

ENVIRONMENTAL AUDITS IN THE ISLE-OF-FRANCE

AUDITS ENVIRONNEMENTAUX EN ILE-DE-FRANCE

V. Bex ⁽¹⁾, A. Mouilleseaux ⁽¹⁾, L. Bordenave ⁽¹⁾, F. Squinazi ⁽¹⁾

Summary

Mould exposure in indoor environments can cause various health effects : infections, allergies, toxic effects and irritations.

We have lead environmental audits (n = 32), at physician's request, in suspected mould allergic patient homes. A deeply home visit allows the detection of potential indoor fungal and humidity sources, afterwards, a sample strategy is determinate.

Results show that indoor airborne spores concentrations vary from some units (CFU) to more than thousands per m³. In dust samples, the number of spores per gram ranges from hundred to millions. A statistical analysis shows that "mouldy dwellings" are more contaminated than "non mouldy" ones and than outdoor air.

Mould species relative presence is specific in each contaminated home, depending on various factors (mouldy support nature, competition between species...).

Key-words : Habitat - Moulds - Measurement of exposure

Résumé

L'exposition prolongée aux moisissures dans un environnement intérieur est susceptible de provoquer différents types d'effets sur la santé : atteinte de la fonction respiratoire (allergies, effets irritatifs voire toxiques), infections.

A la demande de médecins, nous avons conduit 32 "audits environnementaux", en Ile-de-France, au domicile de patients pour lesquels un lien entre la pathologie diagnostiquée et la présence de moisissures dans l'environnement domestique était suspecté. Une visite approfondie de l'habitat permet la détection des sources potentielles de moisissures et l'établissement d'une stratégie d'échantillonnage. La synthèse des résultats obtenus montre que les concentrations aériennes en spores fongiques varient de quelques unités à plusieurs milliers par mètre cube. Dans la poussière, le nombre de spores par gramme s'échelonne entre plusieurs centaines et plusieurs millions. Dans notre étude, les habitats "moisissus" sont significativement plus contaminés (air/poussière) que les "habitats non moisissus".

La présence relative des différentes espèces mycéliennes identifiées dans les habitats "moisissus" est souvent spécifique de l'habitat et dépend de facteurs variés tels que la nature des supports de prolifération des moisissures, de compétitions interspèces sur le support.

Mots-clés : Habitat - Moisissures - Mesure de l'exposition.

INTRODUCTION

Les allergies respiratoires peuvent être causées par différents types aéroallergènes : déjections d'acariens, salive de chat ou de chien, spores de moisissures, grains de pollen...

L'allergie aux moisissures est difficile à diagnostiquer, probablement à cause du nombre important d'espèces mycéliennes qui existent et du manque de connaissances sur les antigènes fongiques (Horner W.E.,

1995). L'inhalation de spores de moisissures peut provoquer, chez les individus sensibilisés, des réactions allergiques de type I et en cas d'inhalation massive, le développement d'une pneumopathie d'hypersensibilité se traduisant par une atteinte irréversible de la fonction pulmonaire. Certaines espèces mycéliennes, dans des conditions bien particulières, sont capables de produire des toxines. C'est le cas par exemple de souches de *Stachybotrys chartarum* lorsqu'elles se développent sur des supports celluloseux humides (Weiss J.-S., 2002). La libération dans l'environnement de fragments de paroi fongique [β (1-3)glucan],

⁽¹⁾ Laboratoire d'Hygiène de la Ville de Paris.

dont les potentialités irritantes ont été démontrées, constitue une voie par laquelle les moisissures peuvent également induire des effets sur la santé (Gehring U., 2001). Les répercussions sanitaires de la libération dans l'air, au cours de la croissance des moisissures, de composés organiques volatils microbiens (mVOC) n'ont pas encore été clairement démontrées.

Des études récentes ont montré qu'une exposition importante aux moisissures peut affecter la santé (irritation des muqueuses respiratoires ou cutanées, infections, asthme...) (Peat J.-K., 1998 ; Verhoeff A.-P., 1997), particulièrement dans les habitats ayant subi un dégât des eaux ou plus généralement dans les habitats humides subissant des phénomènes de condensation importants dont l'origine peut être diverse : mauvaise isolation, pont thermiques, suroccupation des pièces... ou encore par des phénomènes de remontée capillaire.

Dans cette étude, 32 audits environnementaux ont été conduits à Paris et en région parisienne, à la demande de médecins suspectant un lien entre la pathologie de leur patient et l'exposition à des moisissures au domicile. Après une visite approfondie de l'habitat pour la recherche de sources d'humidité et de moisissures, des prélèvements d'air, de surface et de poussières ont été réalisés dans le but de détecter et d'identifier la présence de moisissures et d'évaluer l'exposition des résidents.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

PRÉLÈVEMENTS D'AIR

Les échantillonnages sont réalisés avec des impacteurs microbiologiques à cribles. Deux types d'échantillonneurs ont été utilisés : l'Andersen N6 à un étage (débit 28,4 l.min⁻¹) et l'impacteur Airdéal (100 l. m⁻¹). Les échantillons sont prélevés sur milieu Malt au chloramphénicol. Le niveau de contamination de l'air n'étant pas connu *a priori*, trois volumes différents (entre 50 et

500 litres) sont échantillonnés par point de prélèvement. Les échantillonnages sont réalisés à hauteur des voies respiratoires d'une personne assise (un mètre du sol).

PRÉLÈVEMENTS DE SURFACE

Trois méthodes complémentaires sont utilisées.

La technique des boîtes contact consiste à appliquer sur la surface à étudier, selon un temps et une pression définies dans la norme ISO/DIS/4698-1, une gélose au Malt additionnée de chloramphénicol. Cette méthode ne peut être utilisée que lorsque le support à étudier est plan et sec.

La technique "scotch" est une méthode par empreinte indirecte. Les moisissures sont arrachées du support à étudier par une bande collante et reportées sur une gélose au Malt plus chloramphénicol.

La dernière méthode est l'écouvillonnage : elle consiste à réaliser un prélèvement de surface avec un coton stérile et sec.

PRÉLÈVEMENTS DE POUSSIÈRE

Les poussières sont extraites du support textile à étudier à l'aide d'un aspirateur (1200W ; 2 min.m⁻²) équipé en amont d'un porte-filtre contenant un filtre en cellulose stérile.

TRAITEMENT DES ÉCHANTILLONS ET CULTURE DES MOISSURES

Le tableau 1 reprend les méthodes de traitement des échantillons ainsi que les conditions de culture.

DÉNOMBREMENT ET IDENTIFICATION DES MOISSURES

Après cinq jours d'incubation, les colonies sont dénombrées sur chaque boîte. Les résultats sont rapportés en nombre d'unité formant colonie (cfu) par m³ pour l'air, par g pour la poussière et par dm² pour les surfaces.

	Méthode de prélèvement	Mise en suspension de l'échantillon	Milieu de culture	Incubation	
				T°	durée
Air	Andersen N6		Malt + C*	30°C	5 jours
Surface	Contact		Malt + C*		
	"Scotch"				
	Ecouvillon	Milieu Sabouraud			
Poussière	Aspirateur	Tween 0,02%	Malt + C*		
			M40Y + C*		
			M40Y + NaCl + C*		

Tableau 1 : Traitement des échantillons et conditions d'incubation.

Pour les prélèvements d'air, le nombre de trou(s) du crible positif(s), c'est-à-dire ayant permis l'impact et le développement d'au moins une colonie mycélienne, est corrigé par une loi statistique permettant de s'affranchir du biais correspondant à l'impact de plusieurs spores mycéliennes au même endroit sur la gélose.

Pour les identifications mycéliennes, les colonies représentatives sont isolées et purifiées sur une nouvelle gélose au Malt puis identifiées précisément par observation au microscope optique.

RÉSULTATS

AIR

Les prélèvements d'air ont été réalisés dans 10 "habitats non moisissés" où il n'y avait pas de développements mycéliens inhabituels et dans 22 "habitats moisissés". Le tableau 2 montre que la médiane des dénombrements mycéliens (DTM) dans l'air des "habitats moisissés" est significativement plus élevée que dans les "habitats non moisissés" et que dans l'air extérieur.

Dans l'air des "habitats moisissés", la figure 1 montre que la flore mycélienne est peu variée, représentée presque exclusivement par les genres *Penicillium* (P), *Aspergillus* (A) et *Cladosporium* (C). Plus de la moitié des souches

isolées appartient au genre *Penicillium*. Dans les "habitats non moisissés" les genres *Penicillium* et *Aspergillus* sont trouvés en quantité relative équivalente. A l'extérieur, la flore mycélienne est beaucoup plus variée.

La contamination de l'air des chambres dans les "habitats moisissés" est le plus souvent due à la présence de *Penicillium* (figure 2). Dans un cas, nous avons observé une contamination importante de l'air par l'espèce *Alternaria alternata* et dans un autre habitat, par *Cladosporium cladosporioides*. Les profils de contamination de l'air des chambres sont dans certains cas simples, c'est-à-dire qu'une seule ou deux espèces dominent, parfois ils sont plus complexes.

POUSSIÈRE

La contamination mycélienne et significativement plus importante dans la poussière des "habitats moisissés" que dans celle des "habitats non moisissés" (tableau 3).

Les genres mycéliens présents en quantité importante dans la poussière sont *Penicillium*, *Aspergillus* et *Eurotium* (figure 3). Ce dernier genre mycélien est représentatif des moisissures xérophiles capables de se développer dans des milieux relativement secs, ce qui est le cas de la poussière. Dans les "habitats moisissés", le genre *Penicillium* est trouvé en quantité plus importante que dans les "habitats non moisissés".

	Nb d'habitats	Nb d'échantillons	Percentile 5	Médiane	Percentile 95
Non moisissés	10	103	36	104	367
Moisissés	22	227	41	207*	1871
Extérieur		46	30	103	1484

Tableau 2 : Statistiques descriptives des prélèvements d'air.

* = Il existe une différence significative entre la médiane des habitats "moisissés" et "non moisissés" : $p = 2,78.10^{-10}$, selon le test de Mann-Whitney et entre la médiane des habitats "moisissés" et l'extérieur ; $p = 2,18.10^{-3}$

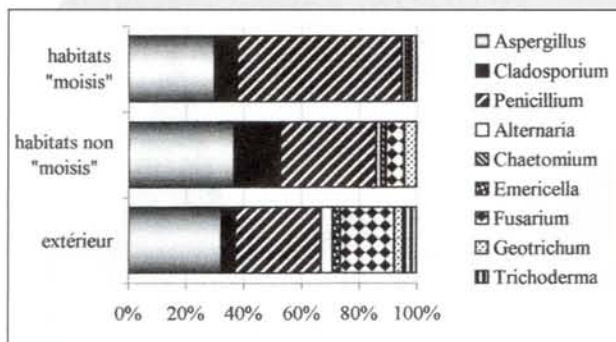


Figure 1 : Quantité relative des genres mycéliens dans l'air.

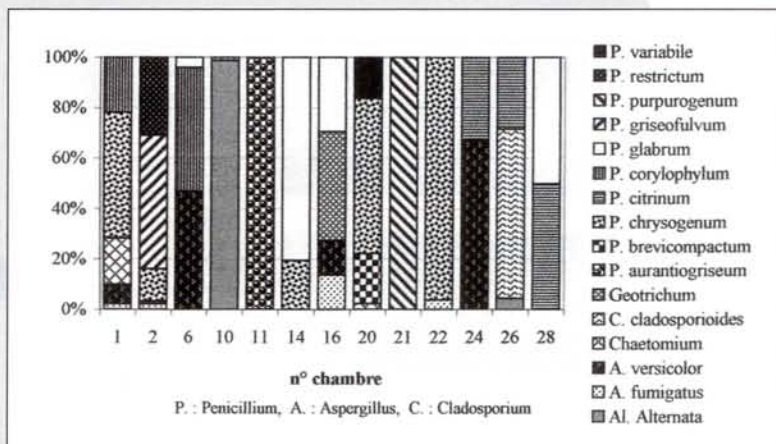


Figure 2 : Quantité relative des espèces mycéliennes dans l'air de chambres contaminées.

La figure 4 représente, en aires cumulées, la quantité relative des différents genres mycéliens identifiés selon le réservoir textile considéré. Les *Penicillium* sont présents en quantité équivalente dans les moquettes et les matelas étudiés, par contre, nous avons trouvé plus d'*Aspergillus*, de *Cladosporium* et de *Chaetomium* dans la moquette, ces deux derniers genres n'ayant pas été identifiés dans les matelas. On notera une plus grande proportion d'*Eurotium* dans les matelas.

SURFACES

La figure 5 montre que, sur les supports présentant des développements mycéliens, une grande variété de genres mycéliens a été trouvée. Certains genres mycéliens sont capables de se développer indifféremment sur différentes natures de support ; c'est le cas des *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Chaetomium* (figure 6). Par contre d'autres genres se montrent sélectifs quant au type de support permettant leur croissance : *Acremonium* sur la peinture, *Stachybotrys* sur le papier et les supports contenant de la cellulose.

DISCUSSION

L'interprétation des résultats quantitatifs obtenus dans les environnements intérieurs n'est pas aisée puisqu'il

n'existe actuellement aucune norme que ce soit à l'échelle nationale ou internationale. En 1996, Rao et al. ont publié une synthèse bibliographique des données quantitatives utilisées par différents pays ou agences gouvernementales pour l'interprétation des résultats. Ces valeurs (absolues ou relatives : concentrations intérieures/concentrations extérieures) ont été mesurées dans l'habitat ; ce sont des valeurs guides d'exposition, elles ne sont pas basées sur des études d'impact sur la santé. Les valeurs proposées par les différents pays concernés sont très dispersées, ce qui en rend l'utilisation délicate. Les résultats que nous avons obtenus dans l'air sont du même ordre de grandeur que ceux d'études d'exposition publiées dans différents pays (Ross 2000 ; Cole E.-C., 1994 ; Hunter C.-A., 1994, Mouilleseaux A., 1994 ; Nevalainen A., 1994). Par contre les résultats que nous avons obtenus à partir des prélèvements de poussière provenant "d'habitats moisissés" sont plus élevés (Dales R.-E., 1997 ; Beguin H., 1996 ; Verhoeff AP, 1994 ; Takatori K., 1994 ; Wickman M.-D., 1992). Cependant, le nombre d'échantillons que nous avons analysé est faible et la poussière provenait probablement de supports textiles très contaminés.

D'un point de vue qualitatif, dans les 32 habitats audités, les genres mycéliens les plus abondamment identifiés dans les trois milieux étudiés (air, poussière, surface) sont *Penicillium* et *Aspergillus*. Le genre *Cladosporium* est bien représenté dans l'air ainsi que sur les surfaces étudiées, mais pas dans la poussière

	Nb d'habitats	Nb d'échantillons	Percentile 25	Médiane	Percentile 75
Non moisissés	8	30	100	1 000	4 275
Moissés	12	48	1 370	11 535*	80 200

Tableau 3 : Statistiques descriptives des prélèvements de poussière.

* = Il existe une différence significative entre la médiane des habitats "moissés" et "non moisissés" : $p = 1.10^{-3}$, selon le test de Mann-Whitney.

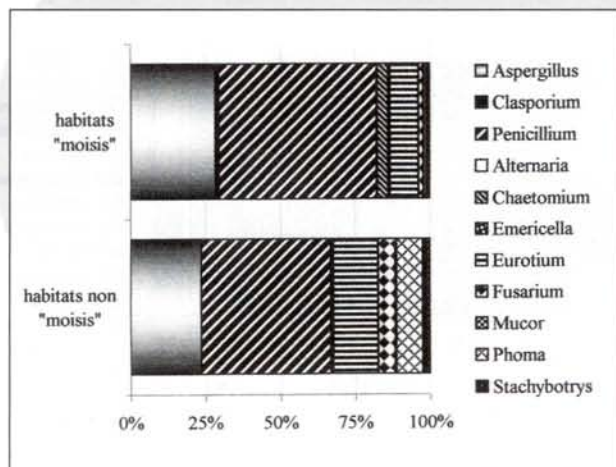


Figure 3 : Quantité relative des genres mycéliens dans la poussière.

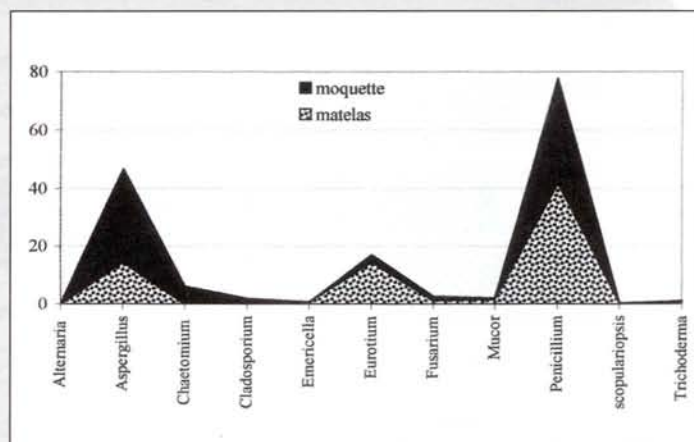


Figure 4 : Quantité relative des genres mycéliens dans la poussière selon la nature du réservoir.

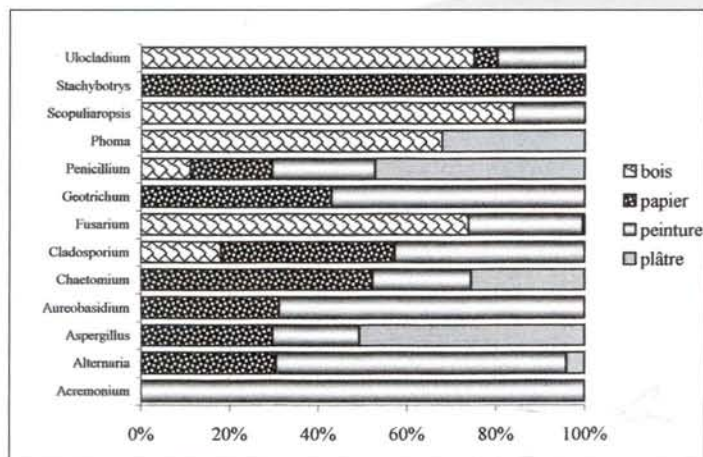


Figure 5 : Quantité relative des genres mycéliens sur les surfaces.

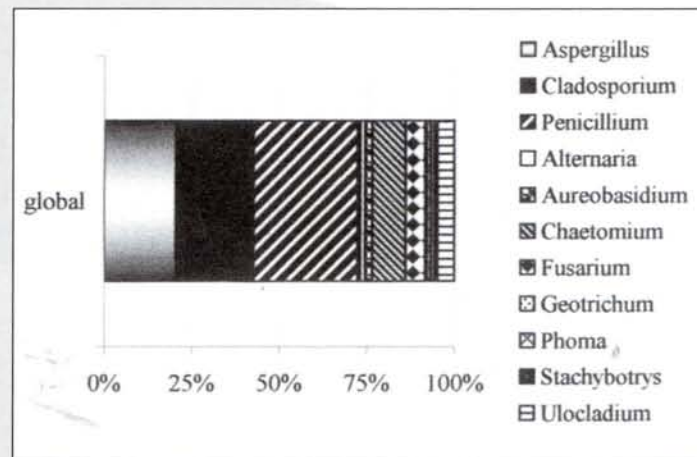


Figure 6 : Influence du support sur les développements mycéliens.

où le genre *Eurotium* est plus abondant. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par d'autres études européennes (D'Amato G., 1995).

Finalement, si l'on s'intéresse à la portée des audits réalisés, la présence de développements mycéliens inhabituels a été mise en évidence dans 70% des habitats étudiés, montrant que la demande du médecin était justifiée. Les occupants étaient alors exposés à des concentrations non négligeables de spores fongiques. Les conseils sur l'éviction des moisissures, prodigués aux occupants au moment de l'audit, sont répétés dans le rapport d'analyse envoyé au médecin. Dans certains cas, un signalement auprès d'un autre service de la ville de Paris (Service Technique de l'Habitat) permet la conduite d'une enquête technique de salubrité dont l'un des intérêts est l'obligation de réaliser des travaux d'assainissement en matière d'humidité des logements.

BIBLIOGRAPHIE

1. Beguin H, Noland N. - Prevalence of fungi in carpeted floor environment : analysis of dust samples from living-rooms, offices and school classrooms. *Aerobiologia* 1996;12:113-120.
2. Cole E.-C., Foarde K.-K., Leese K.-E. et al. - Assessment of fungi in carpeted environments. Health implications of fungi in indoor environments. *Air quality monographs* 1994; 2:103-128.
3. Dales R.-E., Miller D., McMuller E. - Indoor air quality and health : validity and determinants of reported home dampness and moulds. *International journal of Epidemiology* 1997;26(1):120-125.
4. D'Amato G., Spiekma FTHM. - Aerobiologic and clinical aspects of mould allergy in Europe. *Allergy* 1995;50:870-877.
5. Gehring U., Douwes J., Doekes G., Koch G., Heinrich J. - β 1-

- 3]-Glucan in House Dust of German Homes : Housing Characteristics, Occupant Behavior, and Relations with Endotoxins, Allergens, and Molds. *Environmental Health Perspectives* 2001;109:139-144.

6. Horner W.-E. - Fungal Allergens. *Clinical Microbiology Reviews* 1995;161-179.

7. Hunter C.-A., Lea R.-G. - The airborne fungal population of representative British homes. Health implications of fungi in indoor environments. *Air quality monographs* 1994;2:141-153.

8. Mouilleseaux A., Squinazi F. - Airborne fungi in several indoors environments. Health implications of fungi in indoor environments. *Air quality monographs* 1994;2:155-162.

9. Nevalainen A., Hyvärinen A., Pasanen A.-L. et al. - Fungi and bacteria in normal and mouldy dwellings. Health implications of fungi in indoor environments. *Air quality monographs* 1994;2:163-168.

10. Peat J.-K., Dickerson J., Li J. - Effects of damp and mould in the home on respiratory health : a review of the literature. *Allergy* 1998;120-128.

11. Ross M.-A., Curtis L., Scheff P.-A. et al. - Association of asthma symptoms and severity with indoor bioaerosols. *Allergy* 2000;55:705-711.

12. Takatori K., Lee H., Ohta T. - Composition of the house dust mycoflora in Japanese houses. Health implications of fungi in indoor environments. *Air quality monographs* 1994;2:93-101.

13. Verhoeff A.-P., Hoekstra E.-S., Samson R.-A. et al. - Fungal propagules in house dust, a comparison of analytical methods. Health implications of fungi in indoor environments. *Air quality monographs* 1994;2:49-63.

14. Rao C.-Y., Burge H.-A., Chang JCS. - Review of quantitative standards and guidelines for fungi in indoor air. *Air & Waste Manage. Assoc.* 1996;46:899-908.

15. Verhoeff A.-P., Burge H.-A. - Health risk assessment of fungi in home environments. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 1997;78:544-556.

16. Weiss J.-S. - Health effects from *Stachybotrys* exposure in indoor air : a critical review. *Indoor Air 2002 Proceedings*.

17. Wickman M.-D., Gravesen S., Nordvall S. et al. - Indoor viable dust-bound microfungi in relation to residential characteristics, living habits, and symptoms in atopic and control children. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1992;89:752-759.

