



ELSEVIER
MASSON

Disponible en ligne sur www.sciencedirect.com



Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique xxx (2007) xxx–xxx

REVUE FRANÇAISE
D'ALLERGOLOGIE
ET D'IMMUNOLOGIE CLINIQUE

<http://france.elsevier.com/direct/REVCLI/>

Article original

Contamination fongique des habitations : bilan de 10 années d'analyses

Fungic contamination of residence: 10 years assessment of analyses

R. Santucci^a, O. Meunier^{a,*}, M. Ott^b, F. Herrmann^a, A. Freyd^a, F. de Blay^b

^a Laboratoire de microbiologie de l'environnement, pôle de spécialités médicales-ophtalmologie-hygiène, hôpitaux universitaires de Strasbourg, 67091 Strasbourg cedex, France.

^b Unité d'asthme, d'allergologie et de pathologie de l'environnement intérieur, pôle de pathologies thoraciques, hôpitaux universitaires de Strasbourg, 67091 Strasbourg cedex, France.

Reçu le 31 janvier 2007 ; accepté le 12 février 2007

Résumé

But de l'étude.— À partir des données du laboratoire de microbiologie de l'environnement nous avons voulu décrire les flores fongiques isolées des habitations de personnes présentant des symptômes cliniques pouvant être associés à la présence de moisissures.

Patients et méthodes.— À partir des données du laboratoire nous proposons une étude rétrospective et descriptive de la contamination fongique de certaines habitations. Plusieurs techniques ont été utilisées pour mettre en évidence les moisissures de l'environnement : écouvillonnage des surfaces, empreinte gélosée, prélèvement direct avec un ruban adhésif, prélèvement de poussière de maison. Nous avons établi la liste des moisissures les plus fréquemment rencontrées et étudié le rendement de la technique d'observation directe (ruban adhésif) et des techniques de mise en culture pour caractériser la mycoflore des habitations.

Résultats.— Trois cent trente-huit prélèvements réalisés dans 61 domiciles entre 1996 et 2006 ont été étudiés. Trente-huit genres fongiques ont été identifiés au total, soit 9,2 genres différents par habitation en moyenne. Les genres les plus souvent identifiés sont *Cladosporium sp.* (présent dans 88 % des logements étudiés), *Aspergillus sp.* (82 %) et *Penicillium sp.* (78 %). Nous montrons que les techniques utilisées sont complémentaires et l'association de plusieurs sites de prélèvement (poussière, terre, surface) augmente le nombre des genres fongiques différents isolés dans chaque habitation.

Conclusion.— De nombreux prélèvements associant des techniques différentes sur des sites différents sont nécessaires pour caractériser la mycoflore d'une habitation.

© 2007 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Abstract

Purpose of the study: From the data of the microbiology environment laboratory, we wanted to describe the fungic flora isolated from the residence of people presenting clinical symptoms which could be associated to the presence of moulds.

Material and methods: From the data of the laboratory we propose a retrospective and descriptive study of the residence fungic contamination. Several techniques were used to highlight the moulds of the environment: cleaning surfaces, gelose print, direct taking away with an adhesive tape, house dust collecting. We listed the moulds most frequently met and studied the output of the technique to characterize the mycoflore dwellings: direct observation (adhesive tape) or culture techniques.

Results: Three hundred and thirty-eight samples carried out in 61 houses between 1996 and 2006 were studied. A total of 38 fungic species were identified, that means an average ratio of 9.2 different kinds per dwelling. The most often identified species were *Cladosporium sp.* (present in 88% of the studied residences), *Aspergillus sp.* (82%) and *Penicillium sp.* (78%). We show that the techniques used are complementary and the association of several collecting sites of dust, ground or surface increases the number of different fungic species isolated in each house.

Conclusion: A lot of dust collect samples associated with several techniques on several sites have to be used to characterize the whole mycoflore of a residence.

© 2007 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Mycoflore ; Habitation ; Moisissures ; Environnement ; Allergie

Keywords: Mycoflora; Residence; Mould; Environment; Allergy

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : olivier.meunier@chru-strasbourg.fr (O. Meunier).

1. Introduction

Les champignons ont élu domicile dans tous les milieux humides, faiblement ventilés et obscurs. Si nos caves humides représentent un site de prédilection pour de nombreuses espèces, l'intérieur de nos logements se voit aussi très largement colonisés. Depuis 30 ans, les plaintes d'allergies associées à l'habitat sont en constante augmentation [1]. Parmi les agents qui pourraient expliquer certains symptômes, se trouvent les allergènes fongiques et certaines mycotoxines [2,3]. Or, le mode de vie des habitants des pays industrialisés associe un temps important passé à l'intérieur du logement, une isolation importante pour minimiser les pertes d'énergie, des matériaux susceptibles d'être colonisés par de nombreuses espèces fongiques (plâtre, bois, cellulose...) et une humidité qui peut être excessive (douche, aquarium...). Tous ces facteurs contribuent probablement à l'envahissement des logements par différents genres fongiques et à leur établissement durable [4-6].

La détection de moisissures dans un habitat peut s'avérer particulièrement pertinente pour rechercher un lien entre un environnement et une infection fongique ou des phénomènes allergiques. Pour cela, des prélèvements en nombre suffisant et sur des sites variés doivent être réalisés en utilisant plusieurs techniques complémentaires éventuellement renouvelées dans le temps pour apprécier les variations saisonnières.

Le laboratoire de microbiologie de l'environnement et l'unité d'asthme et d'allergologie du département de pneumologie des hôpitaux universitaires de Strasbourg travaillent ensemble depuis plusieurs années pour identifier et quantifier la contamination fongique de l'habitat privé des personnes présentant des allergies présumées aux moisissures.

2. Matériels et méthode

À partir des données du laboratoire, nous proposons une étude rétrospective et descriptive des résultats de la recherche et de l'identification des moisissures isolées au domicile de patients suivis pour allergies et pour des symptômes respiratoires associés aux moisissures. Des prélèvements ont été effectués par le même opérateur dans différents domiciles entre 1996 et 2006.

Trois techniques de prélèvements sont généralement utilisées: l'écouvillonnage ou frottis de surface, l'empreinte gélosée et l'application directe d'un morceau de ruban adhésif sur des moisissures visibles.

L'écouvillonnage est effectué à l'aide d'un écouvillon stérile, humidifié à l'eau distillée stérile. L'écouvillon est frotté sur la surface à analyser puis est acheminé rapidement au laboratoire dans son étui de protection stérile. Il sert aussitôt à ensemer deux milieux gélosés de type Sabouraud-Chloramphénicol (Oxoid, France) placés 6-10 jours à 27 et 37 °C.

Les boîtes de Pétri utilisées pour l'empreinte gélosée sont produites par le laboratoire. Le milieu Sabouraud-Chloramphénicol (Oxoid, France) est coulé en dépassant le niveau maximum de remplissage du support pour créer un ménisque

qui permet le contact de la gélose avec la surface à prélever. Le prélèvement s'effectue en appliquant une boîte de Pétri ainsi préparée directement sur la surface pendant deux minutes et sous une pression de 200 g. Les boîtes sont ensuite incubées à 27 et 37 °C pendant 6-10 jours.

Le prélèvement direct avec du ruban adhésif consiste à appliquer un morceau de ruban adhésif transparent sur une surface présentant une moisissure visible. Le ruban adhésif est ensuite appliqué sur une lame porte objet en verre pour microscope. Son observation est faite directement au microscope optique (60×).

Pour les deux premières techniques qui mettent en culture les spores fongiques prélevées, après la période d'incubation, les colonies développées sur les milieux sont identifiées selon les règles classiques de la mycologie [7]. L'identification se fait sur des colonies isolées, les boîtes de Pétri sont surveillées tous les jours pour prévenir l'effet d'écran d'une croissance excessive de certaines espèces. Les champignons sont identifiés par genre sur la base de l'étude de la morphologie macroscopique des colonies, et selon l'aspect des spores et du mycélium observé au microscope. Le genre *Aspergillus* a fait l'objet d'une identification d'espèce à partir des fructifications conidiennes (stipe, vésicule, métule, phialides et spores) et de leurs organisations observées au microscope en complément de l'examen macroscopique des colonies. Les formes non identifiées, non fructifiantes sur les milieux utilisés directement ou après repiquage, et les levures ont été exclues de l'étude. Pour chaque logement étudié et inclus dans l'étude, au moins trois prélèvements ont été effectués sur des sites présentant des moisissures visibles à l'œil nu. Le site de prélèvement (plafond, mur, poussière...) a conditionné le type de prélèvement (écouvillonnage, empreinte gélosée ou ruban adhésif). Le nombre de prélèvements a été adapté au nombre de zones présentant des moisissures dans le logement et au logement lui-même (disposition, surface au sol...). Les poussières domestiques ont été prélevées de façons standardisées (2 min d'aspiration par m²) à l'aide d'un aspirateur équipé d'un filtre de haute efficacité pour particule aérienne (HEPA) pour aspirateur. La poussière ainsi recueillie est mise en suspension dans quelques millilitres d'eau stérile après avoir été pesée. La suspension est diluée et chaque dilution est ensemencée à la surface des milieux de culture.

À partir des données obtenues entre 1996 et 2006, nous avons établi une liste de genres fongiques identifiés ainsi que leur fréquence d'isolement dans les logements (Tableau 1).

À partir de 2004, les résultats ont permis d'étudier le rendement de chaque technique: observation directe des prélèvements par ruban adhésif ou mise en culture à partir des écouvillons ou des empreintes gélosées. Pour chaque domicile nous calculons le nombre de genres ou d'espèces fongiques différentes identifiées par l'ensemble des prélèvements et, en fonction de chaque technique utilisée. Pour chaque technique, nous calculons sa capacité à mettre en évidence le plus grand nombre de genre ou d'espèce parmi les espèces totales isolées dans le logement. Le résultat est exprimé en pourcentage de chaque genre ou espèce fongique isolé par rapport au nombre total de genre ou espèce isolé (Tableau 2).

Tableau 1

Distribution de la fréquence d'isolement (%) des différents genres fongiques dans les logements de 1996 à 2006

Genre/Espèces	Fréquence (1996–2006) en pourcentage	Fréquence (1996–1998) en pourcentage	Fréquence (2004–2006) en pourcentage
<i>Absidia</i> sp	11	23	4
<i>Acremonium</i> sp	45	54	32
<i>Alternaria</i> sp	75	85	61
<i>Arthrinium</i> sp	8	–	6
<i>Aspergillus</i> sp	82	92	68
<i>Aspergillus fumigatus</i>	43	77	21
<i>Aspergillus flavus</i>	31	69	11
<i>Aspergillus glaucus</i>	34	46	14
<i>Aspergillus nidulans</i>	33	62	14
<i>Aspergillus niger</i>	40	62	18
<i>Aspergillus ochraceus</i>	6	8	4
<i>Aspergillus terreus</i>	2	–	2
<i>Aspergillus ustus</i>	2	–	8
<i>Aspergillus versicolor</i>	36	46	14
<i>Aureobasidium</i> sp.	24	69	4
<i>Bauveria</i> sp.	3	–	4
<i>Botryotrichum</i> sp	9	46	4
<i>Chaetoniium</i> sp	19	–	4
<i>Cladosporium</i> sp	88	85	89
<i>Chloridium</i>	11	39	–
<i>Chrysosporium</i> sp	15	15	4
<i>Cunninghamella</i>	24	23	–
<i>Doratomyces</i> sp	2	–	2
<i>Emericella</i> sp.	2	–	2
<i>Eurotium</i> sp.	6	–	10
<i>Exophiala</i> sp	5	–	4
<i>Fusarium</i> sp	45	31	25
<i>Geomyces</i> sp	2	–	2
<i>Geotrichum</i>	6	15	4
<i>Gilmaniella</i>	12	8	–
<i>Hormographiella</i> sp.	11	8	4
<i>Humicola</i> sp.	21	23	7
<i>Macrophoma</i>	8	–	–
<i>Monocillium</i>	8	8	–
<i>Mucor</i> sp.	55	100	25
<i>Paecilomyces</i> sp	21	39	11
<i>Penicillium</i> sp	78	100	54
<i>Pithomyces</i>	2	–	4
<i>Phialophora</i> sp	2	–	2
<i>Phoma</i> sp	18	15	11
<i>Rhizopus</i> sp	51	100	21
<i>Scopulariopsis</i> sp	25	39	11
<i>Scedosporium</i> sp	11	8	7
<i>Stachybotrys</i> sp	11	15	7
<i>Torula</i> sp	2	8	2
<i>Trichoderma</i> sp	58	85	25
<i>Ulocladium</i> sp	63	77	75

Le tiret correspond à 0 %.

De la même façon, à partir des résultats globaux obtenus par domicile, nous pouvons calculer la pertinence des sites de prélèvement pour caractériser la mycoflore d'une habitation (Tableau 3). Les sites de prélèvements que nous avons choisi d'étudier sont les poussières totales de maison, la terre des plantes en pot et les surfaces des pièces de vie (chambre, salle de bain, salon, salle à manger).

Enfin, les résultats ont été analysés chronologiquement afin d'étudier la distribution des genres fongiques au cours des dix

Tableau 2

Tableau comparatif des profils fongiques isolées selon la technique de prélèvement

Genre/Espèces	Fréquence par ruban adhésif Observation directe (2004–2006) en pourcentage	Fréquence par culture (2004–2006) en pourcentage
<i>Cladosporium</i> sp.	69	33
<i>Ulocladium</i> sp.	46	15
<i>Alternaria</i> sp.	31	41
<i>Aspergillus</i> sp.	27	48
<i>Aspergillus fumigatus</i>	13	15
<i>Aspergillus flavus</i>	4	11
<i>Aspergillus glaucus</i>	4	7
<i>Aspergillus nidulans</i>	4	11
<i>Aspergillus niger</i>	2	26
<i>Aspergillus ochraceus</i>	–	19
<i>Aspergillus terreus</i>	–	4
<i>Aspergillus ustus</i>	–	22
<i>Aspergillus versicolor</i>	6	11
<i>Penicillium</i> sp.	13	74
<i>Acremonium</i> sp.	13	22
<i>Arthrinium</i> sp.	4	11
<i>Stachybotrys</i> sp.	4	–
<i>Torula</i> sp	2	–
<i>Eurotium</i> sp.	2	15
<i>Mucor</i> sp.	2	26
<i>Paecilomyces</i> sp.	2	7
<i>Scopulariopsis</i> sp.	2	7
<i>Scedosporium</i> sp.	2	4
<i>Phoma</i> sp.	2	11
<i>Fusarium</i> sp.	–	52
<i>Trichoderma</i> sp.	–	48
<i>Rhizopus</i> sp.	–	22
<i>Chaetoniium</i> sp.	–	7
<i>Humicola</i> sp.	–	7
<i>Chrysosporium</i> sp.	–	7
<i>Pithomyces</i>	–	7
<i>Aureobasidium</i> sp.	–	4
<i>Absidia</i> sp.	–	4
<i>Hormographiella</i> sp.	–	4
<i>Exophiala</i> sp.	–	4
<i>Phialophora</i> sp.	–	4
<i>Geomyces</i> sp.	–	4
<i>Geotrichum</i>	–	4
<i>Doratomyces</i> sp.	–	4
<i>Emericella</i> sp.	–	4
<i>Botryotrichum</i> sp.	–	4

Le tiret correspond à 0 %. En gras les six genres les plus fréquemment isolés.

années de l'étude. Le genre *Aspergillus* a fait l'objet d'une analyse d'espèce sur la durée totale de l'étude, ce qui nous a permis d'estimer la distribution et la fréquence de ces espèces dans les habitats.

3. Résultats

3.1. Résultats généraux de 1996 à 2006

Trois cent trente-huit prélèvements ont été effectués dans 61 domiciles entre 1996 et 2006. De 3 à 29 prélèvements ont été effectués par domicile, soit une moyenne de 5,5 prélèvements. Parmi ces 338 prélèvements, 150 (44 %) sont des frottis, 54

Tableau 3

Récapitulatif des profils fongiques les plus fréquents selon le site de prélèvement

Genre/Espèces	Fréquence sur les surfaces (2004–2006) en pourcentage	Fréquence dans la terre de plante (2004–2006) en pourcentage	Fréquence dans la poussière (2004–2006) en pourcentage
<i>Penicillium sp</i>	19	85	70
<i>Trichoderma sp</i>	–	62	50
<i>Ulocladium sp</i>	54	–	30
<i>Cladosporium sp</i>	75	23	30
<i>Aspergillus sp</i>	23	69	80
<i>Aspergillus fumigatus</i>	2	31	50
<i>Aspergillus flavus</i>	–	–	40
<i>Aspergillus glaucus</i>	4	8	10
<i>Aspergillus nidulans</i>	2	15	20
<i>Aspergillus niger</i>	–	15	60
<i>Aspergillus ochraceus</i>	–	23	10
<i>Aspergillus terreus</i>	–	8	–
<i>Aspergillus ustus</i>	–	31	20
<i>Aspergillus versicolor</i>	6	15	10
<i>Fusarium sp.</i>	4	69	30
<i>Alternaria sp.</i>	25	31	60
<i>Acremonium sp.</i>	15	23	20
<i>Scopulariopsis sp</i>	2	15	10
<i>Arthrinium sp</i>	6	8	10
<i>Eurotium sp</i>	2	15	20
<i>Mucor sp.</i>	–	15	50
<i>Paecilomyces sp.</i>	–	8	20
<i>Phoma sp.</i>	2	15	–
<i>Stachybotrys sp</i>	4	–	–
<i>Geotrichum</i>	2	–	–
<i>Torula sp</i>	1	–	–
<i>Chrysosporium sp.</i>	–	15	–
<i>Botryotrichum sp.</i>	–	8	–
<i>Geomyces sp.</i>	–	8	–
<i>Phialophora sp.</i>	–	8	–
<i>Humicola sp.</i>	–	8	–
<i>Doratomyces sp</i>	–	8	–
<i>Bauveria sp</i>	–	8	–
<i>Rhizopus sp</i>	–	–	40
<i>Chaetium sp</i>	–	–	20
<i>Pithomyces</i>	–	–	20
<i>Absidia sp.</i>	–	–	10
<i>Aureobasidium sp</i>	–	–	10
<i>Hormographiella sp.</i>	–	–	10
<i>Exophiala sp</i>	–	–	10
<i>Emericella sp</i>	–	–	10

Le tiret correspond à 0 %. En gras les genres fongiques identifiés dans plus de 50 % des prélèvements.

(16 %) des empreintes gélosées, 55 (17 %) des applications directes de ruban adhésif et 79 (23 %) des prélèvements de poussières. Trente-huit genres fongiques différents ont été identifiés. En moyenne, 9,2 genres ont été identifiés par domicile (2–23) et on dénombre 5,7 genres par prélèvement (1–16). Les trois genres les plus fréquemment identifiés sont *Cladosporium sp.* (isolé dans 88 % des logements étudiés), *Aspergillus sp.* (isolé dans 82 % des logements étudiés) et *Penicillium sp.* (isolé dans 78 % des logements étudiés).

3.2. Résultats généraux de 2004 à 2006

La fréquence plus élevée des prélèvements entre 2004 et 2006 nous permet d'analyser de façon plus précise cette période. Cent vingt-quatre prélèvements ont été effectués entre 2004 et 2006 dans 29 domiciles, soit 4,2 prélèvements en

moyenne par domicile (3–7). Trente trois genres fongiques différents ont été identifiés. En moyenne, 6,6 genres ont été identifiés par domicile (2–18) et 4,3 genres par prélèvement (1–15). Les trois genres les plus fréquemment identifiés sont *Cladosporium sp.* (isolés dans 89 % des logements étudiés), *Ulocladium sp.* (isolés dans 75 % des logements étudiés) et *Aspergillus sp.* (isolés dans 92 % des logements étudiés).

3.3. Résultats de la comparaison des techniques de prélèvements

Les techniques de prélèvements associées à une culture sur milieu Sabouraud-Chloramphénicol (31 genres identifiés au total) apportent des résultats qui présentent un profil fongique différent des résultats obtenus par la technique d'application directe du ruban adhésif (15 genres identifiés au total). Quatre-

vingt sept pourcent des genres fongiques identifiés par le ruban adhésif (observation directe) le sont aussi à partir des prélèvements associés à une mise en culture. En revanche, seulement 42 % des genres identifiés par un prélèvement associé à une mise en culture le sont aussi par l'observation directe. Au stade d'espèce, 6 pour 9 espèces d'*Aspergillus* considérées sont identifiées sur le ruban adhésif contre 9 sur 9 espèces pour les méthodes associant la mise en culture.

3.4. Résultats de la comparaison des sites de prélèvements

Le profil fongique est différent selon le site de prélèvement. Les trois sites de prélèvements considérés (poussière, terre et surfaces) ont permis, lorsque nous les associons, d'identifier 32 genres fongiques différents pour la période 2004–2006. Parmi ceux-ci, 14 genres sont identifiés à partir des prélèvements de surface, 20 par l'analyse de la terre des plantes en pot et 21 par l'analyse de la poussière. L'association des prélèvements de terre et de poussière permet de recouvrir 91 % (29/32) des genres fongiques identifiés par ces trois types de prélèvements.

Les poussières des maisons présentent neuf genres fongiques en moyenne avec comme genres les plus fréquents : *Aspergillus* sp. (80 %) dont *A. fumigatus* (50 %), *A. flavus* (40 %) et *A. niger* (60 %), *Penicillium* sp. (70 %), *Mucor* sp. (50 %), *Alternaria* sp. (60 %) et *Trichoderma* sp. (50 %).

Dans la terre des plantes vertes en pot, cinq genres de champignons sont présents en moyenne. Un ou deux genres prédominent dans chaque domicile : *Aspergillus* sp. dans 39 % des cas, *Fusarium* sp. dans 46 % des cas et *Penicillium* sp. dans 39 % des cas. À eux trois, ils représentent les genres majoritaires dans 92 % des cas.

Sur les surfaces, trois genres fongiques différents sont trouvés en moyenne. Les genres majoritaires sont *Cladosporium* sp. (75 %), *Ulocladium* sp. (54 %), *Alternaria* sp. (25 %), *Aspergillus* sp. (23 %) et *Penicillium* sp. (19 %).

3.5. Résultats de l'étude de la distribution fongique de 1996 à 2006

Le nombre de genres fongiques différents dans les logements étudiés passe d'une moyenne de 12,0 ($\pm 4,4$) en 1996–1998 à une moyenne de 6,6 ($\pm 4,3$) en 2004–2006. La distribution des champignons au sein des domiciles a évolué : 10 genres sur 38 sont retrouvés dans plus de 50 % des logements en 1996–1998 pour cinq genres sur 38 en 2004–2006.

Certains genres fongiques voient leur fréquence d'isolement diminuer comme *Mucor* sp., *Rhizopus* sp., *Aureobasidium* sp., *Penicillium* sp. et *Trichoderma* sp. D'autres, comme *Ulocladium* sp., *Alternaria* sp., *Phoma* sp. sont toujours isolés quelques soit la période étudiée, sans variation significative.

Neuf espèces d'*Aspergillus* ont été identifiées : *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *A. ochraceus*, *A. terreus*, *A. ustus* et *A. versicolor*. La fréquence d'isolement des espèces appartenant au genre *Aspergillus* dans les domiciles diminue de 92 à 68 % en dix ans. Ainsi, la fréquence d'isolement d'*A. fumigatus* passe de 77 à 21 %. Les autres espèces : *A. flavus*, *A. nidulans*,

A. niger et *A. versicolor* sont aussi moins souvent isolés. La distribution des espèces aux sein des logements présente elle aussi des changements significatifs. Ainsi, on a $3,4 \pm 1,6$ espèces d'*Aspergillus* sp. par foyer en 1996–1998 et $1,3 \pm 1,6$ en 2004–2006.

4. Discussion

Il est important de rappeler que les prélèvements de surface font actuellement partie des méthodes de prélèvement les plus efficaces pour mettre en évidence la présence de moisissures et les identifier [2] et les techniques que nous avons utilisées sont celles actuellement recommandées [8]. Afin d'avoir un aperçu le plus complet de la flore fongique dans les habitats, nous avons associé et confronté trois techniques de prélèvements sur des sites de prélèvements différents.

Les résultats obtenus et exploités à posteriori ne permettent pas de faire le lien entre la présence de moisissures dans l'habitat et une pathologie de type allergique chez ses habitants par exemple. Ils ne permettent qu'une analyse descriptive des moisissures présentes dans des habitations choisies pour être habitées par au moins une personne allergique. Dans la mesure où d'autres personnes non allergiques (conjoint, parents...) partagent souvent le même logement, on peut penser que l'échantillon des domiciles étudiés est représentatif des domiciles en général.

D'une façon générale, pour la réalisation des prélèvements, le choix du site est motivé par l'aspect visuel des moisissures, les espèces de couleur sombre (dématiées) seront plus facilement repérées par l'opérateur que les espèces claires (moniliacées) orientant les prélèvements vers certaines familles de champignons.

Notons que la technique du ruban adhésif permettra une identification aisée des spores dont la morphologie est caractéristique comme celles d'*Alternaria* sp., de *Cladosporium* sp. ou de *Stachybotrys* sp. au détriment de certaines espèces dont les spores ont une morphologie identique et dont l'identification est plus basée sur l'organisation des spores entre elles (*Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Trichoderma* sp. ...). Néanmoins, on peut avoir la chance de collecter sur le ruban adhésif des têtes aspergillaires complètes qui permettent une identification immédiate. Les empreintes gélosées doivent permettre d'extraire de la surface les fragments de moisissures susceptibles de donner naissance à une colonie identifiable après incubation. Il s'avère qu'en fonction de l'espèce, mais surtout du support prélevé, il existe une différence notable du pouvoir d'extraction de la technique. Le temps de contact de la gélose et la pression exercée sur la surface participent également à la qualité de l'extraction de l'échantillon à cultiver. La standardisation du prélèvement (200 g pendant 2 min) permet de réduire les biais de cette méthode.

L'écouvillonnage est adapté aux recoins et surfaces difficilement ou non accessibles pour les autres types de prélèvement. Les résultats de l'écouvillonnage étant dépendant du manipulateur, nous avons atténué le défaut de standardisation de cette méthode en attribuant ce type de prélèvement au même opérateur.

Le milieu utilisé (Sabouraud-Chloramphénicol) qui permet la croissance de la plupart des espèces fongiques d'intérêt médical doit être surveillé régulièrement pour repérer les croissances exubérantes de certaines espèces susceptibles de masquer ou d'empêcher la croissance d'autres espèces. Les températures d'incubation choisies sont 27 °C pour les flores fongiques globales et 37 °C pour faciliter l'identification des espèces thermotolérantes comme *Aspergillus*. La durée d'incubation est de 6 à 10 jours. L'identification des espèces pouvant nécessiter des moyens d'identification complexes (batteries de milieux, séquençage ADN...), nous nous sommes contentés d'identifier le genre mycologique. Seul le genre *Aspergillus* a fait l'objet d'une identification d'espèce.

Plusieurs études ont mis en évidence une relation entre un habitat non sain (humide, nombreuses moisissures) et l'existence d'atopie, d'asthme et autres troubles respiratoires chez le jeune enfant et l'adulte [3,9-11]. Notre travail ne nous permet pour l'instant que de proposer une liste des moisissures les plus fréquemment isolées dans les habitats mais ne peut pas faire le lien entre la présence de moisissures et l'apparition de certains symptômes. Mais en partant du constat que tout individu est exposé aux moisissures et qu'il existe un risque non systématique pour la santé de l'homme, il apparaît comme nécessaire de définir la relation entre l'habitat et les champignons.

Premièrement, l'humidité constitue un facteur essentiel de prolifération de la flore fongique. Les sources d'humidité sont l'eau issue du sol (nappe phréatique, eau d'infiltration...), l'eau hors sol (eau de construction, intempéries, fuites de canalisation), l'humidité relative de l'air et l'activité humaine (principale productrice de vapeur d'eau). Ainsi, l'occupation excessive des locaux, l'arrivée d'un nourrisson (augmentation de la fréquence des lessives), la surabondance des plantes, la présence d'un aquarium semble constituer autant de facteurs favorisant le développement de cette mycoflore [4,5]. Cependant, les exigences en eau des champignons sont variables et conditionnent le développement et l'adaptation des espèces dans un habitat particulier. De la même façon, on peut mettre en relation la présence d'une espèce fongique particulièrement exigeante et un niveau d'humidité du logement [4,5].

Le second facteur ayant une implication directe dans la prolifération fongique est la nature des matériaux (nombreux isolants, plâtre...) et la structure de ces matériaux (compacte ou poreuse). En plus du rôle de support au développement fongique, ils présentent une vulnérabilité vis à vis de l'humidité et fournissent aux microorganismes les nutriments (carbone, azote) nécessaires à leur développement [12]. Ces deux facteurs interagissent l'un avec l'autre, les matériaux et l'humidité influencent le développement d'espèces mycologiques dans nos habitats.

La biodiversité des champignons isolés dans les habitations est grande, cela rend difficile la définition d'une mycoflore des logements. Près de quarante genres différents ont été identifiés dans nos prélèvements de surface et plus de 75 % des logements étudiés sont colonisés par *Alternaria sp.*, *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.* ou *Cladosporium sp.*

Cladosporium sp. est le genre le plus fréquemment rencontré dans nos logements. Moisissure cosmopolite, elle est fréquente sur les murs et plafonds, dans la chambre à coucher et dans la salle de bain (75 % des surfaces étudiées sont colonisées par *Cladosporium* dans notre série). Elle reste la moisissure la plus importante des logements humides et mal ventilés [1].

Aspergillus sp., très fréquent dans le sol, les débris organiques en décomposition, est retrouvé essentiellement dans les poussières (lieu d'accumulation des spores) de 80 % des logements, et dans la terre des plantes à pot (habitat naturel) de 69 % des logements dans notre série.

Penicillium sp. extrêmement ubiquiste, est présent dans le sol, les débris organiques, les fruits et légumes. Dans notre étude, il est identifié dans les prélèvements de poussière (70 %) et dans la terre des plantes en pot (85 %).

Aspergillus sp. et *Penicillium sp.* ont été peu identifiés dans les prélèvements de surface cela étant en parti dû à la technique employée. En effet, l'observation directe de ces champignons à partir des rubans adhésifs, révèle le plus souvent des spores difficilement identifiables car non spécifiques. Il est préférable pour l'identification de ces deux genres d'effectuer une mise en culture.

Alternaria sp., pathogène des végétaux, se développe sur les plantes sénescents, les produits alimentaires, les légumes, le sol... Nous l'avons identifié majoritairement dans les poussières des logements (60 %). Il constitue le genre fongique allergisant le plus impliqué dans les réactions atopiques estivales [13].

Selon le site de prélèvement, différents profils fongiques se dégagent de nos résultats.

Cladosporium sp. (75 %), *Ulocladium sp.* (54 %), *Alternaria sp.* (25 %) et *Aspergillus sp.* (23 %) sont les espèces les plus couramment rencontrées sur les surfaces.

Aspergillus sp. (80 %), *Penicillium sp.* (70 %), *Mucor sp.* (50 %) et *Trichoderma sp.* (50%) sont fréquemment retrouvés dans les poussières d'habitation.

Aspergillus sp. (69 %), *Fusarium sp.* (69 %) et *Penicillium sp.* (85 %) sont présents dans la terre de plantes en pot.

La grande variabilité des fréquences d'isolement des genres fongiques selon le site de prélèvement rappelle la nécessité de pratiquer des prélèvements variés en vue d'établir un statut fongique le plus complet possible dans un logement [2].

La prévention du développement de la mycoflore passe par la mise en place d'un système de ventilation efficace des pièces d'eau (ventilation mécanique contrôlée) ou de s'astreindre à une aération journalière des pièces de vie (ouverture des fenêtres) et une gestion rapide et appropriée des sources anormales d'humidité du logement (inondation, fuite...) [6]. Tout facteur favorisant l'émission excessive d'eau par l'activité humaine doit faire l'objet d'une surveillance toute particulière. La nécessité d'un équilibre entre la volonté d'économie d'énergie, la politique de calfeutrement des habitants chez eux et la ventilation nécessaire à un renouvellement d'air suffisant doit être atteint afin de garder les moisissures à un seuil acceptable pour la santé des habitants. Seuil qui reste encore à définir.

Dans le même ordre d'idée, une étude de quantification du développement des moisissures sur différents supports, incluant

des tests d'utilisation quotidienne, pourrait certainement permettre aux fabricants de matériaux de maîtriser la qualité microbiologique des environnements intérieurs.

Actuellement, peu d'études ont évalué la mycoflore des logements en France. Or, si la distribution des genres et des espèces évolue dans le temps (grandes variations saisonnières), les champignons identifiés sont sensiblement les mêmes que ceux d'autres pays d'Europe. L'évolution de la présence de certains genres nous fait penser que la mycoflore évolue au cours du temps dans une même habitation ce qui pourrait avoir une implication non négligeable dans l'évolution des allergies ou des pathologies respiratoires induites.

5. Conclusion

La présence de la mycoflore dans nos logements, ses modalités de développement et ses conséquences constituent un domaine peu connu par le grand public et les professionnels de la santé. De nombreux prélèvements, associant différentes techniques et effectués sur des sites variés, sont nécessaires à l'obtention du profil fongique d'un logement. Les nombreux facteurs favorisant le développement des champignons dans les habitats dégagent les grandes lignes des mesures préventives qui doivent être adoptées par l'habitant. Cependant, si les mycoflores identifiées dans notre étude présentent des genres couramment rencontrés dans d'autres pays, il apparaît qu'elles se modifient au cours du temps.

Ainsi, une étude prospective prenant en compte les modalités de prélèvement, des informations sur le logement (humidité, matériaux), ainsi que des données sur les habitants (facteurs de risque), permettrait non seulement de définir les matériaux adaptés à un logement sain, mais aussi une meilleure

évaluation du risque d'atopie ou de pathologies respiratoires dans nos logements.

Références

- [1] Noland N, Beguin H, Vervloet D, Magnan A. Moisissures. *Traité d'allergologie*. Paris: Flammarion; 2003, 441–461.
- [2] Indoor Air Quality Proceedings concentrations in the home of allergic patients. Edinburgh, 8th International Conference on Indoor Air Quality and Climate 1999; 1: 914–919.
- [3] Kilpelain M, Terho EO, Helenius H, et al. Home dampness, current allergic diseases, and respiratory infections among young adults. *Thorax* 2001;56:462–7.
- [4] Quenard D. Condensations. *CSTB magazine* 2001;a:16–8.
- [5] Quenard D. L'humidité dans les matériaux. *CSTB magazine* 2001;b:12–5.
- [6] Règlement Sanitaire départemental Type (circulaire du 9 août 1978 modifiée).
- [7] Koenig H. *Guide de Mycologie Médicale*. Paris: Ellipses; 1995.
- [8] Caillaud D, Bex V, Boissier M, Fabre C, Meunier O, Mouilleseaux A, et al. Contaminations fongiques en milieux intérieurs, septembre 2006, pp101. www.sante.gouv.fr : « accédez à tous les dossiers » ; « conseil supérieur d'hygiène publique de France » ; « accès aux avis et rapports » ; « avis et rapports de la section des milieux de vie » ; « rapports de la section des milieux de vie ». consultation janvier 2007.
- [9] Garret MH, Rayment PR, Hooper MA, et al. Indoor airborne fungal spores, house dampness and associations with environmental factors and respiratory health in children. *Clin Exp Allergy* 1996;28:459–67.
- [10] Peat JK, Dickerson J, Li J. Effects of damp and mould in the home on respiratory health. A review of the literature.. *Allergy* 1998;53:120–8.
- [11] Thorn J, Brisman J, Toren K. Adult-onset asthma is associated with self-reported mold or environmental tobacco smoke exposures in the home. *Allergy* 2001;56:287–92.
- [12] Flannigan B, Morey P, Broadbent C, et al. ISIAQ Guideline, Taskforce I: Control of moisture problems affecting biological indoor air quality. *International Society of Indoor Air Quality and Climate Espoo Finland* 1996;8:197.
- [13] Nimmagadda SR, Evans R. 3rd Allergy: etiology and epidemiology. *Pediatr Rev* 1999;20:111–5.