. *Mycoses.* 1998. Nov;41(9-10):383-8.

FISCHER G, MÜLLER T, OSTROWSKI R. Mycotoxins of *Aspergillus fumigatus* in pure culture and in native bioaerosol from compost facilities, *Chemosphere* 1999;38:1745-55.

FISHER G, MÜLLER T, SCHWALBE R, OSTROWSKI R, DOTT W. Exposure to airborne fungi, MVOC and mycotoxins in biowaste-handling facilities. *Int J Hyg Environ Health* 2000;203,97-104.

GANIO LM, MOHR AJ, LIGHTHART B. A comparison between computer modeled bioaerosol dispersion and a bioaerosol field spray event. *Aerobiologia* 1995,11:183-88.

GAZENKO SV. Analysis of airborne actinomycete spores with fluorogenic substrates. *Appl Environ Microbiol* 1998;64(11):4410-15.

GERBA CP, HUBER MS, NARANJO J, ROSE JB, BRADFORD S. Occurrence of enteric pathogens in composted domestic solid waste containing disposal diapers. *Waste Management & Research* 1995;13:315-24.

GLADDING TL, COGGINS PC. Health effects of working in UK materials recover facilities. *International Meeting on Waste Collection and Recycling Bioaerosol exposure and health problems. Abstract.* 1996. 13-14 Sep. Programme and Abstract Collection. p. 29.

GLAS C, HOTZ P, STEFFEN R. Hepatitis a in workers exposed to sewage : a systematic review. *Occupational and environmental medicine* 2001;58(12):762-768.

GOLUEKE CG. When is compost "safe". In: the biocycle guide to the Art and Science of Composting. Biocycle eds. JG press, Emmaus USA. 1991, 270 pages.

GORNY RL. Application of the classic Limulus test and the quantitative kinetic chromogenic LAL method for evaluation of endotoxin concentration in indoor air. *Ann Agric Environ Med* 1999;6(1):45-51.

GREGORY PH. The microbiology of the atmosphere. 2<sup>nd</sup> Edition. Ed Professor Nicholas Polunin. An intertext publisher. 1973. 365 pages.

GUMOWSKI PI, DUNOYER GEINDRE S, LATGE JP. Evaluation of occupational risk factors for the workers in municipal composting facilities. *European Respiratory Journal* 1992;5 Suppl.15:406-7.

HAGLIND P, RYLANDER R. Exposure of cotton dust in an experimental cardroom. *Br. J. Ind. Med.* 1984. 41:340-345.

HAGMAR I, SCHÜTZ A, HALLBERG T, SJÖHOLM A. Health effects of exposure to endotoxins and organic dust in poultry slaughter-house workers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 1990. 62:159-164.

HANSEN J, IVENS UI, BREUM NO, NIELSEN M, WÜRTZ H, SKOV T. Respiratory symptoms among Danish waste collectors. International meeting on waste collection and recycling bioaerosol exposure and health problems. Abstract. 1996. 13-14 Sep. Programme and Abstract Collection. p 21.

HART T, SHEARS P. Atlas de poche de microbiologie. Ed. Médecine-sciences, Flammarion, 1997, 313 pages.

HASDAY JD, BASCOM R, COSTA JJ, FITZGERALD T, DUBIN W. Bacterial endotoxin is an active component of cigarette smoke. *CHEST* 1999;115(3):829-35.

HEAP BJ, MCCULLOCH ML. Giardiasis and occupational risk in sewage workers. *Lancet* 1991(8775).

HEEDERIK D, BROUWER R, BIERSTEKER, BOLEIJ JSM. Relationship of airborne endotoxin and bacteria levels in pig farms with the lung function and respiratory symptoms of farmers. *Int. Arch. Occup. Health.* 1991;62:595-601.

HEEDERIK D, SMIDT T. Epidemiology : Mortality and morbidity in organic dust. *Compost Sci & Utilisation.* 1994;2(4):127-138.

HEEDERIK D, DOWES J, WOUTERS I, DOEKES G. Organic dusts: beyond endotoxins. *Inhal Tox* 2000;12(3):27-33.

HEIDA H, BARTMAN F, VAN DER ZEE SC. Occupational exposure and indoor air quality monitoring in a composting facility. *Am Ind Hyg Assoc J* 1995 Jan;56(1):39-43.

HERING SV. Air sampling instruments for evaluation of atmospheric contaminants. American conference of governmental industrial hygienists. 1989;Cincinnati.

IARC. IARC monograph on the evaluation of the carcinogenic risks to human : some naturally occurring substances : some food, ions and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. IARC : Lyon, 1993;n°56.

IFTIMOVICI, IACOBESCU V, COPELOVICI Y, DINCA A, IORDAN L, NICULESCU R, TELEGUTA L, CHELARU M. Prevalence of antiviral antibodies in workers handling wastewater and sludge. *Virologie* 1980 Jul-Sep;31(3):187-89.

INRS. Valeurs limites d'exposition professionnelle aux agents chimiques en France. Cahiers des notes documentaires – Hygiène et sécurité du travail – N° 174, 1<sup>er</sup> trimestre 1999.

ISHII K, FUKUI M, TAKII S. Microbial succession during a composting process as evaluated by denaturing gradient gel electrophoresis analysis. *J Appl Microbiol* 2000 Nov;89(5):768-77.

IVENS UI, EBBEHOJN, POULSEN OM, SKOVT. Season, equipment, and job function related to gastrointestinal problems in waste collectors. *Occup Environ Med* 1997 Dec;54(12):861-7.

IVENS UI, BREUM NO, EBBEHOJ N, NIELSEN BH, POULSEN OM, WURTZ H. Exposure-response relationship between gastrointestinal problems among waste collectors and bioaerosol exposure. *Scand J Work Environ Health* 1999 Jun;25(3):238-45.

JACOBS RR. Airborne endotoxins: an association with occupational lung disease. *Appl Ind Hyg* 1989;4:50-6.

JEHANNON F. Suivi de l'évolution des micro-organismes pathogènes pour l'homme dans un compost de mélange de broyat de déchets végétaux et de boues de station d'épuration. Mémoire de fin d'études 1995. ENSP.

JENSEN PA, LIGHTHART, MOHR AJ, SHAFFER BT. Instrumentation used with microbial aerosols. *Atmospheric Microbial Aerosols. Theory and applications.* 1995; 226-284.

JESENSKA Z. Micromycetes and mycotoxins in the working environment. *Prog Ind Microbiol* 1993;28:198-207.

JOHANNING E. An overview of waste management in the United States and recent research activities about composting related occupational health risk. *Schriftenr Ver Wasser Boden Lufthyg* 1999;104:127-40.

JONES BL, COOKSON JT. Natural atmospheric microbial conditions in a typical suburban area. *Appl Environ Microbiol.* 1983;4 :919-34.

KANE BE, MULLINS JT. Thermophilic fungi in a municipal waste compost system. *Mycologia* 1973 Sep-Oct;65(5):1087-100.

KENNEDY SM, CHRISTIANI DC, EISEN EA, WEGMAN DH, GREAVES IA, OLENCHOCK SA, YE T, LU P. Cotton dust and endotoxin exposure-response relationships in cotton textile workers. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1987;135:194-200.

KHAN ZU, GANGWAR M, GAUR SN. Thermophilic actinomycetes in cane sugar mills: an aeromicrobiologic and seroepidemiologic study. *Antonie Van Leeuwenhoek* 1995;67:339-44.

KHUDER SA, ARTHUR T, BISESI MS, SCHAUB EA. Prevalence of infectious diseases and associated symptoms in wastewater treatment workers. *American journal of industrial medicine* 198,33(6):571-577.

KIRSCHNER D, QUE HEE SS, CLARK CS. Method for detecting the 3-hydroxymyristic acid component of the endotoxins of Gram-negative bacteria in compost samples. *Am Ind Hyg Assoc J* 1985 Dec;46(12):741-6.

KLINE JN, COWDEN JD, HUNNINGMAKE GW et al. Variable airways responsiveness to inhaled lipopolysaccharide. *Am Respir Crit Care Med* 1999;160(1):297-303.

KNOBLOCH J, BIALEK R, HAGEMANN J. Intestinal protozoal infestation in persons with occupational sewage contact. *Dtsch Med Wochenschr* 1983 Jan 14;108.

KOCK M, SCHLACHER R, PICHLER-SEMMELOCK FP, REINTHALER FF, EIBEL U, MARTH E, FRIEDL H. Air-borne microorganisms in the metropolitan area of Graz, Austria. *Cent Eur J Public Health*. 1998 Feb;6(1):25-8.

KOENIG H. *Guide de mycologie médicale*. ed Ellipse. 1995. 284 pages.

KOTHARY MH, CHASE T, MC MILLAN JD. Levels of *Aspergillus fumigatus* in air and in compost at a sewage sludge composting site. *Environ Pollut* 1984;(ser. A)34:1-11.

KRAMER MN, KURUP VP, FINK JN. Allergic bronchopulmonary aspergillosis from a contaminated dump site. *Am Rev Respir Dis* 1989 Oct;140(4):1086-8.

KURUP VP, MŠNTYJŠRVI RA, TERHO EO. Circulation of IgG antibodies against fungal and actinomycete antigens in the sera of farmer lung patients from different countries. *Mycopathologia* 1987;98:91-9.

LACEY J, CROOK B. Fungal and actinomycete spores as pollutants of the workplace and occupational allergens. *Ann occup Hyg* 1988;32(4):515-33.

LACEY J, WILLIAMSON PAM, KING P. Airborne micro-organisms associated with domestic waste composting. Warren Spring Laboratory eds, ISBN 1991; 0 85624 666 2: 36pages.

LACEY J, WILLIAMSON PAM, CROOK B. Microbial emissions from composts made from mushroom production and domestic waste. In: *Composting and compost quality assurance criteria*. Commission of the European Communities publisher 1992. EUR 14254 EN. 429 pages : 117-30.

LACEY J. Spore dispersal - its role in ecology and disease: the British contribution to fungal aerobiology. *Mycol res* 1996;100(6):641-60.

LANGE JL. Application of flow cytometry and fluorescent in situ hybridization for assessment of exposures to airborne bacteria. *Appl Environ Microbiol* 1997;63(4):1557-63.

LAPA e SILVA JR, POSSEBOB da SILVA MD, LEFORT J, VARGAFTIG BB. Endotoxins, asthma, and allergic immune responses. *Toxicology* 2000 Nov 2;152(1-3):31-5.

LATGE JP. *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis. *Clin Microbiology Reviews* 1999;12(2):310-50.

LAVOIE J, MARCHAND G. Détermination des caractéristiques à considérer d'un point de vue de santé et sécurité des travailleurs dans les centres de compostage des déchets domestiques. *Etudes et Recherches : rapport IRSST, Institut de recherches en santé et en sécurité du travail du Québec, Juin 1997; 1-37.*

LECLERC H, MOSSEL DAA. *Microbiologie*. Doin editeurs Paris 1989, 529 pages.

LEMBKE LL, KNISELEY RN. Coliforms in aerosols generated by a municipal solid waste recovery system. *Appl Environ Microbiol* 1980;40(5):888-91.

LESSARD S. Compostage des déchets verts domestiques et boues de station d'épuration. Synthèse des connaissances concernant les risques pour la santé. Comité de santé environnementale des DSC du Québec. Octobre 1992; 1-83.

LIGHTHART B, MORH AJ. Estimating downwind concentrations of viable airborne microorganisms in dynamic atmospheric conditions. *Applied Environmental Microbiology* 1987 july;53:1580-83.

LIGHTHART B, KIM J. Simulation of airborne microbial droplet transport. *Appl Environ Microbiol* 1989;55(9):2349-55.

LUNDHOLM M, RYLANDER R. Occupational symptoms among compost workers. *J Occup Med* 1980;22(4):256-57.

LUOMA M, BATTERMAN SA. Characterization of particulate emission from occupant activities in offices. *Indoor Air*.2001;11(1):35-48.

MALMROS P, NERSTING L, PETERSEN C AND SIGSGAARD T. Arbejdsmiljøforhold ved genanvendelse af affald. Miljøprojekt Nr. 161. (Hovedrapport + Bilagsrapport med data tabeller), Miljøstyrelsen, København. 1991.

MALMROS P, SIGSGAARD T AND BACH B. Occupational health problems due to garbage sorting. *Waste manage Res.* 1992;10:227-234.

MANDRYK J, ALWIS KU, HOCKING AD. Work-related symptoms and dose-response relationships for personal exposures and pulmonary function among woodworkers. *Am J Ind Med* 1999 May;35(5):481-90.

MANDRYK J, ALWIS KU, HOCKING AD. Effects of personal exposures on pulmonary function and work-related symptoms among sawmill workers. *Ann Occup Hyg* 2000 Jun;44(4):281-9.



MANUEL RJ, KISSLER CC. The epidemiology and prevention of invasive aspergillosis. *Journ of Hosp Infection* 1998;39:95-109.

MARTH E, REINTHALER FF, SCHAFFER K, JELOUCANS S, HASELBACHERS S, EIBEL U, KLEINHAPPL B. Occupational health risks to employees of waste treatment facilities. Recommendations. In: International meeting on waste collection and recycling. Bioaerosols exposure and health problems. Abstract collection 1996, 13-14 september. Koge. Denmark.

MARTHI B. Resuscitation effects of catalase on airborne bacteria. *Appl Environ Microbiol* 1991;57(9):2775-76.

MATTSBY I, RYLANDER R. Clinical and immunological findings in workers exposed to sewage dust. *J Occup Med* 1978;20(10):690-92.

MAUNY F, POLIO JC, MONNET E. Longitudinal study of respiratory health in dairy farmers: influence of artificial barn fodder drying. *Eur Respir J* 1997;10:2522-28.

MICHEL O, KIPS J, DUCHATEAU J, VERTONGEN F, ROBERT L, COLLET H, PAUWELS R, SERGYSELS R. Severity of Asthma is related to Endotoxin in House Dust. *Am J respir Crit Care Med* 1996; 154:1641-46.

MICHEL O, NAGY AM, SCHROEVEN M, DUCHATEAU J, NEVE J, FONDU P, SERGYSELS R. Dose-response relationship to inhaled endotoxin on normal subjects. *Am Journ of Resp and Critical Care Med* 1997;156(4 Pt 1):1157-64.

MICHEL O. The role of endotoxin exposure in asthma. *RES Immunol* 1998;149:227-8.

MILLER JD. Mycotoxins. In *Organic Dusts. Exposure, effects and prevention*. Rylander R, Jacobs RR. Lewis Publishers 1994;87-92.

MILLNER PD, MARSH PB, SNOWDEN RB, PARR JF. Occurrence of *Aspergillus fumigatus* during composting of sewage sludge. *Appl Environ Microbiol*. 1977 Dec;34(6):765-72.

MILLNER PD, BASSET DA, MARSH PB. Dispersal of *Aspergillus fumigatus* from sewage sludge compost piles subjected to mechanical agitation in open air. *Appl Environ Microbiol* 1980;39:1000-9.

MILLNER PD, OLENCHOCK SA, EPSTEIN E. Bioaerosols associated with composting facilities. *Compost Sci & Utilisation* 1994;2(4):4-57.

MILLNER P. Bioaerosol and composting. *BioCycle* 1995;1:48-54.

MOLINE et al. Un risque respiratoire nouveau : les STEP et les installations de compostage. *Bull. Soc. Mycol. Med* 1986;2:375-80.

MONPOHEO S. Quantification génomique de deux virus entériques (HAV, Poliovirus) dans les boues de station d'épuration. Estimation de l'impact sanitaire lié à la valorisation agricole. Thèse de l'université de Nantes 2001.

MUSTIN M. Le compost : Gestion de la matière organique. Eds F. DUBOSC, Paris, 1987; 953 pages.

NIELSEN BH, NIELSEN EM, BREUM NO. Exposure of microorganisms and dust in collection of household waste. Nordic Meeting on Occupational Medicine, Norway, 1994.

NIGHTINGALE JA, ROGERS DF, MART A, KHARITONOV SA, CHUNG KF, BARNES JP. Effect of inhaled endotoxin on induced sputum in normal, atopic and atopic asthmatic subjects. *Thorax* 1998; 53(7):563-71.

NING Y, IMRICH A, GOLDSMITH CA, QIN G, KOBZIK L. Alveolar macrophage cytokine production in response to air particles in vitro: Role of endotoxin. *Journ of Envir Health* 2000;59(3):165-80.

NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL). Committee on the institutional means for assessment of risk to public health. Risk assessment in the federal government : managing the process. National Academy Press. Washington DC 1983.

PARK JH, SPIEGELMAN DL, BURGE HA, GOLD DR, CHEW GL, MILTON DK. Longitudinal study of dust and airborne endotoxin in the home. *Environ Health Perspect*. 2000;108(11):1023-8.

PASSMAN. Recovery of *Aspergillus fumigatus* aerospora from municipal sewage sludge composting operations in the state of Maine. *Mycopathologia* 1983;83:41-51.

PEI-CHIH W, HUEY-JEN S, CHIA-YIN L. Characteristics of indoor and outdoor airborne fungi at suburban and urban homes in two seasons. *Sci Total Environ* 2000 May 15;253(1-3):111-8.

PERDRIX A, MADON N, MAITRE A. Risques biologiques autres qu'infectieux. *Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris), Toxicologie-Pathologie Professionnelle* 1997;16-080-B-10. 6 pages.

PEREIRA-NETO JT, STENTIFORD EI, SMITH DV. Survival of faecal indicator microorganisms in refuse/sludge composting using aerated static pile system. *Waste Management & Research* 1986;4:397-406.

PERTERSON WE, LIGHTHART B. Estimation of downwind viable airborne microbes from a wet cooling tower-including settling. *Microbial Ecology* 1977;4:67-79.

PIONTEK M, NGUYEN TB. The effect of sewage sludge composting on the quantitative state of some groups of bacteria and fungi. *Acta Microbiol Pol* 2000;49(1):83-90.

PITTET A. Natural occurrence of mycotoxins in foods and feeds – an update review. *Revue Méd Vét* 1998; 149(6): 479-92.

POULSEN OM, BREUM NO, EBBEHOJN, HANSEN AM, IVENS UI, VAN LELIEVELD D, MALMROS P, MATTHIASSEN L, NIELSEN BH, NIELSEN EM, et al. Sorting and

recycling of domestic waste. Review of occupational health problems and their possible causes. *Sci Total Environ* 1995a May 19;168(1):33-56.

POULSEN OM, BREUM NO, EBBEHOJ N, HANSEN AM, IVENS UI, VAN LELIEVELD D, MALMROS P, MATTHIASSEN L, NIELSEN BH, NIELSEN EM, et al. Collection of domestic waste. Review of occupational health problems and their possible causes. *Sci Total Environ* 1995b Aug 18;170(1-2):1-19.

RASK-ANDERSEN A, MALINBERG P, LUNDHOLM M. Endotoxin levels in farming : absence of symptoms despite high exposure levels. *Br. Med. J.* 1989;46:412-416.

REIß J. Moulds in containers with biological wastes. *Microbiol Res* 1995;150:93-8.

REINTHALER FF, HAAS D, FEIERL G, SCHLACHER R, PICHLER-SEMMELROCK FP, KOCK M, WUST G, FEENSTRA O, MARTH E. Comparative investigations of airborne culturable micro-organisms in selected waste treatment facilities and in neighbouring residential areas. *Zentralbl Hyg Umweltmed.* 1999 Jun;202(1):1-17.

REINTHALER FF, MARTH E, EIBEL U. The assessment of airborne micro-organisms in large-scale composting facilities and their immediate surrounding. *Aerobiologia* 1997;13:167-75.

REPONEN TA. Characteristics of airborne actinomycete spores. *Appl Environ Microbiol* 1998;64(10):3807-12.

RIACHI K. Compostage d'ordures ménagères et de déchets verts – Flore fongique et risques sanitaires potentiels – Thèse de doctorat, 1998. Grenoble.

ROTH RA, HARKEMA JR, PESTKA JP, GANEY PE. Is exposure to bacterial endotoxin a determinant of susceptibility to intoxication from xenobiotic agents? *Toxicol Appl Pharmacol* 1997 Dec;147(2):300-11.

RUSS CF, YANKO WA. Factors affecting *Salmonellae* repopulation in composted sludges. *Applied and Environmental Microbiology* 1981; 41:597-602.

RYLANDER R, LUNDHOLM M, CLARK CS. Exposure to aerosol of micro-organisms and toxin during handling of sewage sludge. *Biological Health Risk of Sludge Disposal to Land in Cold Climates.* Wallis Pm and Lehemann, (ed...). Calgary, Albert. University of Calgary Press. 1983;pp.69-78.

RYLANDER R, The role of endotoxin for reactions after exposure to cotton dust. *Am. J. Ind. Med.* 1987;12:687-697.

RYLANDER R, JACOBS RR. Organic dust, exposure effects and prevention. Lewis publishers 1994; 263 pages.

RYLANDER R. Organic dust. In: *Comprehensive toxicology: toxicology of the respiratory system* 1997 Vol 8. Sipes G, McQueenCA and Gandolfi AJ Eds Elsevier.

RYLANDER R. Microbial cell wall constituents in indoor air and their relation to disease. *Indoor Air* 1998;suppl. 4:59-65.

RYLANDER R. Indoor air-related effects and airborne (1-3)- $\beta$ -D-glucan. *Environ Health Perspect* 1999;107(3):501-3.

SANDSTRÖM T, BJERMER L, RYLANDER R. Lipopolysaccharide (LPS) inhalation in healthy subjects increases neutrophils, lymphocytes and fibronectin levels in bronchoalveolar lavage fluid. *Eur Respir J* 1992;5:992-6.

SAVAGE J, CHASE T Jr, MACMILLAN JD. Population changes in enteric bacteria and other micro-organisms during aerobic thermophilic windrow composting. *Appl Microbiol* 1973 Dec;26(6):969-74.

SCHAPPLER-SCHEELE B. Occupational protection in biological waste treatment plants from the occupational medicine viewpoint. *Schriftenr Ver Wasser Boden Lufthyg.*1999;104:585-96.

SCHEFF PA, PAULIUS VK, CURTIS L, CONROY LM. Indoor air quality in a middle school, Part II: Development of emission factors for particulate matter and bioaerosols. *Appl Occup Environ Hyg.*2000;15(11):835-42.

SCHIRA J-C, SNELLA M-C, CHAPON J-L. Mise en évidence de bactéries Gram-négatives et d'endotoxines dans l'air ambiant d'une station d'épuration des eaux usées : influence des aérosols contaminés sur l'état de santé du personnel. *Schweiz. med. Wschr* 1987 ;117:354-58.

SCHLOSSER O, GRALL D, LAURENCEAU MN. Intestinal parasite carriage in workers exposed to sewage. *European journal of epidemiology* 1999;15(3):261-265.

SCHWARTZ DA. Does inhalation of endotoxin cause asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163:305-13.

SCHWARTZBROD J. Agents pathogènes dans les boues et impact des différents traitements. ADEME. Journées techniques des 5 et 6 juin 1997. Aspects sanitaires et environnementaux de l'épandage des boues d'épuration urbaines. Actes des journées techniques : 81-9.

SCRIBNER GH, BARBORIAK JJ, FINK JN. Prevalence of precipitins in groups at risk of developing hypersensitivity pneumonitis. *Clin Allergy* 1980;10:91-5.

SEKLA L, STACKIW W, KAY C, VANBUCKENHOUT L. Enteric viruses in renovated water in Manitoba. *Can J Microbiol* 1980 Apr;26(4):518-23.

SHAHAN TA, SÖRENSEN NG, LEWIS DM. Superoxide anion production in response to bacterial lipopolysaccharide and fungal spores implicated in ODS. *Envir Research* 1994;67(1):98-107.

SHEN YI-E, KURUP VP, FINK JN. Circulating antibodies against thermophilic actinomycetes in farmers and mushroom workers. *J Hyg Epidemiol Microbiol and Immunol* 1991;35(3):309-16.

- SIDHU J, GIBBS RA, HO GE, UNKOVICH I. The role of indigenous micro-organisms in suppression of Salmonella regrowth in composted biosolids. *Wat Res* 2001; 35(4):913-20.
- SIGSGAARD T, BACH B, MALMROS P. Respiratory impairment among workers in a garbage-handling plant. *Amer Indus Med* 1990;17:92-3.
- SIGSGAARD T, PEDERSEN OF, JUUL S, GRAVESEN S. Respiratory disorders and atopy in cotton, wool and other textile mill workers in Denmark. *Am. J. Ind. Med.* 1992;22:163-184.
- SIGSGAARD T, MALMROS P, NERSTING L, PETERSEN C. Respiratory disorders and atopy in Danish refuse workers. *Am J Respir Crit Care Med* 1994a Jun;149(6):1407-12.
- SIGSGAARD T, ABEL A, DONBAEK L., MALMROS P. Lung fonction changes among recycling workers exposed to organic dust. *American Journal of Industrial Medicine* 1994b; 25:69-72.
- SIGSGAARD T, BONEFELD-JØRGENSEN EC, KJAEGAARD SK, MAMAS S, PEDERSEN OF. Cytotine release from the nasal mucosa and whole blood after experimental exposures to organic dusts. *Eur Resp J* 2000;16: 140-45.
- SMID T, HEEDERIK D, HOUBA R, QUANJER PH. Dust and endotoxin-related respiratory effects in the animal feed industry. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1992;146(6):1474-1479.
- SOARES HU, CARDENAS B, WEIR D. Switzenbaum MS Evaluating pathogens regrowth in biosolids compost. *BioCycle* 1995 June:70-6.
- SOLOMON WR, BURGE HP, BOISE JR. Airborne Aspergillus fumigatus levels outside and within a large clinical center. *J. Allergy Clin Immunol* 1978;62(1):56-60.
- SØRENSEN C AND BJØRNSTRUP H. Indsamling of madaffald fra husstande i København. 1993. Miljøprojekt nr. 220, Miljøstyrelsen, Copenhagen, (in Danish).
- SORENSEN WG. Fungal spores: Hazardous to health. *Environ Health Perspect.* 1999;107, suppl3:469-72
- STEWART GA. Proteins. In: *Organic Dusts. Exposure, effects and prevention.* Rylander R, Jacobs RR. Lewis Publishers, 1994;79-82.
- STROM PF. Identification of thermophilic bacteria in solid-waste composting. *Appl Environ Microbiol* 1985 Oct;50(4):906-13.
- TERHO EO, KUSMAN K, VOHLONEN I. Prevalence and incidence of chronic bronchitis and Farmer's lung with respect to age, sex, atopy and smoking. *Eur J Resp Dis* 1987;71(152) suppl:19-28.
- THELIN A, TEGLER Ö, RYLANDER R. Lung reactions during poultry handling related to dust and bacterial endotoxin levels. *Eur. J. Respir. Dis.* 1984;65:266-271.
- THORN J, BEIJER L, RYLANDER R. Airways inflammation and glucan exposure among household waste collectors. *Am J Ind Med* 1998 May;33(5):463-70.

THORN J, RYLANDER R. Airways Inflammation and Glucan in a Rowhouse Area. *Am J Respir Care Med* 1998;157:1798-1803.

THORNE PS. Comparison of bioaerosol sampling methods in barns housing swin. *Applied and Environmental Microbiology* 1992 Aug;58(8):2543-51.

THORNE PS. Field evaluation of endotoxin air sampling assay methods. *Am Ind Hyg Assoc J* 1997;58(11):792-9.

TOLVANEN OK, HAENNINEN KI, VEIJANEN A, VILLBERG K. Occupational hygiene in biowaste. *Composting Waste Management & Research* 1998;16(6):525-40.

TOUBAS D, PREVOST A, DESCHAMPS F. Les alvéolites allergiques extrinsèques d'origine professionnelle. *La Presse Médicale* 1995;24(30):1391-6.

VAN DEN BOGART HGG, VAN DEN ENDE G, VAN LOON PCC. Mushroom worker's lung: serologic reactions to thermophilic actinomycetes present in the air of compost tunnels. *Mycopathologia* 1993;122(1):21-8.

VAN DER WERF P. Bioaerosols at a Canadian composting facility. *BioCycle* 1996;37(9):78-83.

VAN TONGEREN M, VAN AMELSVOORT L, HEEDERIK D. Exposure to organic dust, endotoxins and micro-organisms in the municipal waste industry. *Int J Occup Environ Health* 1997;3 30-6.

VANDEUVRE I, LEVASSEUR JP. Les bases et les techniques du traitement biologique. *TSM* 2000 oct;10: 40-5.

VINCKEN W, ROELS P. Hypersensitivity pneumonitis due to *Aspergillus fumigatus* in compost. *Thorax* 1984 Jan;39(1):74-5.

VON ESSEN S, DONHAM K. Illness and injury in animal confinement workers. *Occup Med* 1999 Apr-Jun;14(2):337-50.

WALTER MV, MARTHI B, FIRLAND VP. Effect of aerosolization on subsequent bacterial survival. *Appl Environ Microbiol* 1990;56(11):3468-72.

WAN GH, LI CS. Indoor Endotoxin and Glucan in association with airway inflammation and systemic symptoms. *Archives of environmental Health* 1999 May/June;54(3):172-79.

WEBER S, KULLMAN G, PETSONK E, JONES WG, OLENCHOCK S, SORENSON W, PARKER J, MARCELO-BACIU R, FRAZER D, CASTRANOVA V. Organic dust exposures from compost handling: case presentation and respiratory exposure assessment. *Am J Ind Med* 1993 Oct;24(4):365-74.

WIART J. Amendements organiques et compost : situation réglementaire actuelle et perspectives d'évolution. *Techniques Sciences Méthodes* 2000;10:20-7.

WICKMAN HM. Deposition, adhesion and release of bioaerosols in atmospheric microbial aerosols, theory and applications. Lighthart B., Mohr AJ eds. Chapman and Hall Inc, USA. 1994; pp 99-165.

WILLIAMS DL. (1→3)-beta-D-Glucans. Organic Dusts. Exposure, effects and prevention. Rylander R, Jacobs RR. Lewis Publishers 1994:83-8.

WONG JWC, FANG M. Effects of lime addition on sewage sludge composting process. Water Research 2000 Oct;34(15): 3691-98.S

WU PC, SU HJ, LIN CY. Characteristics of indoor and urban homes in two seasons. The science of the total environment 2000;253:111-18.

YANG CY, CHANG WT, CHUANG HY, TSAI SS, WU TN, SUNG FC. Adverse health effects among Household waste collectors in Taiwan. Environmental research 2001;85(3):195-199.

ZOCK JP, HEEDERIK D, KROMHOUT H. Exposure to dust, endotoxin and micro-organisms in the potato processing industry. Am Occup Hyg 1995;29(6):841-54.

ZUK JA, KING D, ZAKHOUR HD, DELANEY JC. Locally invasive pulmonary aspergillosis occurring in a gardener: an Occupational Hazard Thorax 1989 Aug;44(8):678-9.

## LISTE DES ABREVIATIONS ET SYMBOLES

- A.B.P.A : Aspergillus Bronchopulmonaire allergique
- A.C.G.I.H : American Conference of Government Industrial Hygienists
- A.F : Aspergillus Fumigatus
- Ag : Antigène
- A.G.I : All Glass Impinger
- B.A.A.E : Bronchoalvéolite allergique extrinsèque
- B.A.L.I.S.A : Biotin-Avidine-Linked Immunosorbent Assay
- B.P.C.O : BronchoPneumopathie Chronique Obstructive
- CEN : Comité Européen de Normalisation
- C.I.E : Contre Immuno-Electrophorèse
- C.I.R.C : Centre International de Recherche sur le Cancer
- COV : Composés Organiques Volatils
- C.R.P : C Reactive Protein
- CSHPF: Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France
- C.V.F : Capacité Vitale Forcée
- CO-IED : Co-Immuno-Electrophorèse
- D.V : Déchets verts
- E.C.P : Eosinophilic Catationic Protein
- E.D.S : Eau Distillée Stérile et apyrogène
- E.F.R : Exploration Fonctionnelle Respiratoire
- E.L.I.S.A : Enzyme Linked Immunosorbent Assay
- EPA: Agence Environnementale Américaine
- FFOM: Fraction Fermentescible des ordures ménagères
- H.L.A : Human Leucocyte Antigen
- H.P.L.C : Chromatographie Liquide à Haute Pression (CLHP)
- IC 95% : Intervalle de confiance à 95 %
- I.C.O.H : International Commission on Occupational Health
- I.L : Interleukine
- Ig : Immunoglobuline
- L.A.L test : Limulus Amœbocyte Lysate test
- L.B.A : Lavage bronchoalvéolaire
- L.P.S : Lipopolysaccharides
- M.I.P. 2 : Macrophage Inflammatory Protein 2
- M.M.I : Mucous Membrane Irritation
- M.P.O : Myeloperoxydase
- NFS : Numération de formule sanguine



- N.I.O.S.H : National Institute for Occupational Safety and Health
- N.O.A.E.L : No Observe Adverse Effet Level
- N.P.P : Nombre le Plus Probable
- NRS : National Research Council
- O.D.T.S : Organic Dust Toxic Syndrome
- O.M : Ordures Ménagères
- OR: Ods Ratio
- O.V : Ordures Vertes (déchets verts)
- P.A..F : Platelet activating factor
- P.B.S : Phosphate Buffered Saline (solution tampon)
- P.C.R : Polymerase Chain Reaction
- P.E.F : Peak Expiratory Flow
- P.F. : Poumon de Fermier
- P.M 5 : Particules de taille inférieure à 5 µm
- P.M 20 : Particules de taille inférieure à 20 µm
- P.O : Poussière Organique
- R.P : Radio Poumon
- R.R : Risque Relatif
- S.N.R.S : Syndrome Respiratoire Non Spécifique
- STEP : Station d'Épuration
- T.I.M.L : Test d'Inhibition de la Migration des Lymphocytes
- T.L.C : Chromatographie en couche mince (CCM)
- T.L.V - T.W.A : Threshold Limit Value (Time Weighted Average)
- T.N.F : Tumor Necrosis Factor
- T.T.L : Test de Transformation Lymphoblastique
- Tween 80 : Poly(oxyethylene)<sub>n</sub>-sorbitan-monooleate
- U.F.C : Colony Forming Unit (C.F.U)
- US E.P.A : US Environmental Protection Agency
- V.E.M.S : Volume Expiratoire Maximum Seconde

## TABLE DES ILLUSTRATIONS

<i>Tableau 1 : Caractéristiques expérimentales, théoriques et physiques de plusieurs échantillonneurs de bioaérosols habituellement utilisés (Jensen, 1994).....</i>	<i>29</i>
<i>Tableau 2 : Guide général pour le choix approprié d'un échantillonneur (Jensen, 1994).....</i>	<i>30</i>
<i>Tableau 3 : Identification des normes utilisables pour les bactéries entéropathogènes.....</i>	<i>35</i>
<i>Tableau 4 : Méthodes de mesure différentes (viables et non-viables) selon les propriétés et composés des bioaérosols microbiens (d'après Eduard 1998).....</i>	<i>36</i>
<i>Tableau 5 : Variation dans les opérations d'échantillonnage et d'évaluation (d'après Bartley, 1994).....</i>	<i>37</i>
<i>Tableau 6 : Micro-organismes pathogènes isolés de déchets urbains solides et de boues de station d'épuration (Déportes, 1995).....</i>	<i>39</i>
<i>Tableau 7 : Concentrations en micro-organismes dans les différentes catégories de boues (CSHPF, 1998). ....</i>	<i>41</i>
<i>Tableau 8 : Niveau de température et temps nécessaire pour détruire certains pathogènes présents dans la matière de compostage (Golueke, 1991).....</i>	<i>44</i>
<i>Tableau 9 : Effet du compostage sur les salmonelles spp, coliformes thermotolérants (CF) et streptocoques fécaux (SF), (Dumontet, 1999 d'après Strauch, 1986).....</i>	<i>45</i>
<i>Tableau 10 : Rappel sur la taille (déterminée en microscopie électronique) des constituants d'un bioaérosol (American Thoracic Society, 1998).....</i>	<i>55</i>
<i>Tableau 11 : Charge en poussières (mg/m<sup>3</sup>) durant le travail à partir d'échantillonneurs personnels (Lacey, 1991, 1992).....</i>	<i>57</i>
<i>Tableau 12 : Etudes apportant des informations sur les concentrations en actinomycètes à distance des usines de compostage.....</i>	<i>62</i>
<i>Tableau 13 : Concentrations en champignons dans les usines et à distance.....</i>	<i>65</i>
<i>Tableau 14 : Concentrations en A. fumigatus dans les usines et à distance.....</i>	<i>69</i>
<i>Tableau 15 : Concentrations personnelles en endotoxines pour différentes activités du compostage (Van der Werf, 1996).....</i>	<i>70</i>
<i>Tableau 16 : Résultats de l'exposition personnelle aux endotoxines (ng/m<sup>3</sup>) par usine (Van Tongeren, 1997)....</i>	<i>70</i>
<i>Tableau 17 : Concentrations moyennes en endotoxines (filtre d'acétate de cellulose et méthode LAL) dans 4 usines différentes (Clark, 1983).....</i>	<i>71</i>
<i>Tableau 18 : Concentrations en bactéries relevées dans l'environnement extérieur.....</i>	<i>73</i>
<i>Tableau 19 : Concentrations habituelles en champignons et Aspergillus relevées dans l'environnement extérieur.....</i>	<i>74</i>
<i>Tableau 20 : Concentrations en certains genres de champignons selon la saison et le site (moyenne géométrique, UFC/m<sup>3</sup>)(Wu, 2 000).....</i>	<i>74</i>
<i>Tableau 21 : Concentrations en champignons et Aspergillus dans l'environnement intérieur (UFC /m<sup>3</sup>).....</i>	<i>75</i>
<i>Tableau 22 : Concentrations habituelles en endotoxines dans l'environnement intérieur (ng /m<sup>3</sup>).....</i>	<i>76</i>
<i>Tableau 23 : Environnements qui exposent aux poussières organiques (Rylander, 1994).....</i>	<i>76</i>
<i>Tableau 24 : Mécanismes d'action et atteintes respiratoires associées à l'inhalation de poussières organiques.</i>	<i>81</i>
<i>Tableau 25 : Type d'infections et mode de transmission des entérobactéries.....</i>	<i>85</i>
<i>Tableau 26 : Actinomycètes impliqués dans l'alvéolite allergique (d'après Dalphin, 1998; Lacey, 1988).....</i>	<i>87</i>

## TABLE DES ILLUSTRATIONS

<i>Tableau 27 : Nombre de périodes d'exposition aux poussières de coton avec une baisse du VEMS (Castellan, 1987).....</i>	<i>101</i>
<i>Tableau 28 : Concentrations moyennes (écart-type) en bioaérosols dans différents types d'usine d'après Sigsgaard, 1994a.....</i>	<i>113</i>
<i>Tableau 29 : Symptômes respiratoires parmi les travailleurs de centre de recyclage danois d'après Sigsgaard, 1994a.....</i>	<i>113</i>
<i>Tableau 30 : Classes d'exposition aux endotoxines* et poussières*.....</i>	<i>114</i>
<i>Tableau 31 : Ordre de grandeur de l'exposition (UFC/m<sup>3</sup>) aux spores de champignons, bactéries totales (à l'exclusion d'actinomycètes) et actinomycètes (Bünger, 2000).....</i>	<i>115</i>
<i>Tableau 32 : Atteintes respiratoires et de la peau diagnostiquées par les médecins du travail chez les travailleurs du déchet (atteinte principale si plusieurs maladies) (Bünger 2000).....</i>	<i>115</i>
<i>Tableau 33 : Etudes reliant l'exposition microbienne et les effets sur la santé (Poulsen, 1995a).....</i>	<i>119</i>
<i>Tableau 34 : Concentrations aériennes (moyennes [min-max]) d'endotoxines et 1→3)-β-D-glucan.....</i>	<i>121</i>
<i>Tableau 35 : Concentrations en micro-organismes en fonction du type de travail (Poulsen, 1995a).....</i>	<i>123</i>
<i>Tableau 36 : Exposition aux bioaérosols en relation avec la collecte des déchets(d'après Poulsen, 1995 b)....</i>	<i>124</i>
<i>Tableau 37 : Teneurs limites en pathogènes.....</i>	<i>127</i>
<i>Tableau 38 : Valeurs limites en agents pathogènes pour les cultures maraîchères.....</i>	<i>128</i>
<i>Tableau 39 : Conditions optimales pour le traitement de biodéchets.....</i>	<i>129</i>
<i>Tableau 40 : Exigence et usages selon la catégorie de boue.....</i>	<i>130</i>
<i>Figure 1 : Organigramme de la recherche bibliographique.....</i>	<i>10</i>
<i>Figure 3 : Les différentes étapes du compostage (d'après ENSP, 2002).....</i>	<i>16</i>
<i>Figure 4 : Les différentes méthodes d'identification selon le produit étudié (communication personnelle I Déportes).....</i>	<i>31</i>
<i>Figure 5 : Evolution de la température lors du processus de compostage des déchets (d'après Mustin, 1987)...</i>	<i>43</i>