**CONSEIL SUPERIEUR D'HYGIENE PUBLIQUE DE FRANCE**

**Groupe de travail « Moisissures dans l'habitat »**

# CONTAMINATIONS FONGIQUES EN MILIEUX INTERIEURS

## DIAGNOSTIC
## EFFETS SUR LA SANTE RESPIRATOIRE
## CONDUITES A TENIR

**Septembre 2006**

# INTRODUCTION

La pollution de l'air intérieur par les moisissures est une réalité mal connue du public et du corps médical.

Ce rapport produit par un groupe de travail mis en place par le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France, Section Milieux de Vie, tente de répondre aux questions que l'on peut se poser dans ce domaine aujourd'hui.

Les deux premiers chapitres décrivent successivement les principales moisissures rencontrées dans l'habitat et l'environnement intérieur et revoient la notion d'humidité et l'intérêt de sa quantification.

Le troisième chapitre présente les techniques d'échantillonnage et d'analyse des moisissures dans l'habitat. Ces techniques sont complexes et diversifiées. Néanmoins, un consensus minimal d'analyse a été trouvé entre les différents experts du groupe pour essayer d'harmoniser les résultats et les rendre comparables d'un laboratoire à l'autre.

L'état des connaîssances des effets des moisissures sur la santé respiratoire distingue la simple sensibilisation aux moisissures dans la population générale, qui traduit une exposition aux moisissures, des pathologies respiratoires proprement dites induites par l'exposition aux moisissures. On distingue classiquement les réactions allergiques : certaines rares, sont quasiment spécifiques d'une exposition aux moisissures : aspergillose broncho-pulmonaire allergique, alvéolite allergique extrinsèque. D'autres en revanche, comme l'asthme et la rhinite, sont fréquentes, mais ne sont pas spécifiques d'une exposition aux moisissures. D'où l'importance d'y penser, de pratiquer des tests cutanés aux moisissures suspectées, et de rechercher par l'interrogatoire une exposition à un environnement humide ou à des moisissures. On s'aidera utilement dans cette recherche du questionnaire présent dans cette brochure. En cas de suspicion forte, une analyse spécialisée pourra être préconisée en liaison avec un personnel expert sur le sujet. Des effets simplement irritatifs, induits notamment par les composés organiques volatils sont également décrits (fièvre d'inhalation, syndrôme des bâtiments malsains). Enfin, les risques infectieux chez les immunodéprimés font l'objet d'un sous chapitre.

Le chapitre V s'intéresse aux moisissures dans le cadre de l'insalubrité et quantifie notamment l'importance de la contamination.

Le dernier chapitre donne les recommandations du groupe de travail pour remédier à une exposition excessive aux moisissures.

En conclusion, ce document reflète l'état actuel des connaissances sur la contamination fongique en milieu intérieur et la conduite à tenir pour y remédier.

Ce document est susceptible d'améliorations ultérieures au fur et à mesure de l'évolution des connaissances et de l'expérience accumulée sur ce sujet.

Le groupe de travail chargé d'élaborer ce rapport au sein de la section des milieux de vie du Conseil supérieur d'hygiène publique de France, créé par arrêté du 22 mai 2003 (Journal officiel de la République française du 11 juin 2003) est constitué des membres suivants :

Pr Denis CAILLAUD, Président,
Dr Isabella ANNESI-MAESANO
Dr Nadia BENNEDJAI
Mme Valérie BEX
Pr Frédéric de BLAY
Pr Denis CHARPIN démissionnaire
Dr Jean-Charles DALPHIN
Dr Christine FABRE
M. Max GARANS
Dr Michel JOYEUX
Dr Olivier MEUNIER
Mme Annie MOUILLESEAUX
Dr Françoise NEUKIRCH
Dr Nicole NOLARD
Dr Coralie RAVAULT
M. Gabriel REBOUX
M. Enric ROBINE
Pr Marie-France ROQUEBERT

Ont participé à la rédaction de ce document :

- Mme Valérie BEX, Laboratoire d'Hygiène de la Ville de Paris, 11 rue George Eastman, 75013 PARIS, Tel : 01 44 97 87 70, Mél : valerie.bex@paris.fr
- Mme Marjorie BOISSIER, Centre Scientifique et technique du Bâtiment, Département Développement Durable, Division Santé Bâtiment, BP02, 77421 MARNE LA VALLEE cedex2, Tel : 01 64 68 88 06, Mél : m.boissier@cstb.fr
- Dr Christine FABRE, Comité Départemental contre les Maladies Respiratoires et la Tuberculose du Gard, Hôpital Carémeau de Nîmes, av du Pr Debré, 30900 NÎMES, tel : 04 66 68 32 21, Mél : christine.fabre@chru-nimes.fr
- Dr Olivier MEUNIER, laboratoire d'Hygiène hospitalière, CHU de Strasbourg, 1 place de l'hôpital, 67091 STRASBOURG cedex, Tel : 03 90 24 38 10, Mél : olivier.meunier@chru-strasbourg.fr
- Mme Annie MOUILLESEAUX, 12/18 rue Montbrun, 75014 PARIS, Mél : annie.mouilleseaux@noos.fr
- Dr Nicole NOLARD, Institut Scientifique de Santé Publique, Service de mycologie, 14 rue Wytsman, 1050 BRUXELLES, Belgique, Tel : 0032 2 642 55 18, Mél : n.nolard@iph.fgov.be
- Mme OTT, CHU de Strasbourg, 1 place de l'Hôpital, 67000 STRASBOURG, Tel : 03 88 11 58 26, Mél : martine.ott@chru-strasbourg.fr
- M.Gabriel REBOUX, CHU de Besançon, Service de parasitologie et mycologie, 2 bd Fleming, 25030 BESANCON, Tel : 03 81 66 82 86, Mél : gabriel.reboux@ufc-chu.univ-fcomte.fr
- M. Enric ROBINE, CSTB, 4 rue du recteur Poincaré, 75782 PARIS cedex 16, Tel : 01 64 68 85 49, Mél : robine@cstb.fr
- Pr Marie-France ROQUEBERT, Muséum National d'Histoire Naturelle, département Systématique et Evolution, Unité Taxonomie – Collections, 12 rue Buffon, 75005 PARIS, Tel : 01 40 79 31 94, Mél : roqueber@mnhn.fr.

♦ ♦ ♦ ♦

# SOMMAIRE

**CHAPITRE I. PRINCIPALES MOISISSURES RENCONTRÉES DANS L'HABITAT ET L'ENVIRONNEMENT INTÉRIEUR. CONNAISSANCE DES ESPÈCES IMPLIQUÉES. . 7**

A. INTRODUCTION - GÉNÉRALITÉS ..... 7

B. MÉTHODES D'IDENTIFICATION DES ESPÈCES DE MOISISSURES ..... 9

C. DESCRIPTION ET ILLUSTRATION DES PRINCIPALES ESPÈCES DE MOISISSURES DE L'HABITAT ..... 10

**CHAPITRE II. HUMIDITE ET ENVIRONNEMENTS INTERIEURS ..... 19**

A. INTRODUCTION ET DÉFINITIONS ..... 19

B. SOURCES D'HUMIDITÉ ..... 20

C. HUMIDITÉ D'UN LOCAL ..... 21

D. INTERACTIONS HUMIDITÉ - MATÉRIAUX ..... 22

*1. Structure des produits de construction ..... 22*

*2. Mécanismes mis en jeu ..... 22*

*3. Disponibilité de l'eau (Aw) ..... 23*

*4. Commentaires et propositions ..... 24*

E. COLONISATION DES PRODUITS DE CONSTRUCTION ET DE DÉCORATION PAR LES MOISISSURES ..... 24

*1. Matériaux vulnérables et souches fongiques associées ..... 25*

*2. Mécanismes de biodégradation ..... 27*

*3. Matériaux : source de pollution d'origine biologique ..... 27*

*4. Aspect normatif et réglementaire ..... 28*

**CHAPITRE III. TECHNIQUES D'ÉCHANTILLONNAGE ET D'ANALYSE DES MOISISSURES DE L'HABITAT ..... 35**

A. INTRODUCTION ..... 35

B. GÉNÉRALITÉS SUR LES MÉTHODES DE MESURE ..... 35

C. MÉTHODE D'ÉCHANTILLONNAGE ..... 37

*1. Dans l'air ..... 37*

a) La sédimentation ..... 37

b) L'impaction ..... 37

c) Les impacteurs en milieu liquide ou impingers ..... 40

d) Filtration ..... 41

e) Précipitateur électrostatique ..... 41

*2. Prélèvements de surfaces ..... 42*

a) Adhésif ..... 42

b) Boites et lames « contact » ..... 42

c) Ecouvillonnage ..... 42

*3. Les substrats ..... 43*

a) Les poussières domestiques ..... 43

b) Les revêtements ..... 43
D. TECHNIQUES ANALYTIQUES ..... 44
*1. Les cultures* ..... *44*
*2. Comptage microscopique* ..... *45*
a) Microscopie photonique ..... 45
b) Microscopie à épifluorescence ..... 45
c) La microscopie électronique à balayage (Scanning Electron Microscopy ou SEM) ..... 45
*3. Mesure des composants provenant des champignons* ..... *46*
a) Glucanes ..... 46
b) Dosage de la chitine ..... 46
c) Antigènes - Allergènes ..... 46
d) Polysaccharides extracellulaires (EPS) ..... 47
e) Composés organiques volatils d'origine microbiologique (COVm) ..... 47
f) Ergostérol ..... 47
g) Mycotoxines ..... 48
h) Techniques moléculaires ..... 48
E. CONSENSUS POUR UNE PLATE-FORME METHODOLOGIQUE ..... 51
*1. Les conditions d'échantillonnages d'air* ..... *51*
*2. Les conditions d'échantillonnage des surfaces* ..... *52*
*3. Les conditions d'échantillonnage des poussières* ..... *52*
*4. Les conditions de transport et de stockage des échantillons* ..... *52*
*5. Les conditions des primocultures* ..... *53*
*6. Les résultats* ..... *53*
**CHAPITRE IV. ETAT DES CONNAISSANCES DES EFFETS DES MOISISSURES SUR LA SANTÉ ..... 59**
A. INTRODUCTION ..... 59
B. SENSIBILISATION AUX MOISISSURES DANS LA POPULATION GÉNÉRALE ..... 60
C. LES PATHOLOGIES RESPIRATOIRES INDUITES PAR LES MOISISSURES ..... 60
*1. Les réactions allergiques* ..... *60*
a) Les réactions allergiques IgE médiées ..... 60
b) L'aspergillose broncho-pulmonaire allergique ..... 61
c) Les alvéolites allergiques extrinsèques ..... 62
1 - Présentation générale de la maladie ..... 62
2 - diagnostic ..... 62
3 - Evolution-pronostic-traitement ..... 63
4 - Agents et circonstances étiologiques ..... 63
5 - Epidémiologie et facteurs de risque ..... 64
*2. Effets infectieux : Risques sur les immunodéprimés : Précautions lors du retour à la maison* ..... *65*
a) Recommandations générales ..... 66
b) Recommandations comportementales ..... 67
*3. Effets irritatifs et toxiques* ..... *67*
a) L'Organic Dust Toxic Syndrome (ODTS) ou fièvre d'inhalation ..... 67
b) Les glucanes ..... 68
c) Les MCOV : Impact sanitaire des composés organiques volatils d'origine microbienne (COVm) ..... 68
d) Les Mycotoxines ..... 69
**CHAPITRE V. DIAGNOSTICS, PREVENTION ET TRAITEMENT ..... 79**
A. INTRODUCTION ..... 79
B. RECHERCHE DE CRITERES ..... 79
*1. Le ressenti d'humidité* ..... *79*

*2. Le facteur odeur* ..... *80*

*3. Le facteur visuel* ..... *80*

C. DEFINITION DE MOYENS DE PREVENTION ET DE TRAITEMENT ..... 83

*1. Prévention de l'insalubrité* ..... *83*

*2. Elimination des contaminants fongiques* ..... *84*

a) Recommandations générales ..... 85

(1) Protéger les occupants ..... 85

(2) Protéger les personnes effectuant les travaux ..... 85

(3) Protéger l'environnement ..... 86

b) Principes d'hygiène générale et recommandations pour l'utilisation des détergents et désinfectants ..... 86

c) Recommandations pratiques ..... 88

*3. Surveillance* ..... *89*

*4. Mesures à éviter* ..... *89*

**CHAPITRE VI. PROPOSITIONS DU GROUPE DE TRAVAIL ..... 90**

A. CONDUITES A TENIR ..... 90

*Recommandations pour la gestion des cas graves* ..... *94*

*Recommandations en cas d'inondations* ..... *94*

B. PROPOSITIONS EN MATIERE DES D'INFORMATION ..... 94

C. AUTRES PROPOSITIONS ..... 95

**Annexe : Questionnaire environnemental ..... 100**

# CHAPITRE I. PRINCIPALES MOISISSURES RENCONTREES DANS L'HABITAT ET L'ENVIRONNEMENT INTERIEUR. CONNAISSANCE DES ESPECES IMPLIQUEES.

## A. INTRODUCTION - GENERALITES

Les **champignons**, dont font partie les moisissures, sont des organismes Eucaryotes aérobies. Ni plantes ni animaux, ils constituent un règne à part (**Eumycota**) dans le monde vivant.

Dépourvus de chlorophylle, ils ne peuvent pas, comme les plantes, synthétiser leur matière organique à partir du $CO_2$ atmosphérique. Ils doivent donc puiser dans le milieu ambiant l'eau et les substances organiques et minérales nécessaires à leurs propres synthèses ; ils sont hétérotrophes. Pour cela ils dégradent la matière organique complexe grâce à l'excrétion d'enzymes et d'acides puis ils en absorbent les composants digérés, tout ceci s'effectuant à travers la paroi perméable de leur appareil végétatif. Ils peuvent être **saprophytes** s'ils se développent sur de la matière organique inerte (c'est le cas des moisissures) ou **parasites** s'ils se développent sur du vivant. Certains sont **symbiotiques** car ils vivent en association à bénéfice réciproque avec d'autres organismes. L'exemple classique est celui des lichens qui sont une association algues-champignons.

L'appareil végétatif est constitué de filaments ou **hyphes** qui s'accroissent par leur sommet et dont l'ensemble constitue un réseau appelé **mycélium**. Les taches ou colonies que l'ont voit à la surface des matériaux moisis sont essentiellement constituées de mycélium. Chez les levures cet appareil végétatif est unicellulaire.

Les champignons se multiplient par des **spores** formées à partir du mycélium et qui sont des organes de résistance, sortes de graines microscopiques, servant à la propagation lorsqu'elles se détachent. Elles sont ensuite dispersées par les courants d'air, par l'eau de ruissellement ou en se collant sur des vecteurs : objets, plantes, animaux (insectes, acariens) ou l'homme. L'air et les surfaces de notre environnement extérieur et intérieur sont ainsi naturellement chargés de spores à l'état latent. En conditions favorables d'humidité les spores peuvent germer et redonner du mycélium qui pourra à son tour sporuler et recontaminer.

La reproduction peut être à caractère sexué (champignon **téléomorphe** ou parfait) et/ou asexué (champignon **anamorphe** ou imparfait). Les deux formes de reproduction peuvent coexister chez un même champignon dit **holomorphe**.

Les champignons comprennent quatre groupes (phyla) basés sur les différentes formes de la reproduction sexuée : les **Chytridiomycota** à spores flagellées mobiles et zygotes, et trois autres, à spores non flagélées : **Zygomycota** à zygotes, **Ascomycota** à asques et **Basidiomycota** à basides.

Or, pour un nombre non négligeable d'entre eux on ne connaît que la reproduction asexuée. Pour situer ces organismes dans la classification générale on a donc dû créer un groupe artificiel : les **Deuteromycota** ou champignons anamorphes (= champignons imparfaits = champignons conidiens = champignons mitosporiques) avec un système d'identification particulier essentiellement basé sur le mode de formation des spores, appelées conidies.

Cependant, au fur et à mesure des progrès de la connaissance et le plus souvent grâce aux méthodes d'analyses moléculaires, on peut rapprocher certains de ces champignons asexués de formes sexuées connues, le plus souvent Ascomycota et quelques Basidiomycota.

Les **Deuteromycota**, comme tous les champignons après identification, se voient attribuer un nom propre (**9**), par exemple *Aspergillus nidulans* où *Aspergillus* est le nom de genre et *nidulans* le nom de l'espèce. Mais, par la suite, cet *Aspergillus* s'est révélé être la forme asexuée d'un ascomycète ayant lui-même reçu antérieurement un nom propre, dans le cas présent : *Emericella nidulans*. Ainsi un même organisme peut être appelé par deux noms ! Pour éviter toute confusion il a été décidé que seul le nom de la forme sexuée est valide : *Emericella nidulans* (= *Aspergillus nidulans= Aspergillus nidulellus*). Cependant par habitude on appelle encore parfois le champignon par le nom de sa forme asexuée, rencontrée plus fréquemment, et ceci est source de confusion.

Les moisissures n'ont pas de statut officiel à l'intérieur de la classification générale des champignons. C'est un groupement hétérogène d'organismes microscopiques liés à une altération visible des biens de consommation et de l'habitat. La plupart des moisissures rencontrées dans l'habitat sont des **Deuteromycota**. On trouve également un petit nombre de représentants des **Zygomycota** (Mucorales), et des **Asco-** et **Basidiomycota**.

Sur environ 16 000 espèces de **Deuteromycota** décrites à ce jour (**6**), (**7**), (**10**), une soixantaine se rencontrent fréquemment dans l'habitat, (**7**), (**10**), (**25**). Parmi celles-ci trois genres : *Cladosporium, Penicillium* et *Aspergillus* sont présents dans 90% des logements, avec de nombreuses espèces de répartition plus aléatoire.

A l'intérieur des genres, l'identification des espèces est un élément fondamental, car à celles-ci correspondent des caractères écologiques (températures et taux d'humidité nécessaires au développement, habitats d'origine…), toxicologiques, allergisants et pathogènes. Par exemple sur les quelque 200 espèces d'*Aspergillus* connues, une quarantaine ont été soupçonnées d'être à l'origine de processus infectieux (**5**) mais le nombre d'espèces allergisantes est sans doute plus important. En outre, dans une espèce donnée, les souches (ou isolats) n'ont pas toutes rigoureusement les mêmes potentialités biochimiques. Dans le cas de l'espèce *Stachybotrys chartarum* par exemple, les chercheurs ont démontré l'existence de deux entités (chemotypes) produisant des métabolites différents, et ainsi mis en évidence une espèce nouvelle : *S. chlorohalonata* (**1**). L'identification au genre n'est donc pas suffisante pour évaluer un risque de pathologie ; seule la caractérisation de l'espèce peut orienter une recherche qui doit être complétée par des tests d'activité.

La présence visible de moisissures dans l'habitat, en faible quantité, n'est pas systématiquement dangereuse pour les habitants. Cependant, parmi les risques qu'elles peuvent présenter pour la santé de l'homme, on peut citer :

- l'**allergie** chez les individus sensibles ;
- la **toxicité** par la production de toxines ou de métabolites secondaires tels que les mycotoxines, de composés organiques volatils libérés dans l'air et de β1-3 glucanes composants de la paroi des moisissures, qui sont autant de facteurs d'activation voire d'aggravation de la réaction allergique ;
- les **infections** cutanées superficielles, induisant une réaction allergique ou inflammatoire, subcutanées où le champignon est introduit dans les tissus suite à une blessure ;
- les **mycoses invasives** liées soit à des champignons pathogènes, soit à des saprophytes banals qui contaminent les individus dont l'immunité est amoindrie ;

- Les moisissures de l'habitat peuvent être impliquées dans la première catégorie de troubles et chez les individus immunodéprimés. Selon Nolard et coll (**7**) « l'inhalation de spores fongiques et d'éléments mycéliens émis en quantité dans l'air par les champignons, entraîne des pathologies respiratoires et cutanées diverses parmi lesquelles les manifestations allergiques occupent une place prépondérante. Tous types d'allergie s'y retrouvent : rhinites, dermatites, bronchites allergiques, asthme, mycoses broncho-pulmonaires allergiques et alvéolites allergiques extrinsèques ».

Les moisissures, comme tous les organismes vivants, ont besoin d'humidité pour se développer (voir CHAPITRE II). En dessous d'une certaine disponiblité de l'eau (Aw) elles ne peuvent pas pousser, même si quelques spores survivent et peuvent présenter un risque pour la santé. Il y a, ici encore, certaines particularités des espèces. Le tableau suivant montre qu'à une $A_w$ donnée, on peut s'attendre à trouver telle ou telle moisissure et qu'inversement, celles-ci peuvent être des indicateurs d'humidité lorsqu'elles sont présentes dans l'air ou isolées de surfaces dans l'habitat.

**Matériaux à $A_w$> 0,95-0,90** : *Aspergillus fumigatus* , Trichoderma sp, Stachybotrys chartarum*, Phialophora sp, Alternaria sp, Fusarium* spp, Phoma sp,* levures.

**Matériaux à $A_w$ entre 0,90 et 0,85** : *A. versicolor*, A.sydowii, A.nidulans.*

**Matériaux à $A_w$< 0,85** : *A. versicolor*, A. glaucus, Penicillium (chrysogenum, aurantio-griseum*).*

Les noms marqués d'un astérisque désignent des organismes potentiellement toxinogènes ou pathogènes (**10**).

La nature des supports: bois, papiers et autres matériaux cellulosiques, peut aussi influencer l'installation d'espèces adaptées, par exemple ligninolytiques (Mérule) et/ou cellulolytiques (*Chaetomium globosum*, *Stachybotrys chartarum, Trichoderma sp,*.).

## B. METHODES D'IDENTIFICATION DES ESPECES DE MOISISSURES

L'identification des espèces de moisissures est plutôt affaire de spécialistes. Les méthodes actuellement disponibles sont les suivantes :

- La morphologie : aspect visuel du développement *in situ* et en culture, observation au microscope du mode de formation des spores (appelées *conidies* chez les **Deuteromycota**), de leur type de groupement (en chaînes, en têtes…), de leur forme, de leur couleur *cf. figure page suivante.*

- L'observation microscopique est effectuée sur des prélèvements directs (morceaux de ruban adhésif) ou sur des cultures de souches isolées (**6**), (**10**) (voir CHAPITRE III, page 35).

- La production de métabolites (**3**)

- La caractérisation moléculaire est en cours de développement (**2**), (**4**).

Figure 1 : représentation schématique des principaux modes de goupement des cellules conidiogènes

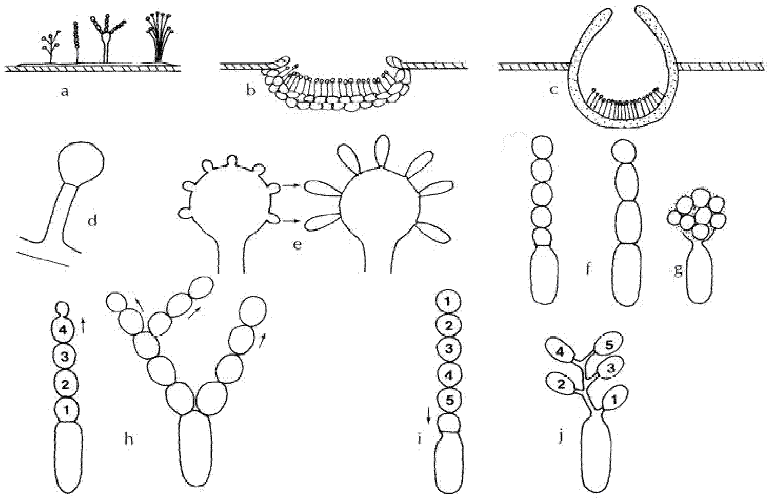



figure d'après Kirk et coll (**6**) : représentation schématique des principaux modes de goupement des cellules conidiogènes (cellules du mycélium à partir desquelles se forment les conidies et conidiogenèse (mode de formation des conidies). Observation microscopique schématisée.
Groupement de cellules conidiogènes. a: conidiophores simples, b: acervule, c: pycnides
Mode de formation des conidies. d : conidie solitaire, e : formation synchrone, f : conidies en chaînes, g : en tête, h : en chaîne acropète, la plus jeune étant au sommet, i : en chaîne basipète, la plus jeune étant à la base, j : formation sympodiale.

La paroi des spores est variable selon les espèces. Elle peut être humide ou sèche, lisse ou ornementée, colorée ou hyaline. D'une façon générale les espèces à spores dont la paroi est humide, collante, sont de ce fait agglutinées en boules (têtes), et peu représentées dans les prélèvements d'air. On les trouve plutôt sur les surfaces où elles adhèrent, tandis que les spores à paroi sèche, facilement transportées par l'air seront mises en évidence dans les analyses aérobiologiques. D'où la nécessité d'utiliser simultanément plusieurs méthodes de prélèvement pour avoir une vue exhaustive de la population fongique dans un habitat donné.

## C. DESCRIPTION ET ILLUSTRATION DES PRINCIPALES ESPECES DE MOISISSURES DE L'HABITAT

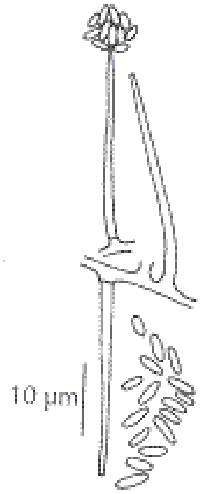
Nous proposons ici une synthèse des espèces les plus fréquentes rencontrées (isolées) dans les habitats européens, avec leurs principaux caractères morphologiques, écologiques et éventuellement les risques pathologiques. Pour une vue plus exhaustive des moisissures de l'habitat se reporter aux ouvrages cités dans la bibliographie (**7**) et (**10**) ou consulter les sites web spécialisés.

*Nota*
*Les illustrations des espèces rencontrées dans l'habitat sont, pour la plupart, tirées de l'ouvrage de Samson RA et coll (**10**), Introduction to food and air-borne fungi, avec l'aimable autorisation de l'auteur.*

### *Deutero-et Ascomycota*

Les *Aspergillus* et *Penicillium* dont plusieurs espèces sont impliquées dans l'habitat, sont présentés sous forme de tableaux récapitulatifs des différents caractères spécifiques.

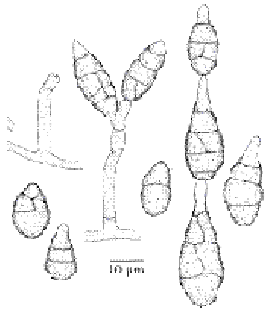
***Acremonium strictum*** W. Gams




- Colonies rosées, muqueuses avec quelques mèches filamenteuses. Spores unicellulaires, cylindriques, hyalines, groupées en têtes à l'extrémité de cellules conidiogènes (phialides).
- Températures de croissance :
  Opti : 20-25°C
- Habitat naturel : sol, végétaux, autres champignons.
- Faible dispersion par l'air ce qui fait qu'on l'isole essentiellement sur les surfaces
- Parfois associé à des pathologies humaines
- Son implication en allergie reste à confirmer.

Autre espèce rencontrée dans des locaux et sur des supports humides : *A. murorum* noir olivacé, poudreux.

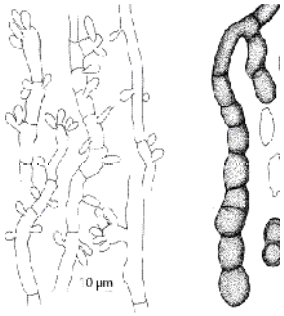
***Alternaria alternata*** Fr. Keissler
**(= *Alternaria tenuis*** Nees**)**



- Colonies vert foncé à noir, spores pluricellulaires en raquettes avec bec, disposées en chaînes ramifiées
- Températures de croissance :
  Mini : 2-6°C, opti : 25-28°C, maxi : 31-32°C
- Habitat naturel : sur plantes, sol, textiles, cartons…
- Essentiellement dans l'atmosphère de l'habitat et dans l'air extérieur en été.
- Parfois associé à des infections cutanées
- Aéro-allergène reconnu.

***Aspergillus spp*** : voir Tableau 1~~Tableau 1~~.

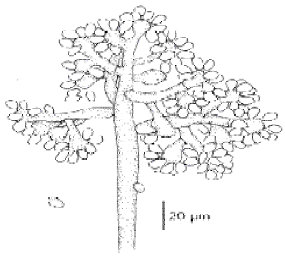
***Aureobasidium pullulans*** de Bary Arnaud



- Colonies noires, luisantes, humides. Filaments noirs, épais, cloisonnés et fragmentés, spores unicellulaires, hyalines
- Températures de croissance :
  Mini : 2-10°C, opti : 25°C, maxi : 35°C
- Habitat naturel : sur plantes et supports très humides en voie de dégradation
- Se rencontre sur les surfaces et en faible quantité dans l'air.
- Associée à divers phénomènes allergiques respiratoires liés à l'habitat

Parfois mis en cause dans des infections liées à des blessures.

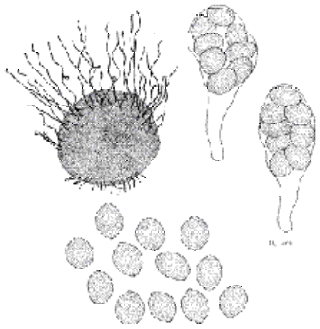
***Botrytis cinerea*** Pers.




- Colonies grises, d'aspect poussiéreux, spores hyalines, unicellulaires, formées de manière synchrone se détachant facilement
- Températures de croissance :
  Mini : 5-12°C, opti : 22-25-°C, maxi : 33-35°C
- Habitat naturel : sur plantes en parasite et/ou saprophyte (pourriture grise ou « pourriture noble » sur les raisins).
- Se rencontre dans l'air.

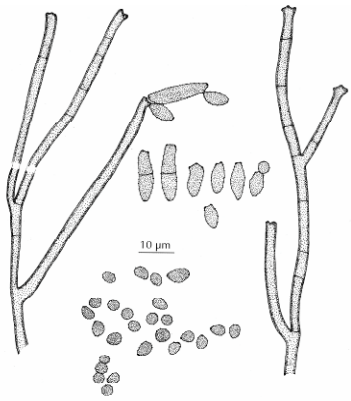
Cas d'allergie chez les ouvriers agricoles travaillant dans les serres ou les vignes.

***Chaetomium globosum*** Kunze



- Colonies assez rases vert foncé, avec des petites boules visibles à l'œil nu qui sont les fructifications (périthèces contenant des asques). Spores brunes en forme de citron.
- Températures de croissance :
  Mini : 4-10°C, opti : 18-24°C, maxi : 37°C
- Habitat naturel : Végétaux en décomposition et autres supports cellulosiques.
- Dans l'habitat s'observe sur les surfaces des revêtements papier, des cartons, des livres.

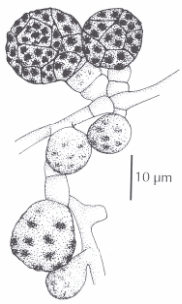
***Cladosporium cladosporioides*** Fres. de Vries
***Cl. sphaerospermum*** Penzig




- Colonies vert foncé à noir, spores en chaînes ramifiées, avec une cicatrice à chaque extrémité
- Températures de croissance :
  Mini : 3-10°C, opti : 20-28°C
- Habitat naturel : plantes, air, sol, céréales, textiles
- Surtout détecté dans l'air

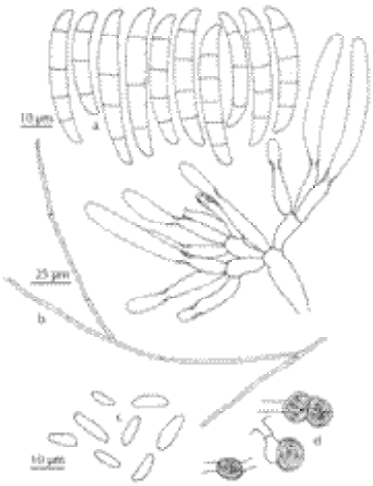
Rôle allergisant de *Cladosporium* souvent comparé à celui d'*Alternaria* bien que de moindre importance.
*Cladosporium herbarum* est aussi fréquemment rencontré. Inféodé aux plantes, sa présence est plus saisonnière avec un maximum en été.

***Epicoccum nigrum*** Link




- Colonies laineuses à développement rapide, de couleur jaune, brique à rouge foncé. Spores noires arrondies, pluriseptées, verruqueuses avec une cellule basale plus claire.
- Températures de croissance :
  Mini : 3-4°C, opti : 23-28°C, maxi : 45°C.
- Habitat naturel : Envahissseur secondaire de plantes mortes, sol, divers supports cellulosiques.
- Responsable de rhinites allergiques estivales et d'asthme.

***Fusarium solani*** (Mart.) Sacc.

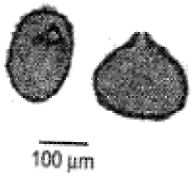


- Colonies claires, veloutées, blanches à violacées.
- Conidies de deux types : unicellulaires (microconidies) ellipsoïdes, hyalines et pluricellulaires (macroconidies) arquées.
- Présence de spores de repos : chlamydospores.
  Températures de croissance :
- Mini : 3-10°C, opti : 27-31°C, maxi : 37°C
- Habitat naturel : plantes, sol, eau, air
- Se rencontre dans l'air et sur les surfaces
- Peut entrainer des allergies respiratoires en particulier en milieu rural
- Cité dans quelques cas de kératites.

D'autres espèces : *F.oxysporum* et *F.culmorum* peuvent produire des mycotoxines (trichothécènes, zéaralenones).

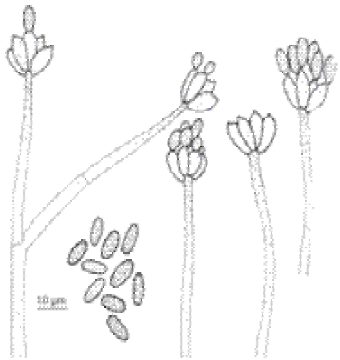
***Penicillium spp :*** voir Figure 3~~Figure 3~~

***Phoma glomerata*** (Corda) Wollenw. & Hochapfel



- Colonies grisâtres à noires, mycélium aérien peu abondant diffusant parfois un pigment rouge. Présence de petites boules noires (pycnides) contenant des conidies hyalines, unicellulaires.
- Températures de croissance :
  Opti : 22-25°C, maxi : 35°C
- Habitat naturel : débris végétaux, sol, substrats cellulosiques
- Se rencontre dans l'air et sur les surfaces
- Associé à des cas d'asthme domestique.

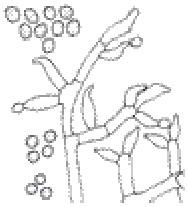
***Stachybotrys chartarum*** (Ehrenb.) Hughes
(= *Stachybotrys atra* Corda)



- Colonies noires, poudreuses. Conidies foncées, allongées, rugueuses, groupées en tête au sommet de phialides en éventail.
- Températures de croissance :
  Mini : 7°C, opti : 23°C, maxi : 37- 40°C
- Habitat naturel : débris végétaux, supports cellulosiques très humides
- Sur les surfaces
- Métabolites toxiques : Satratoxines G et H, verrucarine, roridine
- Décrit comme étant associé à des cas d'hémorragie pulmonaire aux Etats Unis et au Canada.

***Trichoderma harzianum*** Rifai

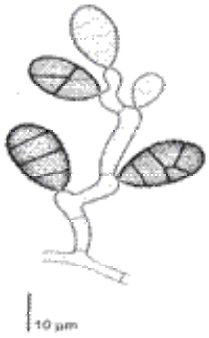
- Colonies vertes, granuleuses. Conidies rondes lisses.
- Températures de croissance :
  Opti : 15-30°C, maxi : 30-36°C
- Habitat naturel : sol, supports cellulosiques, bois en décomposition
- Métabolites toxiques : Gliotoxine



*Trichoderma viride* Pers., à conidies rugueuses se rencontre aussi dans l'habitat sur des supports ligneux.

***Ulocladium botrytis*** Preuss

- Colonies poudreuses à laineuses, vert foncé à noir. Conidies solitaires, ovoides, brunes, verruqueuses, pluricellulaires. Ressemble à *Alternaria* dont il diffère par l'absence de bec et par ses conidies solitaires.
- Habitat naturel : saprophyte commun fréquent dans les habitats humides sur les plâtres, poutres et revêtements muraux
- Même type d'activité allergénique que *Alternaria*.
- Autres espèces rencontrées dans l'habitat : *U. atrum* et *U. chartarum.*

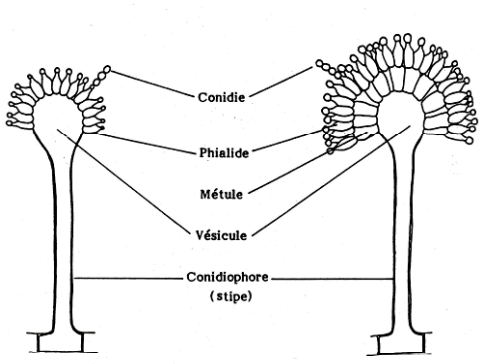



**Genre *Aspergillus***

Le genre *Aspergillus* compte 250 espèces dont une dizaine se rencontrent dans l'habitat.
*fumigatus* et *niger* sont des aéroallergènes bien documentés.
*versicolor, glaucus* et *nidulans* sont aussi décrits.

Les espèces d'*Aspergillus* se différencient surtout par la couleur des colonies, l'organisation des têtes conidiennes, la forme et l'ornementation des conidies et l'éventuelle présence de reproduction sexuée.

Figure 2 : Schéma général de l'organisation des *Aspergillus d'après Samson RA et coll (**10**)* .




A : *Aspergillus* unisérié. B : *Aspergillus bisérié*

Tableau 1 : Principales espèces d'*Aspergillus* rencontrées dans l'habitat et leurs caractères généraux.

| Espèces | Organisation des têtes | Couleur des colonies | Temp. opt. croissance | Habitat naturel | Métabolites toxiques |
|---|---|---|---|---|---|
| *A. fumigatus* | unisériée | Bleu-vert | 35-40 °C | Sol, compost, terre de pots de fleurs… | Gliotoxine |
| *A. niger* | bisériée | Brun-noir | 17- 42°C | Sol, plantes, aliments, matériaux divers | |
| *A. versicolor* | bisériée | Vert, jaune-orange | 21-30°C | Sol, aliments, matériaux divers | Stérigmato-cystine Géosmine |
| *A. flavus* | Bi et/ou unisérié | Vert jaune | 25-42°C | Sol, céréales | Aflatoxines |
| *A. nidulans (=Emericella nidulans)* | bisériée | Vert foncé, revers rouge sombre | 26-30°C | Sol, compost, aliments | |
| *A.glaucus (= Eurotium herbariorum)* | unisériée | Vert, granulations jaune doré | 25-30°C | Sol, aliments peu hydratés | |

D'autres espèces : *A. candidus, ochraceus, penicillioides, sydowii* et *terreus* ont également été décrites dans l'habitat.

**Genre *Penicillium***

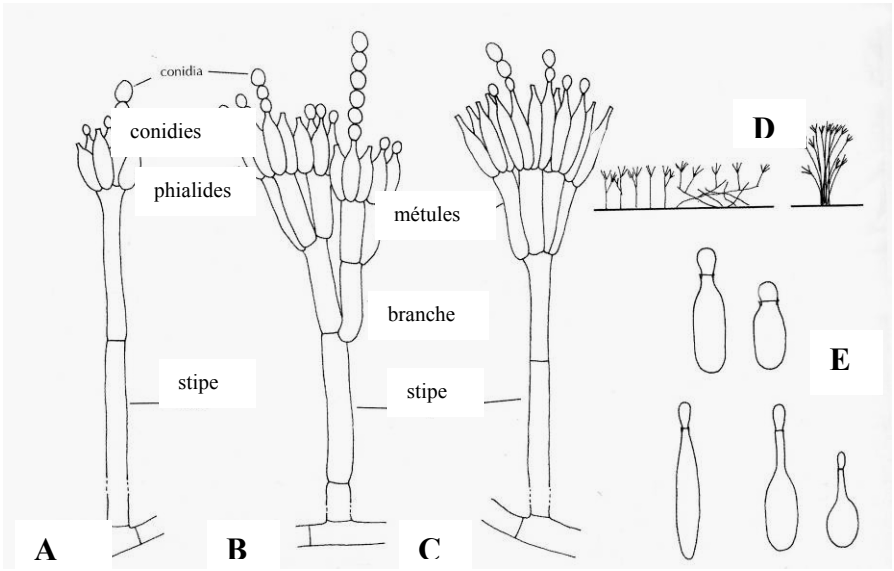
Le genre *Penicillium* compte environ 230 espèces dont une dizaine se rencontre dans l'habitat.

*Penicillium aurantiogriseum*, *brevicompactum*, *chrysogenum*, *citrinum*, *glabrum* présentent des risques d'allergie. *P. commune*, c*orylophilum*, *expansum*, *funiculosum*, *variabile* sont aussi présents dans l'habitat.

Ce sont des contaminants fréquemment et régulièrement rencontrés dans l'air des habitations et à l'extérieur.

En général, les espèces se différencient surtout par la couleur des colonies et des pigments qu'elles sécrètent, l'organisation des structures conidiogènes, la taille et la forme des conidies et la vitesse de croissance en conditions standardisées.

Figure 3 : Schéma général de l'organisation des pinceaux de *Penicillium*, utilisée dans l'identification d'après Samson et coll (**10**)




A : monoverticillé, B : terverticillé, C : biverticillé, D : groupement des pinceaux, E : forme des phialides

Les espèces les plus fréquentes dans l'habitat ont des caractères communs : température optimale de développement 22-25°C, couleur gris-bleu à bleu-vert, elles sont ubiquistes et se rencontrent fréquemment dans le sol et sur les aliments. Leur identification ne peut se faire que par la mise en culture et l'observation des caractères microscopiques des structures conidiogènes.

Tableau 22 : caractères morphologiques des espèces les plus fréquentes dans l'habitat

| Espèces | Ramification des pinceaux | Ornementation du stipe | Forme des conidies | Taille des conidies | Caractères particuliers |
|---|---|---|---|---|---|
| *P. aurantiogriseum* | terverticillé | rugueux | subglobuleuses à ellipsoides, lisses | 3,5-4 x 2,5-3,2 µm | |
| *P. brevicompactum* | terverticillé | lisse à finement rugueux | ellipsoides, lisses | 2,5-3,5 x 2-2,5 µm | Pinceaux compacts |
| *P. chrysogenum* | terverticillé | lisse | subglobuleuses à ellipsoides, lisses | 2,5- 4 x 2,2-3,5 µm | Exsudats jaunes |
| *P. citrinum* | biverticillé, *furcatum* | lisse | globuleuses à subglobuleuses, lisses | 2,2 - 3 µm | |
| *P. glabrum* | monoverticillé | lisse à finement rugueux | globuleuses, lisses | 3- 3,5 µm | Stipe renflé |

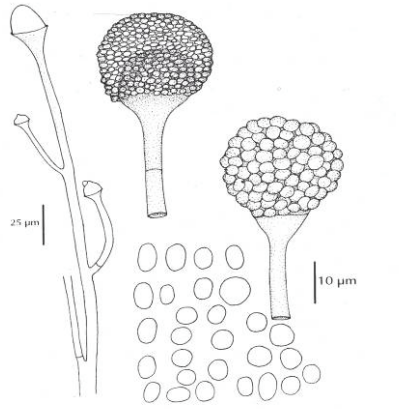
D'autres espèces : *P. digitatum, expansum, olsonii, piceum, spinulosum, thomii, variabile* ont également été décrites dans l'habitat.

L'implication des diverses espèces de *Penicillium* dans un processus d'allergie respiratoire reste difficile à apprécier.

## Zygomycota

Quelques espèces de Zygomycètes peuvent faire partie des moisissures rencontrées dans l'habitat. Chez ces champignons, dont la croissance est généralement rapide, les spores sont formées et contenues dans des enveloppes (sporanges) dont la paroi se rompt à maturité, libérant les spores et laissant voir, au microscope, une vésicule intérieure : la columelle, de forme caractéristique, parfois très réduite. Les colonies sont assez épaisses, gris foncé à gris clair ou blanc.

***Absidia corymbifera*** (Cohn.) Sacc. & Trotter.
Spores globuleuses à ellipsoïdes, hyalines. Columelles piriformes.




Températures de croissance :
Opti : 35-37°C, maxi : 45°C
Habitat naturel : sol, fourrage, végétaux et fruits en décomposition
Agent infectieux impliqué dans la maladie du poumon du fermier.

***Mucor (circinelloides, hiemalis, racemosus)*** et ***Rhizopus*** *spp*
Columelles de formes plus ou moins globuleuses avec ou sans apophyses.
Températures de croissance :
Mini : 5 et 25°C, opti : 20-25°C, maxi : 30 –37°C.
Assez ubiquistes : sol, air, aliments divers…
*Mucor circinelloides* et *Rh. microsporus* peuvent avoir des implications pathologiques et *M. racemosus* est imliqué dans des cas d'allergie.

## Basidiomycètes

Le principal Basidiomycète susceptible d'être rencontré dans l'habitat est la fâcheusement célèbre Mérule (*Serpula lacrimans*). Ce champignon colonise d'abord les bois humides à partir desquels le mycélium peut se propager très largement dans l'environnement sur de longues distances. Dans certaines conditions il fructifie (reproduction sexuée) et forme des spores (basidiospores) de couleur rouille dont l'inhalation peut entraîner l'asthme et même des alvéolites.

En conclusion, les particularités écologiques et pathogènes ou allergisantes de quelques espèces, relativement peu nombreuses à l'intérieur des genres, soulignent la nécessité d'une identification précise des espèces rencontrées de façon majoritaire, pour évaluer les risques réels dus à la présence de moisissures dans l'habitat.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES


1 - **Andersen B., Nielsen K.F., Thrane U. et al**. Molecular and phenotypic descriptions of *Stachybotrys chloroalonata* sp.nov. and two chemotypes of *Stachybotrys chartarum* found in water damaged buildings. Mycologia 95(6), 2003, pp 1227-1238. ISSN 0027-5514.

2 - **BrunsT.D., White T. J., and Taylor J.**, Fungal Molecular Systematics. *Ann. Rev. Ecol. Syst*., 22, 1991, pp 525-564. ISSN 0066 – 4162.

3 - **Frisvad J.C. and Thrane U.** *in* **Samson R.A., Hoeksta E.S., Frisvad J.C. and Thrane U.** , Mycotoxin production by common filamentous fungi, Introduction to food and airborne fungi, *Utrecht, CBS ed*., 2002, p.321-331, ISBN 90-70351-42 -0.

4 - **Guarro J., Gené J. and Stchigel A**, *Clinical microbiology reviews*, 12, 1999, pp 454-500.

5 - **Hoog G.S., Guarro J., Gené et al.**, Atlas of clinical fungi, Utrecht- *Reus, CBS/Universitat Rovira I Virgili éd*, 2000, 1126 p., ISBN 90-70351- 43-9.

6 - **Kirk P.M., Cannon P.F., David J.C. et al**, Dictionary of the fungi, 9th ed., *Egham U.K.,CAB Ed*., 2001, 655 p., 0 85199 377X.

7 - **Nolard N., Beguin H.**, *in* **Vervloet D., Magnan A.**, Moisissures. Traité d'allergologie, Paris, *Flammarion ed.*, 2003, p.441- 461.

8 - **Pfohl- Leszkowicz A**., Les mycotoxines dans l'alimentation, Paris, *Tec. & Doc. Ed*., 1999, 478 p., ISBN : 2-7430-0293-X.

9 -**Roquebert M.-F.**, *in* **Cahagnier B**., Taxonomie des moisissures. Moisissures des aliments peu hydratés, Paris, *Tec. & Doc. Ed*., 1998, pp 39-90. ISBN:2-7430-0209-3.

10 -**Samson R.A., Hoeksta E.S., Frisvad J.C. et al.**, Introduction to food and airborne fungi,*Utrecht, CBS éd*., 2002, 389 p., ISBN 90-70351-42 -0.

# CHAPITRE II. HUMIDITE ET ENVIRONNEMENTS INTERIEURS

## A. INTRODUCTION ET DEFINITIONS

L'humidité est le facteur essentiel nécessaire à la prolifération fongique. La teneur en eau de l'air participe à l'humidité des matériaux, elle peut être évaluée. On peut définir et mesurer la disponibilité en eau, ou Aw, des différents matériaux.

La teneur en eau des environnements intérieurs peut être exprimée de diverses manières :
- L'humidité absolue, notée W, correspond à la quantité de vapeur d'eau contenue dans l'air. Cette quantité s'exprime en g/kg ou g/$m^3$ d'air sec et est limitée à une valeur appelée "limite de saturation", notée Ws, qui dépend de la température ;
- Le degré d'hygrométrie ou l'humidité relative (HR) qui correspond au rapport de l'humidité absolue à la limite de saturation. Elle s'exprime en % ;
- La pression partielle de vapeur d'eau, notée Pv qui est la pression qu'aurait la vapeur si elle occupait seule l'ensemble du volume considéré. Ce paramètre s'exprime en millimètres de hauteur de colonne de mercure (mm Hg). N.B. : 1 mm Hg = 133 Pa (S.I.).

Ces différents paramètres peuvent être reliés à l'aide du diagramme de Mollier.

Les techniques de mesure de la teneur en humidité de l'ambiance et des matériaux sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 33 : Techniques de mesure de l'humidité de l'air et des matériaux

| DESIGNATION | | PRINCIPE |
|---|---|---|
| AIR | Hygromètre à variation d'impédance | Mesure des variations des propriétés électriques en fonction de l'humidité ambiante d'une substance hygroscopique |
| | Psychromètre | Mesure des températures sèche et humide qui permettent d'accéder, par lecture des tables et diagrammes à Pv, H.R et W. |
| MATERIAUX | Humidimètre à pointes | Mesure de la résistivité électrique du support |
| | Humidimètres capacitifs | Mesure de l'impédance diélectrique du matériau à une fréquence élevée donnée (12MHz environ). Concerne la surface du support sur 3 à 5 cm de profondeur |
| | Mesure par pesée | Pesée des matériaux prélevés avant et après séchage |
| | Mesure par réaction chimique avec le carbure de silicium | Mesure de la pression du gaz d'acétylène dégagé lors de la réaction chimique entre le matériau et un composé de carbure de silicium. |

La quantité d'eau présente dans un matériau est exprimée par son activité hydrique, notée Aw et correspond, une fois l'équilibre atteint entre le produit et l'ambiance, à l'humidité relative de l'environnement.

## B. SOURCES D'HUMIDITE

Les sources d'humidité peuvent être classées en trois catégories :

- L'eau issue du sol des fondations pour laquelle trois origines sont soupçonnées :
  - La nappe phréatique
  - Les eaux d'infiltration
  - La fuite des canalisations enterrées

- L'eau en élévation (ou hors sol) qui peut avoir trois origines :
  - L'eau de construction
  - Les intempéries
  - Les canalisations avec les fuites d'une canalisation sous pression, entre robinet et receveur ou au niveau des évacuations
- L'eau de l'air, les condensations.

Dans les bâtiments, les occupants au travers de leur métabolisme et de leurs activités constituent la principale source de vapeur d'eau. Le Tableau 4~~Tableau 4~~ indique les quantités d'eau produites par les occupants et certaines activités domestiques.

Tableau 4~~4~~ : Production de vapeur d'eau dans un local

| SOURCES | QUANTITE D'EAU EMISE |
|---|---|
| Personne au repos | 40 g/h.pers – 30 à 60 g/h pers. |
| Occupant actif | 80 g/h.pers – 50 à 250 g/h pers. |
| Lessive, toilette, cuisine (4 pers.) | 2 à 8 g/h.$m^3$ – 1, 6 à 8 g/h.$m^3$ |
| Séchage de la lessive | 1,4 à 2,1 l/j – 0,5 à 1,8 l/j |
| Total des apports journaliers d'un logement de 67$m^2$ et 174$m^3$ occupé 15h/jour par 4 pers. | 10 à 25 kg/jour – 8 à 35 kg/jour |

La suroccupation des locaux a une incidence directe sur toutes les sources de vapeur d'eau ; il en va de même de certaines circonstances telles que l'arrivée d'un nourrisson qui augmente la fréquence des lessives, la surabondance de plantes engendrant un arrosage plus important, la présence d'un aquarium ou encore d'un sèche-linge non ou mal raccordé sur l'extérieur ou plus fréquemment l'absence d'un local séchoir,…(**53**), (**54**).

Au contact de surfaces dont la température est inférieure au point de rosée, l'eau contenue dans l'air va se condenser. On distingue deux types de condensation :

- superficielle lorsqu'elle apparaît en surface,
- dans la masse, lorsqu'elle se produit dans la matrice du produit. Ce dernier phénomène se produit au sein des matériaux poreux et est fonction du transfert de chaleur et de vapeur d'eau à travers la paroi.

## C. HUMIDITE D'UN LOCAL

Dans un local ventilé, l'humidité résulte de l'équilibre entre la vapeur d'eau de l'air intérieur et le débit de la ventilation. La ventilation consiste à introduire dans le local de l'air extérieur (air "neuf") et à évacuer vers l'extérieur le débit d'air correspondant (air "vicié").

En hiver, l'air neuf est froid et peu chargé en vapeur d'eau, même à saturation ; son introduction dans le local le réchauffe à la température ambiante et lui permet d'absorber un supplément d'humidité qu'il évacuera en sortant du local.

Aussi, si on connaît :

- le débit d'apport de vapeur d'eau dans le local (w en g/h) ;
- le débit de renouvellement d'air (n, en $m^3$/h) ;
- la teneur en vapeur d'eau de l'air entrant (we, en $g/m^3$) ;

l'humidité absolue d'équilibre de l'air intérieur (notée wi, exprimée en $g/m^3$ ), est calculée à partir de la formule :

$$wi = we + \frac{w}{n}$$

Pour exemple, si on considère une chambre chauffée à 18°C, dans laquelle dorment 2 personnes (w = 2x40= 80 g/h), et pour laquelle l'air de renouvellement est pris à l'extérieur à 0°C, 80% d'H.R. : we = 3 g/kg d'air sec d'après le diagramme de Mollier, ce qui correspond à *wi* = 2,5 $g/m^3$.

Si le renouvellement d'air se fait *via* les défauts d'étanchéité des fenêtres (égal environ à 10 $m^3$/h), alors : wi = 2,5+ (80/10) = 10,5 $g/m^3$ soit 12,6 g/kg, qui correspondent pour l'air à 18°C, à une humidité relative de 98 % : il y aura condensation sur toutes les parois dont la température sera à la température de rosée de cet air soit 17,5°C.

Si le renouvellement d'air se fait par une aération générale et permanente, à raison de 30 $m^3$/h, alors wi = 3 + 3,2 = 6,2 g/kg, qui correspondent à une humidité relative d'environ 48 % pour l'air à 18°C, ainsi il y aura condensation sur les surfaces dont la température est inférieure ou égale à 7°C, c'est-à-dire sur les simples vitrages d'après le Tableau 5 :

Tableau ~~5~~6 : Température de rosée et humidité relative selon la nature de la paroi pour une température du local à 18°C et une température extérieure à 0°C

| PAROI | TS* (°C) | HUMIDITE RELATIVE (%) pour avoir Ts=Tr** |
|---|---|---|
| Simple vitrage | 6,5 | 47 |
| Béton 15 cm | 10,0 | 59 |
| Double vitrage | 12,0 | 68 |
| Brique creuse de 20 cm | 15,0 | 83 |
| Béton + 4 cm d'isolant | 16,5 | 91 |
| Béton + 8 cm d'isolant | 17,3 | 96 |

Le rapport $\frac{w}{n}$ représente le taux de dilution de la vapeur d'eau produite dans l'air du local. Ce paramètre permet de caractériser le degré d'humidité de l'ambiance et de fait les risques de condensations engendrés.

# D. INTERACTIONS HUMIDITE - MATERIAUX

Selon leur structure, certains matériaux vont être plus "vulnérables" vis-à-vis de l'humidité.

## 1. Structure des produits de construction

On peut classer les matériaux en trois familles :

- Les matériaux poreux, parmi lesquels, on distingue ceux possédant une porosité fermée c'est-à-dire dont les vides constitutifs ne communiquent pas entre eux, rendant la circulation des fluides impossible (granit), et ceux à porosité "ouverte" pour lesquels les vides sont reliés par des canaux plus ou moins fins. Ces matériaux sont d'autant moins perméables à l'eau que les canaux sont fins (capillaires).
- Les matériaux à structure compacte sans pore ni capillaire tels que le verre, les métaux et divers produits plastiques non expansés.
- Les fibres minérales, qui constituent un cas particulier dans la mesure où leur capillarité ne s'exerce qu'à travers l'enchevêtrement de leur réseau fibreux et peut être supprimée à l'aide d'un traitement réduisant leur mouillabilité.

La plupart des produits du bâtiment sont poreux et la molécule d'eau, par sa petite taille, (diamètre effectif égal à 0,3 nm) peut se déplacer dans les pores les plus fins. Le comportement des matériaux vis-à-vis de l'humidité dépend également de leurs caractéristiques dimensionnelles (surface spécifique, porosité sub micronique, volumes des vides dont la taille est $< 0{,}1\mu m$, porosité totale) et de leur nature physico-chimique (hydrophobicité).

## 2. Mécanismes mis en jeu

2.1. La molécule d'eau va dans un premier temps se fixer sur les surfaces. Plusieurs phénomènes sont mis en jeu lors de cette étape :

- l'adsorption physico-chimique mono et pluri moléculaire ;
- la condensation capillaire ;
- le mouillage ;
- la capillarité.

Les quantités d'eau fixées par adsorption, qui représentent 3 à 4 couches de molécules d'eau, sont généralement très faibles et seule la condensation capillaire (phénomène de confinement des molécules d'eau dans un petit volume) explique la quantité d'eau importante adsorbée par certains matériaux tels que ceux à base de ciment, les bois et les argiles.

Ce phénomène physique, qui dépend de la température, de l'humidité environnante et de la taille des pores, peut conduire à la saturation en eau d'un produit simplement placé dans une ambiance très humide ( > 98%) sans apport d'eau liquide.

Les phénomènes de mouillage et de capillarité concernent l'eau sous forme liquide.

2.2. Concernant les mécanismes de transfert de l'eau, entre l'atmosphère et le matériau, il s'agit de :

- La **condensation** thermique qui résulte de l'abaissement local (en surface ou à l'intérieur du matériau) de la température sous le « point de rosée ».

➢ La **diffusion**. Ce phénomène est induit par un gradient de pression de vapeur. Elle dépend de la perméabilité à la vapeur d'eau (Tableau 6) des matériaux qui est définie comme étant la quantité de vapeur, par $m^2$, traversant 1 m d'épaisseur de matériau en 1 h pour une différence de pression de vapeur de 1 mm de mercure entre les 2 faces de la paroi.

Tableau 66 : Perméabilité à la vapeur de différents matériaux de construction

| MATERIAUX | PERMEABILITE A LA VAPEUR ($10^{-5}$ g/m.h.mm Hg) |
|---|---|
| PVC cellulaire | 35 |
| Terre cuite de parois de briques creuses | 150 |
| Mousse rigide de polyuréthane et polyisocyanurate (30-35 kg/m2) | 200 |
| Béton plein | 300 |
| Brique pleine | 900 |
| Plâtre (pièces préfabriquées) | 1000 |
| Béton cellulaire 600kg/m2 | 2000 |
| Laines minérales | 6000-8000 |

La capacité des produits à être plus ou moins perméables à la vapeur d'eau peut également se traduire par leur perméance ou encore leur coefficient de résistance à la diffusion de la vapeur d'eau.

2.3. Au sein du produit, les forces mises en œuvre sont les :

- Forces de gravité ;
- Forces capillaires ;
- Forces d'absorption et d'osmose ;
- Forces électro-osmotiques.

Comme nous l'avons vu précédemment, l'eau monte dans le matériau par les capillaires jusqu'à ce qu'un équilibre s'établisse entre la pesanteur et les forces capillaires dues à la tension superficielle de l'eau. Cette eau véhicule des sels qui se déposent à divers endroits et peuvent s'accumuler notamment dans les zones d'évaporation, créant des gradients de concentration entre les parties inférieure et supérieure du mur, que le phénomène d'osmose tend à réduire. Un champ électrique est également induit.

## 3. Disponibilité de l'eau (Aw)

L'eau contenue dans les matériaux peut être présente sous diverses formes classées ci-dessous par ordre décroissant de disponibilité pour un éventuel microorganisme :

- L'eau libre, pouvant généralement être extraite du produit par séparation physique ;
- l'eau capillaire ou adsorbée en surface ;
- la vapeur d'eau contenue dans les pores du produit ;
- l'eau liée ou de constitution impliquée dans les réactions chimiques, nécessaire à la fabrication du matériau.

### 4. Commentaires et propositions

L'humidité est unanimement reconnue comme l'un des principaux facteurs de développement fongique.

Toutefois, compte tenu de l'état actuel des connaissances et des appareils disponibles pour évaluer ce paramètre, il apparaît que :

- La mesure seule de l'humidité relative ambiante, même à proximité de la surface contaminée, ne permet pas de statuer sur l'existence d'un risque de développement fongique, la teneur en eau disponible dans le matériau ne correspondant souvent pas à l'humidité de l'ambiance ;

- La détermination de la teneur en eau, réduite à quelques centimètres de profondeur du substrat, à l'endroit du développement fongique n'est pas pertinente, la prolifération du microorganisme ayant pu se produire lors d'un excès ponctuel de l'humidité résolu lors du contrôle par les autorités compétentes. Dans ce cas le développement fongique est en latence, le microorganisme (spores, fragments mycéliens) conservant néanmoins sa capacité à coloniser une autre surface en cas d'humidité suffisante.

Aussi, il est proposé de réaliser des mesures au niveau de la colonisation, en des points de la même surface exempte de développement visible de moisissures mais également sur des substrats de même nature sains et sur des surfaces différentes (sans suspicion d'humidité excessive, ni croissance fongique visible).

Concrètement, si un développement de moisissures est constaté ou suspecté sur un mur, des mesures d'humidité seront réalisées :
- en différents points de la prolifération ;
- en des points visiblement sains sur le même mur ;
- sur un autre mur préférentiellement de même nature également sain.

**Toute source d'humidité locale ou généralisée devra être identifiée et éliminée avant de procéder à l'élimination de la contamination qu'elle soit active ou en latence.**

## E. COLONISATION DES PRODUITS DE CONSTRUCTION ET DE DECORATION PAR LES MOISISSURES

La contamination fongique des environnements intérieurs n'est pas un phénomène nouveau, il est, en effet, déjà clairement évoqué dans l'Ancien Testament (Lévitique, 14 :33-14 :57) et apparaît aussi bien dans les constructions récentes que dans les bâtiments anciens.
Compte tenu du nombre croissant de plaintes liées à la présence de moisissures dans les environnements intérieurs et de l'impact sanitaire avéré de ces microorganismes, les Pouvoirs Publics commencent à s'intéresser à cette problématique (**40**), (**41**).

Les moisissures, dont les spores sont généralement facilement aérosolisées par le vent, à partir des végétaux et du sol où elles se développent, sont naturellement présentes dans l'air extérieur et pénètrent, *via* les systèmes de ventilation ou par l'intermédiaire des occupants, dans les locaux.

La proportion de bâtiments présentant des développements fongiques en Europe du Nord et en Amérique du Nord est estimée entre 20 et 40%. Ainsi des études menées au Royaume-Uni évaluent à 30-45 % du parc immobilier, le taux de locaux moisis (**35**), (**52**), tandis que 20 à 25%

sont affectés aux Pays-Bas (**1**), (**31**), 20 à 30% en Finlande (**39**), (**45**), 40% aux Etats-Unis (**19**) et 30 % au Canada (**23**).

Au Danemark, plus de 50% des écoles et des garderies présentent une croissance fongique (**30**). Toutefois, comme le fait remarquer Nielsen, la surface des contaminations considérées dans ces divers travaux va d'une superficie de quelques $cm^2$ à des proliférations très étendues dans le cas des locaux les plus contaminés (**48**), (**49**).

## 1. Matériaux vulnérables et souches fongiques associées

Dans les environnements intérieurs, la plupart des matériaux de construction et de décoration constituent des supports de choix pour la croissance des moisissures, dès lors que ces microorganismes disposent de conditions environnementales favorables, notamment une teneur en eau supérieure à 0,7 Aw soit 70% (**25**), les nutriments nécessaires au microorganisme étant fournis par le matériau lui-même ou par son encrassement.

Parmi les nombreuses études réalisées sur la thématique "moisissures-matériaux", les recherches menées par Beguin et Nolard entre novembre 1981 et avril 1992 (**14**), (**15**), dans 130 habitations belges, ont montré que sur les murs et surfaces horizontales présentant une contamination fongique visible, *Aspergillus versicolor, Cladosporium sphaerospermum, Penicillium chrysogenum, Ulocladium botrytis, Acremonium strictum* et *Stachybotrys chartarum* sont les espèces fongiques les plus couramment rencontrées.
Quant à la contamination des plantes, des fleurs séchées, des vanneries, du cuir, des textiles et même des aliments, elle est souvent attribuable à *Botrytis cinerea, Aureobasidium pullulans, Cladosporium cladosporioides, Alternaria alternata, Aspergillus glaucus* et *Rhizopus stolonifer* (**14**).
Une étude menée sur la contamination des salles de bain japonaises par les moisissures arrivait au même constat avec l'isolement de 34 genres fongiques dont les plus fréquents étaient *Cladosporium spp., Phoma spp, Penicillium, Alternaria, Arthrinium et Ulocladium*. (**44**).

Des informations supplémentaires sont disponibles au travers d'autres études réalisées sur cette thématique : (**4**), (**5**), (**16**), (**20**), (**42**), (**50**), (**56**), (**57**), (**60**), (**62**).

Plus récemment, Hyvärinen (**34**), définit et quantifie les genres fongiques isolés au sein de 1140 échantillons de matériaux de construction récupérés *in situ*. L'auteur répartit ces matériaux dans huit catégories : papiers, produits céramiques, matériaux d'isolation d'origine minérale, peintures, colles, plastiques, bois, et panneaux de construction en plâtre.

Parmi les genres observés au sein de ces produits, *Penicillium* est le genre le plus fréquemment isolé. Papiers et isolants minéraux apparaissent favorables à la croissance de *Cladosporium* tandis que *Stachybotrys* est observé le plus souvent dans les panneaux en plâtre. *Aspergillus* et *Acremonium* ne semblent, quant à eux, pas spécifiques d'un substrat et sont identifiés sur des produits en céramique, peinture, colle ou encore produits à base de bois.

Le Tableau 7 présente les résultats de quelques études référençant les espèces fongiques isolées selon le substrat colonisé.

Tableau 7 : Synthèse de quelques espèces fongiques isolées à partir de divers matériaux (**15**), (**16**), (**59**)

| Matériaux colonisés | | Espèces fongiques isolées |
|---|---|---|
| MURS ET REVETEMENTS MURAUX | Murs | *Cladosporium cladosporioides,*<br>*Aspergillus glaucus,*<br>*Paecilomyces variotii,*<br>*Penicillium glabrum* |
| | Peintures | *Aspergillus penicillioides,*<br>*Penicillium brevicompactum, P. chrysogenum, P. glabrum* |
| | Papiers peints | *Alternaria alternata,*<br>*Aspergillus penicillioides, A. versicolor*<br>*Cladosporium cladosporioides,*<br>*Paecilomyces variotii,*<br>*Penicillium brevicompactum, P. chrysogenum, P. glabrum*<br>*Trichoderma harzianum,*<br>*Chaetomium globosum* |
| | Bois | *Penicillium brevicompactum* |
| | Colle | *Aspergillus versicolor* |
| | Caoutchouc des cadres de fenêtre | *Cladosporium cladosporioides* |
| SYSTEMES DE TRAITEMENT D'AIR | Filtres et conduits | *Aspergillus fumigatus* |
| | Réservoirs d'eau, humidificateurs | *Exophiala jeanselmei* |
| PRODUITS DE DECORATION | Textiles | *Aspergillus niger, A. sydowii,*<br>*Cladosporium cladosporioides, Cladosporium sphaerospermum,*<br>*Aspergillus nidulans, Aspergillus glaucus*<br>*Penicillium brevicompactum, P. chrysogenum,*<br>*Trichoderma harzianum,*<br>*Wallemia sebi,* |
| | Tapis | *Aspergillus nidulans, A. glaucus*<br>*Paecilomyces variotii,*<br>*Penicillium chrysogenum* |
| | Cuir | *Aspergillus niger, A. penicillioides, A. sydowii,*<br>*Cladosporium sphaerospermum,*<br>*Paecilomyces variotii* |
| | Archives | *Aspergillus glaucus*<br>*Chaetomium globosum* |
| | Matériaux cellulosiques | *Aspergillus sydowii,*<br>*Stachybotrys chartarum* |
| | Caoutchouc vulcanisé | *Cladosporium sphaerospermum,*<br>*Penicillium brevicompactum* |
| | Produits céramiques | *Aspergillus versicolor* |
| | Papier | *Penicillium glabrum,*<br>*Wallemia sebi* |
| | Plastiques | *Penicillium glabrum* |
| | Polyuréthane, tapisserie renfermant de l'arsenic | *Aspergillus niger,*<br>*Cladosporium sphaerospermum* |

## 2. Mécanismes de biodégradation

La colonisation des matériaux par les moisissures induit généralement leur biodégradation et résulte de deux types de mécanismes :

- Action physique, liée au développement des hyphes dans le matériau, qui conduit à la rupture de la structure du support.

- Action chimique imputable à la production de divers métabolites qui agissent par assimilation ou déssimilation.

Lors des processus d'assimilation, les constituants du matériau sont utilisés comme nutriments après avoir été réduits par diverses enzymes extracellulaires qui facilitent la pénétration des hyphes dans le matériau.

Les processus de déssimilation sont liés à la production d'acides organiques et de pigments. Les acides organiques, tels que les acides gluconique, citrique, oxalique, malique, succinique, itaconique…, produits en quantités variables durant l'activité métabolique (**29**) sont capables de réagir avec le substrat par dissolution des cations ou par chélation des ions métalliques présents dans les peintures, par exemple. Cette dernière réaction peut conduire à la formation de sels. Ainsi, l'acide oxalique réagissant avec le calcium donne naissance à des oxalates de calcium.

Le dioxyde de carbone, produit par tous les organismes aérobies et notamment les moisissures lors de la respiration, joue également un rôle dans la dégradation des supports. En effet, à partir d'un certain taux d'humidité, ce gaz peut se transformer en acide carbonique, capable de dissoudre le calcium et le magnésium pour former des bicarbonates de calcium et de magnésium hydrosolubles.

Outre l'action directe de ces acides, leur production favorise la croissance d'espèces fongiques acidophiles qui pourront poursuivre la dégradation du support (**27**), (**58**), (**60**).

Les moisissures produisent également des pigments organiques, résultant de l'activité métabolique, à l'origine de l'apparition de tâches sur les matériaux colonisés tels que les papiers peints (**12**), (**28**), quasiment impossibles à éliminer sur des surfaces peintes, par exemple (**36**).

## 3. Matériaux : source de pollution d'origine biologique

La dégradation des substrats par ce type de microorganismes peut s'accompagner de l'émission de substances potentiellement irritantes voire toxiques pour les occupants des locaux contaminés (mycotoxines et composés organiques volatils) (**33**), (**38**), (**46**), (**47**), (**48**), (**50**), (**59**), (**61**), (**63**), (**64**), (**65**), ainsi que de particules biologiques.

Concernant le relargage des particules fongiques à partir d'un substrat colonisé, si le mécanisme principal d'émission des spores est le flux d'air (**32**), (**43**), d'autres facteurs entrent en jeu dans ce phénomène.
Ainsi, Becker a démontré, en 1994 (**13**), que l'activité hydrique, l'humidité et la température ambiantes, l'oxygène disponible, la présence de nutriments, les interactions ioniques et électrostatiques ainsi que la texture de la surface contaminée affectait la formation et l'émission des spores fongiques à partir de leurs sources.

Par ailleurs la vitesse d'émission des spores dépend de l'espèce, comme l'a démontré en 2003 Kildesø (**37**), dans des travaux menés sur neuf moisissures typiques des environnements intérieurs se développant sur des panneaux de plâtre recouverts de papier peint mouillé dans des conditions contrôlées.

Enfin, concernant la quantité de spores émise, des tests réalisés à partir de cultures fongiques sur milieux gélosés et matériau en fibre de verre ont montré que ce paramètre était proportionnel à la vitesse de l'air et inversement proportionnel à l'humidité de l'air, (**26**), (**53**), (**66**).

Duchaine et Meriaux (**24**) précisent que des spores sèches telles celles de *Penicillium sp., Cladosporium sp.* et *Aspergillus sp.*sont plus facilement aérosolisées que les spores humides telles celles de *Stachybotrys sp, Acremonium sp. et Trichoderma sp.* Néanmoins parmi les spores sèches, Gorny et coll (**30**), ont montré que la circulation d'air turbulente peut libérer des spores *d'Aspergillus* et de *Penicillium* plus facilement que celles de *Cladosporium* attribuant ce phénomène au fait que les spores les plus mûres des deux premiers genres fongiques sont naturellement situées au-dessus de la surface mycélienne, alors que pour *Cladosporium sp*. ces particules sont enfoncées dans la structure hyphale.

## 4. Aspect normatif et réglementaire

Depuis quelques années, les ouvrages et matériaux de construction sont soumis à une directive européenne (**21**) qui définit des exigences essentielles auxquels ces systèmes doivent répondre.

Ainsi, l'exigence essentielle n°3 intitulée "Hygiène, santé et environnement", qui concerne "l'élimination ou la maîtrise des polluants dans l'environnement intérieur" précise que les produits "doivent offrir un environnement intérieur sain aux occupants et aux utilisateurs, eu égard aux sources de pollutions" telles que les particules viables, y compris les microorganismes comme les moisissures.

Aussi, la vulnérabilité des produits vis-à-vis d'une contamination d'origine fongique apparaît comme un critère important à définir.

Dans ce contexte il existe plusieurs normes d'origines diverses dont l'objet est de déterminer le comportement des produits face à une contamination fongique (**2**), (**3**), (**6**), (**7**), (**8**), (**9**), (**10**), (**11**), (**17**).

Les procédures d'évaluation proposées comportent trois phases récurrentes, à savoir, la contamination des produits, l'incubation du matériau contaminé en conditions statiques, et l'évaluation du développement microbien.

Tableau 7~~7~~ :Inventaire et spécificités des normes relatives à la détermination de la résistance des produits vis-à-vis des moisissures

| Intitulé | | Mode de contamination | Conditions d'incubation | Techniques d'évaluation | Interprétation des résultats | Espèces |
|---|---|---|---|---|---|---|
| INTERNATIONALE | NF EN ISO 846 : Plastiques – Evaluation de l'action des micro-organismes (AFNOR, août 1997, indice de classement TSI-022). | Pulvérisation humide | Durée : 4 semaines minimum<br>Température : 24 ou 29 ± 1 °C<br>Humidité relative : > 95% | - Examen visuel.<br>- Variation de masse et d'autres propriétés physiques NP | Matériau vulnérable, inerte, ou fongistatique | *Aspergillus niger*<br>*Penicillium funiculosum*<br>*Paecilomyces variotii*<br>*Chaetomium globosum*<br>*Gliocladium virens*<br>+<br>*Scopulariopsis brevicaulis*<br>*Penicillium ochrochloron*<br>*Aspergillus terreus*<br>*Aureobasidium pullulans*<br>Pour produits utilisés dans la fabrication d'appareils et de composants électroniques |
| FRANCAISE | NF X 41-520 : Méthode d'essai de résistance des peintures aux microorganismes et de leur pouvoir de protection. (AFNOR, mars 1968) | Pulvérisation humide ou Dépôt de l'inoculum liquide | Durée : 14 jours à 1 mois<br>Température : 30 ± 1 °C et<br>Humidité relative : 95 ± 5% | Examen visuel. | Cotation de la résistance<br>Pouvoir global de protection | *Aspergillus flavus*<br>*Stachybotrys chartarum*<br>*Sterigmatocystis nigra (= A. niger)*<br>*Cladosporium herbarum*<br>*Penicillium funiculosum*<br>*Paecilomyces variotii*<br>*Alternaria tenuis (= A. alternata)*<br>*Pullularia pullulans*<br>*(= Aureobasidium pullulans)*<br>*Chaetomium globosum*<br>*Trichoderma viride* |
| BRITANIQUE | BS 1982-2:1990 : Fungal resistance of panel products made of or containing materials of organic origin - Part 2 : Method for determination of resistance to cellulose-decomposing microfungi. (British Standard, 1990a). | Enfouissement partiel | Durée : 16 semaines<br>Température : 28 ± 1°C<br>Humidité relative : NP mais telle que les échantillons contiennent environ 50% d'eau en masse | Variation de masse | Résistance ou non du produit aux microorganismes | Flore tellurique variable |
| | BS 1982-3:1990 : Fungal resistance of panel products made of or containing materials of organic origin - Part 3 : Method for determination of resistance to mould or mildew. (British Standard, 1990b). | Pulvérisation humide | Durée : 4 semaines<br>Température : 24 ± 1°C<br>Humidité relative : 70 ±5% | Examen visuel. | Cotation de la colonisation de surface | *Aspergillus versicolor*<br>*Chaetomium globosum*<br>*Stachybotrys chartarum*<br>*Paecilomyces variotii*<br>*Penicillium pinophilum*<br>*Cladosporium cladosporoides*<br>*Trichoderma viride* |

| Intitulé | | Mode de contamination | Conditions d'incubation | Techniques d'évaluation | Interprétation des résultats | Espèces |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AUTRICHE | B 6010 : Dämmstoffe für den Wärme- und/oder Schallschutz im Hochbau – Prüfmethoden (Österreichisches Normunginstitut, 1999) | N.P. | Durée : 4 semaines<br>Température : 23±2°C<br>Humidité relative élevée | Examen visuel | Matériau vulnérable, inerte, ou fongistatique (s'appuie sur la norme EN ISO 846) | N.P. |
| AMERICAINE (ASTM-International) | G 21-96: Standard practice for determining resistance of synthetic polymeric materials to fungi (1996). | Pulvérisation humide | Durée : 28 jours<br>Température : 28-30°C<br>Humidité relative>85% | Examen visuel. | Cotation de la colonisation de surface | *Chaetomium globosum*<br>*Aureobasidium pullulans*<br>*Gliocladium virens*<br>*Aspergillus niger*<br>*Penicillium pinophilum* |
| | D 6329-98: Standard guide for developing methodology for evaluating the ability of indoor materials to support microbial growth using static environmental chambers (1998). | Dépôt de l'inoculum liquide ou sec | Durée : NP<br>Température : NP<br>Humidité relative : NP | - Examen visuel.<br>- Dénombrement des UFC | - Cotation de la colonisation de surface<br>- Quantification de la biomasse | *Aspergillus versicolor*<br>*A. flavus, A. fumigatus*<br>*A. glaucus, A. niger*<br>*A. terreus*<br>*Stachybotrys chartarum*<br>*Fusarium moniliforme*<br>*Penicillium chrysogenum*<br>*P. commune, P. expansum*<br>*P. viridicatum*<br>*Cladosporium herbarum*<br>*C. cladosporoides*<br>*C. sphaerospermum* |
| | D 3273-00: Standard test method for resistance to growth of mold on the surface of interior coatings in an environmental chamber. (2000) | Dépôt de l'inoculum liquide | Durée : 4 semaines<br>Température : 32.5 ± 1°C<br>Humidité relative : 95-98 % | Examen visuel. | Cotation de la colonisation de surface | *Aureobasidium pullulans*<br>*Aspergillus niger*<br>*Penicillium sp.* |
| | D 4300-01: Standard test methods for ability of adhesive films to support or resist the growth of fungi (2001). | Pulvérisation humide ou Dépôt de l'inoculum liquide | Durée : Jusqu'à 21 jours<br>Température : 25 ±0.5°C<br>Humidité relative : NP | Examen visuel. | Cotation de la colonisation de surface | *Aspergillus. flavus, A.niger*<br>*Aureobasidium pullulans*<br>*Gliocladium virens ou roseum*<br>*Penicillium pinophilum*<br>*Phanerochaete chrysosporium*<br>*Trichoderma pseudokoningii*<br>En culture pure ou mélange |

Pour la plupart des normes, deux modes de contamination sont préconisés :

- pulvérisation d'une suspension liquide ;

- dépôt des microorganismes à partir d'un inoculum liquide ou plus rarement sec.

Les échantillons, selon les documents, sont incubés à des températures comprises entre 25 et 32,5±1 °C, à des humidités relatives proches de la saturation pendant des durées comprises entre 14 jours et 16 semaines, une période de 1 mois étant la plus généralement répandue.

La plupart des techniques d'évaluation consistent à déterminer, de manière quantitative, par la mesure de la biomasse fongique, ou semi-quantitative, le niveau de développement. Ces dernières peuvent prendre différentes formes telles que la détermination du taux de recouvrement superficiel du produit, qui présente selon les documents, une échelle de cotation comprenant 5 à 7 niveaux, la mesure du diamètre du développement microbien ou encore la comparaison de la croissance avec des photographies de référence.

D'autres techniques, moins répandues, s'appuient sur la variation de masse ou la modification de diverses propriétés physiques, non précisées dans les textes référencés.

Concernant les microorganismes d'essai, seul le document BS 1982-3 : 1990 (**18**) impose les espèces à utiliser. Ainsi, généralement, le choix des espèces fongiques reste à l'appréciation des laboratoires ou des "commanditaires" des essais. Dans ce cas, les souches utilisées seront référencées dans le procès-verbal.

Dans le cadre de l'exigence essentielle n°3 de la directive européenne, (**22**), le Centre Scientifique et Technique du Bâtiment a mis en place le Comité Environnement – Santé de l'Avis Technique (CESAT) qui évalue, dans le cadre de la procédure d'Avis Technique, et en complément de l'appréciation de l'aptitude à l'emploi, les caractéristiques environnementales et sanitaires des produits et systèmes innovants.
Dans ce contexte, un protocole d'essai, destiné à évaluer la résistance des produits de construction et de décoration face à une contamination d'origine fongique, a été mis au point et validé.

Une classification comportant trois catégories (fongistatique, inerte et vulnérable), conforme à la norme internationale NF EN ISO 846, est utilisée.

Ce protocole a d'ores et déjà été employé pour évaluer les performances de toute la gamme des produits d'isolation. Des différences importantes selon la nature du matériau ont ainsi été observées (Document CSTB à paraître).

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES


1. **Adan, O.C.G**., (1994) On the fungal defacement of interior finishes. Ph.D. Dissertation, Eindhoven University, The Netherlands.
2. **AFNOR NF X 41-520**, (1968). Méthode d'essai de résistance des peintures aux microorganismes et de leur pouvoir de protection
3. **AFNOR NF EN ISO 846**, (1997). Plastiques - Evaluation de l'action des micro-organismes

4. **Ahearn D.G , Simmons R.B., Switzer K.F., Ajello L. and Pierson D.L**., (1991). Colonization by *Cladosporium* spp. of painted metal surfaces associated with heating and air conditioning systems. *J. Ind. Microbiol.,* 8**,** pp.277-280.
5. **Andersson M.A., Nikulin M., Köljalg U., Andersson M.C., Rainey F., Reijula K.,Hintikka E.L. and Salkinoja-Salonen M.,** (1997). Bacteria, molds, and toxins in water-damaged building materials. *Appl. Environ. Microbiol.*, 63, N°2**,** pp.387-93.
6. **ASTM-International D 3274-95** (1995). Standard test method for evaluating degree of surface disfigurement of paint films by microbial (fungal or algal) growth or soil and dirt accumulation
7. **ASTM-International G 21-96** (1996). Standard practice for determining resistance of synthetic polymeric materials to fungi
8. **ASTM-International D4610-98** (1998). Standard guide for determning the presence of an removing microbial (fungal or algal) growth on paint and related coatings
9. **ASTM-International D 6329-98** (1998). Standard guide for developing methodology for evaluating the ability of indoor materials tosupport microbial growth using static environmental chambers
10. **ASTM-International D 3273-00** (2000). Standard test method for resistance to growth of mold on the surface of interior coatings in an environmental chamber
11. **ASTM-International D4300-01** (2001). Standard test methods for ability of adhesive films to support or resist the growth of fungi
12. **Bassi M. and Giacobini C.**, (1973). Scanning Electron Microscopy: A new technique in the study of the microbiology ofworks of art. *Int. Biodeter. Bull*., 9: pp.57-68.
13. **Becker R.** (1994). Fungal disfigurement of construction - Analysis of the effects of various factors. Health implications of fungi in indoor environnments. Elsevier. **2:** 361-380.
14. **Beguin H. and Nolard N**., (1994). Mould biodiversity in homes. I. Air and surface analysis of 130 dwellings. *Aerobiologia,* 10, pp.157-66.
15. **Beguin H.** (1995) Mould biodiversity in homes. II. Analysis of mattress dust *Aerobiologia,* **11,** pp.3-10
16. **Berner M., Wanner G. and Lubitz W**., (1997). A comparative study of the fungal flora present in medieval wall paintings in the chapel of the castle Herberstein and in the parish church of St Georgen in Styria, Austria. *Int. Biodeterior. Biodegrad*, 40, 1, pp.53-61. Botton, B.; Breton, A.; Feve, M.; Guy, P.; Larpent, J.P. and Veau, P. (1985). Moisissures nuisibles. *in* Moisissures utiles et nuisibles- Importance industrielle.
17. **British Standard BS** 1982-2:1990, (1990a). Fungal resistance of panel products made of or containing materials of organic origin - Part 2 : Method for determination of resistance to cellulose-decomposing microfungi
18. **British Standard BS 1982-3**:1990, (1990b). Fungal resistance of panel products made of or containing materials of organic origin - Part 3 : Method for determination of resistance to mould or mildew
19. **Brunekreef B., Dockery D.W., Speizer F.E., Ware J.H., Spengler J.D., Ferris B.G**., 1989. Home dampness and respiratory morbidity in children. *Am. Rev. Respir. Dis*., 140, pp.1363–1367.
20. **Chesnel H, INSE** La qualité des logements **-** L'humidité est le défaut le plus fréquent ; n° 971 ; jui 2004
21. **Commission des Communautés Européennes,** (1993). Document interprétatif concernant l'exigence essentielle n°3 : Hygiène, santé et environnement. pp.109-110.

22. **Conseil des Communautés Européennes**, (1989). Directive du conseil du 21 décembre 1988 relative au rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives des Etats membres concernant les produits de construction (89/106/CEE). *J.O. des communautés européennes du 11-2-1989,* n° L 40/12**.**
23. **Dales R.E., Zwanenburg H., Burnett R., Franklin C.A**., (1991). Respiratory health effects of home dampness and moulds among Canadian children. *Am. J. Epidemiol*., 134, pp.196–203

24. **Duchaine C, Meriaux A.(**2001) The importance of combining air sampling and surface analysis when studying problematic houses for mold biodiversity determination. *Aerobiol* ; 17, pp.121 –125.
25. **Flannigan B., Morey P., Broadbent C., Brown S.K., Follin T., Kelly K.M., Miller J.D., Nathanson T., Walkinshaw D.S., White W.C**., (1996). ISIAQ Guideline, Taskforce I: Control of moisture problems affecting biological indoor air quality. International Society of Indoor Air Quality and Climate, Espoo, Finland.
26. **Foarde KK, VanOsdel DW, Menetrez MY, Chang JCS** (1999). Investigating the influence of relative humidity, air velocity and amplification on the emission rates of fungal spores. *In*: Raw G, Aizlewood C, Warren P, editors.Proceedings of Indoor Air 99, London: CRC, 1:pp.507 –512.
27. **Garg K.L., Jain K.K., and Mishra A.K**., (1995). Role of fungi in the deterioration of wall paintings. *Science Total Environment,* 167**,** 1-3, pp.255-271.
28. **Gargani G**., (1968). Fungus contamination of Florence art master pieces before and after the 1966 disaster. In: A.H. Walters and J.J. Elphick (Eds.), Biodeterioration of Materials. Elsevier Applied Science, Barking, UK, pp. 252-257.
29. **Gómez-Alarcón G. and M.A. de la Torre**, (1994). The effect of filamentous fungi on stone monuments - the Spanish experience. In: J. Singh (Ed.), Building Mycology, E & FN Spon, London, pp. 295-309.
30. **Gorny RL, Reponen T, Grinshpun SA, Willeke K**. (2001) Source strength of fungal spore aerosolization from moldy building material. *Atmos Environ*, 35:pp. 4853 –4862.
31. **Gravesen S., Nielsen P.A., Iversen R., Nielsen K.F**., (1999) Microfungal contamination of damp buildings—examples of risk constructionsand risk materials. *Environ. Health Perspect*. 107 (sup.3), pp.505–508.
32. **Gregory P. H.** (1973). The microbiology of the Atmosphere. Plymouth, Leonard Hill Books.
33. **Gutiérrez A., Martínez M.J., Almendros G., González-Vila F.J. and Martínez A.T**., (1995). Hyphal-sheath polysaccharides in fungal deterioration. *Science Total Environment*, 167**,** 1-3, pp.315-328.
34. **Hyvärinen A., Meklin T., Vepsäläinen A. and Nevalainen A**., (2002). Fungi and actinobacteria in moisture-damaged building materials — concentrations and diversity. *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, 49**,** 1, pp.27-37.
35. **Hunter C. A., Grant C., Flannigan B. and Bravery A. F.** (1988). Mould in Buildings : the Air Spora of Domestic Dwellings. *Int. Biodeterior.,* 24: 81-101.
36 **Ionita I.,** (1973), Contribution to the study of the biodeterioration of works of art and historic monuments, IV. Fungi involved in the deterioration of mural paintings from the monasteries of Moldavia**.** Revue Roumaine Biologie, Série de Botanique, **18**: pp.179-189.
37 **Kildesø J, Wurtz H, Nielsen KF, Kruse P, Wilkins K, Tharne U, Gravesen S, Nielsen PA, Schneider T** (2003). Determination of fungal spore release from wet building materials. *Indoor Air*, 13, pp.148 –155.
38 **Korpi A., Pasanen A.-P. and Pasanen P**., (1998). Volatile compounds originating from mixed microbial cultures on building materials under various humidity conditions. *Appl. Environ. Microbiol*, 64, N°8**,** pp.2914-9.
39 **Koskinen O., Husman T., Meklin T., Nevalainen A.,** (1999). Adverse health effects in children associated with moisture and mold observations in houses. *Int. J. Environ. Health* R 9, pp. 143–156.
40 **Louvigné M.** (1986) Vaincre l'humidité dans la maison. Paris.
41 **Louvigné M. and Peccard J.-P.** (1988), Humidité dans les bâtiments - Prévention et traitement. Paris.
42 **Lugauskas A., Levinskait L. and Pečiulytė D**., (2003). Micromycetes as deterioration gents of polymeric materials. *Int. Biodeterior. Biodegrad,* 52, 4, pp.233-242.
43 **Madelin T. M**. (1994). Fungal aerosols : a review." J. Aerosol Sci. 25, N°8: 1405-12.
44 **Moriyama Y., Nawata N., Tsuda T. and Nitta M.,** (1992). Occurence of moulds in apanese bathrooms. *Int. Biodeterior. Biodegrad*, 30, pp.47-55.

45 **Nevalainen A., Partanen P., Jääskeläinen E., Hyvärinen A.,Koskinen O., Meklin T., Vahteristo M., Koivisto J., Husman T.,** (1998). Prevalence of moisture problems in Finnish houses. *Indoor Air* (Suppl. 4), pp.45–49.
46 **Nielsen K.F**. (2001). Mould growth on building materials - Secondary metabolites, mycotoxins and biomarkers. Thèse Université de Technical University of Denmark
47 **Nielsen K. F.** (2003) Mycotoxin production by indoor molds *Fungal Genetics and Biology,* 39**,** (2), pp.103-117
48 **Nielsen K. F., Hansen M. O., Larsen T. O. and Thrane U.** (1998a). Production of trichothecene mycotoxins on water damaged gypsum boards in Danish buildings. *Int. Biodeterior. Biodegrad*, 42**,** 1: 1-7.
49 **Nielsen K.F., Thrane U., Larsen T.O., Nielsen P.A. and Gravesen S**., (1998b). Production of mycotoxins on artificially inoculated building materials. *Int. Biodeterior. Biodegrad*, 42, 1, pp.9-16.
50 **Nieminen S.M., Kärki R., Auriola S., Toivola M., Laatsch H., Laatikainen R., Hyvärinen A. and Wright A.v.,** (2002). Isolation and identification of *Aspergillus fumigatus* mycotoxins on growth medium and some building materials. *Appl. Environ. Microbiol*, 68, n°10, pp.4871--4875.
51 **Pasanen A. L., Pasanen P., Jantunen M. J. and Kalliokoski P.** (1991). Significance of air humidity and air velocity for fungal spore release into the air. *Atmos. Environ*. 25A, N°2, pp. 459-62.
52 **Platt S. D., Martin C. J., Hunt S. M. and Lewis C. W.** (1989) Damp housing, mould growth, and symptomatic health state. *Brit. Med. J.,* 298: 1673-1678.
53 **Quenard D**. (2001a) Condensations. *in* CSTB magazine, pp. 16-18.
54 **Quenard D**. (2001b). L'humidité dans les matériaux. *in* CSTB magazine, pp. 12-15.
55 **Reiman M., Kujanpää L., Vilkki R., Sundholm P. and Kujanpää R.** (2000) Microbes in buildiing materials of different densities *Proceedings of healthy buildings,* 3, pp.313-316
56 **Reynolds S.J., Streifel,A.J. and McJilton C.E.,** (1990). Elevated airborne concentrations of fungi in residential and office environnments. *Am. Ind. Hyg. Assoc.*, 51, pp.601-4.
57 **Samson R. A. and Hoekstra E. S.** (1994). Common fungi occuring in indoor environments. Health implications of fungi in indoor environments. Amsterdam, Elsevier. 2: 541-6.
58 **Sand W.,** (1997). Microbial mechanisms of deterioration of inorganic substrates - a general mechanistic overview. *Int. Biodeterior. Biodegrad*, 40, 2-4, pp.183-190.
59 **Schleibinger H., Brattig C., Mangler M., Samwer H., Laußmann D., Eis D., Braun P., Marchl D., Nickelmann A. and Rüden H**., (2002). Microbial volatile organic compounds (MVOC) as indicators for fungal damage. *Proceedings Indoor air 2002*, pp.707-712.
60 **Singh J.** (1994). Building mycology - Management of decay and health in buildings. E & FN SPON, London.
61 **Sunesson A. L., Nilsson C.-A., Andersson B. and Blomquist G.** (1996) Volatile metabolites produced by two fungal species cultivated on building materials *The Annals of Occupational Hygiene,* 40, (4), pp.397-410
62 **Tuomi T., Reijula K., Johnsonn T., Hemminki K., Hintikka E.-L., Lindroos O., Kalso S., Koukila-Kahkölä P., Mussalo-Rauhamaa H. and Haahtela T.,** (2000). Mycotoxins in crude building materials from water-damaged buildings. *Appl. Environ. Microbiol*, 66, 5, pp.1899-1904.
63 **Wady L., Bunte A., Pehrson C. and Larsson L**., (2002). Use of gas chromatography-mass spectrometry/solid phase microextraction for the identification of MVOCs from moldy building materials. *J. Microbiol. Methods*, 1717, pp.1-8.
64 **Wilkins K. and Larsen K**., (1995). Variation of volatile organic compound patterns of mold species from damp buildings. *Chemosphere,* 31, 5, pp.3225-3236.
65 **Wilkins K.; Larsen K. and Smikus M.,** (2000). Volatile metabolites from mold growth on building materials and synthetic media. *Chemosphere,* 41, pp.437-446.
66 **Zoberi MH.** (1961) Take-off mold spores in relation to wind speed and humidity. *Ann Bot*, 25, pp.53 –64.

# CHAPITRE III. TECHNIQUES D'ECHANTILLONNAGE ET D'ANALYSE DES MOISISSURES DE L'HABITAT

## A. INTRODUCTION

La mesure des moisissures présentes dans les domiciles, sur les lieux de travail ou dans l'air extérieur est pratiquée depuis près de cinq décennies. Les méthodes d'échantillonnage notamment de l'aérobiocontamination ont évolué depuis les premiers biocollecteurs (**4**). Les techniques d'analyses ont bénéficié de l'essor général des techniques microbiologiques. Ainsi, les micro-organismes ne sont plus seulement dénombrés au microscope ou après culture, mais comptabilisés au moyen de techniques biochimiques, immunologiques et moléculaires. Ce foisonnement de nouvelles techniques n'a cependant pas permis d'éclaircir totalement le rapport entre la présence de moisissures dans l'environnement et leur implication sanitaire. Les différentes approches ont été autant d'approches partielles qui n'ont pu résoudre cette question. Une recherche de standardisation des moyens d'échantillonnage et d'analyse des prélèvements est devenue une condition primordiale pour pouvoir comparer des groupes de sujets soumis à la présence de moisissures.

Dans ce cadre, notre groupe de travail s'est proposé de faire le point sur la question pour proposer des recommandations sur les techniques d'échantillonnage et d'analyse des prélèvements afin d'harmoniser les moyens techniques et définir de nouvelles études jugées nécessaires à la compréhension du rôle des moisissures de l'habitat. Ces travaux à venir devront également permettre de déterminer dans les habitations des seuils acceptables ou inacceptables en concentration de moisissures et contribuer ainsi à la ré-évaluation des critères d'insalubrité des logements. Or, de tels seuils sont étroitement liés au moyen de mesure des moisissures dans l'environnement.

## B. GENERALITES SUR LES METHODES DE MESURE

**Mesure des aérosols fongiques :**

On définit par le terme d'aérosols des particules solides, liquides ou les deux, en suspension dans un milieu gazeux, dont la vitesse limite de chute est négligeable (≤ 25 cm/s). Leur taille est comprise entre $10^{-3}$ µm et 100 µm (**65**).
Un bioaérosol implique que l'aérosol ainsi désigné est de nature biologique et possède des propriétés spécifiques : viabilité, caractère infectieux, voire allergénique.

Les micro-organismes viables sont métaboliquement actifs et susceptibles de se multiplier, ils produiraient, selon certains auteurs, plus d'allergènes et de toxines, et induiraient des réactions sur la santé plus importantes que les non viables (**19**). Au sein du groupe des viables, on distingue deux sous-groupes : les cultivables ou revivifiables et les non cultivables.

Les « cultivables » peuvent se développer en conditions contrôlées en laboratoire, sur milieux de culture appropriés à température appropriée. Les résultats sont exprimés en nombre d'unités formant colonie (UFC) ou en CFU (colony-forming units).

Les « non cultivables » ne se développent pas en laboratoire, soit à cause de stress (température, dessiccation) (**81**), soit à cause des conditions de cultures non appropriées. Cependant ils peuvent être chimiquement et immunologiquement actifs (**8**), (**24**).

La proportion de micro-organismes viables non cultivables par rapport aux cultivables est difficile à évaluer et varie selon les espèces mais pourrait atteindre 90% (**3**). Néanmoins, les méthodes basées sur la culture sont à l'heure actuelle les seules à permettre une identification, elles restent donc incontournables. Enfin, les micro-organismes morts ou leurs fragments peuvent également être responsables d'effets sanitaires de type allergique, toxique ou inflammatoire provoqués par les allergènes, les toxines ou encore les fragments de paroi constitués de β-glucanes dans le cas des moisissures.

Le comportement des aérosols est plurifactoriel : taille, masse volumique, absorbance…. Par ailleurs, l'aérosolisation des spores fongiques à partir du support de croissance va être étroitement liée aux conditions environnementales (humidité, vitesse des flux aérauliques environnants,…) ainsi qu'à la nature de l'espèce considérée (**6**), (**58**). Certaines spores rugueuses et stables dans l'air comme celles d'*Aspergillus fumigatus* peuvent se maintenir plusieurs heures dans l'air alors qu'*Aspergillus niger* (spores lisses) retombent rapidement (**42**). Ces capacités aérologiques doivent être prises en compte pour obtenir un dénombrement optimal des spores présentes dans l'air (**51**). Il est donc recommandé d'effectuer à la fois des prélèvements d'air et des prélèvements de surface. L'étude des surfaces permet également d'évaluer l'étendue des zones contaminées et d'analyser le biofilm qui se développe en fonction du degré d'humidité, de la composition et de la température des supports. Dans certains cas il est même nécessaire d'évaluer la contamination sous-jacente des substances sources (tapisseries, tissus…) qui relarguent des métabolites au travers de structures poreuses.

Une autre difficulté dans la mesure de l'exposition aux moisissures est la durée très limitée des prélèvements d'air (quelques minutes), les rendant peu représentatifs des variations importantes de concentration dans le temps. De plus en plus de travaux proposent le recueil de poussières pour analyser les germes s'étant déposés sur les supports, considérant que la contamination à l'intérieur d'un local est essentiellement due à une remise en suspension des micro-organismes ayant sédimenté. Les prélèvements de poussière sont considérés fournir une meilleure indication de l'exposition cumulative aux populations microbiennes. Les prélèvements d'air restent cependant plus représentatifs de l'exposition respiratoire réelle.

La question de la nécessité d'effectuer une comparaison entre les concentrations fongiques intérieure et extérieure est controversée (**63**)**.** La flore intérieure ne serait pas dépendante des concentrations extérieures mais évoluerait pour son propre compte, en fonction des différentes sources internes de contamination (**43**), (**71**).

Certains espèces seraient caractéristiques de l'air intérieur *(Botrytis et Cladosporium cladosporioides* notamment) alors que d'autres seraient représentatives de la flore fongique extérieure (notamment *Cladosporium herbarum)* (**64**). D'autres genres fongiques seraient retrouvés aussi bien à l'intérieur qu'à l'extérieur (*Alternaria*) avec des fluctuations saisonnières marquées (**21**), (**28**), (**74**).

# C. METHODE D'ECHANTILLONNAGE

## 1. Dans l'air

Les techniques de recueil ont pour objet de séparer les particules du flux d'air pour les recueillir sur un ou plusieurs milieux sélectionnés (**2**). Les quatre méthodes utilisées sont la sédimentation, l'impaction sur support adhésif ou sur milieu de culture solide en boite de Pétri, l'impaction en milieu liquide et la filtration (**62**).

### *a) La sédimentation*

C'est une technique ancienne qui a été très répandue et a constitué une approche simple de l'aérocontamination. Cette technique consiste à exposer de façon passive un support nutritif ou non (boite de Pétri, plexiglas, gel) à la chute naturelle des spores sous l'effet de la gravitation. Outre les avantages liés à un coût faible, à l'absence d'appareillage, cette technique permet d'exposer les supports pendant des durées importantes dans la limite toutefois de la dessiccation des gels et des milieux. Cependant le volume d'air ainsi traité n'est pas mesurable et dépend largement des flux au sein de l'espace échantillonné. Les inconvénients principaux qui ont fait abandonner cette méthode sont liés à la remise en suspension des spores les plus petites favorisant la sélection des spores les plus volumineuses. La reproductibilité de ce type d'échantillonnage est faible. Son usage est aujourd'hui abandonné (**50**).

### *b) L'impaction*

Les propriétés d'inertie des particules sont souvent utilisées pour les extraire d'un écoulement transportant un aérosol. En effet dans le cas d'un écoulement curvilinéaire, l'inertie provoque la déviation des particules des lignes de courant du fluide. Ce mécanisme est mis en œuvre, notamment dans les impacteurs au sein desquels l'air est brusquement accéléré par passage au travers d'une section réduite et brutalement dévié par une surface de collection solide (gélose ou surface adhésive) ou liquide. Les particules selon leur inertie vont, soit suivre les lignes de courant, soit s'impacter sur la surface de collection pour celles possédant l'inertie la plus importante.

L'impaction dépend de plusieurs facteurs tels que la taille, la densité et la vélocité initiale des particules ainsi que des paramètres physiques du dispositif de collecte (dimension de la buse, débit du gaz porteur, distance entre la buse et la surface de collection) (**27**).

L'efficacité physique de ces biocollecteurs peut être figurée par le diamètre de coupure $d_{50}$ qui correspond au diamètre aérodynamique des particules à partir duquel toutes les particules de diamètre supérieur sont théoriquement collectées.

Le diamètre de coupure est défini par :

$$d_{50} = \sqrt{\frac{9\pi\mu D^3 Stk_{50}}{4\rho_p Q}}$$

où n est le nombre de trous

$\rho_p$ : masse volumique du fluide ($m^3/s$) $\mu$ : viscosité dynamique du fluide (kg/m.s)

En réalité, des particules de diamètre inférieur à $d_{50}$ sont également recueillies (voir Figure 4~~Figure 4~~).

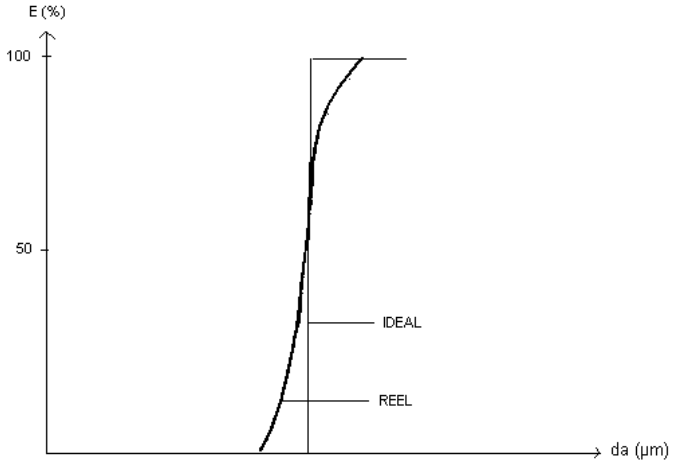



Figure 4: Courbes d'efficacité de collection

*L'impaction sur support adhésif*

Les impacteurs sur support adhésif (par exemple les capteurs de Hirst) permettent la capture des spores en continu sur plusieurs jours, voire une semaine. L'air est aspiré à un débit de 10 L/min à travers une fente (Ex Spore Traps). Les particules sont projetées sur une surface adhésive. La vitesse du tambour qui présente l'adhésif face à la fente conditionne la durée du prélèvement ainsi que le nombre de particules capturées. L'identification des champignons se fait au moyen d'une lecture microscopique directe des bandes adhésives. Elle se limite, même avec un personnel entraîné et formé, à quelques genres de champignons dont les spores sont morphologiquement reconnaissables (*Alternaria, Dreschlera, Cladosporium, Ustilago, Epicoccum*…). Les genres comme *Penicillium* et *Aspergillus*, aux spores de morphologies et de tailles similaires sont confondues. Ces appareils sont de surcroît volumineux et électriquement non autonomes.

*L'impaction sur milieux en boite de Pétri*

Un impacteur est constitué d'une plaque perforée d'orifices, à travers lesquels passe le flux d'air aspiré, et d'une surface de collecte (généralement un milieu de culture gélosé). Les impacteurs en cascade type appareil d'Andersen comportent plusieurs étages (2 à 6) dont les orifices ont des diamètres de plus en plus faibles pour recueillir des particules de plus en plus petites (> 9,2µm; 5,5 à 9,2µm; 3,3 à 5,5µm; 2 à 3,3µm; 1 à 2 µm; > 0,58µm). A chaque étage, un milieu de culture gélosé stérile en boîte de Pétri est inséré. Ce système permet d'utiliser plusieurs sortes de milieux de culture, plus ou moins sélectifs et d'obtenir une séparation granulométrique des particules contaminées (N.B. On peut aussi utiliser des filtres qui seront ensuite traités comme ceux des systèmes de recueil par filtration).

Les colonies sont dénombrées et identifiées. Pour les impacteurs comportant plusieurs cribles, il existe un facteur de correction (table de correction), basé sur le fait que plusieurs particules peuvent passer par le même orifice, s'impacter au même endroit mais ne donner naissance qu'à une seule colonie visible (**4**).

Parmi les impacteurs en milieu solide, il existe différents systèmes conçus pour accélérer le flux d'air et permettre l'impaction des particules à la surface du milieu de culture solide :

- impacteurs à cribles (cf Andersen décrit plus haut) ;
- impacteurs à fentes dans lesquels l'air est accéléré par passage au travers d'une ou plusieurs fentes positionnées au dessus du milieu de culture ;
- impacteurs centifuges où les particules sont projetées par la force centrifuge d'une hélice sur le milieu nutritif.

Le débit d'aspiration varie selon les appareils (28,3 à 700 l/min). Le débit entre en jeu dans le calcul des concentrations par unité de volume et détermine la vitesse d'impaction, dont dépend l'efficacité de collecte de l'impacteur. Il doit donc être vérifié, soit en continu, soit régulièrement.

Les appareils disponibles sont d'un usage plus ou moins aisé. Les plus pratiques possèdent une autonomie électrique, une pompe intégrée dont le flux est régulé, un retardateur et la tête d'échantillonnage doit pouvoir être stérilisée ou désinfectée.

Des durées de prélèvement brèves (< 10 min). (**31**), (**49**), (**66**), (**76**), sont conseillées pour éviter la dessiccation du milieu de culture. Elles doivent être adaptées au niveau présumé de contamination d'une ambiance afin d'éviter une saturation des boîtes, le chiffre de 300 colonies étant considéré comme la limite supérieure de lecture (**10**).

La plupart des appareils récents ont été conçus pour fonctionner à des débits de l'ordre de 100 L/min. Ils sont donc adaptés à l'échantillonnage des habitats, mais nécessitent soit une pré-étude, soit de réaliser plusieurs échantillons de volumes différents dans des environnements très contaminés comme ceux de certains milieux professionnels.

En cas de prélèvements dans un flux d'air avec une vitesse d'air supérieure à 7 km/h (gaine de climatisation, locaux ouverts…) le prélèvement doit être réalisé dans des conditions d'isocinétisme (la vitesse d'air entrant dans le dispositif de prélèvement doit être égale à la vitesse d'air autour de l'appareil) (**60**). Si l'isocinétisme n'est pas respecté, l'efficacité de collecte peut être perturbée, notamment pour les particules de taille supérieure à 5-10 µm (**19**). Pour respecter l'isocinétisme, des buses de différents diamètres doivent pouvoir être adaptées sur l'impacteur (exemple appareil Air Stratégie).

Choix du biocollecteur :

Une revue générale cite 94 articles concernant l'évaluation d'un total de 101 biocollecteurs différents. Globalement, ces études comme d'autres plus récentes (**5**), (**42**), tendent à montrer que l'impacteur Andersen est l'appareil le plus performant (ses différentes versions avec 1, 2 et 6 étages), tant sur le plan de l'efficacité de collecte que sur celui de la reproductibilité. C'est cet appareil qui est recommandé et utilisé dans les études à large échelle aux Etats-Unis (**86**). Toutefois, les inconvénients de ce type de dispositif restent nombreux avec notamment un débit considéré par de nombreux utilisateurs comme insuffisant (28,3 L/min), une absence d'autonomie électrique, une ergonomie déficiente qui ont conduit à la production de nouveaux appareils corrigeant ces défauts tout en maintenant les principes de base (Air-Test Oméga (LCB), MAS 100 (Merck), M Air T (Millipore), Bio-impactor (Iroise) avec débits de l'ordre de 100 L/min, maniable, autonome pompant jusqu'à 1000L, avec départ différé, mais sans sélection granulométrique). Pour l'instant aucune étude sur l'efficacité et la validité de ces appareils n'est publiée.

Les autres impacteurs classiquement cités dans la littérature sont les suivants :

- L'impacteur rotatif RCS Biotest, intéressant pour sa maniabilité (format torche, silencieux, dispositif d'aspiration incorporé, léger, tête autoclavable), (**9**), (**14**), mais peu efficace pour les particules de diamètre inférieur à 3,8 µm.
- Le RCS Plus, version révisée du RCS, avec séparation des flux d'air entrant et sortant est lui aussi moins performant que l'Andersen (**48**).
- Le SAS (Surface Air System) : impacteur à orifices (2 versions existent : 220 et 260 orifices). Débit : 90-180 L/ min. Une étude a montré une faible efficacité de collecte (entre 1 et 50% selon les particules testées) (**39**).
- L'impacteur Casella à fente(s) opère à un débit de 30 à 700 L/ min. Il comporte une à quatre fentes rectangulaires (débit de 700 L/min) ; un plateau horizontal supportant la boîte de recueil tourne à vitesse constante sous la (les) fente(s), pour répartir les colonies sur la boîte.

Finalement, tous les impacteurs autonomes avec un débit de 100L/min, utilisant des boites de Pétri standard ont des performances similaires et peuvent être retenus dans les campagnes d'échantillonnage des habitats. Leur maniement peut être acquis rapidement par des personnels ayant bénéficié d'une qualification spécifique.

### *c) Les impacteurs en milieu liquide ou impingers*

Les impingers sont des impacteurs utilisant un liquide comme milieu de recueil. L'air passe à travers le liquide par un tube capillaire. Les particules sont capturées dans le liquide qui peut être une simple solution saline tamponnée, ou contenir des additifs tels que protéines, agents anti-mousse ou anti-gel pour limiter l'altération des cellules, notamment par choc osmotique.
Après collecte, le liquide peut être filtré et le filtre ensemencé sur milieu gélosé, ou dilué.

Deux impingers sont classiquement cités dans la littérature : l'AGI 30 et le Greenberg-Smith (**44**). Leurs débits respectifs sont de 12,5 et 28,3 L/min. Un nouveau système combinant impaction et centrifugation (Biosampler) a été conçu pour minimiser les pertes et le ré-entrainement des particules (**84**). Ses performances physiques et microbiologiques seraient meilleures que celles de l'AGI 30 (**65**).

Cette méthode en milieu liquide permet des prélèvements de longue durée grâce à la possibilité de dilution des échantillons (pas de problème de saturation comme pour l'utilisation d'impacteur en milieu solide), mais n'est pas adapté aux spores fongiques, souvent hydrophobes, qui flotteront à la surface et seront ré-entrainées dans le flux d'air sortant (**19**). Certains agrégats sont dissociés. Enfin lorsque le milieu choisi est un milieu nutritif, les micro-organismes piégés commencent leur multiplication pendant la phase de transport de l'échantillon sauf à utiliser un dispositif réfrigérant. D'un point de vue pratique, les impingers sont des appareils en verre donc fragiles.

### *d) Filtration*

Le principe de recueil des particules est l'interception à la surface du filtre, ce qui permet de collecter efficacement des particules de diamètre inférieur à la taille des pores du filtre (diamètre des pores variables de 0,01 à 10 µm). Par exemple un filtre de porosité 5 µm collecte les particules de 0,3 µm avec une efficacité supérieure à 95% (**19**).

Le filtre peut être fibreux (fibres de verre) ou membraneux (ester de cellulose, chlorure de polyvinyle, polycarbonate, téflon). Ils peuvent être enduit d'une substance collante (PVC + vaseline-toluène) pour piéger les spores. Les filtres sont placés dans des cassettes porte filtres. Le prélèvement peut se faire « cassette totalement ouverte » (ensemble des particules) ou «cassette partiellement ouverte» (ouverture de 4 mm avec débit de 1 à 2 L/min, pour ne collecter que la fraction inhalable des particules, de diamètre centré autour de 20 µm, inférieur à 100 µm). Les cassettes filtrantes sont reliées à des pompes aspirantes de faible débit (classiquement 1-5 L/min) de type Gilian air.

Des filtres en gélatine existent également. Ils sont généralement disposés dans des porte-filtres prêts à l'emploi. Ils ont une texture fibreuse.

Après recueil, les filtres peuvent être :

- soit examinés directement au microscope ;
- soit disposés sur un milieu de culture gélosé directement (les colonies se développent sur le filtre) (**25**) ;
- soit rincés dans un liquide stérile, lequel est ensuite dilué en série et chaque dilution ensemencée sur milieu de culture (0,1 - 0,2 ml par boîte). Après incubation, les colonies sont dénombrées et identifiées. Les concentrations par mètre cube sont calculées à partir du facteur de dilution et du volume d'air prélevé.

Les filtres en gélatine peuvent être placés directement sur un milieu de culture solide ou être dissous dans une solution qui subira ensuite des dilutions en série pour une numération avant ensemencement.

Contrairement aux impacteurs, ces systèmes permettent des prélèvements pour une numération de longue durée (8h). L'utilisation des dilutions en série permet de s'affranchir du problème de "saturation" (étable, fromagerie…) inhérent à l'impaction, mais favorisent les populations microbiologiques prédominantes aux dépens de celles faiblement représentées.

Sur le plan de l'efficacité, l'utilisation de dilutions conduit à des dénombrements supérieurs par rapport à une impaction ; ceci est dû à la dispersion par la mise en suspension et l'agitation d'agrégats contenant plusieurs micro-organismes, qui n'auraient donné qu'une seule colonie par impaction. Le liquide peut être utilisé pour des analyses de type biochimique.

### *e) Précipitateur électrostatique*

En 2002, Willeke et coll. (**85**) développent un précipitateur électrostatique adapté à la collecte des microorganismes aéroportés. La collecte des particules repose alors sur leurs charges électriques, qu'elles soient produites naturellement ou artificiellement. Dans un précipitateur électrostatique conventionnel, l'aérosol, une fois chargé grâce à un ioniseur d'air, est soumis à un champ électrostatique. Les particules, par passage au travers d'un champ électrostatique, vont, selon leur charge, suivre ou quitter le flux d'air porteur et venir s'impacter sur une surface de collection.

## 2. Prélèvements de surfaces

L'aérosolisation des spores de moisissures dépend de plusieurs facteurs tels que la « viscosité » de leur paroi. Ainsi des spores de *Stachybotrys* ou de *Fusarium* dites visqueuses auront davantage de difficultés à être décrochées de leur support que des spores de *Penicillium* ou d'*Aspergillus* dites sèches. Aussi des prélèvements de surfaces apparaissent-ils indispensables pour compléter les prélèvements d'air afin de quantifier, identifier les micro-organismes présents dans un local (**36**) et ainsi mieux appréhender l'exposition réelle des individus. A l'inverse, toutes les espèces présentes sur les surfaces ne sont pas forcément présentes en forte concentration dans l'air (adhésion au support, biofilm) (**79**).

La réalisation de ces prélèvements de surface est généralement influencée par l'aspect visuel des moisissures présentes. Les espèces de couleur sombre (dématiées) donneront un aspect vert à noir aux surfaces alors que les espèces claires (moniliacées) ne donneront pas cet aspect moisi caractéristique. Les prélèvements de surface sont donc *a priori* orientés vers certaines familles de champignons. La multiplication de ces échantillons, y compris dans les zones d'apparence normale, est nécessaire. Pour certains auteurs, ces prélèvements doivent impérativement être associés aux prélèvements d'air pour refléter l'exposition réelle des individus (**45**). D'autant que dans certains cas, des prélèvements d'air dans des locaux visiblement contaminés (moisissures apparentes abondantes) ne montrent pas d'aérocontamination particulière (**36**), (**74**), et ne traduiraient donc pas l'exposition réelle.

### *a) Adhésif*

Sur les surfaces planes et non humides un support adhésif est appliqué. Les spores adhérent à la surface et peuvent être soit transférées sur un milieu de culture, soit être dénombrées et identifiées directement au microscope. Dans le cas d'une lecture directe au microscope, les spores de morphologie caractéristique peuvent être identifiées sans équivoque (*Alternaria*, *Cladosporium, Stachybotrys*…), alors que les spores de faibles diamètres et présentant des ornementations sommaires ne peuvent être différenciées (*Penicillium, Aspergillus, Trichoderma*).

### *b) Boites et lames « contact »*

Le milieu nutritif est contenu dans une boite de Pétri particulière (boite « contact ») qui permet de couler le milieu sous forme d'une surface en léger ménisque, afin que celle-ci puisse être en contact avec la surface à prélever. Après l'échantillonnage, la surface de gélose est protégée par un couvercle qui ne vient pas en contact avec la gélose. Le prélèvement est standardisable en durée et en terme de pression appliquée. Les valeurs communément utilisées sont une pression de 25g par $cm^2$ pendant 10 secondes. Les surfaces verticales peuvent être également prélevées, mais avec une moins grande standardisation. Des « Petri-films » gélosés, sous emballage, peuvent également être utilisées. Ces petites plaques de papier sont recouvertes d'un milieu nutritif déshydraté que l'on applique sur les surfaces et qui sont humidifiées au moment où on les place dans l'incubateur.

### *c) Ecouvillonnage*

L'écouvillonnage, avec un écouvillon stérile humidifié ou non, d'une surface de 25 $cm^2$ est considéré comme équivalent au prélèvement par boite contact à condition de décharger l'écouvillon en étoile sur une boite de Pétri de diamètre 9 cm. La standardisation est cependant difficile à obtenir et dépend

du manipulateur. Ce système peu coûteux permet de réaliser des échantillonnages dans toutes les circonstances et aboutit après culture, au minimum, à un résultat semi-quantitatif.

## 3. Les substrats

Les substrats peuvent être source de contamination et refléter une pollution ambiante. L'effet d'une dépressurisation sur l'augmentation des concentrations fongiques dans l'air a été démontré, correspondant à une augmentation du relargage par les sources contaminées (**38**).Une étude expérimentale en circuit d'essais (**28**) a montré que la quantité de spores émises à partir d'une surface contaminée était d'autant plus importante que l'humidité relative était faible, que le débit d'air et la surface contaminée était importants. Des espèces sensibles à la dessiccation peuvent être abondamment retrouvées dans une eau d'humidification mais pas dans l'air (**12**). Des analyses de l'eau ou d'autres matériaux humides à l'intérieur des systèmes de traitement d'air sont donc nécessaires pour évaluer le risque réel. Des prélèvements étagés en différents points des systèmes de traitement d'air permettent de diagnostiquer une source de biocontamination et d'y remédier (**30**), (**55**). Cependant, les interventions sur les systèmes de climatisation doivent tenir compte d'une possible remise en suspension des micro-organismes et être entreprises avec la plus grande prudence.

Des analyses de substrats ont montré la présence de *Stachybotrys chartarum*, alors que cette espèce n'était pas ou peu retrouvée dans l'air.

### *a) Les poussières domestiques*

Les particules sont généralement collectées à l'aide d'un aspirateur puissant équipé d'un filtre absolu (protection des personnes), soit dans un sac neuf, soit dans un cornet en textile nylon d'un tissage très dense placé dans le manche de l'aspirateur. Ce prélèvement est standardisé : l'aspiration des surfaces est réalisée à raison de 2 minutes par $m^2$. Après détermination de la masse de poussières, l'échantillon est dilué en série et ensemencé.

### *b) Les revêtements*

Les échantillons (tapisserie, jutes, plâtre, moquette…) sont prélevés stérilement, pesés et lavés avec une solution d'eau physiologique additionnée d'un agent mouillant (0,1 % de Tween 80). Les dilutions sont ensemencées sur les milieux appropriés.

Il est donc recommandé, pour détecter certaines espèces, d'associer aux analyses d'air, des analyses de matières solides ou liquides ou des poussières.

# D. TECHNIQUES ANALYTIQUES

## 1. Les cultures

Les mesures de micro-organismes viables sont pratiquées depuis plusieurs décennies, les consensus sont récents en Europe (**10**) comme aux Etats-Unis (**37**) et des travaux se poursuivent pour optimiser la reproductibilité et la représentativité des résultats. Ces méthodes restent indispensables malgré leur lourdeur et leurs insuffisances, car elles sont pour l'instant les seules qui permettent une identification des micro-organismes.
Cependant, il est clairement établi que la fraction cultivable des micro-organismes de l'air ne représente qu'une partie de leur pathogénicité et une faible partie de leur nombre (0,1 à 10% selon les auteurs) (**18**), (**71**).

Il existe plusieurs milieux de culture pour une même famille de champignons. Certains genres ont des besoins nutritifs spécifiques (cellulotiques, osmophiles) ou des conditions d'incubations spécifiques (thermophiles, psychrophiles).

Les milieux les plus utilisés sont :

- Milieu à l'extrait de malt (Malt Extract Agar ou MEA), considéré comme le plus adapté aux moisissures de l'environnement, (**10**), (**37**), (**77**), (**87**). Il a pour inconvénient de faciliter l'envahissement par des souches à croissance rapide (*Rhizopus, Mucor*), risquant de masquer les autres colonies et de sous-évaluer le nombre de colonies réel (**11**).
- Milieu Rose Bengale : ce milieu inhibe la croissance de ces espèces à croissance rapide et les colonies restent plus petites donc plus facilement dénombrables. Cependant il se décompose à la lumière et peut devenir toxique pour certaines espèces fongiques. De plus, la pigmentation des colonies peut compliquer l'identification.
- Milieu DG18 (dichloran glycerol 18) : ce milieu est adapté aux champignons xérophiles, est de plus en plus utilisé et donnerait des résultats comparables ou supérieurs au MEA (inhibition partielle des espèces à croissance rapide et dénombrement et identification plus faciles) (**72**), (**87**).
- Milieu Sabouraud : classiquement utilisé pour la recherche de champignons en clinique, ce milieu reste parfois utilisé dans certaines études environnementales, mais n'est pas satisfaisant. La croissance exubérante de certaines espèces rend les dénombrements difficiles.

Des antibiotiques (chloramphénicol et / ou gentamycine) destinés à inhiber la croissance bactérienne sont ajoutés à tous ces milieux.

Les températures d'incubation très variables selon les équipes par le passé, sont maintenant plus homogènes, entre 25 et 30°C pour les flores fongiques globales, 35-42°C pour les espèces thermotolérantes d'*Aspergillus* (**10**), (**37**).

La durée d'incubation est comprise entre 7 et 14 jours avec une lecture à 3 jours puis une surveillance régulière de la croissance pour éviter l'envahissement des boîtes par certaines espèces.

Le dénombrement et l'identification des champignons repose sur un examen macroscopique et microscopique des colonies par des mycologues entraînés. L'examen macroscopique des colonies et l'observation microscopique de la morphologie des spores et du mycélium permettent d'identifier les moisissures collectées. Si l'identification du genre ne pose en général pas de problème à un

mycologue, l'identification de l'espèce est plus délicate. Ainsi, certaines espèces aussi communes que les *Penicillium* restent d'identification difficile et nécessitent une batterie de milieux et une grande expertise. Le recours au séquençage de l'ADN, lorsque la séquence a déjà été décrite, peut s'avérer une aide précieuse.

## 2. Comptage microscopique

### *a) Microscopie photonique*

Des filtres ou lames peuvent être observés au microscope photonique. Cette méthode couplée éventuellement à un système d'analyse d'images permet, en principe, de dénombrer les spores totales (viables et non viables). Toutefois, une mauvaise répartition des spores sur le filtre peut induire des erreurs de comptage et nécessite l'observation de nombreux champs. Le pouvoir de différenciation de cette technique est faible, les spores d'*Aspergillus* et de *Penicillium* ne peuvent, par exemple, pas être distinguées.

### *b) Microscopie à épifluorescence*

Le principe de ce dispositif repose sur l'excitation par une source de rayons ultraviolets d'un composé (diacétate de fluorescéine ou acridine orange, DAPI) fixé aux microorganismes qui dans ces conditions deviennent fluorescents et donc observables. En pratique, les particules collectées sur des filtres sont mises en suspension, colorées puis re-filtrées. Les filtres ainsi obtenus sont observés au microscope à fluorescence qui permet de distinguer, grâce à leur fluorescence artificielle, les micro-organismes des autres particules, et ainsi de dénombrer les micro-organismes totaux (viables et non viables).
Cette méthode présente l'avantage d'un dénombrement rapide (pas de délai d'incubation nécessaire). En revanche, elle ne permet pas l'identification des espèces recueillies (**34**), (**54**). Par ailleurs, certaines spores fongiques résistent au marquage (**19**). Des erreurs de comptage dues à des amas importants de micro-organismes ont également été décrites.

### *c) La microscopie électronique à balayage (Scanning Electron Microscopy ou SEM)*

La microscopie électronique à balayage utilise un faisceau d'électrons et permet un grossissement allant de 50 à 300 000, ce qui permet de distinguer des structures inférieures à 0,2 µm. Les images apparaissent en trois dimensions et permettent de visualiser les micro-organismes et leur structure. Cette méthode est utilisée pour l'étude des spores fongiques et d'actinomycètes (**17**), (**19**) prélevés par filtration.

L'identification de certaines espèces est possible par la visualisation de détails morphologiques, mais des spores d'espèces différentes peuvent avoir le même aspect (**19**). Une identification de toutes les espèces présentes nécessite donc l'association d'une méthode par culture.

Pour l'instant cette technique reste peu utilisée car malgré sa fiabilité, elle nécessite un équipement coûteux et un personnel très spécialisé pour interpréter les images (**72**).

## 3. Mesure des composants provenant des champignons

La plus grande stabilité dans le temps des composants provenant des cellules fongiques et leur indépendance vis-à-vis de la viabilité des moisissures sont les principaux avantages de ces méthodes.

### *a) Glucanes*

Constituants des spores fongiques, présents dans la plupart des espèces, les (1 - 3)-β-D-glucanes sont dosés par la méthode Limulus Amoebocyte Lysate modifié ou LAL (également utilisé pour les dosages d'endotoxines bactériennes) (**52**) ou par un test immunochimique (Enzyme immuno-assay: EIA) qui n'est pas commercialisé (**60**).

La méthode par LAL est assez simple (disponible sur le marché) et sensible, mais peu spécifique, les glucans étant également présents dans les végétaux. La méthode par EIA est plus reproductible et plus spécifique mais n'est pas assez sensible pour les recherches dans l'air (**16**).

Les dosages ne donnent pas d'information sur les espèces et il n'y a pas de données de référence pour l'interprétation des résultats ainsi obtenus. Dans leur étude, Chew et coll (**13**) ont montré une association entre la quantité de glucans spécifiques de *Penicillium* et d'*Aspergillus* et les concentrations de spores fongiques dans des poussières de maisons.

### *b) Dosage de la chitine*

Poly-β-1,4-N-acétyl glucosamine, la chitine est présente dans la paroi des micromycètes et est absente du matériel végétal. Le principe du dosage de cette molécule, mis au point par Donald et Mirocha, en 1977 pour évaluer l'importance de la contamination fongique des grains, repose sur l'hydrolyse de la chitine en glucosamine, dosée par colorimétrie ou chromatographie. Les résultats obtenus en 5-6 heures rendent compte de la chitine du mycélium vivant et mort, mais peuvent être biaisés dans la mesure où les moisissures ont des teneurs en chitine variables (de 1 à 25% du poids sec du mycélium) selon les espèces, l'âge du mycélium et la nature du substrat. La présence de certaines substances du substrat, telles que des hexosamines, peuvent également fausser le résultat (**47**).

### *c) Antigènes - Allergènes*

Les antigènes sont des molécules qui peuvent induire une réponse immunologique (production d'immunoglobulines sériques) chez les mammifères. Les allergènes sont des antigènes qui peuvent causer une réaction allergique, en se liant à un anticorps spécifique. Les méthodes immuno-chimiques permettent de détecter des antigènes au moyen d'anticorps spécifiques de ces antigènes. Un marquage préalable des anticorps d'origine animale ou humaine (isotopique, enzymatique, fluorescent ou luminescent) permet de détecter et de quantifier la présence de complexes antigène - anticorps. La technique ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) combine un marquage enzymatique et l'utilisation de substrats chromogéniques.

Pour l'instant peu d'études ont retrouvé des antigènes d'origine fongique dans l'air (**19**), pour les raisons suivantes : peu d'antigènes fongiques ont pour l'instant été identifiés, certains antigènes fongiques ne sont pas présents sur les spores mais apparaissent seulement après germination, enfin

l'expression des antigènes peut varier, en fonction des conditions de croissance. Une avancée importante concerne le genre *Alternaria* : grâce à la production d'un antigène recombinant *d'Alternaria alternata*, des extraits antigéniques standardisés pourront être utilisés comme réactifs de diagnostic (**1**). Le même développement est en cours pour *Aspergillus fumigatus* (**60**) ainsi que pour *Cladosporium, Alternaria* (**26**) ou *Stachybotrys chartarum* (**60**). Des tests concernant la détection d'*Aspergillus niger* et *Stachybotrys chartarum* (**60**) sont en cours de commercialisation.

En revanche ce type d'analyse ne permet de rechercher qu'une seule espèce à la fois alors que la liste des agents susceptibles d'avoir des effets sur la santé est longue. De plus il existe des réactions croisées entre espèces. Enfin, la sensibilité de cette technique est faible (**60**).

### *d) Polysaccharides extracellulaires (EPS)*

Polymères hydrocarbonés excrétés par la plupart des moisissures, immunogènes chez l'homme et l'animal, les EPS peuvent être détectées par méthodes immunochimiques (ELISA). Les anticorps produits (IgG) reconnaissent des structures spécifiques du genre mais pas des espèces (Ex : *Cladosporium, Alternaria, Aspergillus, Penicillium, Mucor*…).

Cette méthode est rapide, simple, spécifique de larges groupes de micro-organismes (**13**), (**19**). En revanche il n'existe pas, à ce jour, de valeurs de référence pour l'interprétation des résultats. Par ailleurs des réactions croisées existent entre les genres *Aspergillus* et *Penicillium* (**19**). Enfin ce test n'est pas encore disponible sur le marché et n'a pas été évalué.

### *e) Composés organiques volatils d'origine microbiologique (COVm)*

Les COVm sont utilisés pour détecter des problèmes d'humidité et de biocontamination non apparents dans des immeubles où des plaintes concernant les odeurs ont été formulées (**81**). Ces composés sont prélevés sur des tubes adsorbants (de type Tenax ou charbon activé) par des techniques de prélèvement actif ou passif. Après extraction par solvant ou désorption thermique, les COVm sont classiquement déterminés par chromatographie gazeuse avec détection par spectrométrie de masse ou ionisation de flamme (**20**), (**60**), (**62**).

Cette méthode détecte une contamination fongique même en l'absence de moisissure apparente, les COVm pouvant diffuser à travers les matériaux (revêtements muraux, planchers…). En revanche, elle manque de spécificité : non seulement elle ne permet pas d'identification d'espèce, mais les COVm produits dépendent aussi du substrat (matériaux de construction, peintures, adhésifs, gaz d'échappement…), de la souche et de l'age de la culture (**33**), (**60**), (**69**), (**81**).

### *f) Ergostérol*

Le dosage de l'ergostérol (stérol principal constitutif des champignons) peut représenter une évaluation de la charge fongique totale (**15**), (**82**). Après recueil sur filtre ou grâce à un appareil de collecte à coupelle rotative, l'ergostérol est dosé par chromatographie en phase liquide (HPLC) ou chromatographie gazeuse et spectrométrie de masse. La concentration d'ergostérol dans l'air peut être mesurée sur plusieurs jours. Elle représenterait une bonne évaluation de la biomasse fongique (**60**). En utilisant conjointement le dosage en HPLC et un appareil de collecte à coupelle rotative, la

mesure de cette biomasse fongique globale est rendue possible avec une limite de quantification de 0,4 ng/$m^3$ soit une valeur théorique de 150 spores par $m^3$ (**69**).
La méthode est spécifique, rapide et permet l'analyse de plusieurs échantillons à la fois. La méthode ne permet pas d'identification, et peut sous-évaluer les levures. Les travaux de Douwes (**16**) ont montré une association entre les niveaux d'ergostérol et d'autres constituants (glucans, EPS) et les champignons viables dans les poussières.

### *g) Mycotoxines*

Les mycotoxines sont des toxines capables de diffuser en dehors du champignon. On peut les retrouver dans les spores, le mycélium et le support de croissance des champignons ou adsorbées sur les poussières (**78**). On en dénombre plus de 300 (**53**), émises par de nombreuses espèces fongiques. La biosynthèse de ces molécules dépend de plusieurs facteurs dont la souche productrice, les éléments nutritifs disponibles (composition du substrat) et certains facteurs externes comme l'activité de l'eau ($a_w$), la valeur du pH, la température, la quantité d'oxygène et de dioxyde de carbone contenu dans l'air, l'intensité lumineuse et la présence d'autres microorganismes en compétition. Toutes les souches d'une même espèce ne sont pas systématiquement productrices de mycotoxines, comme l'ont constaté Tuomi et coll (**78**) lors d'une étude réalisée dans 79 habitations contaminées par des moisissures.
Les mycotoxines étant non volatiles, l'exposition par inhalation est essentiellement liée à l'inhalation des spores ou des poussières sur lesquelles elles se sont adsorbées (**53**), (**75**).

Les principales mycotoxines connues sont :
- les aflatoxines produites principalement par *Aspergillus flavus*.
- les tricothécènes (**83**) qui regroupent plusieurs dizaines de mycotoxines différentes produites par de nombreuses espèces dont *Fusarium sp*. et *Stachybotrys chartarum*.
- les ochratoxines produites principalement par *Aspergillus ochraceus* et 12 espèces de *Penicillium*.
- Stérigmatocystine produite essentiellement par *Aspergillus versicolor* (**22**).

Le dosage des mycotoxines dans l'air est encore très peu répandu (**60**), (**78**). Certains trichothécènes sont également dosés par HPLC ou Chromatographie gazeuse et spectrométrie de masse (**58**). Ces méthodes sont complexes et nécessitent des équipements spéciaux. Des travaux sont en cours pour développer de nouvelles méthodes de détection rapide des trichotécènes (méthodes immuno-chimiques, PCR) dans les poussières ou l'air (**88**).

### *h) Techniques moléculaires*

Les techniques moléculaires (hybridation, profil de restriction, caryotypage, empreintes ADN) ont été largement utilisées en microbiologie clinique, notamment pour l'identification fongique. Ces méthodes sont souvent fastidieuses et nécessitent de disposer d'une grande quantité d'ADN. Les méthodes basées sur les techniques d'amplification génique telle que la PCR (Polymerase Chain Reaction), sont des méthodes rapides et plus sensibles. Le plus récent développement de ce type de méthode, la PCR en temps réel, représente une avancée technique majeure dans le domaine de la détection et de l'identification des micro-organismes. C'est une méthode reproductible et sensible, qui permet d'obtenir des seuils de détection très bas (de l'ordre du fg d'ADN/µL). Elle permet également une standardisation et une automatisation des analyses, et peut de ce fait être utilisée en routine. Elle se développe actuellement dans de nombreux domaines de la microbiologie, mais aussi

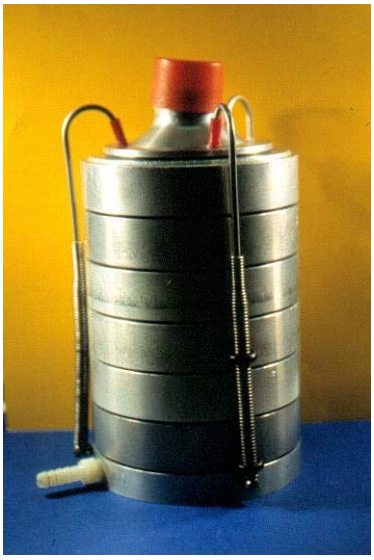
en mycologie clinique (détection d'*Aspergillus fumigatus* dans les liquides biologiques (**7**) et en mycologie environnementale (détection de *Stachybotrys* dans l'air (**31**), (**32**), (**41**).

L'application de ces techniques aux prélèvements atmosphériques permettrait d'éliminer les difficultés et incertitudes liées à la culture (**3**), (**46**), (**67**), et de distinguer des souches productrices de toxines (**40**). Toutefois, cette méthode ne permet pas de différencier les cellules viables des non viables (quantification de l'ADN total présent dans l'échantillon). Elle nécessite l'utilisation de sondes spécifiques qui doivent être conçues pour chaque espèce, ce qui impose de développer un test par espèce. Cependant, le coût hors équipement est modéré. La difficulté essentielle réside dans le choix des séquences pour la conception des sondes car le séquençage des espèces fongiques n'est pas encore généralisé, et pour un certain nombre d'espèces environnementales, aucune séquence n'est actuellement disponible dans les banques génomiques.

**Appareils pour prélèvements d'air, technique de comptage et culture**

Impacteurs : sur adhésif (photo 1) ; sur gélose (photos 2, 3 et 4) ; en milieu liquide (photo 5)
Filtration (photo 6)

1. Spore Traps



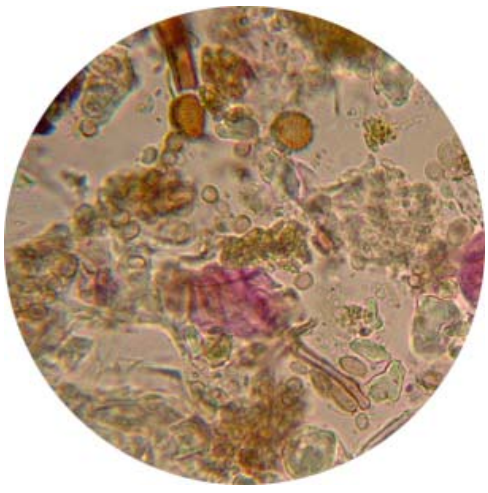
2. Andersen

3. Mas 100 Merck

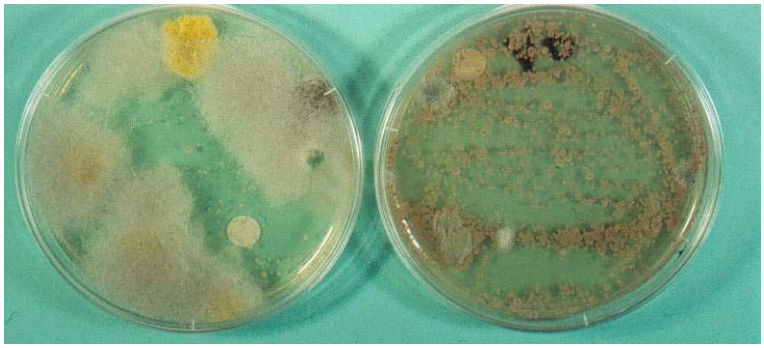
4. RCS

5. Impinger

6. Gilian 3



Spores sur membrane vaseline-toluène Obj. X40 x



Cultures d'un même substrat sur
DG18 à 30° Malt agar NaCl à 20°C

# E. CONSENSUS POUR UNE PLATE-FORME METHODOLOGIQUE

Après inventaire des nombreuses méthodes et techniques de prélèvement et d'analyse existantes, les membres du Groupe de travail ont estimé nécessaire d'établir des protocoles de travail recevant leur approbation.

Les indications fournies sont des conditions de bases minimales qui forment une plate forme méthodologique.

Selon la méthodologie d'investigation adoptée (chapitre VI – A - schéma 1), des prélèvements de surface, d'air, de matériaux ou de poussières seront effectués. Ils permettront de récupérer la flore revivifiable dans les conditions de l'analyse et de l'identifier.

Chaque laboratoire peut évidemment ajouter telle ou telle technique en fonction des demandes qu'il aura à traiter et de ses possibilités techniques. En l'état actuel des connaissances, il parait prématuré de préconiser telle ou telle des techniques nouvelles issues de la biologie moléculaire ou de la (bio)chimie.

Dans tous les cas, les échantillons seront accompagnés d'une fiche permettant de les référencer et comportant un certain nombre d'indications indispensables à la future interprétation (localisation précise, moment de l'échantillonnage, conditions de prélèvement, nature du support échantillonné…).

**Si ce ne sont pas les personnels du laboratoire qui pratiquent les échantillonnages, le laboratoire choisi pour les futures analyses et interprétations doit être consulté, avant leur mise en oeuvre sur site.**

## 1. Les conditions d'échantillonnages d'air

1.1. Les prélèvements d'air seront effectués par impaction en milieu solide à l'aide d'un appareil dont le laboratoire connaîtra les capacités et pour lequel il aura des références.

1.2. Deux essais au moins seront effectués l'un avec un milieu généraliste (milieu au malt complémenté par du chloramphénicol) et un autre milieu au choix du laboratoire concerné (malt + chloramphénicol, DG18, ES, ...). Le volume prélevé sera compris entre 80 et 100 litres pour l'air des locaux, la durée de prélèvement devant être au plus égale à 5 minutes.

1.3. Les fenêtres et portes de la pièce étudiée devront être fermées afin d'éliminer au mieux l'interférence de l'air extérieur, l'opérateur devra se placer dans les conditions habituelles d'occupation des locaux étudiés. Le capteur devra être à hauteur des voies respiratoires: cette condition pourra être remplie si l'échantillonneur est placé sur une table ou un pied de photographe.

1.4. Afin d'aider à l'interprétation future des résultats, il est nécessaire d'effectuer plusieurs échantillonnages dont une série de référence.

- Cas où des moisissures sont visibles : la pièce contaminée est la source de contamination et doit faire l'objet de prélèvements. La référence peut être l'air extérieur ou une pièce apparemment saine et éloignée de la précédente.
- Cas où il s'agit d'une pièce où une humidité anormale est constatée : La pièce humide est la source potentielle de contaminants et doit faire l'objet de prélèvements. La référence peut être l'air extérieur ou une pièce non humide.

## 2. Les conditions d'échantillonnage des surfaces

Chacune des techniques ayant leur propre intérêt, les échantillonnages seront effectués par deux techniques différentes au moins (par écouvillonnage, lame adhésive, ruban adhésif, boîte contact) en s'attachant à être représentatifs des différents aspects des zones contaminées ; des photographies des zones échantillonnées peuvent apporter une aide non négligeable.

2.1. Les écouvillons sont utilisés humides et transportés au laboratoire dans leur étui d'origine convenablement référencés et accompagnés de leur fiche d'échantillonnage.

2.2. Les lames et rubans adhésifs sont appliqués sur la surface sans appui excessif. Les boîtes «contact» peuvent être appliquées sur le support à l'aide d'un dispositif permettant des échantillonnages standardisés détachés de l'influence de l'opérateur.

2.3. Les milieux d'ensemencement seront les mêmes que ceux utilisés pour l'air.

## 3. Les conditions d'échantillonnage des poussières

3.1. La poussière est collectée à l'aide d'un aspirateur dédié et équipé spécialement (cf chapitre III, C 3a). Il devra en particulier être équipé en sortie d'un filtre HEPA afin d'éviter toute dispersion de contaminants dans l'air des locaux.

3.2. Les prélèvements de poussières, doivent toujours être effectués après les prélèvements d'air car les manipulations de moquettes, tapis ou matelas peut apporter une contamination aéroportée parasite importante.

3.3. L'échantillon concernera une surface au minimum de 1 m² aspirée en 2 minutes.

## 4. Les conditions de transport et de stockage des échantillons

4.1. Les échantillons de milieu de culture (air, surfaces) convenablement référencés et accompagnés de leur fiche de route, doivent pourvoir être reçus par le laboratoire dans les 24 heures suivant le prélèvement afin que les modifications de la flore soient limitées au maximum.

4.2. Les écouvillons, lames adhésives et poussières, convenablement référencés et accompagnés de leur fiche de route, peuvent être envoyés sans tarder au laboratoire par la Poste ou autre transporteur.

4.3. Les produits liquides, convenablement référencés et accompagnés de leur fiche de route, sont envoyés dans des conteneurs choisis en accord avec les dispositions sur l'envoi de produits biologiques.

Le laboratoire d'analyse sera seul juge des conditions de transfert des échantillons jusqu'à son site, en fonction des circonstances.

## 5. Les conditions des primocultures

5.1. Les prélèvements d'air se faisant directement sur un milieu de culture, il s'agit des primo cultures sans préjuger des conditions des subcultures d'isolement ou d'identification ultérieures. Il en sera de même pour les lames adhésives ou les boîtes contact.

5.2. Si un seul milieu est utilisé, les écouvillons sont ensemencés par épuisement, directement sur le milieu choisi mais on peut choisir de le plonger dans 2 mL de milieu liquide type Sabouraud plus tween et d'homogénéiser à l'aide d'un agitateur type « vortex ». Des aliquotes (0,1 mL) seront ensuite ensemencées à la surface de milieux de primo culture.

5.3. Les primo cultures sont incubées à 25°C ±1°C pour la flore habituelle et entre 37 et 44 °C pour la flore thermophile à l'origine de certaines pathologies.
Dans le premier cas, les lectures se feront après 7 jours d'incubation. Une lecture intermédiaire permettra de détecter les boîtes envahies par des souches à croissance rapide qui seront éliminées après examen.
Dans le deuxième cas, les lectures se font après 2 jours d'incubation ; l'incubation sera prolongée jusqu'à 7 jours si la culture est négative à ce premier stade.

## 6. Les résultats

6.1. Les résultats seront exprimés en nombre de colonies apparues dans les conditions ci-dessus par volume d'air prélevé ou par surface prélevée. La plupart des impacteurs possédant une table statistique de correction, les nombres fournis seront les nombres corrigés. Si l'analyste le juge utile, il pourra également fournir un résultat rapporté au mètre-cube d'air ou au décimètre-carré pour les surfaces, au gramme pour la poussière. L'analyste fera une distinction entre un dénombrement impossible par suite d'une trop grande richesse en colonies et celui rendu impossible par l'occupation de toute la surface de culture par une souche à croissance rapide.

6.2. Les colonies seront identifiées selon les techniques habituelles en mycologie. Le niveau de l'espèce devra le plus souvent possible être atteint et en particulier pour les moisissures citées dans le tableau (chap IV, tableau III).

Les différents genres et espèces identifiées seront fournis par ordre décroissant en nombre ou sous forme de pourcentage de la flore totale identifiée.

6.3. Le rapport d'analyses doit indiquer les conditions

- d'échantillonnage (type d'échantillonneur et sa version, volume/surface échantillonné) ;
- d'environnement (thermohygrométrie, ventilation…) ;
- les références des échantillons (n°, date, heure, localisation) et toutes indications nécessaires à sa bonne compréhension.

L'analyste donnera des commentaires sur les résultats en s'appuyant sur ses propres bases de données qui serviront de référence ou sur des bases de données existantes si les conditions d'analyse sont les mêmes et dont il citera l'origine. Il s'appuiera également sur les fiches d'enquête sur site et de route.

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**


1 - **Aden E, Weber B, Bossert J, Teppke M *et al.*** Standardization of *Alternaria alternata* : extraction and quantification of Alt a1 by using an mAb-based 2-site binding assay. *J All Clin Immunol* 1999 ; 103 : 128-135.

2 **Afnor**, Pr EN 14583 : Air des lieux de travail – Appareils d'échantillonnage volumétrique des bioaérosols – Exigences et methods d'essai. 2004

3 **Alvarez AJ, Buttner MP, Stetzenbach LD.** PCR for bioaerosol monitoring : sensitivity and environmental interference. *Appl Environ Microbiol* 1995 ; 61 : 3639-3644.

4 **Andersen AA.** New sampler for the collection, sizing and enumeration of viable airborne particles. *J Bacteriol* 1958 ; 76 : 471-484.

5 **Bellin P, Schillinger J.** Comparison of field performance of the Andersen N6 single stage and the SAS sampler for airborne fungal propagules. *Indoor Air* 2001 ; 11 : 65-68.

6 **Boissier M**. Etude et compréhension des phénomènes environnementaux régissant la colonisation des produits de construction par les aérosols fongiques : Application à l'hygiène des environnements intérieurs. Thèse de l'Université de Paris XII 2003.

7 **Bretagne S.** Molecular diagnostics in clinical parasitology and mycology: limits of the current polymerase chain reaction (PCR) assays and interest of the real-time PCR assays. *Clin Microbiol Infect* 2003 ; 9 : 505-511.

8 **Burge HA, Solomon WR.** Sampling and analysis of biological aerosols. *Atm Environ* 1987 ; 21 : 451-456.

9 **Casewell MW, Desai N, Lease EJ.** The use of the Reuter centrifugal air sampler for the estimation of bacterial air counts in different hospital locations. *J Hosp Infect* 1986 ; 7 : 250-260.

10 **CEN TC 137.** EN 13098 : Workplace atmospheres - Guideline for measurement of airborne microorganisms and endotoxin. Comité Européen de Normalisation, Bruxelles, 2000.

11 **Chang CW, Hwang YH, Grinshpun SA, Macher JM.** Factors affecting microbiological colony count accuracy for bioaerosol sampling and analysis. *Am Ind Hyg Assoc J* 1995 ; 56 : 979-986.

12 **Chasseur C, Verhaegen AM, Gofflot S, Nolard N.** Microbiological controls in air conditioning systems : a standard preliminary approach. In : Proceedings of Healthy Building 2000 , Espoo, Vol 3, pp 555-560.

13 **Chew GL, Douwes J, Doekes G, Higgins KM, van Strien R, Spithoven J, Brunekreef B.** Fungal extracellullar polysaccharides, (1 Õ 3)-b-glucans and culturable fungi in repeated sampling of house dust. *Indoor Air* 2001 ; 11 : 171-178

14 **Clark S, Lach V, Lidwell OM.** The performance of the Biotest RCS Centrifungal air sampler. *J Hosp Infect* 1981 ; 2 : 181-186.

15 **Dales RE, Miller D, McMullen E.** Indoor air quality and health : validity and determinants of reported home dampness and moulds. *Int J Epidemiol* 1997 ; 26 : 120-125.

16 **Douwes J, van der Sluis D, Doekes G, van Leusden F, Wijnands L, van Strien R, Verhoeff A, Brunekreef B.** Fungal extra cellular polysaccharide in house dust as a marker for exposure to fungi: relations with culturable fungi, reported home dampness and respiratory symptoms. *J Allergy Clin Immunol* 1999 *;* 103 : 494-500.

17 **Eduard W.** Assessment of mould spore exposure and relations to symptoms in wood trimmers [Thesis]. University of Wageningen, The Netherlands, 1993.

18 **Eduard W.** exposure to non infectious microorganisms and endotoxinsin agriculture. *Ann Agric Environ Med* 1997 ; 4:179-186.

19 **Eduard W, Heederick D.** Methods for quantitative assessment of airborne levels of non-infectious microorganisms in highly contaminated work environments. *Am J Ind Hyg Assoc J* 1998 ; 59 : 113-127.

20 **Elke K, Begerow J, Oppermann H, KrÄmer U, Jermann E, Dunemann L.** Determination of selected microbial volatile organic compounds by diffusive sampling and dual-column capillary

GC-FID. A new feasible approach for the detection of an exposure to indoo mould fungi ? *J Environ Monit* 1999 ; 1 : 445-452.

21 **Ellringer PJ, Boone K, HendricksonS.** Building materials used in construction can affect indoor fungal levels greatly. *Am Ind Hyg Assoc J* 2000 ; 61 : 895-899.

22 **Engelhart, S., A. Loock, D. Skutlarek, H. Sagunski, A. Lommel, H. Färber and M. Exner .** Occurence of toxigenic *Aspergillus versicolor* isolates and Sterigmatocystin in carpet dust from damp indoor environments. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002 ;68(8): 3886-3890.

23 **Fabriès, J. F., R. Wrobel and P. Görner** Détermination expérimentale de l'efficacité physique d'échantillonnage de deux échantillonneurs de bioaérosols. Actes du 17ème congrès français sur les aérosols CFA 2001, Paris 2001.

24 **Flannigan B.** Membrane filtration sampling for detection of small numbers of culturable microorganisms in indoor air. In : Proceedings of Indoor Air'99, Edimburgh, the 8th International Conference on Indoor Air quality and Climate, 1999, Vol 4, 948-949.

25 **Flannigan B, McEvoy E M and McGarry** F. Investigation of airborne and surface bacteria in homes. In : Proceedings of Indoor Air'99, Edimburgh, the 8th International Conference on Indoor Air quality and Climate, 1999, Vol 1 884-889

26 **Flückiger B, Bruggmann D, Monn C.** Measurements of viable spores and fungal allergen

27 **Foarde K K, VanOsdell D W, Menetrez M Y and Chang J C S.** Investigating the influence of relative humidity, air velocity and amplification on the emission rates of fungal spores. In : Proceedings of Indoor Air'99, Edimburgh, the 8th International Conference on Indoor Air quality and Climate, 1999, Vol 2, 507-512.

28 **Górny R L and Krysi´ nska-Traczyk E.** Quantitative and qualitative structure of fungalbioaerosol in human dwellings of Katowice province, Poland. In : Proceedings of Indoor Air'99, Edimburgh, the 8th International Conference on Indoor Air quality and Climate, 1999, Vol 1, 873-878

29 **Halonen R, Reiman M, Seuri M, *et al.*** Transport of microbes via supply ventilation ducts. In : Proceedings of Indoor Air'99, Edimburgh, the 8th International Conference on Indoor Air quality and Climate, 1999, Vol 2, 214-219.

30 **Harrison J, Pickering CA, Faragher EB, Austwick PK, Little SA, Lawton L.** An investigation of the relationship between microbial and particulate indoor air pollution and the sick building syndrome. *Resp Med* 1992 ; 86 : 225-235.

31 **Haugland RA, Heckman JL.** Identification of putative sequence specific PCR primers for detection of the toxigenic fungal species *Stachybotrys chartarum* . *Mol Cell Probes* 1998 ; 12 : 387-396.

32 **Haugland RA, Vesper SJ, Wymer LJ**Quantitative measurement of *Stachybotrys chartarum* conidia using real time detection of PCR products with TaqMan ™ fluorogenic probe system. *Mol Cell Probes* 1999 ; 13 : 329-340.

33 **Horner W E, Morey P R and Black M** S. MVOC and VOC emission patterns from multiple strains of indoor fungi. In : Proceedings of Indoor Air'99, Edimburgh, the 8th International Conference on Indoor Air quality and Climate, 1999, Vol 4, 915-920.

34 **Hysek J, Fisar Z, Zizka Z, Kofronova O, Binek B.** Airborne microorganism monitoring comparison of several methods, including a new direct counting technique. *Zentralbl Mykrobiol* 1991 ;146 : 435-443.

35 **Hyvärinen A, Reponen T, Husman T, Nevalainen A.** Comparison of the indoor air quality in mould damaged and reference buildings in a subarctic climate. *Cent Eur J Publ Health* 2001 ; 9 : 133-139.

36 **Indoor Air Quality Proceedings** concentrations in the home of allergic patients. Edinburgh, 8th International Conference on Indoor Air Quality and Climate 1999 ; Vol1, pp 914-919.

37 **Jensen PA, Schaefer MP.** Sampling and Characterization of Bioaerosols. In : NIOSH Manual of Analytical Methods, 4th ed., 1998, pp 82-112.

38 **Kalliokoski P, Pasanen A-L, Rautiala S, *et al.*** Depressurisation tests to detect hidden moulds. In : Proceedings of Indoor Air'99, Edimburgh, the 8th International Conference on Indoor Air quality and Climate, 1999, Vol 4 921-925.
39 **Le Bars J, Le Bars P.** Les moisissures des denrées alimentaires et leurs conséquences. *Bull Ass A E Inst Pasteur* 1988 ; 30 : 8-21.
40 **Lach V.** Performance of the Surface Air System sampler. *J Hosp Infect* 1985 ; 6 : 102-107.
41 **Land C J and Must** A. Detection and identification of *Stachybotrys chartarum* from damp gypsum boards by the polymerase chain reaction (PCR). In : Proceedings of Indoor Air'99, Edimburgh, the 8th International Conference on Indoor Air quality and Climate, 1999, Vol 4 939-941.
42 **Ljungqvist B, Reinmüller B.** Airborne viableparticles and total number of airborne particles : comparative studies of active air sampling. *PDA J Pharma Sci Technol* 2000 ; 54 : 112-116.
43 **Mc Grath JJ, Wong WJ, Cooley D, Straus DC.** Continually measured fungal profiles in sick building syndrome. *Current Microbiol* 1999 ; 38 : 33-36.
44 **Macher JM, Chatigny MA, Burge HA.** Sampling airborne microorganisms and aeroallergens. In : Cohen BS, Hering SV, eds. Air sampling instruments for evaluation of atmospheric contaminants, 8th ed. Cincinnati, OH : American Conference of Governmental Industrial Hygienists, Inc., 1995, pp. 589-617.
45 **Macher JM.** Review of methods to collect settled dust and isolate culturable microorganisms. *Indoor Air* 2001 ; 11 : 99-110.
46 **MacNeil L, Kauri T, Robertson W.** Molecular techniques and their potential application in monitoring the microbiological quality of indoor air. *Can J Microbiol* 1995 ; 41 : 657-665.
47 **Matcham, S E B R Jordan and D A Wood** Estimation of fungal biomass in a solid substrate by three independant methods. 1985 *Appl. Microbiol. Biotechnol* 21 : 108-112.
48 **Mehta SK, Mishra SK, Pierson DL.** Evaluation of three portable samplers for monitoring airborne fungi. *Appl Environ Microbiol* 1996 ; 62 : 1835-1838.
49 **Morey P, Otten J, Burge H, Chatigny M, Feeley J, LaForce FM, Peterson K.** Airborne viable microorganisms in office environments : sampling protocol and analytical procedures. *Appl Ind Hyg* 1986 ; 1 : R19-R23.
50 **Nilson S.** Atlas of airborne fungal spores in Europa. Ed. Springer, Berlin 1983, 139 pp.
51 **Nolard N, Grillot R.** Conférence de consensus : prévention du risque aspergillaire chez les patients immunodéprimés, Institut Pasteur, 21 mars 2000 ; 187-209.
52 **NF EN13098** Atmosphère des lieux de travail - Règles pour le mesurage de microorganismes et d'endotoxine en suspension dans l'air 2000 ; Norme européenne.
53 **Page EH, Trout DB.** The role of Stachybotrys mycotoxins in building-related illness. *Am Ind Hyg Assoc J* 2001 ; 62 : 644-648.
54 **Palmgren U, Strom G, Blomquist G, Malmberg P.** Collection of airborne microorganisms on Nuclepore filters estimation and analysis - CAMNEA method. *J Appl Bacteriol* 1986 ; 61 : 401-406.
55 **Parat S**. Etude des relations entre climatisation, micro-organismes aéroportés et santé : une approche médicale, métrologique et technique. [thèse]. Université Joseph Fourier, Grenoble, 1997.
56 **Parat S, Fricker-Hidalgo H, Perdrix A, Bemer D and Grillot R** Airborne fungal contamination in air conditioning systems : effects of filtering and humidifying devices. *Am Ind Hyg Assoc J* 1996, 57, 996-1001.
57 **Parat S, Perdrix A, Maitre A** Relationship between indoor air microbial peak values and outdoor climatic conditions. In: Proceedings of Healthy Building 2000, Espoo, Vol 1, pp 371-372.
58 **Pasanen AL, Nikulin M, Tuomainen M, Berg S, Parikka P, Hintikka EL.** Laboratory experiments on membrane filter sampling of airborne mycotoxins produced by Stachybotrys atra corda. *Atm Environ* 1993 ; 27A : 9-13.
59 **Pasanen, A. L.** Evaluation of indoor fungal exposure. Healthy Buildings 2000, Helsinki. 2000

60 **Pasanen AL.** A review : Fungal exposure assessment in indoor environments. *Indoor Air* 2001 ; 11 : 87-98.
61 **Perdrix A, Lascaud D, Dell'Accio P, Ambroise -Thomas P, Paramelle B.** Maladie des humidificateurs en milieu industriel : bilan de trois années de contrôle par la recherche de précipitines. *Broncho-pneumologie* 1979 ; 29 : 53-63.
62 **Portnoy JM, Barnes CS, Kennedy K.** Sampling for indoor fungi. J Allergy Clin Immunol **2004 ;** 113 : 189-198.
63 **Ren P and Leaderer D C.** The nature and concentration of fungi inside and outside homes. In : Proceedings of Indoor Air'99, Edimburgh, the 8th International Conference on Indoor Air quality and Climate, 1999, Vol 1 930-934.
64 **Renoux A and D Boulaud** *in* Les aérosols - Physique et métrologie. Paris, Lavoisier. 1998
65 **Reponen T, Lin X, Willeke K, *et al.*** New method for long-term sampling of airborne bacteria and fungi. In : Proceedings of Indoor Air'99, Edimburgh, the 8th International Conference on Indoor Air quality and Climate, 1999, Vol 4 880-885.
66 **Reynolds SJ, Streifel AJ, McJilton CE.** Elevated airborne concentrations of fungi in residential and office environments. *Am Ind Hyg Assoc J* 1990 ; 11 : 601-604.
67 **Rintala H, Nevalainen A, Suutari M.** Development of molecular methods for the detection of microbes in water damaged buildings. In : Proceedings of Healthy Building **2000** , Espoo, Vol 1, pp 331-334.
68 **Robine E, Lacaze I, Moularat S, Boissier M, Ritoux S.** Contribution à la caractérisation de l'exposition aux aérosols de moisissures: mesure de l'ergostérol. (In Press 2004)
69 **Rose LJ, Simmons RB, Crow SA, Ahearn DG.** Volatile organic compounds associated with microbial growth in automobile air conditioning systems. *Current Microbiol* 2000 ; 41 : 206-209.
70 **Ross MA, Curtis L, Scheff PA, Hryhorczuk DO *et al.*** Association of asthma symptoms and severity with indoor bioaerosols. *Allergy* 2000 ; 55 : 705-711.
71 **Russell C, Mitchell J and Godish** T Apparent viability of airborne mould spores/particles determined from culturable/viable and total mould spore sampling methods. In : Proceedings of Indoor Air'99, Edimburgh, the 8th International Conference on Indoor Air quality and Climate, 1999, Vol 4 934-938.
72 **Salmi T.** Suitability of an electron microscope in assessing quality of indoor air. In : Proceedings of Healthy Building 2000 , Espoo, Vol 1, pp 381-386.
73 **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 bioaerosol. *Appl Occup Environ Hyg* 2000 ; 15 : 835-842.
74 **Seuri M, Reiman M and Lehtomäki K.** Classifying buildings by the signs of dampness and mould, indoor air microbial sampling and symptoms of the employees. In : Proceedings of Indoor Air'99, Edimburgh, the 8th International Conference on Indoor Air quality and Climate, 1999, Vol 1 812-816
75 **Sorenson WG.** Fungal spores : hazardous to health ? *Environ Health Perspectives* 1999 ; 107 (suppl 3) 469-472.
76 **Teeuw KB, Vanderbroucke-Grauls CMJE, Verhoef J.** Airborne Gram-negative bacteria and endotoxins in Sick Building Syndrome. *Arch Intern Med* 1994 ; 154 : 2339-2345.
77 **Trudeau WL, Fernandez-Caldas E.** Identifying and measuring indoor biologic agents. *J Allergy Clin Immunol* 1994 ; 94 : 393-400.
78 **Tuomi T, Reijula K, Johnsson T, *et al.*** Mycotoxins in crude building materials from water damaged buildings. *Appl Environ Microbiol* 2000 ; 66 : 1899-1904.
79 **Verhoeff AP, Burge HA.** Health risk asessment of fungi in home environments. *Ann Allergy Asthma Immunol* 1997 ; 78 : 544-556.
80 **Walter MV, Marthi B, Fieland VP, Ganio LM.** Effect of aerosolization on subsequent bacterial survival. *Appl Environ Microbiol* 1990 ; 56 : 3468-3472.

81 **Wessen B, Ström G, Palmgren U.** Microbial problem buildings-analysis and verification. In : Proceedings of Indoor Air'99, Edimburgh, the 8th International Conference on Indoor Air quality and Climate, 1999, Vol 4, pp. 875-879.
82 **West AW, Grant WD, Sparling GP.** Use of ergosterol, diaminopimelic acid and glucosamine content of soils to monitor changes in microbial populations. *Soil Biol Biochem* 1987 ; 19 : 607-612.
83 **WHO (World Health Organization).** Selected mycotoxins : ochratoxins, tricothecenes, ergot. International programme on chemical safety. Environmental health criteria 105. WHO, Geneva, 1990.
84 **Willeke K, Lin X, Grinshpun S A**. Improved aerosol collection by combined impaction and centrifugal motion. *Aerosol Sci Technol* 1998 ; 28 : 439-456.
85 **Willeke K., Lee S, Mainelis G, Adhikari A, Reponen T, Grinshpun S A, Cho S H, H. Wang and Trunov M.** Airborne microorganism collection by a new electrostatic precipitator. Indoor Air 2002- 9th International Conference on Indoor Air Quality and Climate, Montery, California. 2002.
86 **Womble S E, Burton L E, Kolb L *et al.*** Prevalence and concentrations of culturable airborne fungal spores in 86 office buildings from the Building Assessment Survey and Evaluation (BASE) study. In : Proceedings of Indoor Air'99, Edimburgh, the 8th International Conference on Indoor Air quality and Climate, 1999, Vol 1 261-266.
87 **Wu PC, Su HJ, Ho HM.** A comparison of sampling media for environmental viable fungi collected in a hospital environment. *Environ Research Section* 2000 ; A 82 : 253-257.
88 **Yike I, Allan T, Sorenson W*G et al.*** Highly sensitive protein translation assay for trichotecene toxicity in airborne particulates : comparison with cytotoxicity assays. *Appl Environ Microbiol* 1999 ; 65 : 88-94.

# CHAPITRE IV. ETAT DES CONNAISSANCES DES EFFETS DES MOISISSURES SUR LA SANTE

## A. INTRODUCTION

Dans un logement sain, la majorité des spores proviennent de l'air extérieur; leur concentration est donc plus élevée en été qu'en hiver. L'exposition aux moisissures est universelle. Celles-ci jouent un rôle critique dans l'écosystème (**3**), (**21**).

Néanmoins, beaucoup s'inquiètent de l'effet potentiel des moisissures sur la santé respiratoire, notamment dans le contexte d'un habitat humide. Les questionnaires à la recherche d'une exposition aux moisissures interrogent sur l'existence d'humidité (taches, papier décollé), la présence de moisissures, la perception d'odeurs de moisi et l'existence de fuites d'eau. Plusieurs études mettent en évidence une relation entre habitat humide, auto-rapporté par questionnaire ou mis en évidence par un enquêteur, et l'existence d'atopie, d'asthme et de symptômes respiratoires chez le jeune enfant ou chez l'adulte (**23**). De même, il existe une relation entre l'importance de l'humidité et la sévérité de l'asthme (**26**).

On peut effectuer des prélèvements d'air ou de poussières pour objectiver les moisissures dans la chambre ou dans la salle à manger, en sachant que les sujets allergiques prennent souvent des mesures de prévention dans la chambre, ce qui peut aboutir à des résultats paradoxaux (**9**). Le nombre de colonies de moisissures par gramme de poussière est en général plus élevé que dans les prélèvements d'air, parce que la poussière représente une exposition cumulative des spores de moisissures dans l'air, alors que les prélèvements aériens ne représentent qu'une exposition instantanée et que la durée de prélèvement est en général brève. Ainsi si l'on veut mettre en évidence des liens entre moisissures et symptômes quotidiens, consommation médicamenteuse ou variation du peak-flow, il est indiqué d'utiliser des prélèvements aériens de spores fongiques. Alors que si l'on veut mettre en évidence une influence sur les effets chroniques comme la sensibilisation aux moisissures, l'utilisation d'une exposition cumulative aux moisissures est plus appropriée (**4**).

La corrélation entre les caractéristiques de l'habitat, recherchées par questionnaire et la présence de moisissures dans l'air est très faible (**24**) ; il est actuellement recommandé de tester ces questionnaires avec des mesures objectives de l'exposition aux moisissures (**6**).
Concernant leurs effets sur la santé, il n'y a pas de relation dose réponse pour la plupart des moisissures et il n'existe pas à l'heure actuelle de données fiables permettant d'établir un seuil au dessous duquel il n'y a pas d'effet pour la santé.

Le mécanisme exact de la corrélation entre humidité et retentissement sur la santé reste discuté. Comme les moisissures, les acariens prolifèrent en présence d'humidité et un mécanisme allergique mettant en cause ces deux allergènes a été discuté (**25**). La présence de spores totales n'est pas toujours corrélée avec les paramètres respiratoires mesurés, aussi est-il nécessaire de mettre en évidence spécifiquement les moisissures présentes par les techniques appropriées. Des mécanismes non allergiques semblent pouvoir aussi être en cause, comme un mécanisme inflammatoire, *via* la présence de mycotoxines ou de β-glucanes ou encore un mécanisme infectieux.

Néanmoins, il faut savoir pratiquer une recherche de moisissures en cas d'infections respiratoires inexpliquées à répétition, par des prélèvements de poussière et d'atmosphère. Ces symptômes ne sont pas spécifiques et peuvent être dus à d'autres contaminants du milieu intérieur, qu'ils soient d'origine biologique ou chimique. Il faut noter que le fait d'être exposé aux moisissures n'entraîne pas nécessairement de symptômes chez tous les individus exposés.

Par ailleurs, il ne faut pas négliger le rôle des moisissures extérieures (*Alternaria*, *Cladosporium*), en sachant qu'elles présentent un rythme de production saisonnier, leur production maximale se faisant pendant la période estivale. On approche cette quantification grâce à la reconnaissance des spores de ces moisissures sur les capteurs de Hirst. Cette reconnaissance n'est effectuée à l'heure actuelle que dans quelques villes françaises par le Réseau National de Surveillance Aérobiologique (RNSA).

## B. SENSIBILISATION AUX MOISISSURES DANS LA POPULATION GENERALE

La sensibilisation aux moisissures est mise en évidence par les tests cutanés ou les IgE spécifiques. Mais les extraits de moisissures ne sont pas standardisés, ce qui peut expliquer les variations de fréquence dans les études épidémiologiques. La prévalence exacte de la sensibilisation à *Alternaria* reste mal connue. Dans une étude américaine portant sur 17.000 sujets, un test cutané positif à *Alternaria* est trouvé chez 3,6 % des sujets (**11**). En Europe, 3% des sujets au Portugal ont un test cutané positif à *Alternaria* (**7**). En France, dans l'étude ISAAC (International Study of Asthma and Allergies in Childhood) II, la fréquence de la sensibilisation à *Alternaria* est de 2,4% (**29).** La sensibilisation chez les adultes à *Cladosporium* est de 2,4 % dans l'étude Européenne ECRHS (**15**). Pour ce qui concerne les moisissures intérieures, on trouve une relation entre le taux de spores d'*Aspergillus* mesurés dans la poussière de maison de la salle à manger (en général des tapis), et le risque de sensibilisation, en particulier chez les enfants ayant toujours vécu dans le même domicile depuis la naissance **(14)**. La sensibilisation à *Alternaria* est un facteur de risque pour :

- L'existence d'une hyperréactivité bronchique à la métacholine chez l'enfant (**23**) ;
- L'apparition d'un asthme : les personnes sensibilisées à *Alternaria* ont 3 fois plus de risque d'avoir de l'asthme que la population générale (**16**) ;
- La persistance de l'asthme (**13**) ;
- La sévérité (**27**), l'hospitalisation (5), voire la mise en jeu du pronostic vital (**22**) des asthmatiques sensibilisés.

## C. LES PATHOLOGIES RESPIRATOIRES INDUITES PAR LES MOISISSURES

On distingue classiquement les pathologies allergiques, les pathologies toxiques ou inflammatoires et les pathologies infectieuses (**1**) (**3**)

### 1. Les réactions allergiques

Trois types de réactions allergiques bien définies sont connues de longue date. Elles sont de 3 ordres : 1) les réactions IgE médiées, comme la rhinite ou l'asthme ; 2) l'aspergillose bronchopulmonaire allergique ; 3) les alvéolites allergiques extrinsèques.

#### *a) Les réactions allergiques IgE médiées*

Il s'agit essentiellement d'atteinte bronchique, comme la toux, les sifflements ou l'asthme. L'atteinte nasale, comme la rhinite ou la rhinosinusite est controversée pour certains (**1**)**.** Les résultats des études conduites pour savoir si l'exposition aux moisissures domestiques entraîne un retentissement sur la santé sont difficiles à comparer, car les méthodes de mesure de l'exposition

ainsi que les paramètres de retentissement sur la santé ne sont pas standardisées. Cependant, les études faites chez l'enfant sont probablement les plus fiables, car elles ne sont pas soumises à des facteurs de confusion comme le tabac et l'exposition professionnelle. Ces études sont de type cas-témoin du fait de la difficulté des études longitudinales, mais il est toujours difficile d'affirmer une causalité avec ce type d'étude. La toux et le sifflement sont les paramètres le plus souvent recherchés. Le risque pour un enfant de tousser ou de siffler est augmenté de 1,5 à 3,5 fois en cas de présence d'humidité et/ou de moisissures à la maison **(17)** (**23**). Des études épidémiologiques prospectives récentes ont montré que les enfants à risque d'asthme (histoire maternelle d'asthme) exposés à des concentrations intérieures élevées de moisissures dans la première année de leur vie ont un risque de sifflements et de toux persistants **(19) (20)**.

Le seuil de réactivité varie d'un individu à l'autre et selon le type de moisissure pour un même individu. La sévérité de la réaction dépend d'un grand nombre de facteurs et n'est pas seulement proportionnelle à la dose d'exposition. Les moisissures les plus fréquemment responsables sont *Alternaria* (surtout chez l'adolescent), mais aussi *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus* et *Saccharomyces*. Certains incriminent également *Candida* (chez la femme jeune) et *Trichophyton* chez l'homme jeune.

La sensibilisation aux moisissures chez les asthmatiques

Chez l'enfant, 38,3% des 12.086 asthmatiques habitant aux États-Unis ont un test cutané positif à *Alternaria* (**10**).

Dans l'ECRHS, chez l'adulte, la sensibilisation à *Alternaria* est de 11,9 % et à *Cladosporium* de 5,8% en moyenne, avec le taux de positivité le plus élevé en Grande-Bretagne et le moins élevé en Europe du Sud (**27**). La fréquence de la sensibilisation aux moisissures chez les sujets atteints d'allergie respiratoire varie de façon importante de 2 à 30% (**12**). Cette grande variabilité de prévalence est probablement due à des différences d'environnement, comme les conditions géoclimatiques, des différences de sensibilité de la population étudiée et des différences dans les extraits allergéniques utilisés.

La fréquence de la sensibilisation aux moisissures (*Alternaria* et *Cladosporium*) augmente avec la sévérité de l'asthme (**27**) : pour *Alternaria*, elle est de 8,9% dans l'asthme léger, de 13,8% dans l'asthme modéré et de 16,6% dans l'asthme sévère.

Asthme et taux de moisissures atmosphériques

Les concentrations d'*Alternaria* atmosphériques sont beaucoup plus élevées dans les régions chaudes intérieures que dans les régions tempérées. En Arizona, les enfants ont plus de risque d'avoir un asthme persistant s'ils sont sensibilisés à *Alternaria* qu'aux acariens (**13)**. En revanche, sur la côte, en Nouvelle Galles du Sud (Australie), où les concentrations d'*Alternaria* sont plus faibles qu'à l'intérieur du continent, les enfants atteints d'asthme ont plus de chance d'être sensibilisés aux acariens qu'à *Alternaria* (**18**). 50 % des sujets asthmatiques sensibilisés à *Alternaria* ont des symptômes corrélés au taux de spores atmosphériques d'*Alternaria* (**2**). Les arrêts respiratoires chez les asthmatiques sensibilisés à *Alternaria* surviennent plus volontiers pendant la moisson quand les concentrations d'*Alternaria* sont élevées (**22**). Les valeurs totales de moisissures intérieures (à majorité de *Cladosporium*) sont associées à un risque d'asthme chez l'adulte (**8**). Les spores fongiques atmosphériques extérieures sont responsables de 8,8% des consultations en urgence pour asthme au Canada. (**5**).

### *b) L'aspergillose broncho-pulmonaire allergique*

L'aspergillose broncho-pulmonaire allergique reste une maladie exceptionnelle, mais présente un

tableau clinique caractéristique, ce qui permet de la reconnaître facilement (**28**). On distingue classiquement pour le diagnostic :

- **Les critères majeurs :**
  - Asthme
  - Infiltrats pulmonaires (transitoires ou persistants)
  - Bronchectasies proximales
  - IgE totales > 2000 UI/ml
  - Test cutané positif en lecture immédiate à *Aspergillus*
  - Eosinophilie sanguine > 500
  - Présence de précipitines anti-aspergillaires
  - Présence d'IgE, pouvant diminuer de plus de 35% après 2 mois de corticothérapie

- **Les critères mineurs :**
  - *Aspergillus* dans l'expectoration
  - Expectoration de moules bronchiques
  - Test cutané positif en semi-retardé à *Aspergillus*

- **Diagnostic certain si** : 7 critères majeurs ou 6 critères majeurs et 1 mineur.

### *c) Les alvéolites allergiques extrinsèques*

Les alvéolites allergiques extrinsèques (AAE) sont des pneumopathies aiguës ou subaiguës pouvant évoluer vers une insuffisance respiratoire chronique, de mécanisme immuno-allergique complexe à médiation humorale et surtout cellulaire, qui sont liées à l'inhalation chronique de substances antigéniques le plus souvent organiques (moisissures, actinomycètes), ou parfois chimiques (**7**). Les AAE réalisent histologiquement une infiltration cellulaire inflammatoire et granulomateuse de l'interstitium et des espaces aériens terminaux. La réaction granulomateuse résulte de l'exposition à des antigènes qui doivent avoir une taille inférieure à 4 µm, et d'une réponse d'un sujet exposé prédisposé (**6**).

#### 1 - Présentation générale de la maladie

La classification clinique la plus utilisée est celle qui décrit trois formes, aiguë, subaiguë et chronique (**6**), (**12**).
La forme aiguë est un syndrome respiratoire pseudo-grippal qui associe une toux habituellement sèche, une dyspnée et une fièvre d'intensité variable, et un éventail de symptômes inconstants : céphalées, arthralgies, myalgies, douleurs thoraciques, photophobie, obstruction nasale… Classiquement, ces symptômes surviennent de façon semi-retardée (4 à 10 heures) après contact antigénique. Quand l'exposition persiste, les symptômes récidivent sans phénomène de tolérance et ont tendance à s'accentuer. Ils s'accompagnent rapidement d'une altération de l'état général avec asthénie marquée, anorexie et amaigrissement. Des formes suraiguës, brutales ou d'aggravation dramatique en quelques jours, parfois mortelles, ont été décrites (**2**), (**30**).
La forme subaiguë est dominée par la dyspnée qui s'aggrave progressivement sur plusieurs semaines. La toux peut s'accompagner d'expectoration. La relation temporelle avec l'exposition antigénique est moins évidente, même si souvent les symptômes (avec parfois de la fièvre) s'accentuent lors des contacts antigéniques. L'atteinte de l'état général est marquée et peut dominer le tableau : anorexie, asthénie et amaigrissement sont constants (**31**) , (**25**).
Dans la forme chronique, les symptômes sont peu spécifiques. Toux, dyspnée, expectorations, oppression thoracique avec sifflements, altération de l'état général, sont diversement associés.

#### 2 - diagnostic

Le diagnostic repose sur cinq critères majeurs (**18**) :

- Preuve d'une exposition antigénique : présence de précipitines, données d''interrogatoire, ou éventuellement prélèvements microbiologiques ;
- Symptômes respiratoires compatibles et râles crépitants à l'auscultation.
- Alvéolite lymphocytaire au lavage alvéolaire ;
- Diminution de la capacité de diffusion de l'oxyde de carbone (DLCO) ou hypoxie (ou désaturation) d'effort ;
- Imagerie compatible (radiographie pulmonaire standard ou tomodensitomètrie haute résolution -TDM-HR-). En l'absence de ce critère une confirmation peut être recherchée par un test de provocation positif et/ou des prélèvements histologiques.

### 3 - Evolution-pronostic-traitement

Dans les suites d'une maladie aiguë ou subaiguë, entre 30 et 65 % des patients restent symptomatiques et environ un tiers garde une insuffisance respiratoire chronique séquellaire (**1**). Des formes suraiguës rapidement mortelles ont été décrites, mais la plupart du temps, l'évolution défavorable est le fait d'une insuffisance respiratoire chronique évoluée (**3**), (**28**). La mortalité de ces formes se situerait entre 5 et 10 % (**1**). Le pronostic est en partie déterminé par la poursuite ou non de l'exposition et la fréquence éventuelle des récidives (**5**), (**8**), (**27**) ; mais le maintien de l'exposition ne s'accompagne pas obligatoirement d'un mauvais pronostic, même s'il existe des récidives (**4**), (**8).** Le traitement des AAE repose sur l'éviction ou la réduction de l'exposition et la corticothérapie.

### 4 - Agents et circonstances étiologiques

Les facteurs d'exposition regroupent deux aspects : un qualitatif (type d'antigène), l'autre quantitatif (concentration en antigène et mode d'exposition). La liste des étiologies des AAE (**30**), d'origine professionnelle ou domestique s'accroît sans cesse.

Les facteurs géographiques, sociaux et professionnels déterminent les étiologies particulières d'AAE. Les activités professionnelles dans lesquelles il y a une exposition à des substances végétales moisies, sont les plus fréquemment associées à la maladie (**13**), (**32**). Les employés de bureau ou d'usine peuvent être exposés à des *Actinomycètes* thermophiles ou à des moisissures par l'intermédiaire de systèmes d'air conditionné ou de matériaux contaminés.

A la suite des travaux de Pepys sur le poumon de fermier (PDF) (**13**), au début des années 60, on a considéré qu'un nombre limité de substances était susceptible de provoquer une AAE : des *Actinomycètes* thermophiles (*Saccharopolyspora rectivirgula*, et *Thermoactinomycètes vulgaris*), et quelques moisissures (*Aspergillus fumigatus, Penicillium* sp..). Or l'évolution constante des techniques agricoles au cours des dernières décennies a probablement modifié la flore microbienne des produits agricoles et des fourrages, ce qui conduit à suspecter d'autres espèces. En Scandinavie, *Aspergillus umbrosus* et *Wallemia sebi* jouent un rôle important (**16**), (**19**). Une étude immunologique rétrospective a suggéré qu'*Absidia corymbifera* pouvait être l'antigène majeur du PDF en Finlande (**14**), (**37**). En France, dans le Doubs, une étude prospective microbiologique et immunologique, comparant des PDF à des agriculteurs témoins, a démontré la responsabilité d' *Absidia corymbifera* et *Eurotium amstelodami* (**11**), (**29**). Au Canada, des formes fatales de PDF ont été attribuées à *Penicillium* (**28**).

Les AAE d'origine domestique sont moins bien décrites et les agents étiologiques sont très divers (*Penicillium, Aspergillus*) (**33**).

Toutes les substances inhalées ayant des propriétés antigéniques ne peuvent pas provoquer une

AAE. Il est nécessaire qu'elles répondent à un certain nombre de caractéristiques générales comme leur taille, leur solubilité, leur forme, leur composition et leur capacité à provoquer des réactions inflammatoires non spécifiques et immunologiques spécifiques. Les antigènes des AAE ont une taille habituellement inférieure à 4 microns et peuvent de ce fait atteindre les voies aériennes distales et les alvéoles, (**15**), (**24**), (**35**).

## 5 - Epidémiologie et facteurs de risque

### (i) Fréquence

Chez les fermiers, en milieu de production laitière où le risque est beaucoup plus important qu'en zone de culture céréalière, la prévalence se situe entre 0,2et 1,5 % (**20**), (**36**), respectivement en Suède et en Chine. Dans certains secteurs professionnels particuliers, des valeurs supérieures à 20 % ont été publiées ; c'est le cas par exemple des ouvriers exposés à des huiles minérales (huiles de coupe des métaux) contaminées par des moisissures (réf, pays).

### (ii) Facteurs de risque

On considère habituellement que la forme aiguë de la maladie résulte d'une exposition intermittente, mais très intense aux antigènes inhalés, et la forme sub-aiguë d'une exposition moins importante mais continue. Les formes chroniques sont souvent des séquelles d'une maladie aiguë ou sub-aiguë, mais peuvent être aussi le fruit d'une exposition prolongée à de faibles concentrations d'antigènes (**17**). Le risque de PDF est lié à la concentration en micro-organismes et à la durée de l'exposition (**21**), (**23**). Cela explique pourquoi le PDF est fréquent dans les régions de production laitière, humides et froides où la période de stabulation hivernale du bétail est longue. Par ailleurs, la réduction de la quantité d'antigènes inhalés chez des sujets malades prévient dans la majorité des cas les récidives. Réciproquement les rechutes du PDF liées à la manipulation de balles de foins fortement contaminées par *Absidia corymbifera*, attestent du rôle prédominant de la concentration de certains antigènes (**29**).

D'autre part, parmi les sujets exposés à des quantités élevées de micro-organismes susceptibles de provoquer une AAE, seulement 5 à 10 % développent la maladie. En revanche, un pourcentage beaucoup plus élevé, jusqu'à 50 % développe des réactions immunologiques humorales et cellulaires, qui conduisent assez rarement à la formation et à la pérennisation du granulome qui est l'essence de la maladie. Cela signifie qu'il existe des facteurs de "promotion" ou de "protection" qui influencent les réponses individuelles aux agents inhalés, et qui par la suite déterminent l'involution ou la progression de la réaction inflammatoire granulomateuse (**34**). Les co-facteurs sont des adjuvants susceptibles de déclencher la maladie chez des sujets exposés. Des rapports cliniques et expérimentaux ont suggéré que ces co-facteurs pouvaient être d'origine bactérienne (*Mycoplasma pneumoniae*, endotoxines) (**22**), (**38**), virale (virus influenzae et virus Sendai) (**9**) , (**10**) ou fongique (mycotoxines), dont les capacités de potentialiser les réponses inflammatoires et allergiques sont connues (**26**).

Enfin, il est connu que l'AAE survient plus fréquemment chez les non-fumeurs que chez les fumeurs. Plusieurs explications ont été proposées (**6**), (**33**) ; le tabac semble réduire la réponse humorale aux agents inhalés, altère la cascade de réactions cytokiniques et surtout réduit l'état d'activation macrophagique.

## 2. Effets infectieux : Risques sur les immunodéprimés : Précautions lors du retour à la maison

Les *Aspergillus* sont des moisissures très largement répandues à travers le monde ; en milieu hospitalier, certaines espèces sont parmi les plus redoutées car elles peuvent provoquer une pathologie grave : l'aspergillose invasive (**13**). Cette maladie, due principalement à *A. fumigatus* le plus souvent et à quelques espèces voisines (*A. flavus, A. terreus, A. nidulans,…)* ne concerne heureusement qu'un nombre limité de patients : ce sont avant tout les patients de services d'hématologie les plus à risque, et le pronostic de la maladie peut alors en être très sévère en fonction du statut immunitaire du patient (**9**), (**19**). Actuellement les Aspergilloses invasives représentent la première cause de mortalité d'origine infectieuse dans les services d'hématologie.

En dehors de cas où l'inoculation des tissus est directe (intra-opératoire par exemple), le patient immunodéprimé acquiert la maladie le plus souvent par inhalation, les spores du champignon étant véhiculées par l'air. La contamination de l'environnement hospitalier est reconnue comme un facteur important dans la survenance de la maladie (**1**), (**14**), (**15**). La porte d'entrée digestive est rare.

Pour limiter au maximum l'exposition aux spores de ce champignon des patients dits « à haut risque », les unités hospitalières qui les traitent bénéficient généralement d'équipements de traitement d'air sophistiqués. Les patients qui viennent de bénéficier d'une greffe de moelle par exemple passent souvent plusieurs semaines dans une chambre à flux laminaire, dont l'air est débarrassé de tout contaminant par passage sur filtre absolu HEPA; l'accès en est strictement limité et tout le matériel qui y entre est stérilisé ou décontaminé, y compris les repas du patient. L'intérêt de la prévention du risque aspergillaire chez les patients immunodéprimés à d'ailleurs été à l'origine d'une importante conférence de consensus qui s'est tenue à l'Institut Pasteur (Paris) en mars 2000. Les questions posées étaient :

- En hématologie et transplantation, dans quelles situations les patients sont-ils à risque d'aspergillose invasive ?
- Quelles mesures de prévention (primaire et secondaire) ont fait preuve de leur efficacité, pour quels patients et dans quelles conditions ?
- Quelles surveillances doivent être mises en place pour orienter la prévention ?
- Quelles sont les tratégies de prévention ?

Lorsque son statut immunitaire s'améliore, le patient quitte cet environnement hyper protégé pour une chambre plus conventionnelle, où moins de précautions sont prises. Viendra ensuite le moment pour le patient de rentrer chez lui.

Peu de références concernent le retour du patient au domicile et les risques que son environnement domestique peut lui faire courir. Or le retour à domicile se fait bien souvent alors que le patient n'a pas récupéré un statut immunitaire suffisant pour le protéger totalement d'une infection aspergillaire. Des aspergilloses s'observent parfois plusieurs semaines voir plusieurs mois après le retour à domicile (**75**).

Or l'habitat regorge parfois aussi de sources potentielles de spores aspergillaires (**4**) (**5**). C'est pourquoi certaines équipes ont jugé utile de prodiguer au patient et à sa famille des recommandations pour que la transition se fasse sans mal, pour que le patient encore fragile ne passe pas brusquement d'un environnement protégé à un milieu "normal mais peut être contaminé".

Pour élaborer ces conseils, et faute de données bibliographiques ciblées, on peut d'une part passer en revue les sources potentielles d'*Aspergillus*, et d'autre part transposer les données relatives au milieu hospitalier.

Les spores fongiques en général, et celles d'*Aspergillus* en particulier, sont véhiculées par l'air et sédimentent ensuite sur les surfaces ou dans les poussières où elles restent viables fort longtemps. C'est ainsi que le genre *Aspergillus* est l'un des 3 genres de moisissures les plus communs dans les domiciles (**71**); *A. fumigatus* en particulier est isolé de 23 % des échantillons de poussières récoltés dans divers locaux habitables et de 12 % des poussières de matelas (**6**). En milieu hospitalier, *A. fumigatus* est l'espèce thermotolérante la plus fréquente dans l'air et sur les surfaces (**16**). Le biotope de cette espèce étant lié aux végétaux et aux matières végétales en décomposition, on le trouve également dans les plantes en pots (**18**), (**20**), (**21**) et dans des aliments d'origine végétale comme le poivre, le thé, certains fruits et jus de fruits, les potages lyophilisés, certains plats préparés, etc…. (**7**), (**8**), (**12**), (**22**). Des matériaux de construction humidifiés peuvent aussi lui servir de substrat (**3**). Plus récemment, les grilles de condensation des réfrigérateurs et l'eau ont également été signalées comme sources de spores aspergillaires (**2**). Divers facteurs favorisent l'accumulation de spores d'espèces fongiques thermotolérantes en milieu hospitalier; parmi ceux-ci les travaux d'excavation, de démolition et de rénovation au voisinage ou au sein du bâtiment ainsi que la contamination des systèmes de traitement de l'air sont le plus souvent citées (**15**), (**24**), (**23**), (**21**).

Les conseils donnés au patient avant son retour à la maison prendront bien évidemment en compte toutes les sources potentielles de spores fongiques et plus particulièrement de spores aspergillaires, et comporteront tant des précautions comportementales (choses à faire et à ne pas faire) qu'alimentaires (aliments interdits ou déconseillés). Leur durée d'application sera définie par le praticien en fonction de l'évolution du statut immunitaire du patient. **Une évaluation de l'état du logement est évidemment souhaitable.**

Signalons que la colonisation des voies respiratoires par *A. fumigatus* concerne également les patients atteints de mucoviscidose (**10**). Des études moléculaires sur les patients atteints de mucoviscidose (**11**), (**20**), ont montré que les patients pouvaient être contaminés en même temps et au cours d'un suivi par de nombreux génotypes génétiquement indépendants, sans doute le reflet d'une contamination de leur environnement et en particulier du logement.

**Précautions à recommander aux patients (sur base des connaissances actuelles) :**

### *a) Recommandations générales*

Avant le retour à la maison :

- Si possible demander à un conseiller médical en environnement intérieur dans l'habitat (CMEI) un passage pour évaluer l'état mycologique du logement (**16**),
- nettoyer de façon approfondie les pièces d'habitation (nettoyage puis désinfection des surfaces à l'eau javelisée, lavage ou aspiration des tentures…),
- si possible éliminer les tapis et carpettes, sinon les aspirer à fond,
- utiliser un aspirateur muni d'un filtre HEPA et ne pas faire pénétrer le patient dans les locaux immédiatement,
- éliminer les plantes en pots, fleurs séchées, et les autres éléments de décor empoussiérés et impossibles à nettoyer,
- nettoyer la voiture qui sera éventuellement utilisée par le patient,
- porter un masque pendant les trajets (conseillé).

Après le retour à la maison :

- Faire entretenir régulièrement les locaux d'habitation, par un tiers de préférence : pas de dépoussiérage à sec, mais bien un nettoyage à l'eau javelisée ou avec un nettoyant ménager,
- éviter d'utiliser un aspirateur qui génère des quantités énormes de poussières,
- éviter d'utiliser un humidificateur, ou un climatiseur,
- éviter d'utiliser le conditionnement d'air dans la voiture,
- bien fermer les fenêtres lors de travaux de jardinage à proximité du logement.

### *b) Recommandations comportementales*

- ne pas aller dans les pièces où il y a éventuellement des taches ou une odeur de moisissures (cave, grenier par exemple),
- ne pas jardiner, ni rempoter de plantes …
- ne pas fréquenter d'écuries; ni de fermes en général,
- ne pas garnir un sapin de Noël,
- ne pas s'exposer à des poussières de chantier,
- se méfier de la manipulation d'épices moulues (poivre en particulier), thés et tisanes non radiostérilisées.

Beaucoup plus exceptionnellement, il a été décrit des cryptococcoses pulmonaires, liées à l'exposition à des champignons trouvés dans les fientes d'oiseaux ou de chauves-souris.

## 3. Effets irritatifs et toxiques

### *a) L'Organic Dust Toxic Syndrome (ODTS) ou fièvre d'inhalation*

L'ODTS est un syndrome inflammatoire aigu des voies respiratoires et des alvéoles qui survient après une exposition à une concentration élevée de micro-organismes : $10^{10}$ spores /$m^3$ d'air (**3**). Ce syndrome touche en général des travailleurs en bonne santé et pose le problème du diagnostic différentiel avec les pneumopathies d'hypersensibilité (PHS) (**4**), (**6**). Les tâches typiquement associées sont la manipulation de grains moisis dans les silos et le nettoyage des litières des étables et des porcheries (**5**), (**6**). Le travail dans des zones confinées est un facteur de risque important (**6**). La prévalence de cette maladie est de 16% en en Suède parmi les fermiers et l'incidence varie de 20 à 190 pour 10000 fermiers (**5**), (**6**). Les agents étiologiques sont peu connus mais certains d'entre eux sont d'origine fongique (Beta 1-3 glucan, mycotoxines et protéinases) (**1**).

Ce syndrome, autrefois dénommé mycotoxicose ou poumon de fermier (PDF) atypique, a souvent été confondu avec les AAE rencontrées en milieu agricole. Il se manifeste par des symptômes respiratoires aigus fébriles qui surviennent quelques heures après l'inhalation massive et inhabituelle de particules organiques (**2**), (**6**). Il ne requiert pas d'exposition chronique et, à la différence des AAE, peut survenir à la première exposition. De plus, il existe un phénomène de tolérance selon lequel les symptômes prédominent en début d'exposition, alors qu'ils ont tendance à progressivement s'atténuer par la suite. Il n'y a pas de signe auscultatoire, radiologique ou fonctionnel respiratoire à l'exception d'une baisse transitoire de la DLCO. Il n'y a habituellement pas de précipitines sériques ni d'alvéolite lymphocytaire, mais une alvéolite à polynucléaires neutrophiles. Le diagnostic différentiel avec une AAE paraît par conséquent facile.

### *b) Les glucanes*

Les glucanes sont des polymères de glucose, biologiquement actifs, faisant partie de la membrane cellulaire des moisissures (**1**). Ils peuvent être associés à des molécules de chitine ou de manane. Ils sont également présents dans certaines bactéries et certaines plantes (**8**). Les concentrations de (1-3) beta-D-glucanes, sont globalement proportionnelles à la surface des spores, avec cependant des variations de concentration selon les espèces. Parmi 11 espèces fongiques communément isolées des habitats, la concentration par spore varie de 1 à 80. La concentration pour une spore de *Cladosporium cladosporioides* équivaut à $3,4x10^3$ pg/spore (**5**). Les concentrations de (1-3) beta-D-glucanes relevées dans l'air des habitations détériorées par l'humidité varient selon les études de 0 à 19 ng/$m^3$ (**12**), de 22 à 115 ng/$m^3$ (**10**) , de 2,9 à 15,3 ng/$m^3$ dans des écoles (**10**). Les valeurs obtenues dans les poussières d'habitats varient selon les études de 1,55 à 2,22 µg/g (**3**), et de 182 à 3507 µg/g (**4**). Ces concentrations sont corrélées positivement avec le total des moisissures viables (**3**), (**4**), (**6**).

Les (1-3) beta-D-glucanes semblent être associés à des symptômes respiratoires des habitants de logements moisis et chez des écoliers (**11**). Après rénovation, il a été observé une diminution des concentrations de (1-3) beta-D-glucanes, passant de 11,4 ng/$m^3$ à 1,4 ng/$m^3$ (**9**). Ils seraient impliqués dans des processus inflammatoires et stimuleraient la fonction des macrophages et des neutrophiles (**2**). Ils joueraient un rôle dans l'ODTS (**1**) et la détérioration des fonctions respiratoires chez des éboueurs (**7**).

### *c) Les MCOV : Impact sanitaire des composés organiques volatils d'origine microbienne (COVm)*

Présents sous forme gazeuse, ces composés, de natures chimiques très diverses telles qu'alcools, aldéhydes, cétones, éthers, esters, terpènes et terpénoïdes ou encore composés aromatiques (**2**), (**12**) émis par les moisissures se développant (**6**) sur divers substrats (Tableau 8~~Tableau 8~~) peuvent diffuser au travers des matériaux poreux des bâtiments. Ainsi des proliférations fongiques masquées peuvent entraîner une exposition aux COVm que ces microorganismes émettent tout au long de leur croissance.

Tableau 8~~8~~ : Composés organiques volatils émis par des moisissures se développant dans des poussières domestiques (**6**)

| Nature chimique | COVm |
|---|---|
| Alcools | 1-octanol, 2-octanol, 3-octanol, 3-méthyl-2-butanol, 3-méthyl-1-butanol, 2-éthyl-1-hexanol 1-octen-3-ol |
| Cétones | 2-pentanone, 2-hexanone, 2-heptanone, 3-octanone |
| Terpènes | α-pinène, β-pinène, camphène, limonène et 2-méthylfurane |

Certains de ces composés sont incriminés dans l'apparition d'odeurs dans les environnements intérieurs tels que la géosmine, produite notamment par *Chaetomium,* l'1-octen-3-ol, le 2-octen-1-ol, le 3-octanol, ou encore le 3-octanone (**10**). *Penicillium commune* est également susceptible de produire le 2-méthylisobornéol, dont l'odeur de moisi est caractéristique (**3**). Toutefois, certaines odeurs sont à imputer à une croissance bactérienne, notamment à l'actinomycète *Streptomyces*.

Concernant leurs effets sur la santé, ils sont encore à l'heure actuelle controversés.
Ainsi, l'ACGIH, en 1999, indique que des symptômes d'irritation des yeux, du nez et de la gorge ont souvent été rapportés en présence de fortes odeurs produites par une croissance abondante de moisissures. Toutefois, le mécanisme causal exact à l'origine des troubles ressentis ou rapportés n'a pas encore été établi avec certitude. L'hypothèse généralement retenue indique que ces symptômes peuvent être d'origine mécanique, induits par les particules fongiques (spores et fragments) combinée à une irritation chimique due aux produits irritants ou toxiques contenus dans les spores (**8**), tels que les glucanes, qui sont des polysaccharides constitutifs des parois cellulaires notamment des champignons. L'effet irritatif des COVm se produirait, quant à lui, sans contact direct des particules biologiques avec les muqueuses (**11**), (**1**).

Parmi les COVm produits le plus fréquemment, l'éthanol possède un fort pouvoir synergique, augmentant les effets irritants et toxiques d'autres COV (**116**). Ainsi différents chercheurs scandinaves ont démontré que la concentration d'un mélange de 5 COV fongiques nécessaire pour réduire de moitié la fréquence respiratoire des souris (RD50) était 3,6 fois moins élevée que celle que l'on estimerait pour ce mélange à partir de la concentration et de la RD50 de chacune des molécules (**5**), (**4**).

Certains auteurs soupçonnent les COVm de jouer un rôle dans le Syndrome des Bâtiments Malsains noté SBS (**118**) défini comme un ensemble de symptômes divers et aspécifiques.
Les principaux symptômes constatés chez les personnes atteintes de ce syndrome consistent en :

- des troubles ORL tels que rhinite, nez bouché sécheresse de la gorge,
- des manifestations oculaires : larmoiement, irritation ou sécheresse,
- des manifestations cutanées : prurit, érythème, sécheresse,
- une somnolence,
- des céphalées.

### *d) Les Mycotoxines*

La toxicité des mycotoxines par voie digestive est connue mais leur toxicité par voie inhalée est débattue notamment à propos du *Stachybotrys.*

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires peu volatils, élaborés par diverses moisissures. Leur biosynthèse dépend de plusieurs facteurs, dont la température, l'intensité lumineuse, le dioxyde de carbone dans l'air, les éléments nutritifs disponibles et la présence d'autres espèces en compétition (**5**). Il y aurait, selon les auteurs, jusqu'à 400 mycotoxines répertoriées (**3**). La taille des particules les contenant (ex. : spores, fragments mycéliens) ou sur lesquelles elles sont adsorbées (ex. : poussières) déterminera la profondeur de la pénétration des substances toxiques dans l'arbre bronchique. Dans l'environnement intérieur, *Alternaria, Aspergillus, Chaetomium, Cladosporium, Fusarium, Memnoniella, Penicillium, Stachybotrys* et *Trichoderma* ont été identifiés comme pouvant produire de nombreuses mycotoxines (**10**).

Parmi les mycotoxines identifiées, les mieux connues sont les familles des aflatoxines et des trichotécènes. Leur toxicité aiguë par absorption digestive a été documentée à la suite d'épidémies humaines et animales, et par expérimentation animale. Des effets hépatotoxiques, neurotoxiques, mutagènes, tératogènes et cancérigènes ont été prouvés chez l'animal par voie digestive et même respiratoire. Un lien existe entre l'ingestion d'aflatoxine et le cancer du foie chez l'homme (**7**).

Des études ont démontré que la majorité des mycotoxines sont de puissantes cytotoxines qui interfèrent à plusieurs niveaux de la vie cellulaire. Ainsi certaines mycotoxines, peuvent bloquer la production de surfactants ou détruire les macrophages au niveau pulmonaire (**14**), (**16**), (**18**), (**19**). Certaines toxines attaquent l'intégrité de la structure de l'épithélium pulmonaire permettant à la moisissure de coloniser les cavités alvéolaires. Ces différents modes d'action ont des effets délétères sur les voies respiratoires (**15**) et peuvent mener à l'exacerbation de l'asthme, à des infections fongiques (chez les personnes immunodéprimées), ou encore à des infections secondaires, en partie dues aux effets immunosuppresseurs des mycotoxines (**6**), (**21**), (**24**). De plus, les mycotoxines peuvent occasionner des effets systémiques plus généraux (effet sur la tension artérielle et le rythme cardiaque).

Lorsque les conditions ambiantes favorisent la prolifération fongique, plusieurs espèces de moisissures peuvent croître en même temps. Une exposition à de multiples mycotoxines peut mener à une synergie ou à une potentialisation des effets de chacune (**12**). Des mélanges de toxines ont été associés à l'Organic Dust Toxic Syndrome (**20**), (**23**) (voir chapitre ODTS, page 67). Notons qu'il a également été avancé que ce syndrome pouvait être causé par l'exposition simultanée aux mycotoxines, aux glucanes, aux antigènes et aux endotoxines (**1**).

*Cas particulier de Stachybotrys chartarum*

*Stachybotrys chartarum* est une moisissure parfois associée à des contaminations fongiques du milieu intérieur. Elle produit diverses trichotécènes (satratoxine, roridine, verrucarine, etc.) (**22**). Les satratoxines sont responsables d'une mycotoxicose fatale chez l'animal, la stachybotriotoxicose pulmonaire. Les satratoxines inhibent la synthèse protéique et causent des dommages à l'ADN. Les trichotécènes sont irritantes pour la peau et peuvent causer des rougeurs à faibles doses (**9**).

Une exposition par inhalation de la satratoxine élaborée par *S. chartarum* cause des hémorragies pulmonaires chez la souris. Ce mécanisme a été suspecté pour expliquer l'épidémie d'hémosidérose survenue, notamment, chez 30 jeunes enfants entre 1993 et 2000 à Cleveland (Plus de 100 cas aux USA de 1993 à 1998) (**2**), (**4**), (**18**). Cependant le rôle de *Stachybotrys* dans les cas d'hémosidérose est controversé. La responsabilité de S*tachybotrys* aurait été amplifiée par les médias sans que des preuves suffisantes aient été apportées sur son rôle réel (**17**). Tout en actant de l'existence d'une hémolysine produite par ce champignon, ces auteurs argumentent autour de l'insuffisance de la contamination (**17**), de la persistance des symptômes des mois après la soustraction à l'environnement initial chez les patients survivants (**2**) ou du manque de preuve apportée quand aux mécanismes probablement très complexes mettant en jeu de nombreuses espèces (**7**), (**25**). D'autres auteurs soulignent la variabilité dans la production de mycotoxines selon les conditions environnementales ou le type de souche (**13**).

Pour d'autres auteurs, la production par *Stachybotrys* de nombreuses mycotoxines (**11**), et notamment d'une hémolysine, justifie la méfiance particulière vis-à-vis de cette moisissure. Il est probable que sa responsabilité dans des pathologies graves de très jeunes enfants soit liée à l'existence de certaines souches particulièrement aptes à produire de la stachylysine (hémolysine) dans des conditions environnementales spécifiques (**26**). L'isolement à partir du lavage broncho-alvéolaire d'un des enfants présentant une hémosidérose, ainsi que l'isolement concomitant d'une souche provenant de son environnement ont constitué une suspicion légitime envers ce micro-organisme. L'établissement d'une relation de cause à effet nécessitera probablement des études complémentaires méthodologiquement contrôlées (**8**).

Tableau 99 : moisissures fréquemment rencontrées en environnements intérieurs humides et leurs effets pathogènes

| NOM | Effet Infectieux | Effet allergisant | Alvéolite | Effet toxique |
|---|---|---|---|---|
| *Acremonium* | - | X | - | - |
| *Alternaria alternata* | - | X | - | - |
| *Aspergillus flavus* | X | X | - | X |
| *Aspergillus fumigatus* | X | X | X | X |
| *Aspergillus niger* | X | - | - | - |
| *Aspergillus versicolor* | - | X | X | X |
| *Aureobasidium* | - | X | - | - |
| *Chaetomium* | - | X | - | - |
| *Cladosporium sphaerospermum* | - | X | - | - |
| *Epicoccum* | - | X | - | - |
| *Fusarium* | X | X | X | - |
| *Mucorales : Mucor, Absidia, Rhizopus* | X | X | X | X |
| *Penicillium sp.* | - | X | X | - |
| *Stachybotrys chartarum* | - | X | - | X |
| *Trichoderma* | - | X | - | X |
| *Trichothecium* | - | X | - | - |

**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**


1. **Bush RK, Pornoy JM, Saxon A,** et al**.** The medical effects of mold exposure. J Allergy Clin Immunol 2006, 117, 326-33
2. **Bruce CA, Norman PS, Rosenthal RR** et al. The role of ragweed pollen in autumnal asthma. J Allergy Clin Immunol 1977 ; 59 : :449-459
3. **Burge HA**. An update on pollen and fungal spore aerobiology. J Allergy Clin Immunol 2002 ; 110 : 544-552
4. **Chew GL, Higgins KM, Gold DR** et al. Monthly measurements of indoor allergens and the influence of housing type in a northeastern US city. Allergy 1999 ; 54 : 1058-1066
5. **Dales RE, Cakmak S, Judek S** et al. Influence of outdoor aeroallergens on hospitalization for asthma in Canada. J Allergy Clin Immunol 2004 ; 113 : 303-306
6. **Bornehag CG, Blomquist G, Gyntelberg F, Jarvholm B, Malmberg P, Nordvall L, Nielsen A, Pershagen G, Sundell J.** Dampness in buildings and healh. Nordic interdisciplinary review of the scientific evidence on associations between exposure to dampness in buildings and health effects (NORDDAMP). Ind Air, 2001, 11, 72-86.
7. **D'Amato G, Chatzigeorgiou G, Corsico R** et al. Evaluation of the prevalence of skin prick test positivity to Alternaria and Cladosporium in patients with suspected respiratory allergy. A European multicenter study promoted by the Subcommittee on Aerobiology and Environmental Aspects of Inhalant Allergens of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology. Allergy 1997 ; 52 : 711-716
8. **Dharmage S, Bailey M, Raven J** et al. Current indoor allergen levels of fungi and cats, but not house dust mites, influence allergy and asthma in adults with high dust mite exposure. Am J Respir Crit Care Med 2001 ; 164 : 65-71
9. **Douwes J, van der Sluis B, Doekes G** et al. Fungal extracellular polysaccharides in house dust as a marker for exposure to fungi: relations with culturable fungi, reported home dampness, and respiratory symptoms. J Allergy Clin Immunol 1999 ; 103 : 494-500
10. **Eggleston PA, Rosenstreich D, Lynn H** et al. Relationship of indoor allergen exposure to skin test sensitivity in inner-city children with asthma. J Allergy Clin Immunol 1998 ; 102 : 563-570
11. **Gergen PJ, Turkeltaub PC**. The association of individual allergen reactivity with respiratory disease in a national sample: data from the second National Health and Nutrition Examination Survey, 1976-80 (NHANES II). J Allergy Clin Immunol 1992 ; 90 : 579-588
12. **Gravesen S**. Fungi as a cause of allergic disease. Allergy 1979 ; 34 : 135-154
13. **Halonen M, Stern DA, Lohman C** et al. Two subphenotypes of childhood asthma that differ in maternal and paternal influences on asthma risk. Am J Respir Crit Care Med 1999 ; 160 : 564-570
14. **Jacob B, Ritz B, Gehring U** et al. Indoor exposure to molds and allergic sensitization. Environ Health Perspect 2002 ; 110 : 647-653
15. **Janson C, Anto J, Burney P**, et al. The European Community Respiratory Health Survey: what are the main results so far? European Community Respiratory Health Survey II. Eur Respir J 2001 ; 18 : 598-611
16. **Lau S, Illi S, Sommerfeld C** et al. Early exposure to house-dust mite and cat allergens and development of childhood asthma: a cohort study. Multicentre Allergy Study Group. Lancet 2000 ; 356 : 1392-1397
17. **Bornehag CG, Sundell J, Bonini S,** et al. Dampness in buildings as a risk factor for health effects, EUROEXPO: a multidisciplinary review of the literature (1998-2000) on dampness and mite exposure in buildings and health effects. Indoor Air 2004, 14, 243-257
18. **Mitakakis TZ, McGee P**. Reliability of measures of spores of *Alternaria* and pollen concentrations in air over two towns in rural Australia. Grana 2000 ; 39 : 141-145

19. **Belanger K, Beckett Wm, Triche E,** et al. Symptoms of wheeze and persistent cough in the first year of life: association with indoor allergens air contaminants and maternal history of asthma. Am J Epidemiol 2003, 158, 195-202
20. **Gent JF, Ren P, Belanger K,** et al. Levels of household mold associated with respiratory symptoms in the first year of life in a cohort at risk for asthma. Environ Health Perspect 2002, 110, A781-A786
21. **Nolard N, Beguin H**. Moisissures. Traité d'allergologie . D. Vervloet. Ed Flammarion 2003.
22. **O'Hollaren MT, Yunginger JW, Offord KP** et al. Exposure to an aeroallergen as a possible precipitating factor in respiratory arrest in young patients with asthma. N Engl J Med 1991 ; 324 : 359-363
23. **Peat JK, Dickerson J, Li J**. Effects of damp and mould in the home on respiratory health: a review of the literature. Allergy 1998 ; 53 : 120-128
24. **Ren P, Jankun TM, Belanger K**, et al. The relation between fungal propagules in indoor air and home characteristics. Allergy 2001 ; 56 : 419-424
25. **Verhoeff AP, van Strien RT, van Wijnen JH** et al. Damp housing and childhood respiratory symptoms: the role of sensitization to dust mites and molds. Am J Epidemiol 1995 ; 141 : 103-110
26. **Williamson IJ, Martin CJ, McGill G** et al. Damp housing and asthma: a case-control study. Thorax 1997 ; 52 : 229-234
27. **Zureik M, Neukirch C, Leynaert B** et al. Sensitisation to airborne moulds and severity of asthma: cross sectional study from European Community respiratory health survey. Bmj 2002 ; 325: 411-414
28. **Greenberger PA.** Allergic bronchopulmonary aspergillosis. J Allergy Clin Immunol 2002, 110, 685-92.
29. **Penard-Morand C**, **Charpin D, Raherison C** et al. Long term exposure to background air pollution related to respiratory and allergic health in schoolchildren. Clin Exp Allergy, 2005, 35, 1279-1287
30. **American Thoracic Society**. Respiratory health hazards in agriculture. Am J Respir Crit Care Med, 1998 ; *158* : S1-S76.
31. **Ando M, Arima K, Yoneda R, Tamura M**. Japanese summer-type hypersensitivity pneumonitis. Am Rev Respir Dis, 1991 ; *144* : 765-769.
32. **Barrowcliff DF, Arblaster PG**. Farmer's lung: a study of early acute fatal case. Thorax, 1968 ; *23* : 490.
33. **Bertorelli G, Bocchino V, Olivieri D**. Hypersensitivity pneumonitis. Eur Respir Mon, 2000 ; *14* : 120-136.
34. **Bouchard S, Morin F, Bedard E,** et al. Farmer's lung and variables related to the decision to quit farming. Am J Respir Crit Care Med, 1995 ; *152* : 997-1002.
35. **Bourke S, Dalphin JC, Boyd G**, et al. Hypersensitivity pneumonitis: current concepts. Eur Respir J , 2001 ; *32* : 81-92.
36. **Catilina P, Roure-Mariotti MC**. Médecine et risque au travail. Ed Masson.Paris, 2002.693 pp.
37. **Cormier Y, Belanger J**. Long-term physiologic outcome after acute farmer's lung. Chest, 1985 ; *87 :* 796-800.
38. **Cormier Y, Tremblay GM, Fournier M, Assayag EI**. Longterm viral enhancement of lung response to *Saccharopolyspora rectivirgula*. Am J Respir Crit Care Med, 1994 ; *149* : 490-494.
39. **Dakhama A, Hegele RG, Laflamme G**, et al. Common respiratory viruses in lower airways of patients with acute hypersensitivity pneumonitis. Am J Respir Crit Care Med, 1999 ; *15* : 1316-1322.
40. **Dalphin JC, Debieuvre D, Pernet D**, et al. Prevalence and risk factors for chronic bronchitis and farmer's lung in French dairy farmers. Br J Ind med,1993 ; *50* : 941-944.
41. **Dalphin JC**. La maladie du poumon de fermier. Nouveaux visages et concepts actuels. Rev Fr Allergol Immunol Clin, 2001 ; *41* : 245-252.
42. **Dalphin JC.** Les alvéolites allergiques extrinsèques en milieu professionnel. In : Martinet **Anthoine D, Petiet G** Y, (eds). Les maladies respiratoires d'origine professionnelle. Paris, Masson 2ème édition, 1999 : 93-103.

43. **Erkinjuntti-Pekkanen R, Reiman M, Kokkarinen JI**, et al. IgG antibodies, chronic bronchitis, and pulmonary function values in farmer's lung patients and matched controls. Allergy, 1999 ; *54* : 1181-1187.
44. **Kaltreider HB, Caldwell JL, Adam E**. The fate and consequence of an organic particulate antigen instilled into bronchoalveolar spaces of canine lungs. Am Rev Respir Dis, 1977 ; *116* : 267-280.
45. **Kaukonen K, Savolainen J, Viander M, Terho EO.** avidity of *Aspergillus umbrosus* IgG antibodies in farmer's lung disease. Clin Exp Immunol, 1994 ;*95 :* 162-165.
46. **Kotimaa MH, Husman KH, Terho EO, Mustonen MH**. Airborne molds and actinomycetes in the work environment of farmer's lung patients in Finland. Scand J work Environ Health, 1984 ; *10* : 115-119.
47. **Lacasse Y, Selman M, Costabel U**, et al. Clinical diagnosis of hypersensitivity pneumonitis. Am J Respir Crit Care Med.2003 ; *16* : 952-958.
48. **Lappalainen S, Pasanen AL, Reiman M, Kalliokoski P**. Serum IgG antibodies against *Wallemia sebi* and *Fusarium species* in Finnish farmers. Ann Allergy Asthma Immunol, 1998 ; *81* : 585-592.
49. **Malmberg P, Rask-Andersen A, Höglund S**, et al. Incidence of organic dust toxic syndrome and allergic alveolitis in Swedish farmers. Int Arch Allergy Appl Immunol, 1988 ; *8 7* :47-54.
50. **Malmberg P, Rask-Andersen A, Rosenhall L**. Exposure to microorganisms associated with allergic alveolitis and febrile reactions to mold dust in farmers. Chest, 1993 ; *103* : 1202-1209.
51. **McGavin C.** Farmer's lung after *Mycoplasma pneumoniae* infection. Thorax, 1986 ; *4 1* :68-69.
52. **McGrath DS, Kiely J, Cryan B, Bredin CP**. Farmer's lung in Ireland (1983-1996) remains at a constant level. Ir J Med Sci, 1999 ; *168* : 21-24
53. **Mizobe T, Ando M, Yamasaki H**, et al. Purification and characterization of the serotype-specific polysaccharide antigen of *Trichosporon cutaneum* serotype 11. Clin Exp Allergy, 1995 ; *25* : 265-272.
54. **Molina C, Brun J, Caillaud D**. Alvéolites allergiques extrinsèques. 1992, Charpin J. In Allergologie : 857-873.
55. **Molina C. Alvéolites allergiques. In: Molina C.** Immunopathologie broncho-pulmonaire, Paris, Masson, 1984 : 55-143.
56. **Mönkäre S, Haahtela T**. Farmer's lung-a 5-year follow-up of eighty-six patients. Clin Allergy, 1987; *17* : 143-151.
57. **Nakagawa-Yoshida K, Ando M, Etches RI, Dosman JA**. Fatal cases of farmer's lung in a Canadian family. Probable new antigens, *Penicillium brevicompactum* and *P. olivicolor.* Chest, 1997 ; *111* : 245-258.
58. **Reboux G, Piarroux R, Mauny F,** et al. Role of molds in farmer's lung disease in Eastern France. Am J Respir Crit Care Med, 2001 ; *163* : 1534-1539.
59. **Riley DT, Saldana M**. Pigeon breeder's lung: subacute course and the importance of indirect exposure. Am Rev Respir Dis, 1973 ; *107* : 456-460.
60. **Roche G, Aiache JM, Tourreau A, Molina C**. L'oedème pulmonaire des alvéolites allergiques extrinsèques. Cah Med, Lyon, 1977 ; *3*: 6 47.
61. **Rose C.** Hypersensitivity pneumonitis. In: Harber P, Schenker MB, Balmes JR (eds). Occupational and environmental respiratory disease. St Louis, Mosby, 1996 : 201-215.
62. **Salvaggio JE**. Inhaled particles and respiratory disease. J Allergy Clin Immunol, 1994 ;*94* : 304-309.
63. **Selman M, Chapela R, Raghu G.** Hypersensitivity pneumonitis: clinical manifestations, pathogenesis, diagnosis and therapeutic strategies. Sem Resp Med, 1993 ; *14* : 353-364.
64. **Selman M, Vargas MH**. Airway involvement in hypersensitivity pneumonitis. Cur Opin in Pulm Med, 1998 ; *4* :9-15.
65. **Tao BG, Shen YE, Chen GX** et al. An epidemiology study on farmer's lung among hay grinders in Dafeng county. Biomed Environ Sci,1988 ; *1* : 13-18.

66. **Terho EO, Heinonen OP, Lammi S.** Incidence of farmer's lung leading to hospitalization and its relation to meteorological observations in Finland. Acta Med Scand, 1983 ; *213* : 295-298.
67. **Wan GH, Li CS, Lin RH**. Airborne endotoxin exposure and the development of airway antigen-specific allergic responses. Clin Exp Allergy, 2000 ; *30* : 426-432.
68. **Alberti C, Bouakline A, Ribaud P, Lacroix C, Rousselot P, Leblanc T, Derouin F**. Relationship between environmental fungal contamination and the incidence of invasive aspergillosis in haematology patients. J Hosp Infect 2001 ; 48 : 198-206.
69. **Anaissie EJ, Stratton SL, Dignani MC, Summerbell RC, Rex JH, Monson TP, Spencer T, Kasai M, Francesconi A, Walsh TJ**. Pathogenic Aspergillus species recovered from a hospital water system: a 3-year prospective study. Clin Infect Diseases 2002 ; 34 : 780-789.
70. **Arnow PM, Sadigh M, Costas C, Weil D, Chudy R**. Endemic and epidemic aspergillosis associated with in-hospital replication of Aspergillus organisms. J Infect Diseases 1991 ; 164 : 998-1002.
71. **Beguin H**, Mould biodiversity in homes. II. Analysis of mattress dust. Aerobiologia 1995 ; 11 : 3-10.
72. **Beguin H, Nolard N**. Mould biodiversity in homes. I. Air and surface analysis of 130 dwellings. Aerobiologia 1994 ; 10 : 157-166.
73. **Beguin H, Nolard N.** Prevalence of fungi in carpeted floor environment: analysis of dust samples from living-rooms, bedrooms, offices and school classrooms. Aerobiologia 1996 ; 12(2) : 113-120.
74. **Bouakline A, Lacroix C, Roux N, Gangneux JP, Deroin F**. Fungal contamination of food distributed to neutropenic patients. In : 39th ICAAC, San Francisco, CA (Abstract 972), 560, 1999.
75. **Bouakline A, Lacroix C, Roux N, Gangneux JP, Derouin F**. Fungal contamination of food in hematology units. J Clin Microbiol. 2000 ; **38** : 4272-4273.
76. **Cahill BC, Hibbs JR, Savik K, Juni BA, Dosland BM, Edin-Stibbe C, Hertz MI**. Aspergillus airway colonization and invasive disease after lung transplantation. Chest 1997 ; 112: 1160-1164.
77. **Cimon B, Carrère J, Chazalette JP, Giniès JL, Six P, Chabasse D, Bouchara JP**. Fungal colonization and immune response to fungi in cystic fibrosis. J Mycol Méd 1995 ; **5** : 211-216.
78. **Cimon B, Symoens F, Zouhair R, Chabasse D, Nolard N, Defontaine A, Bouchara JP.** Molecular epidemiology of airway colonisation by *Aspergillus fumigatus* in cystic fibrosis patients.J Med Microbiol. 2001 ; 50 : 367-74.
79. **De Bock R, Gyssens I, Peetermans M, Nolard N.** Aspergillus in pepper. The Lancet 1989 ; 2 : 331-332.
80. **Denning DW.** Invasive aspergillosis. Clin Infect Diseases 1998 ; 26 : 781-805.
81. **Heinemann S, Nolard N**. Fungal thermotolerant flora in Belgian hospitals. Mycoses 2002 ; 25 (S 2) : 23.
82. **Nolard N.** Les liens entre les risques d'aspergillose et la contamination de l'environnement. Path Biol 1994 ; 42(7) : 706-710.
83. **Ott M. Price EH, Jones R, Groombridge S, Hoffman PN**. Risk to immune suppressed patients from Aspergillus spp. growing in fridge condensate trays. J Hosp Infect 2002 ; 52 : 72-75.
84. **Ribaud P, Chastang C, Latgé JP, Baffroy-Lafitte L, Parquet N, Devergie A, Esperou H, Selimi F, Rocha V, Esperou H, Selimi F, Rocha V, Derouin F, Socie G, Gluckman E.** Survival and prognostic factors of invasive aspergillosis after allogeneic bone marrow transplantation. Clin Infect Dis 1999 ; 28 : 322-330.
85. **Staib F, Tompak B, Thiel D, Blisse A.** Aspergillus fumigatus and Aspergillus niger in two ornemental potted plants, cactus (Epiphyllum truncatum) and Clivia (Clivia miniata), biological and epidemiological aspects. Mycopathologia 1978 ; 66 : 27-30.
86. **Summerbell RC, Krajden S, Kane J**. Potted plants in hospitals as reservoirs of pathogenic fungi. Mycopathologia 1989 ; 106 : 13-22.
87. **Symoens F, Bertout S, Piens MA, Burnod J, Renaud F, Nolard N, Chapuis F, Grillot R;** EBGA [European Group for Research on Biotypes and Genotypes of Aspergillus fumigatus] Network.A

longitudinal study of lung transplant recipients infected with Aspergillus: genetic polymorphism of A. fumigatus.J Heart Lung Transplant. 2001 ; 20 : 970-978.
88. **Thio CL, Smith D, Mertz WG, Streifel AJ, Bova G, Gay L, Miller CB, Perl TM.** Refinements of environmental assessment during an outbreak investigation of invasive aspergillosis in a leukemia and bone marrow transplant unit. Infect Contr Hosp Epidemiol 2000 ; 21 : 18-23.
89. **Vermorel-Faure O, Lebeau B, Mallaret MR, Michallet M, Brut A, Ambroise-Thomas P, Grillot R.** Risque fongique alimentaire au cours de l'agranulocytose. Contrôle mycologique de 273 aliments proposés à des malades hospitalisés en secteur stérile. Presse Méd 1993 ; 22: 157-160.
90. **Walsh TJ, Dixon DM**. Nosocomial aspergillosis: environmental microbiology, hospital epidemiology, diagnosis and treatment. Eur J Epidemiol 1989 ; 5: 131-142.
91. **Weems JJ, Davis BJ, Tablan OC, Kaufman L, Martone WJ.** Construction activity: an independent risk factor for invasive aspergillosis and zygomycosis in patients with hematologic malignancy. Infect Control 1987 ; 8 : 71-75.
92. **Bourke S, Dalphin JC, Boyd G**, et al. Hypersensitivity pneumonitis : current concepts. Eur respir J, 2001 ; *32* : 81-92
93. **Hendrick DJ, Sherwood Burge P, Beckett WS, Churg A**. Occupationnal disorders of the lung.Ed. Saunders, London. 2002. 638 pp.
94. **Kotimaa MH, Husman KH, Terho EO, Mustonen MH**, Airborne molds and actinomycetes in the work environnement of farmer's lung patients in Finland, Scand J work Environ Health, 1984 ; *10* : 115-119
95. **Malmberg P, Rask-Andersen A**. Organic dust toxic syndrome. Sem Resp Med, 1993 ; *14* : 38-48.
96. **Rask-Andersen A, Malmberg P**. The organic dust toxic syndrome in Swedish farmers; symptoms, clinical findings and exposure in 98 cases. Am J Ind Med 1990 ; *17* : 116-117.
97. **Von Essen S, Robbins RA, Thompson AB, Rennard SI**. Organic Dust Toxic Syndrome: an acute febrile reaction to organic dust exposure distinct from hypersensitivity pneumonitis. J Toxicol Clin Toxicol, 1990 ; *28 :* 389-420.
98. **American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH),** 1999. *Bioaerosols : assessment and contro*l. Publication 3180. Janet Macher Editor. 526 p.
99. **Beijer L, Thorn J, et R Rylander**, 2002.Effect after inhalation of (1-3) –beta-D-glucan and relation to mould exposure in the home. *Mediat Inflamm* 11 : 149-153.
100. **Chew GL, Douwes J, Doekes G, Higgins KM, van Strien R, Spithoven J, et B Brunekreef,** 2001. Fungal extracellular polysaccharides, beta (1-3) glucans and culturable fungi in reapeted sampling of house dust. *Indoor Air* 11 : 171-8.
101. **Douwes J, Doekes G, Heinrich J, Koch A, Bischof W, et B Brunekreef,** 1998. Endotoxin and Beta (1-3) glucan in house dust and relation with home characteristics: a pilot study in 25 German houses. *Indoor Air* 8 : 225-263.
102. **Foto M, Plett J, Berghout J et J David Miller**, 2004. Modification of the *Limulus amebocyte* lysate assay for the analysis of glucan in indoor environments. *Anal Bioanal Chem* 379 : 156-162.
103. **Gehring U, Douwes J, Doekes G** *et al* 2001, Beta (1-3) glucan in house dust of German homes: housing characteristics, occupant behavior, and relations with endotoxins, allergens and molds. *Environ Health Perspect* 109 : 139-144.
104. **Heldal KK, Halstensen AS, Thorn J, Eduard W et TS Halstensen,** 2003. Airway inflammation in waste handlers exposed to bioaerosol assessed by induced sputum. *Eur Respir J* 21 : 641-5.
105. **Hyvärinen A,** 2002. Characterizing moisture damaged buildings environmental and biological monitoring. Thesis. *Kuopio University*, Kuopio Finland. 121p.
106. **Rylander R,** 1997.Airborne (1-3)-beta-D-glucan and airway disease in a day-care center before and after renovation. *Arch Environ Health* 52 (4) : 281-5.

107. **Rylander R, Norrhall M, Engdahl U Tunsater A et PG Holt**, 1998. Airways infalammation, atopy, and (1-3)-beta-D-glucan exposures in two schools. *Am J Respir Crit Care Med* 158 (5Pt1) : 1685-7.
108. **Rylander R, Persson K, Goto H, Yuasa H et S Tanaka,** 1992. Airborne beta-1,3 glucan may be related to symptoms in sick buildings. *Indoor Environ* 1 : 263-267.
109. **Thorn J et R Rylander,** 1998. Airways inflammation and glucan in a rowhouse area. *Am J Respir Crit Care Med* 157 : 1798-1803.

110. **American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH)** (1999). Bioaerosols: assessment and control. Publication 3180. Janet Macher Editor. 526 p.
111. **Fischer G., Schwalbe R., Möller M., Ostrowski R., Dott W.** (1999). "Species-specific production of microbial volatile organic compounds (MVOC) by airborne fungi from a compost facility." *Chemosphere* **39** (5) : 795-810.
112. **Gravesen S., Frisvad J. C.,** *et al. (1994). Microfungi. Copenhagen, Munksgaard.*
113. **Hempel-Jorgensen A., Kjaergaard S.K., Molhave L. et Hudnell K. H.** 1999. "Sensory eye irritation in humans exposed to mixtures of volatile organic compounds". *Arch Environ Health*, 54 (6). Pp. 416-424
114. **Korpi A., Kasanen J.-P., Alarie Y., Kosma V.-M. et Pasanen A.-L.** (1999). Sensory irritating potency of some microbial volatile organic compounds (MVOCs) and a mixture of five MVOCs". *Arch Environ Health*, 54(5). pp. 347-52.
115. **Korpi A., Pasanen A.-L., Pasanen P., Kalliokoski P.** (1997). "Microbial growth and metabolism in house dust." *International Biodeterioration & Biodegradation* 40 (1). pp.19-27.
116. **Schmidt-Etkin D.** (1994). "Biocontaminants in indoor environments." Indoor air quality update. pp. 23-35.
117. **Smith T.A. et Lumley K.P.** (1996). "Work-related asthma in a population exposed to grain, flour and other ingredient dusts. Occup Med (London), 46 (1). pp. 37-40
118. **Ström G., Palmgreen U., Wessén B., Hellström B., Kumlin A.** (1990). "The sick building syndrome - An effect of microbial growth in building construction?" Indoor Air 1 : pp.173-178.
119. **Ström G., West J., Frisvad J.C., Wessén B., Palmgren B.** (1994). Quantitative analysis of microbial volatiles in damp swedish houses. Health implications of fungi in indoor environments. R.A. Samson and B. F. e. al. Amsterdam, Elsevier. 2 : 291-305.
120. **Verhoeff A. P. and Burge H. A.** (1997). "Health risk assessment of fungi in home environments." Annals of Allergy, Asthma & Immunology 78: pp. 544-556.
121. **Wilkins K.** (2002). "Microbial VOC (MVOC) in buildings, their properties and potential use" *in* Proceedings Indoor Air 2002, pp. 431-436.
122. **American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH),** 1999. *Bioaerosols : assessment and contro*l. Publication 3180. Janet Macher Editor. 526 p.
123. **Dearborn DG, Smith PG, Dahms BB, Allan TM, Sorenson WG, Montana E, Etzel RA**, 2002**.** Clinical profile of 30 infants with acute pulmonary hemorrhage in Cleveland. *Pediatrics*, 110, 627-37.
**124. Elidemir** O, Colasurdo GN, Rossmann SN, et LL Fan,1999. Isolation of *Stachybotrys* from the lung of a child with pulmonary hemosiderosis. *Pediatrics*,104(4 Pt 1) : 964-6.
125. **Etzel,** 2002. Clinical profile of 30 infants with acute pulmonary hemorrhage in Cleveland. Pediatrics, 110(3) : 7-37.
126. **Etzel, R.A**, 2002. Mycotoxins. *JAM*A, 287(4) : 425-427.
127. **Gordon K.E., Masotti R.E. et Waddell W.R.** 1993. Tremorgenic encephalopathy: a role of mycotoxins in the production of CNS disease in humans? *Can J Neurol Sc*i, 20(3) : 237-9.
128. **Hendry K.H. et Cole E.C.** 1993. A review of mycotoxins in indoor air. *J Toxicol Environ Healt*h, 38(2) : 183-98.

129. **Hossain M.A., Ahmed M.S. et Ghannoum M.A.** 2004. Attributes of *Stachybotrys chartarum* and its association with human disease. Allergy Clin Immunol, 113(2) : 200-9.
130. **Husman T.** 1996. Health effects of indoor-air microorganisms. Reviews. *Scand J Work Environ Healt*h, 22(1) : 5-13.
131. **Institut National de Santé Publique du Québec** (INSPQ), 2002. Les risques à la santé associés à la présence de moisissures en milieu intérieur.
132. **Jarvis B.B.** 2002. Chemistry and toxicology of molds isolated from water-damaged buildings. Adv Exp Med Biol,504 : 43-52.
133. **Korpi A., Kasanen J.-P., Alarie Y., Kosma V.-M. et Pasanen A.-L.** 1999. Sensory irritating potency of some microbial volatile organic compounds (MVOCs) and a mixture of five MVOCs. *Arch Environ Healt*h, 54(5) : 347-52.
134. **Kuhn D.M. et Ghannoum M.A.** 2003. Indoor mold, toxigenic fungi, and Stachybotrys chartarum: infectious disease perspective. Clin Microbiol Rev, 16(1) : 144-72.
135. **Lee M.G., Li S., Jarvis B.B. et Pestka J.J.,** 1999. Effects of satratoxins and other macrocyclic trichothecenes on IL-2 production and viability of EL-4 thymoma cells. *J Toxicol Environ Healt*h, 57(7) : 459-74.
136. **Lougheed M.D., Roos J.O., Waddell W.R. et Munt P.W.** 1995. Desquamative interstitial pneumonitis and diffuse alveolar damage in textile workers : potential role of mycotoxins. *Ches*t, 108(5) : 1196-1200.
137. **Mason C.D., Rand T.G., Oulton M., MacDonald J.M. et Scott J.E.** 1998. Effects of *Stachybotrys chartarum* (atra) conidia and isolated toxin on lung surfactant production and homeostasis. *Nat Toxin*s, 6(1) : 27-33.
138. **Miller JD, Rand TG, et Jarvis B.B.** 2003. *Stachybotrys chartarum*: cause of human disease or media darling? Med Mycol; 41(4) : 271-91.
139. **Nikulin M., Reijula K., Jarvis B.B. et Hintikka E.L.** 1996. Experimental lung mycotoxicosis in mice induced by *Stachybotrys atr*a. *Int J Exp Patho*l, 77(5) : 213-18.
140. **Nikulin M., Reijula K., Jarvis B.B., Veijalainen P. et Hintikka E.L.** 1997. Effects of intranasal exposure to spores of *Stachybotrys atra* in mice. *Fundam Appl Toxico*l, 35(2) : 182-88.
141. **Norn S.** 1994. Microorganism-induced or enhanced mediator release : a possible mechanism in organic dust related diseases. *Am J Ind Me*d, 25(1) : 91-5.
142. **Rieman H. et Bryan F.L.** 1979. *Food-borne infections and intoxication*s, 2 nd Edition. Academic Press.
143. **Robbins C.A., Swenson L.J., Neally M.L., Gots R.E. et Kelman B.J.** 2000. Health effects of mycotoxins in indoor air: a critical review. *Appl Occup Environ Hy*g, 15(10) : 773-84.
144. **Shahan T.A., Sorenson W.G. et Lewis D.M.** 1994. Superoxide anion production in response to bacterial lipopolysaccharide and fungal spores implicated in organic dust toxic syndrome. *Environ Re*s, 67(1) : 98-107.
145. **Sobotka T.J., Brodie R.E. et Spaid S.L.** 1978. Neurobehavioral studies of tremorgenic mycotoxins verruculogen and penitrem A. *Pharmacolog*y, 16(5) : 287-94.
146. **Terr A.I**. 2001. *Stachybotrys*: relevance to human disease. Ann Allergy Asthma Immunol;87(6 Suppl 3) : 57-63.
147. **Vesper S.J., et Vesper M.J.** 2002. Stachylysin may be a cause of hemorrhaging in humans exposed to *Stachybotrys chartarum.* Infect Immun,70(4) : 2065-9.

# CHAPITRE V. DIAGNOSTICS, PREVENTION ET TRAITEMENT

## A. INTRODUCTION

Un logement insalubre est un logement malsain et donc peut altérer la santé de ses occupants.
La loi Solidarité, Renouvellement Urbain (SRU) a, en particulier, modifié et précisé certains articles du Code civil en introduisant la notion de logement décent, lorsqu'il s'agit d'une habitation principale (article 1719 du Code civil). Ce logement décent, outre qu'il comporte un certain nombre d'éléments d'équipement, ne doit pas laisser " apparaître de risques manifestes pouvant atteindre à la sécurité physique ou la santé…". La loi SRU fait donc entrer l'insalubrité dans la loi sans pour autant la définir précisément. D'une façon générale, ce sont des critères techniques qui entrent dans l'identification et la cotation de l'insalubrité : mauvaise ventilation, éclairage insuffisant, car on sait qu'ils ont des répercussions sur la santé.
Les moisissures ne sont pas notées explicitement comme critères d'insalubrité, sans doute parce qu'elles sont la conséquence de désordres techniques chroniques ou accidentels. Il faut également admettre que l'évaluation de l'insalubrité engendrée par le développement intempestif de moisissures repose essentiellement sur des critères sensoriels - donc considérés comme subjectifs - et non sur des critères mesurables d'une façon objective.

Il est donc important de considérer les facteurs permettant de trouver des critères objectifs pour déterminer le degré d'insalubrité provoqué par le développement de moisissures dans les ambiances intérieures. Dans un deuxième temps, les moyens de prévention et de traitement des contaminations mycéliennes seront abordés.

## B. RECHERCHE DE CRITERES

Une partie des facteurs en relation avec le développement des moisissures est décelée dès l'entrée dans le logement considéré.

### 1. Le ressenti d'humidité

➢ Cette sensation est souvent notée dans les maisons laissées fermées pendant une longue période (l'hiver par exemple pour une résidence secondaire). Ressentie dans un logement habité en permanence, elle est le signe évident d'une ventilation insuffisante et à ce titre, devient un indicateur de risque d'insalubrité.
Ce ressenti d'humidité peut être un signal d'alerte d'un dégât des eaux non décelé (fuite d'eau en sous-sol, inondation,…) et doit donc être considéré avec attention.
L'humidité est, comme cela a été rappelé au chapitre II l'un des principaux facteurs qui favorisent le développement de moisissures sur/dans les supports qui leur sont offerts. L'examen technique du logement et de ses annexes (vide sanitaire, caves, sous-sol,…) permettra de l'évaluer d'une manière objective.
L'environnement immédiat peut également être à l'origine de ce ressenti en raison de l'imprégnation chronique des murs (par exemple écoulement des eaux superficielles perturbé par des contre-pentes, …).

➢ Ce ressenti subjectif peut être transformé en critère objectif par la mesure de l'hygrométrie relative de l'ambiance dans les conditions habituelles d'occupation. Le chapitre II indique les techniques utilisables et la prudence avec laquelle les mesures doivent être mises en œuvre et interprétées.

## 2. Le facteur odeur

➢ Dès l'entrée dans un logement contaminé d'une manière massive et extensive par des moisissures, l'enquêteur peut ressentir une odeur intense de « moisi » qui disparaîtra après un séjour de quelques minutes dans l'habitat par effet de masque bien connu. Souvent considérée comme une détérioration du confort offert aux usagers, l'odeur de moisi de l'ambiance intérieure, des vêtements,… est évidemment désagréable. Fréquemment corollaire du ressenti d'humidité, elle est aussi à ce titre un indicateur de risque d'insalubrité. Elle permet également de suspecter une infestation par des moisissures peu visibles (à l'arrière de meubles, sous un matelas,…).

La plupart des moisissures émettent des composés organiques volatils (COVm) plus ou moins spécifiques de l'espèce. Les COVm sont des substances à potentialités irritatives au même titre que les COV habituellement recherchés par les chimistes en chimie organique. Leur manque de spécificité est sans doute une des causes de leur non reconnaissance comme facteur d'insalubrité (cf. chap. III et IV). Certains chercheurs ont tenté d'utiliser ce facteur odeur en employant des chiens renifleurs spécialement dressés à la détection de contaminants fongiques (**6**).

➢ L'odeur a été utilisée comme détecteur de qualité globale d'ambiance par un chercheur danois, le Pr. Ole Fanger. Il a introduit la notion d'OLF (de olfactif), il y a quelques années (**3**). Selon sa théorie, une personne « standard » crée 1 OLF de bio-effluents. Les autres sources sont également quantifiées en unités OLFS et ajoutées aux bio-effluents. Il en déduit des taux de ventilation pour obtenir une bonne qualité de l'air. Naturellement ce raisonnement n'est acceptable que si aucune source de composé toxique telle que le monoxyde de carbone (inodore par essence) n'est présente. Cependant, l'important est que dans des locaux à pollution non spécifique, l'odeur est considérée comme un indicateur d'insalubrité.

➢ D'autres chercheurs (**4**) ont tenté de trouver les COVm spécifiques de la contamination fongique parmi la multitude des COV présents dans les ambiances intérieures. Mais ces recherches ne portent généralement que sur un groupe particulier et non sur la flore fongique globale.

## 3. Le facteur visuel

➢ La présence visible de moisissures a de tous temps été considérée comme l'indication d'un logement mal entretenu. C'est le cas en particulier des contaminations de joints de carrelage ou de baignoire observées fréquemment dans les salles de bains. Les usagers ont quelques difficultés à parler de cette question à autrui et utilisent souvent des subterfuges pour éviter la vision des taches de moisissures (utilisation de masques en carton, de meubles,…). Cela a pour effet de provoquer une amplification du problème à plus ou moins long terme.

Il a fallu attendre une vingtaine d'années pour que la présence visuelle de moisissures soit considérée comme un risque potentiel pour la santé.

Comment peut on transformer un élément éminemment subjectif (aspect visuel) en facteur d'insalubrité ?

***Le développement extensif de moisissures est un signe d'humidité excessive et donc d'insalubrité.***

Ce désordre peut avoir des causes techniques liées éventuellement à des facteurs individuels.

Il est relativement facile de déterminer les facteurs techniques par une visite approfondie des lieux en s'aidant d'un questionnaire – type, tel que présenté en annexe et d'en tirer des données objectives (chapitre II). Cette visite est essentielle car elle permet à la fois de détecter les sources et de prendre des contacts avec les occupants des locaux.

Les facteurs individuels sont beaucoup plus difficiles à mettre en évidence car ils font partie de la vie privée. Pourtant le comportement inadéquat des occupants et/ou leur mode de vie peuvent à plus ou moins long terme créer les conditions favorables au développement fongique dans un local où les conditions initiales d'habitabilité étaient tout à fait satisfaisantes. Le prix toujours plus élevé de l'énergie, la meilleure isolation des logements, la médiatisation de la pollution atmosphérique, conduisent parfois les usagers à des excès (calfeutrage des ouvrants, absence d'ouverture régulière des fenêtres, obturation des dispositifs de ventilation,…). Seuls des enquêteurs bien rôdés à ce type de problématique pourront être à même de démêler ce qui est dû à des problèmes techniques ou de structure, de ce qui est dû à des comportements individuels.

***Il est pertinent de quantifier la contamination***

- **Prise en compte de la surface contaminée**

Il semble évident *a priori* que le risque d'insalubrité grandit avec l'importance de la contamination. Un joint de baignoire contaminé n'est pas une cause d'insalubrité.

Différents organismes (**5**), (**7**), (**9**) ont déjà élaboré une démarche utilisant la surface contaminée comme critère objectif de risque pour la santé.
Dans les publications américaines et canadiennes, il s'agit d'évaluer la surface totale contaminée par les éléments fongiques, puis à partir d'une grille parfaitement codifiée, d'en déduire les mesures à prendre en matière de protection du personnel et de l'environnement (Tableau I).
Ce type de raisonnement est adapté aux conditions d'hygiène en milieu de travail mais peut être repris comme critère d'insalubrité dans la mesure où l'on considère que le risque pour la santé des usagers varie en fonction de l'importance de la contamination. Certes, les personnels sont présumés en bonne santé, ce qui n'est pas toujours le cas des usagers des logements ; par contre, ils séjournent moins longtemps dans des locaux contaminés que les habitants et sont exposés de par les travaux qu'ils mettent en œuvre à une contamination plus élevée.

Cette mesure des surfaces contaminées serait assez simple à effectuer par des enquêteurs formés et d'acceptation facile pour tout un chacun.

Tableau 10~~10~~ : Critères d'évaluation des surfaces contaminées par des moisissures *Source : OMS (2004)*

| Surface contaminée | Evaluation |
|---|---|
| < 0,3 m² | Faible contamination |
| 0,3 m² - 3 m² | Contamination moyenne |
| > 3 m² | Contamination élevée |

Cependant, la prise en compte de la seule surface contaminée n'est pas totalement satisfaisante

- **D'autres facteurs à considérer**

♦ *Les caractéristiques qualitatives des moisissures*

Toutes les moisissures n'ont pas les mêmes caractéristiques, que ce soit sur le plan des substances qu'elles élaborent ou de leurs potentialités émissives.

Certaines d'entre elles ont des potentialités allergisantes et/ou toxiques que le seul aspect visuel ne permet pas de détecter (chap IV - Tab. IX). Le degré d'insalubrité du local serait alors minoré, si leur isolement par les moyens appropriés et la détermination de leurs potentialités ne sont pas mis en œuvre et cela, bien que les contaminants forment une biocénose dont on ne connaît que peu les effets synergiques ou antagonistes.
Il reste que les potentialités allergisantes et/ou toxiques sont des qualités intrinsèques des spores et du mycélium fongiques des souches isolées. Elles ne disparaissent pas dès que l'humidité a disparu et que l'extension de la contamination a été stoppée. L'éradication aussi complète que possible des propagules (spores, fragments) fongiques est donc impérative par les moyens appropriés.

Les moisissures n'ont pas non plus les mêmes potentialités émissives. Celles dont les spores sont de très faible dimension (*Aspergillus fumigatus*) diffusent rapidement dans l'environnement et pénétrent profondément dans l'arbre respiratoire humain. Les spores de grande taille, de densité élevée ou ayant des caractéristiques particulières de surface (humidité plus ou moins grande), ont quant à elles, tendance à sédimenter rapidement (**1**), (**10**).

♦ *La localisation des taches de moisissures*

La localisation des taches de moisissures à hauteur des voies respiratoires d'adultes ou surtout d'enfants, constitue un facteur aggravant. Le simple passage à leur proximité permet par turbulence de l'air, l'envol de milliers de spores, entraînant immanquablement une exposition répétée des occupants.

♦ *La durée d'exposition*

La durée d'exposition est aussi à prendre en compte. Respirées à longueur de nuit dans une chambre (cas de murs contaminés près du lit, de matelas humides et fortement envahis), les spores sont directement mises en contact avec l'arbre respiratoire du dormeur ; une personne âgée qui séjourne en permanence dans son logement encourt plus de risque qu'une personne intégrée dans le monde du travail.

♦ *L'immunodéficience des personnes exposées*

En effet, l'âge des personnes exposées est également un facteur qui a été formulé dans de nombreuses publications (chapitre IV). L'allergie aux moisissures s'acquiert souvent pendant les premières années de la vie.

Il est bien établi que les personnes souffrant d'une immunodéficience médicamenteuse ou pathologique présentent des risques importants si elles sont exposées à des contaminants biologiques. L'aspergillose invasive pour laquelle le taux de mortalité est élevé, est une affection fréquente pour la population sensible. (Chapitre IV).

Ce qui précède indique que l'intégration des moisissures parmi les facteurs d'insalubrité est une évidence mais que l'évaluation objective de la situation demande une formation des enquêteurs à ce type de contaminants. L'utilisation de la grandeur des surfaces contaminées est certes nécessaire mais devrait être accompagnée de commentaires permettant d'en moduler l'importance en matière d'insalubrité, notamment en intégrant le risque lié aux personnes exposées : durée d'exposition, âge et immunodéficience.

A ce titre, les examens des questionnaires, conclusions des rapports d'enquête sur site et de mesurages ainsi que des observations faites au moment des échantillonnages sont une aide précieuse.

## C. DEFINITION DE MOYENS DE PREVENTION ET DE TRAITEMENT

La présence de moisissures dans notre environnement intérieur est habituelle car, possédant des organes polymorphes de dissémination et de survie (spores, conidies, ascospores,…), elles sont véhiculées par les mouvements d'air, par les êtres vivants et se déposent ou s'adsorbent sur tous les supports qui s'offrent à elles.

### 1. Prévention de l'insalubrité

Elle consiste à éviter que le développement mycélien ne devienne extensif.

➢ **Les deux premières clefs pour éviter les problèmes d'insalubrité dus aux moisissures sont une une lutte contre l'humidité et une ventilation adéquate .**

- La lutte contre l'humidité commence dès la construction du bâtiment; il n'est pas concevable de donner les règles de bonne pratique de construction dans un simple paragraphe. Précisons seulement qu'il s'agit de protéger le logement contre l'eau venue de l'extérieur et/ou émise à l'intérieur. Le choix des matériaux n'est pas sans incidence sur le devenir de l'état sanitaire de l'habitat parce qu' en cas de problème, les matériaux peuvent être favorables au développement mycélien (base de cellulose) ou difficilement nettoyables en raison de leur porosité (cf. chap. II).

- De nombreux textes et règlements dont le règlement sanitaire (**8**), traitent de la ventilation des locaux d'habitation. Ils indiquent à la fois des débits minimaux à respecter et les conditions d'une bonne ventilation. La ventilation par de seuls ouvrants est admise s'ils sont de dimensions suffisantes ; mais la ventilation permanente naturelle par conduit, ou mécanique, est plus efficace. Lorsqu'il s'agit

d'une ventilation mécanique donc maîtrisée, elle doit être organisée de manière à drainer l'air vicié des pièces principales (chambres, salles de séjour) vers les pièces 'humides' (salles d'eau, cuisine,…) et à apporter de l'air neuf pris à l'extérieur, autant que possible hors des sources de pollution.

- **La troisième clef est l'utilisation que font les usagers des locaux qui est également importante pour le maintien de bonnes conditions d'habitabilité.**

Rappelons que la loi sur les économies d'énergie trop bien respectée a eu pour effets pervers d'engager les habitants à étanchéifier de mieux en mieux leur logement : en corollaire, la ventilation autrefois trop importante (larges fuites au niveau des ouvrants en particulier) a subi une diminution drastique. Or les quantités de vapeur d'eau émises selon les activités (cf. Chapitre II) ne sont pas négligeables : mal éliminées par un renouvellement de l'air insuffisant, elles entraînent une augmentation de l'humidité intérieure (ambiance et supports) et offrent les conditions favorables au développement des moisissures. Le rappel des simples règles de bon sens peut suffire à maintenir le développement de moisissures à un niveau acceptable pour la santé et le confort.

## 2. Elimination des contaminants fongiques

Les moisissures qu'il convient d'éliminer des matériaux sont des microorganismes vivants et autonomes constitués de mycélium et de spores. Le mycélium s'incruste plus ou moins profondément dans l'épaisseur du matériau contaminé en fonction de la nature de celui-ci. Le plâtre et le bois sont susceptibles d'être contaminés en profondeur, les traitements de surface n'auront alors qu'une efficacité illusoire et non pérenne. Les spores sont les organes de reproduction et de dispersion du champignon ; ce sont des particules extrêmement fines très pulvérulentes susceptibles d'être véhiculées et de contaminer les personnes et d'autres matériaux sur de grandes distances.

Les mesures efficaces d'élimination des moisissures consistent à éliminer en profondeur le mycélium, à le détruire efficacement (désinfection ou incinération) et à éviter la dispersion des spores.

Les recommandations élaborées par le groupe de travail sont décrites en fonction de l'étendue des zones contaminées à traiter. Nous donnerons les grands principes du nettoyage et de la désinfection des surfaces et des matériaux avant de proposer, en fonction des matériaux contaminés et des surfaces considérés un ensemble de recommandations pratiques. Le cas des inondations sera aussi évoqué sur la base des expériences de terrain des équipes sanitaires ayant pris en charge les récentes inondations des Bouches-du-Rhône (Arles, décembre 2003).

Le protocole de décontamination a trois objectifs essentiels :

- protéger la santé des occupants,
- protéger les personnes qui effectuent les travaux de décontamination,
- nettoyer les matériaux contaminés ou s'en débarrasser tout en empêchant le passage de moisissures des zones contaminées aux zones propres.

### *a) Recommandations générales*

(1) Protéger les occupants

- Tenir les occupants habituels des locaux éloignés des zones à traiter ;
- **L'éloignement des personnes « à risque » (personnes âgées - enfants de moins de 12 mois – personnes greffées, immunodéprimées – malades respiratoires et allergiques chroniques) est indispensable ;**
- Les pièces contaminées seront provisoirement condamnées et interdites d'accès ;
- Lorsqu'il s'agit de zones contaminées de grande étendue comme un mur, celles-ci seront recouvertes provisoirement d'une bâche en plastique scellée à l'aide de ruban adhésif avant le début les travaux, afin de contenir les éléments fongiques et les débris et poussières contaminés (**2**).

(2) Protéger les personnes effectuant les travaux.

Les travaux sont suceptibles de mettre en contact les personnes avec de grandes quantités de spores fongiques. Il convient donc de protéger les personnes en leur proposant :

- une tenue de travail spécifique et adaptée,
- le port de lunettes de sécurité pour ne pas exposer les muqueuses,
- le port d'une protection respiratoire aux caractéristiques de rétention particulaire au moins égales aux exigences FFP1 de la norme EN 149, 2001. Attention, le port d'une protection respiratoire entraîne une gêne respiratoire proportionnelle à la capacité de filtration du dispositif qui doit être correctement positionné sur le visage et protéger efficacement le nez et la bouche. Il est important de prévenir le porteur du masque de cette gêne respiratoire et thermique.

Il y a lieu d'attirer l'attention sur la confusion qui est souvent faite entre les masques de « soins » et les appareils de protection respiratoire utilisés vis-à-vis des risques chimiques ou biologiques. Les masques de soins ne protègent pas de l'inhalation d'agents infectieux ou allergisants, leur capacité de filtration n'est en effet évaluée que dans le sens de l'expiration et les tests utilisés ne qualifient pas la qualité de l'air inspiré par le porteur du masque.

A l'inverse, il est rappelé que les protections respiratoires répondent aux exigences de la directive européenne 89/686/CEE et doivent bénéficier d'un marquage CE. Ce sont des dispositifs qui protègent le porteur contre les aérosols de particules en suspension, qu'elles soient liquides ou solides. Les caractéristiques des protections sont définies par la norme EN 149, 2001 et répondent à des classes d'efficacité FFP1, FFP2 et FFP3 (pour *filtering face piece particles*). Deux éléments essentiels sont mesurés et pris en compte pour la détermination des classes d'efficacité : la capacité de rétention d'un aérosol constitué de particules de 0,01 à 1 µm de diamètre (moyenne 0,6 µm) et la mesure des fuites le long du visage.

Tableau 1111 : Caractéristiques des protections respiratoires

| | Capacité de rétention des particules de l'aérosol normalisé | Mesures des fuites le long du visage |
|---|---|---|
| **FFP1** | 80 % | 22 % |
| **FFP2** | 92 % | 8 % |
| **FFP3** | 99 % | 2 % |

- Le port de gants adaptés est aussi recommandé (gants de ménage ou gants de manutention selon les tâches) pour protéger les mains des produits chimiques éventuellement utilisés (détergents, eau de javel ou autres désinfectants) et les blessures lors de la manutention des matériaux contaminés à éliminer.
- **Mise en garde** : toute personne ressentant des troubles respiratoires doit cesser immédiatement tous travaux sur ou à proximité de surfaces contaminées.

(3) Protéger l'environnement

- Les zones contaminées seront recouvertes d'une bâche en plastique scellée à l'aide de ruban adhésif avant le début les travaux, afin de contenir les éléments fongiques et les débris et poussières contaminés.

- A l'aide de bâches en plastique, il convient de fermer hermétiquement les grilles et conduits de ventilation dans la zone de décontamination et dans les pièces voisines. Dans la mesure du possible, il est recommandé d'arrêter les systèmes de ventilation mécanique.

### *b) Principes d'hygiène générale et recommandations pour l'utilisation des détergents et désinfectants*

Les méthodes efficaces pour la destruction des moisissures sont la désinfection ou l'incinération des matériaux contaminés.

Pour que la désinfection soit efficace, il convient au préalable de nettoyer les surfaces moisies à l'aide d'un produit détergent simple. Ce nettoyage sera effectué en frottant ou en grattant les surfaces pour éliminer le mycélium en profondeur, avec peu d'eau pour éviter tout risque d'humidité résiduelle des matériaux, mais tout en faisant attention au risque de dispersion des spores. Le produit utilisé est un détergent domestique sans particularité, trouvé dans les commerces de la grande distribution par exemple.

La **désinfection** proprement dite sera d'autant plus efficace que la quantité de spores et de mycélium à détruire sera faible.

L'eau de Javel (solution d'hypochlorite de sodium) est le produit le plus simple d'utilisation, d'usage courant et peu onéreux. Il est disponible essentiellement sous deux formes commerciales :

- l'extrait de javel distribué en berlingot de 250 ml, titre à 9,6 % de chlore actif (% ca),
- l'eau de javel prête à l'emploi en flacon de 1 ou 2 litres qui titre à 2,6 % ca.

Il est rappelé que l'eau de Javel est fongicide selon la norme EN 1275 (activité testée sur *Candida albicans* et *Aspergillus niger*) à la concentration de 0,036 % ca en 15 minutes à 20°C. Dans les conditions normalisées dites « conditions de saleté », selon la norme EN 1650, l'eau de Javel est fongicide à la concentration de 0,18 % ca en 15 minutes à 20°C. Enfin, lors d'essais normalisés sur des surfaces, selon la norme EN 13697, l'eau de Javel est fongicide dans les « conditions de saleté » à la concentration de 0,13 % ca.

Pour obtenir l'activité fongicide requise : élimination du mycélium et des spores dans des matériaux complexes et en présence de matière organique qui peut interagir avec l'hypochlorite de sodium et diminuer la quantité de chlore disponible, le groupe de travail propose d'utiliser une solution chlorée titrant à 0,26 % ca en tenant compte de la nécessité d'obtenir une efficacité radicale, en profondeur et rapide tout en facilitant l'étape de préparation par une dilution simple à réaliser : dilution au 1/10$^{ème}$ à partir de la solution prête à l'emploi, soit :

- un berlingot (250 mL à 9,6 % ca) complété à 10 L par de l'eau froide,

ou

- 500 mL d'une solution prête à l'emploi (2,6 % ca) dans 4,5 L d'eau froide,

ou

- 1 L d'une solution prête à l'emploi (2,6 % ca) dans 9 L d'eau froide.

Il est rappelé également que l'eau de Javel concentrée (disponible en berlingot) ne se conserve que trois mois après sa date de fabrication (date notée sur l'emballage). En revanche, l'eau de Javel prête à l'emploi (solution à 2,6 % ca) se conserve de 6 à 12 mois.

**MISE EN GARDE :**

- Ne jamais mélanger de l'eau de Javel avec des produits ammoniaqués en raison de dégagements toxiques de trichlorure d'azote et de chloramine,
- Ne jamais mélanger de l'eau de Javel avec des produits acides (produits détartrants par exemple) en raison de dégagements toxiques de chlore gazeux.

D'autres produits désinfectants commercialisés pour les établissements de santé notamment peuvent avoir une activité fongicide (**9**). Il convient de vérifier qu'ils ont une activité antifongique certifiée (activité sur *Aspergillus niger* selon la norme EN 1275) et de respecter les concentrations et temps de contact préconisés par le fabricant pour cette activité particulière. Attention, les concentrations fongicides ne sont généralement pas les mêmes que les concentrations d'usage courant de ces produits (**11**).

Après la désinfection, il est essentiel de bien sécher les matériaux : exposer au vent ou à la chaleur, bien aérer le local pour favoriser le séchage…

### *c) Recommandations pratiques*

- Limiter la dispersion des poussières par humidification mais sans détrempage qui risque de rendre aléatoire l'étape essentielle du séchage.

  ATTENTION : éviter de frotter à sec, de détremper. Il est recommandé d'utiliser des éponges ou chiffons humides.

- Les matériaux non poreux (métaux, verre et plastiques durs) et semi-poreux (bois, béton) dont la structure est saine mais portant des traces visibles de moisissures, peuvent être nettoyés et réutilisés. Les matériaux poreux (isolant, plâtre et dérivés…) comportant plus qu'une petite surface contaminée (cf chapitre 3-2) doivent être retirés et éliminés.

- Toute zone traitée doit être asséchée au plus vite et laissée sans contamination ni débris apparents.

- La zone traitée et des zones adjacentes doivent être dépoussiérées avec un aspirateur équipé d'un filtre HEPA (Haute Efficacité pour Particules Aériennes).

- Les matériaux contaminés qui ne peuvent pas être nettoyés doivent être retirés et sortis du bâtiment, une fois placés dans des sacs plastiques hermétiques. Il n'existe pas de réglementation particulière pour l'élimination des matériaux moisis. Il faut prendre toutes dispositions pour que ces matériaux ne puissent être récupérés et donc réutilisés (mise en décharge). L'incinération représente le meilleur moyen d'élimination, sans risque pour l'environnement.

- Les éponges et chiffons utilisés pour le nettoyage doivent être éliminés.

(1 ) pour les petites surfaces contaminées inférieures à 0,3 $m^2$

Le nettoyage et la désinfection peuvent être réalisées par les occupants.
L'utilisation d'une protection respiratoire (masque de protection) ainsi que le port de gants, de vêtement de protection et des lunettes de sécurité sont recommandés.

(2 ) pour les zones contaminées de taille moyenne : 0,3 à 3 $m^2$

En plus de la protection individuelle respiratoire, cutanée et oculaire, la zone contaminée doit être isolée et placée en dépression pendant les travaux, en utilisant un système d'aspiration avec une évacuation extérieure munie d'un système de filtration type HEPA.
L'éloignement des personnes « à risque » (enfants de moins de 12 mois – personnes greffées, immunodéprimées – malades respiratoires et allergiques chroniques) est impérative.

(3 ) pour les larges zones contaminées de taille supérieure à 3 $m^2$

La procédure est la même que pour la décontamination des zones de taille moyenne mais une dépressurisation avec un ventilateur de type industriel est recommandée. L'utilisation de produits agglutinants avant de procéder au retrait des zones souillées par les moisissures peut être préconisée.
La décontamination doit être réalisée par des professionnels formés à la manipulation de matériaux contaminés par des micro-organismes.
L'analyse microbiologique de l'air avant le retour des occupants dans les locaux peut être avantageusement proposée.

### 3. Surveillance

Une inspection régulière est recommandée pour confirmer l'efficacité des travaux de décontamination. **La raison de l'accumulation d'eau doit être trouvée et le problème rectifié.** Tant que l'humidité des supports persistera, les développements fongiques réapparaîtront.

### 4. Mesures à éviter

- Solutions à court terme qui ne procurent qu'une aide temporaire : camouflages sans traitement par de la peinture ou la pose d'une bâche ou de cartons…
- Les solutions de court terme utilisées pour le long terme : installation de déshumidificateurs, la ou les causes de l'humidité excessive doivent être recherchées et corrigées (cf chapitre IV).
- Opérations de nettoyage effectuées par des personnes « sensibles »

**L'utilisation de nettoyeurs sous pression est fortement déconseillée.**

Cette approche devrait déboucher sur la création de nouveaux métiers de l'environnement en relation avec les travaux sur le bâtiment où la notion de risque pour l'homme et l'environnement serait prise en compte.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES


1. **Balty I.,** 2003. Fiche technique pratique E115 ; Institut National de Recherche et de Sécurité (INRS), rue Olivier Noyer, 75014 – Paris.
2. **EPA** "Mold remediation in scchools and commercial buildings", Mars 2001.
3. **Fanger P.O.** 1988 Introduction of the olf and the decipol units to quantify air pollution perceived by humans indoors and outdoors. Energy Build., 12, 1–6
4. **Gorny, RL,** Reponen T.et Al 2001. Source strength of fungal aerosolization from moldy building material. Atmos. Environ. 35 : 4853-62
5. **Institut national de santé publique du Québec**, 2002 ; les risques de santé associés à la présence de moisissures en milieu intérieur, Direction des risques biologiques environnementaux et occupationnels et laboratoire de santé publique du Québec.
6. **Lignes directrices pour l'inspection,** l'évaluation et l'élimination des moisissures dans les milieux de travail, 2001 Division de la santé et de l'hygiène du travail – Travail et immigration du Manitoba
7. **O.M.S.,** 2004; Moulds and moisture.
8. **Règlement Sanitaire départemental Type (circulaire du 9 août 1978 modifiée)**
9. **Service d'Hygiène de la ville de New York,** avril 2000 ; lignes directrices applicables à l'évaluation et l'élimination de la contamination fongique en milieu intérieur.
10. **Sivasubramani, S. K., R. T. et al.** 2004. Assessment of the aerosolization potential for fungal spores in moldy homes. Indoor Air 14(6): 405-412.
11. **Société Française d'Hygiène Hospitalière,** « liste positive désinfectants 2003 », Hygiène S, 2003, XI, 207-223.

# CHAPITRE VI.
# PROPOSITIONS DU GROUPE DE TRAVAIL

Le groupe de travail propose des pistes de recommandations.

## A. CONDUITES A TENIR

Face à une présomption d'exposition aux moisissures, plusieurs cas peuvent se présenter :

**(1) Demande d'un médecin spécialiste confronté à un problème de santé (asthme, allergie,…) d'un de ses patients qu'il suppose être en relation avec l'exposition aux moisissures dans son logement**

Cette demande doit être suivie d'un examen du logement et de ses annexes.

L'enquête environnementale approfondie est effectuée par des techniciens formés à la recherche de sources d'humidité et de moisissures.
Le cas échéant, des conseils sont donnés pour l'éviction des moisissures et le bon usage d'un logement.

**(2) Demande d'un particulier ayant constaté la présence de moisissures**

Dans le cas où des personnes d'une même famille souffrent de problèmes de santé susceptibles d'être mis en relation avec la présence constatée de moisissures, cette demande doit être suivie d'une consultation médicale (allergologue, pneumologue, pédiatre,…) et d'une enquête environnementale.

Dans le cas où aucune personne ne souffre de problème de santé, la demande doit être suivie de la communication d'une information pour l'élimination des moisissures et le bon usage du logement (ventilation, chauffage,…).

Dans certains cas, par mesure de précaution, une enquête environnementale peut être effectuée.

**(3) Demande d'un particulier n'ayant pas constaté la présence de moisissures mais souffrant de problèmes de santé pouvant être mis en relation avec une présence éventuelle de moisissures**

Cette demande doit être suivie d'une consultation médicale (allergologue, pneumologue, pédiatre,…).

Selon les résultats des examens médicaux, une enquête environnementale approfondie sera effectuée.

Le déroulement des actions est développé dans Figure 5~~Figure 5~~ ci-après.

L'enquête environnementale comporte notamment :

- la recherche et l'identification des matériaux humides,
- une évaluation de la grandeur des taches de moisissures,
- des échantillonnages mycologiques,
- des prélèvements d'air lorsque des odeurs de « moisi » sont perceptibles en absence de développements fongiques visibles.

Une aide à l'enquête environnementale est fournie par le « questionnaire environnemental » situé en annexe. Ce document est basé sur une synthèse des questionnaires actuellement utilisés par l'Observatoire de la Qualité de l'Air Intérieur (OQAI), le Laboratoire d'Hygiène de la Ville de Paris (LHVP) et différents Centres Hospitaliers Universitaires (CHU).

Lors du déroulement de cette enquête environnementale, le cas échéant, des conseils sont donnés pour l'éviction des moisissures et le bon usage d'un logement.

Cette enquête fait l'objet d'un rapport qui peut être éventuellement suivi de la recommandation des travaux nécessaires pour remédier à une situation de contamination.

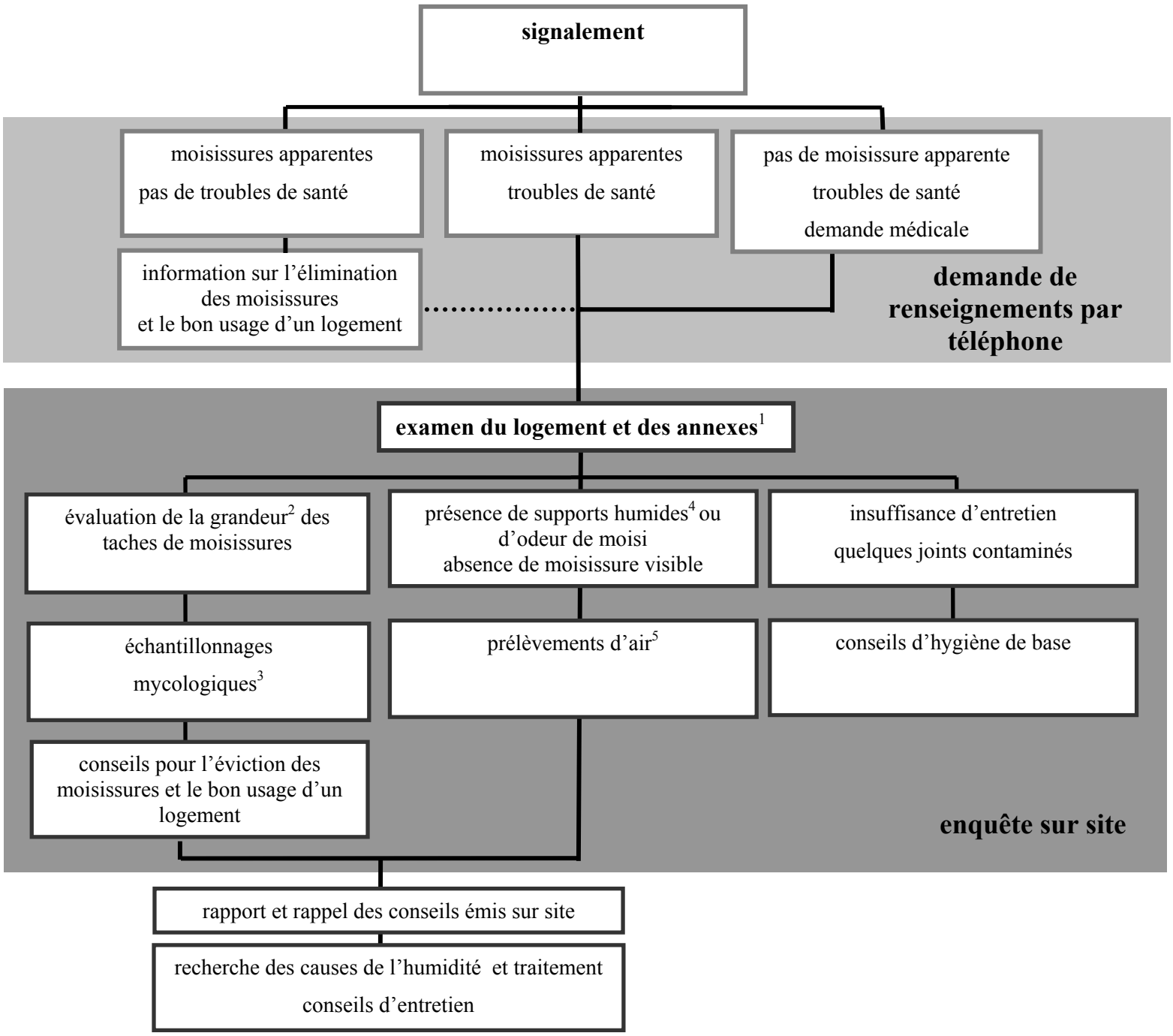



Figure 55 : déroulement des actions

[1] L'utilisation de questionnaires est recommandée. Le questionnaire environnemental est présenté en annexe et devrait également être utilisé dans le cas d'une enquête d'insalubrité pour la description des moisissures. Un questionnaire médical standardisé et validé tel que celui de l'étude ISAAC peut être utilisé.

[2] En raison de l'irrégularité des taches de moisissures, il sera utile de transformer les formes en unités géométriques telles que rond, carré ou rectangle pour en évaluer la surface. Les niveaux de contamination sont définis en fonction de la taille de la surface contaminée :

niveau 4 : $S > 3\ m^2$
niveau 3 : $0{,}3\ m^2 < S \leq 3\ m^2$
niveau 2 : $0{,}03 < S \leq 0{,}3\ m^2$
niveau 1 : $0 < S \leq 0{,}03\ m^2$ (1 format A4 = $0{,}06\ m^2$)
niveau 0 : absence de moisissure visible

L’étendue de la zone contaminée constitue une aide au décideur en charge du dossier (possibilité d’éviction, technique et précautions pour l’éradication de la source).
La prise en compte de la seule surface contaminée n’est pas satisfaisante. Il existe des facteurs aggravants : âges des personnes exposées, immunodéficience, localisation des taches de moisissures à proximité des voies respiratoires …

[3] Des échantillonnages de surfaces, technique du ruban adhésif, représentatifs des différents aspects des zones contaminées peuvent être effectués (2 points pour chaque zone, par exemple).
Toutes les moisissures n’ayant pas les mêmes impacts sur la santé, dans le cas d’une demande médicale étayée (allergologue, pneumologue…), un échantillonnage plus complet des moisissures permettant une mise culture et une identification précise des moisissures est recommandée. Se reporter à l’annexe B.

[4] Une évaluation de la taille des surfaces humides, de la nature des supports et du risque de développement fongique est recommandée.

[5] Dans le cas où aucune moisissure n’est visible et qu’une odeur de moisi est détectable, des prélèvements d’air peuvent s’avérer utiles pour mettre en évidence la présence d’une contamination fongique non apparente.

***Recommandations pour la gestion des cas graves***

En cas de présence de « personnes à risques» il est recommandé d'effectuer des prélèvements et analyses dans les meilleurs délais afin que la nature des espèces fongiques présentes soit prise en compte rapidement dans l'évaluation de la situation.

Dans les cas d'incompatibilité entre la qualité du logement et l'état de santé des habitants (cas des personnes sensibles et/ou immunodéprimées), il est impératif de procéder à un relogement temporaire rapide des personnes. Cette procédure accélérée nécessite de disposer de possibilités d'hébergement.

Avant le retour des personnes dans leurs logements, il convient que des contrôles soient effectués après la fin des travaux mais également après 3 à 6 mois de réoccupation du domicile. Selon la gravité de la contamination fongique, une surveillance à long terme peut être envisagée.

Le mode de vie des occupants, la façon dont ils utilisent le logement (aération, chauffage, cuisine, séchage du linge…) doivent être également pris en compte et des conseils doivent être donnés.

***Recommandations en cas d'inondations***

Les Services déconcentrés de l'Etat ont un rôle important dans la gestion de la situation après le retrait des eaux par l'organisation des :

- opérations de séchage
- opérations de désinfection et de remise en état des locaux afin de prévenir les moisissures
- actions d'information des médecins libéraux, médecins de santé scolaire, médecins responsables de PMI, des maires, des services communaux d'hygiène et de santé (SCHS), des établissements de santé, des bénévoles secouristes (croix rouge, secours catholique et autres), particuliers et entreprises.

## B. PROPOSITIONS EN MATIERE DES D'INFORMATION

L'information doit concerner les médecins, les professionnels du bâtiment et le public.

Il est souhaitable de faire établir un questionnaire médical standardisé type ISAAC II pour l'aide au diagnostic et le recueil standardisé des donnée relatives aux effets des moisissures sur la santé.

Une information des entreprises du bâtiment est également nécessaire afin de permettre une bonne mise en œuvre des protocoles établis.

Des documents d'information du public doivent être réalisés sous forme de fiches techniques servant de support aux opérations de sensibilisation et/ou lors de la visite d'un logement :

- fiche 1 : lutte contre l'humidité d'un logement (bonnes pratiques de construction, choix des matériaux, drainage, remédiation dans les plus brefs délais aux infiltrations d'eau aussi bien intérieures (fuites même faibles), qu'extérieures (eau de remontée tellurique, fuites de toiture, porosité des murs) ;
- fiche 2 : bonnes pratiques d'usage d'un logement (ventilation, mode de chauffage, limitation de la production d'humidité…) ;
- fiche 3 : conduites à tenir pour l'élimination d'une contamination fongique domestique (protection des personnes, produits à utiliser, lavage des vêtements de travail,…) ;
- fiche 4 : conduites à tenir en cas d'inondation (même localisée).

Les personnes considérées comme des relais d'informations tels que les professionnels de santé, professionnels du bâtiment, professionnels des services sociaux , syndics et gérants d'immeuble, représentants des assurances,…. doivent disposer de ces fiches d'information à destination du public.

Les Services déconcentrés de l'Etat doivent disposer de supports audiovisuels permettant d'animer des réunions publiques (supports pouvant être adaptés au public concerné et aux situations, notamment en cas d'inondation).

## C. AUTRES PROPOSITIONS

### (1) Intégration des moisissures parmi les indicateurs principaux de l'insalubrité : modification de la grille d'évaluation de l'insalubrité d'un bâtiment et d'un logement.

*Facteurs déjà pris en compte :*

- les apports d'eau par l'extérieur : remontées d'eau tellurique, perméabilité des murs, des toitures, des huisseries par les fiches B 13, 14, 15, 16 de la grille d'insalubrité de février 2003 ;
- les apports d'eau par l'intérieur : fuites intérieures, séchage du linge, les modes de chauffage producteurs d'humidité : notamment les appareils de chauffage ou de production d'eau chaude dont les gaz de combustion ne sont pas évacués à l'extérieur : chauffe-eau, appareils de chauffage à pétrole, appareils mobiles à gaz, par les fiches L 16, 17, 18, 28, 29 de la grille d'insalubrité de février 2003 ;
- les dispositifs de ventilation permettant d'éviter les phénomènes excessifs de condensation par les fiches L 16, 17, 18, 28, 29 de la grille d'insalubrité de février 2003.

*Facteurs devant être intégrés :*

- quantification de l'état de contamination : support, superficie de la contamination, nature du support ;
- caractérisation de la contamination : les résultats des analyses ;
- exposition des habitants : évaluation de la proximité et du temps d'exposition aux moisissures.

**(2) Réflexions sur d'éventuelles suites réglementaires**

Dans le cadre d'un futur groupe de travail une réflexion pourrait être menée sur :

- la qualification des professionnels chargés de la réalisation des travaux de décontamination ;
- la définition de valeurs guides à partir de l'analyse des données environnementales et médicales recueillies.

**(3) Actions de formation**

En direction des :

- personnels des Services déconcentrés de l'Etat et des SCHS ;
- Conseillers Médicaux en Environnement Intérieur (CMEI) ;
- Professionnels réalisant les travaux de décontamination fongique.

**(4) Création d'un annuaire de laboratoires compétents en ce domaine**

La compétence des laboratoires pour le prélèvement et l'analyse des moisissures de l'environnement intérieur devra être évaluée par l'organisation de tests inter-laboratoires.
Un annuaire de ces établissements sera établi.

**(5) Développement du Réseau National de Surveillance Aérobiologique (RNSA)**

Les compétences de ce réseau devront être élargies à la surveillance des moisissures de l'air extérieur de quelques grandes villes de France.

**Adresses utiles :**

- Chambre Syndicale Nationale de l'Eau de Javel, 118 avenue Achille Peretti – 92200 Neuilly-sur-seine
- Société Française d'Hygiène Hospitalière : www/sfhh.fr
- Chambre syndicale 3D des Industries de Désinfection, Désinsectisation et Dératisation, 118 avenue Achille-Peretti - 92200 Neuilly-sur-Seine

# Annexe : Questionnaire environnemental

**RENSEIGNEMENTS ADMINISTRATIFS**

Nom : Date d'entrée dans le logement :

Adresse : Situation □ propriétaire □ locataire □ HLM

N° Téléphone : □ autre :

Mèl : Résidence □ principale □ secondaire

**ORIGINE DE LA DEMANDE** □ médicale □ mairie □ autre
□ DDASS □ DRASS

**MOTIF DE LA DEMANDE :**

**INFORMATIONS SUR LA FAMILLE**

Nombre d'occupants permanents :

Nombre d'enfants de moins de 6 ans :

Nombre d'adultes :

Nombre de personnes souffrant d'une pathologie respiratoire :

age : sexe □ M pathologie □ rhinite certificat médical □ oui
□ F □ bronchite □ non
□ asthme symptômes plus intenses
□ ABPA[1] dans le logement □ oui
□ PHS[2] □ non

**DESCRIPTION DE LA CONSTRUCTION**

Date de construction :

Date de rénovation :

| | | |
|---|---|---|
| Présence d'un vide sanitaire | □ oui | □ non |
| Présence d'une cave | □ oui | □ non |
| Toiture en mauvais état | □ oui | □ non |
| Façade dégradée | □ oui | □ non |
| Fissures | □ oui | □ non |
| Revêtement effrité | □ oui | □ non |
| Gouttières endommagées/bouchées | □ oui | □ non |
| Descentes d'eaux pluviales endommagées/bouchées | □ oui | □ non |
| Aspect de «lavage» du parement (écoulement chronique d'eau) | □ oui | □ non |

[1] ABPA : aspergillose broncho-pulmonaire allergique
[2] PHS : pneumopathie d'hypersensibilité

**RENSEIGNEMENTS GENERAUX SUR LE LOGEMENT**

Une visite complète (de la cave au grenier) doit être effectuée.

Zone □ urbaine □ rurale

Type □ maison individuelle □ maison mitoyenne □ appartement
□ ferme □ avec animaux et/ou produits agricoles
□ sans

Localisation □ semi enterré □ RDC □ à l'étage □ comble

Taille □ F1 □ F2 □ F3 □ F4 □ F5 □ autre :

Superficie :

Sur-occupation □ oui □ non

Travaux récents □ oui lesquels : pièce :
□ non

Chauffage □ central □ d'appoint □ au sol □ cheminée
□ électrique □ gaz □ fuel □ bois □ charbon
□ autre :

Aération[3] □ oui □ non
si oui □ par balayage □ par pièces séparées

Climatisation □ oui □ non

Déshumidificateur □ oui □ non

Présence d'une machine à laver □ oui pièce :
□ non

Présence d'un sèche linge □ oui □ électrique □ évacuation extérieure pièce :
□ à condensation
□ à pendre pièce :
□ non

Humidité □ impression d'humidité □ odeur de moisi

Moisissures visibles □ oui □ non

Plantes □ oui □ dans la chambre à coucher □ > 5 plantes
□ non

Animaux □ oui □ non □ nombre □ type

[3] Principes d'aération :
- par balayage : entrées d'air par les pièces principales et sorties d'air vicié par les pièces de service
- par pièces séparées : entrées d'air et sorties d'air dans la même pièce

**EXAMEN PAR PIECE**

Chaque pièce décrite doit être référencée.

PIECES HUMIDES[4]

CUISINE □ fermée □ type américaine superficie :

□ ventilation naturelle □ oui □ non nb de fenêtres : ouvrable(s) __

double vitrages □ oui □ non

fente d'aération □ oui □ non obturée □ oui □ non

□ ventilation permanente par conduit vertical obturée □ oui □ non

□ VMC fonctionnelle □ oui □ non

□ aération □ haute obturée □ oui □ non
□ basseobturée □ oui □ non

Habitudes de ventilation :

Porte fermée pendant l'activité de cuisson □ oui □ non
Présence d'une hotte raccordée □ oui □ non

Type de revêtement : □ mur : □ sol : □ plafond :

| | | | |
|---|---|---|---|
| Impression d'humidité | □ oui | □ non | |
| Odeur de moisi | □ oui | □ non | |
| Condensation permanente | □ oui | □ non | localisation : |
| Pont thermique | □ oui | □ non | localisation : |
| Humidité ascensionnelle | □ oui | □ non | localisation : |
| Infiltrations | □ oui | □ non | localisation : |
| Dégât des eaux | □ oui | □ non | localisation : |
| Taches d'humidité | □ oui | □ non | localisation : |
| Papier peint décollé | □ oui | □ non | localisation : |
| Peinture cloquée | □ oui | □ non | localisation : |
| Enduit dégradé | □ oui | □ non | localisation : |
| Salpêtre | □ oui | □ non | localisation : |

Présence de moisissures □ oui □ non

si oui localisation :

hauteur □ bas □ mi-hauteur □ haut

nb de murs contaminés :

surface contaminée[5] □ N0 □ N1 □ N2 □ N3 □ N4 □ N5

type de contamination □ localisée □ disséminée □ extensive

[4] cuisine, salle de bains, WC, buanderie

[5] évaluation de la grandeur de la surface contaminée : niveau N0 : absence de moisissure visible
niveau N1 : $0 < S \leq 0{,}03\ m^2$ (1 format A4 = $0{,}06\ m^2$)
niveau N2 : $0{,}03 < S \leq 0{,}3\ m^2$
niveau N3 : $0{,}3\ m^2 < S \leq 3\ m^2$
niveau N4 : $S > 3\ m^2$

SALLE DE BAINS superficie :

□ ventilation naturelle nb de fenêtres : ouvrable(s) □ oui □ non

double vitrages □ oui □ non

fente d'aération □ oui □ non obturée □ oui □ non

□ ventilation permanente par conduit vertical obturée □ oui □ non

□ VMC fonctionnelle □ oui □ non

□ aération □ haute obturée □ oui □ non
□ basse obturée □ oui □ non

Habitudes de ventilation :

Porte fermée pendant la douche □ oui □ non

Type de revêtement □ mur : □ sol : □ plafond :

Impression d'humidité □ oui □ non
Odeur de moisi □ oui □ non
Condensation □ oui □ non localisation :
Pont thermique □ oui □ non localisation :
Humidité ascensionnelle □ oui □ non localisation :
Infiltrations □ oui □ non localisation :
Dégât des eaux □ oui □ non localisation :
Taches d'humidité □ oui □ non localisation :
Papier peint décollé □ oui □ non localisation :
Peinture cloquée □ oui □ non localisation :
Enduit dégradé □ oui □ non localisation :
Salpêtre □ oui □ non localisation :

Présence de moisissures

joints de baignoire/douche □ oui □ non

autre □ oui □ non

si oui
localisation :
hauteur □ bas □ mi-hauteur □ haut
nb de murs contaminés :
surface contaminée □ N0 □ N1 □ N2 □ N3 □ N4 □ N5
type de contamination □ localisée □ disséminée □ extensive

type de PIECES SECHES[6] superficie :

□ ventilation naturelle nb de fenêtres : __ ouvrable(s) □ oui □ non

double vitrages □ oui □ non

fente d'aération □ oui □ non obturée □ oui □ non

□ ventilation permanente par conduit vertical obturée □ oui □ non

□ VMC fonctionnelle □ oui □ non

□ aération □ haute obturée □ oui □ non
□ basse obturée □ oui □ non

Habitudes de ventilation :

Type de revêtement □ mur : □ sol : □ plafond :

| | | | |
|---|---|---|---|
| Impression d'humidité | □ oui | □ non | |
| Odeur de moisi | □ oui | □ non | |
| Condensation | □ oui | □ non | localisation : |
| Pont thermique | □ oui | □ non | localisation : |
| Humidité ascensionnelle | □ oui | □ non | localisation : |
| Infiltrations | □ oui | □ non | localisation : |
| Dégât des eaux | □ oui | □ non | localisation : |
| Taches d'humidité | □ oui | □ non | localisation : |
| Papier peint décollé | □ oui | □ non | localisation : |
| Peinture cloquée | □ oui | □ non | localisation : |
| Enduit dégradé | □ oui | □ non | localisation : |
| Salpêtre | □ oui | □ non | localisation : |

Sur-occupation □ oui □ non

Présence de moisissures □ oui □ non

si oui localisation :

hauteur □ bas □ mi-hauteur □ haut

nb de murs contaminés :

surface contaminée □ N0 □ N1 □ N2 □ N3 □ N4 □ N5

contamination □ localisée □ disséminée □ extensive

[6] séjour, salle à manger, chambres, bureau…