

Diplôme d'Etudes Spécialisées en Gestion de l'Environnement
- Université Libre de Bruxelles -

POLLUTION CHIMIQUE DE L'AIR INTERIEUR
PAR LES MICROORGANISMES

Travail de Fin d'Etudes présenté par
Gentiane SIMON
en vue de l'obtention du grade académique
de Diplômée d'Etudes Spécialisées en
Gestion de l'Environnement

Année académique : 2001-2002

Directeur : Prof. Jacques KUMMER

Je tiens à remercier le Professeur Jacques Kummer d'avoir accepté d'être mon directeur de TFE et pour les conseils qu'il m'a prodigués tout au long de ce travail.

Je ne voudrais pas oublier d'exprimer ma gratitude aux gens qui me côtoient tous les jours : mes collègues, et principalement Stéphanie, qui m'ont toujours apporté du soutien et parfois remonté le moral.

Merci aussi à DD pour avoir pris le temps de lire un travail encore inachevé.

Enfin, je tiens à remercier mes amis, ma famille et tout particulièrement Stéphane pour sa patience et son dévouement à m'écouter parler de pollution intérieure, de microorganismes, d'effets sur la santé ...

Merci

Table des matières :

| | |
|--|----|
| ❖ <u>Résumé</u> | i |
| ❖ I. <u>La pollution intérieure</u> | 1 |
| ➤ 1. Introduction | 1 |
| ➤ 2. Pollution physique, chimique, biologique et le SBS | 4 |
| - 2 a. Pollution physique | 4 |
| - 2 b. Pollution chimique.. | 6 |
| - 2 c. Pollution biologique | 9 |
| - 2 d. Syndrome des bâtiments malsains | 17 |
| ❖ II. <u>La pollution chimique par les microorganismes</u> | 18 |
| - 1. Exotoxines | 18 |
| - 2. Endotoxines | 19 |
| - 3. Peptidoglycanes | 21 |
| - 4. β -D-glucanes | 23 |
| - 5. Mycotoxines | 24 |
| - 6. COVM | 30 |

| | |
|---|----|
| ❖ III. <u>Mesure de la pollution intérieure</u> | 36 |
| ➤ 1. Techniques de prélèvement et d'analyse des bioaérosols | 36 |
| - 1 a. Bactéries et moisissures | 37 |
| - 1 b. Endotoxines | 38 |
| - 1 c. β -D-glucanes | 39 |
| - 1 d. Mycotoxines | 40 |
| ➤ 2. Techniques de prélèvement et d'analyse des COVM | 41 |
| - 2 a. Méthodes actives | 41 |
| - Extraction en phase solide (SPE) | 41 |
| - 2 b. Méthodes passives | 44 |
| - Micro-extraction en phase solide (SPME) | 45 |
| ❖ IV. <u>Problèmes de santé liés à la pollution chimique de l'air intérieur par les microorganismes</u> | 48 |
| ➤ 1. Signification toxicologique | 48 |
| - 1 a. Problématique | 48 |
| - 1 b. VME | 48 |
| - 1 c. Toxicologie des mélanges | 49 |
| - 1 d. Sensibilité chimique multiple | 53 |

| | |
|--|----|
| ➤ 2. Risques pour la santé | 54 |
| - 2 a. Endotoxines | 54 |
| - 2 b. β -D-glucanes | 55 |
| - 2 c. Mycotoxines | 56 |
| - 2 d. COVM | 58 |
| ❖ V. <u>Politique de gestion de la qualité de l'air intérieur</u> <u>à la recherche de nouveaux critères de salubrité</u> | 59 |
| ➤ 1. Gestion du risque | 59 |
| ➤ 2. Nouveaux critères de salubrité | 61 |
| ❖ <u>Conclusions</u> | 63 |
| ❖ <u>Bibliographie</u> | 66 |

Résumé

Ce travail de fin d'études fait le point des connaissances actuelles sur les composés chimiques produits par les microorganismes à l'intérieur des habitations et sur les effets qu'ils pourraient avoir sur la santé.

Le rôle des microorganismes dans le développement de certaines maladies - comme l'asthme, les infections respiratoires, les pneumopathies d'hypersensibilité ou des symptômes non spécifiques tels que la fatigue et les maux de tête - n'est pas clair, principalement à cause de l'absence de méthodes d'évaluation et de mesure adéquates.

Le but de ce travail est d'avoir une autre approche de la problématique de la pollution intérieure par les microorganismes en discutant des composés chimiques produits par les microorganismes, la fraction chimique de la pollution biologique étant un domaine qui a été relativement peu étudié jusqu'à présent.

Nous nous sommes intéressés à ce problème car habituellement, la qualité de l'air intérieur est évaluée par le prélèvement et le dénombrement de microorganismes dans l'air.

Or, il est reconnu d'une part que les moisissures et les bactéries émettent des composés chimiques ou les libèrent quand elles meurent, et d'autre part que ces composés peuvent subsister dans l'environnement domestique après la mort des microorganismes.

L'évaluation du contenu microbien dans l'environnement intérieur par des méthodes basées sur la culture des organismes n'est donc pas suffisante puisque seuls les organismes viables sont détectés.

Pour réaliser ce travail, nous avons dans un premier temps effectué une recherche approfondie de la littérature scientifique sur le thème de la pollution intérieure, en relation avec diverses disciplines comme la biologie, la chimie, la microbiologie et la toxicologie.

Après avoir donné quelques définitions essentielles sur les composés produits par les microorganismes, nous avons discuté de différentes techniques de prélèvement et d'analyse de ces substances chimiques.

Nous avons ensuite abordé les risques que ces diverses substances pourraient présenter pour la santé des occupants des habitations « malsaines ».

Table des matières des tableaux, figures et schémas :

TABLEAUX :

| | |
|--|-------|
| Tableau 1 : Principaux contaminants de l'air intérieur et leurs sources d'émission..... | 16 |
| Tableau 2 : Liste non exhaustive de mycotoxines | 26-27 |
| Tableau 3 : Classification des COVM | 32 |

FIGURES :

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Structure chimique type d'un lipopolysaccharide (<i>Salmonella</i>) | 20 |
| Figure 2 : Structure chimique type des peptidoglycanes | 21 |
| Figure 3 : Structure chimique type des β -D-glucanes | 23 |
| Figure 4 : Exemples de modifications chimiques effectuées par les moisissures | 24 |
| Figure 5 : Réaction de dérivatisation du formaldéhyde par le DNPH | 42 |

SCHEMAS :

| | |
|---|----|
| Schéma 1 : Membrane cellulaire de <i>E.coli</i> | 19 |
| Schéma 2 : Structure de la membrane et de la paroi de peptidoglycane chez les bactéries Gram ⁺ /Gram ⁻ | 22 |
| Schéma 3 : Comparaison de la taille des spores de champignons microscopiques avec les bactéries et les virus | 25 |
| Schéma 4 : Procédure d'extraction et de désorption de COVM à l'aide de la SPME (Supelco) | 45 |

I. La pollution intérieure

1. Introduction

La qualité de l'air intérieur est devenue une question environnementale importante. En effet, au cours de ces dernières années, le nombre de plaintes à ce sujet a augmenté, parallèlement à l'accroissement de l'utilisation de matières synthétiques et à la construction de bâtiments de plus en plus hermétiques.

Les problèmes liés à la qualité de l'air intérieur ont été intensifiés vers les années 1970 par l'application de mesures de conservation de l'énergie, réduisant l'apport d'air provenant de l'extérieur. ¹

De ce fait, sans ventilation suffisante, les polluants dont les sources se trouvent à l'intérieur des bâtiments, ou encore ceux qui s'y développent rapidement dans des conditions idéales de température et d'humidité, peuvent se rencontrer en concentrations beaucoup plus élevées dans l'air d'un espace confiné que dans l'environnement extérieur. ^{2, 3}

De nombreux facteurs sont à l'origine des plaintes formulées par les occupants. Il peut s'agir de mécanismes relevant de la chimie, de la microbiologie, de la physique ou encore de la psychologie. ⁴

L'environnement intérieur est un univers dynamique caractérisé par un grand nombre de polluants chimiques, physiques et biologiques (biocontaminants) dont les concentrations varient dans le temps et dans l'espace. Ces concentrations sont influencées par les sources d'émission qui peuvent être continues, comme celles dues aux matériaux de construction ou discontinues, comme celles associées aux activités humaines. ⁵

Cet environnement résulte de l'interaction entre le bâtiment, le climat (taux d'humidité et température), les occupants du bâtiment et les sources potentielles de contaminants.

Les produits de nettoyage et la pollution de l'air extérieur ⁶ peuvent également accroître le degré de contamination de l'air intérieur. ⁴

La réaction à ces contaminants a donné lieu au phénomène appelé « Syndrome des Bâtiments Malsains » (Sick Building Syndrome). ⁷ Il s'agit d'une série de symptômes non spécifiques liés à une exposition d'ordre chimique, physique ou biologique et qui n'ont pas de cause définie, mais qui s'atténuent, voire disparaissent lorsque l'occupant quitte le bâtiment.

Les symptômes signalés sont très vagues et comprennent maux de tête, nausées, fatigue, somnolence, refroidissement, fièvre, irritation des yeux, du nez et de la gorge.

Toutefois, des agents stressants comme le bruit, les vibrations et un éclairage mal conçu peuvent causer l'apparition de symptômes que l'on peut confondre avec les effets de la mauvaise qualité de l'air. ⁴

L'analyse d'échantillons d'air peut ne pas signaler la présence de concentrations importantes d'un contaminant, de sorte que le problème est souvent attribué aux effets combinés de nombreux polluants présents en faible concentration, combinés à d'autres facteurs, personnels ou environnementaux, tels que des taux d'humidité extrêmes ou une mauvaise circulation de l'air. ⁴

Bien que les efforts officiels pour réglementer la pollution de l'air se concentrent traditionnellement sur l'air extérieur, il est désormais évident que les contaminants de l'air intérieur, même en très faibles concentrations, sont à prendre en compte car nous passons généralement 80 à 90% de notre temps dans des bâtiments. ⁸

Cependant, le développement d'une législation sur la qualité de l'air intérieur est gêné par la pénurie de données sur les sources d'émission, les concentrations, les caractéristiques des bâtiments et les risques pour la santé.

Les problèmes liés à la quantification de l'exposition sont principalement dus au fait que les technologies avancées développées pour mesurer la pollution de l'air extérieur ne sont pas appropriées pour mesurer la pollution intérieure.

Il est aujourd'hui clairement établi que vivre dans un bâtiment humide augmente le risque de développer certaines maladies, principalement liées aux voies respiratoires, mais aussi des symptômes non spécifiques comme la fatigue ou le mal de tête. ⁹

Ce problème de santé publique doit absolument être abordé de manière multidisciplinaire. En effet, le sujet requiert des connaissances dans différents domaines scientifiques tels que la chimie, la biologie, la microbiologie, la mycologie, l'immunologie et la toxicologie.

Nous allons brièvement passer en revue les différents types de pollution rencontrés à l'intérieur des bâtiments, ce travail de fin d'études étant axé sur la pollution par les composés chimiques produits par les microorganismes, domaine qui a été relativement peu étudié jusqu'à présent.

Depuis une trentaine d'années, de nombreuses études se sont concentrées sur la contamination de l'alimentation humaine ou animale par les mycotoxines, ainsi que sur certaines expositions professionnelles aux composés organiques volatils, notamment dans le domaine de l'industrie.

Ce n'est que depuis quelques années que certains auteurs s'intéressent à la pollution chimique de l'air intérieur par les microorganismes, une pollution essentiellement rencontrée dans les habitations humides.

Après avoir donné quelques définitions essentielles sur les composés produits par les microorganismes, nous discuterons de quelques techniques de prélèvement et d'analyse de ces composés chimiques ainsi que des risques que ces substances peuvent présenter pour la santé des occupants des bâtiments dits « malsains ».

2. Pollution physique, chimique, biologique et le SBS

2 a. Pollution physique

- Bruit

Le bruit est défini comme un son indésirable et désagréable. De plus en plus de personnes sont dérangées par la circulation automobile ou le trafic aérien. Même à des niveaux très faibles, le bruit peut être néfaste pour la santé et le bien-être, en perturbant le sommeil ou encore en diminuant la capacité de concentration.¹⁰

- Champs électromagnétiques (CEM)

Nous sommes quotidiennement exposés à des CEM causés par l'utilisation d'appareils électroménagers. Cependant, la puissance du CEM diminue rapidement quand la distance par rapport à la source augmente.¹⁰

- Température

Le confort thermique d'un individu dépend de divers facteurs tels que la température ambiante de l'air, la température moyenne des parois, l'humidité relative de l'air, la vitesse de l'air, l'habillement de l'individu ainsi que de son activité.¹¹

La température idéale de l'air à l'intérieur des bâtiments se situe entre environ 18 et 24 °C.

En dessous ou au-delà, il y a un certain inconfort. Ces valeurs dépendent fortement de la région géographique.

- Humidité

Pour des températures de l'air intérieur comprises entre 18 et 24 °C, il est généralement recommandé de conserver une humidité relative entre 30 et 70 %. Ces valeurs dépendent également beaucoup de la région géographique.

L'humidité est un facteur jouant un rôle important dans la pollution biologique en favorisant l'apparition de moisissures, bactéries et acariens.

2 b. Pollution chimique ^{8, 12}

Il est important de noter que, pour un certain nombre de polluants chimiques rencontrés dans l'air intérieur des habitations, les sources extérieures peuvent contribuer largement aux concentrations mesurées. C'est notamment le cas pour les maisons situées en zone urbaine le long d'une voirie de fort trafic ou encore celles proches d'une zone industrielle.

Nous énumérons ci-dessous les formes les plus importantes de la pollution chimique à l'intérieur des logements.

- Particules respirables (PM_{10})

Ce sont des aérosols dont les particules ont un diamètre inférieur à 10 μm et qui sont donc suffisamment petites pour entrer dans le système respiratoire inférieur et provoquer des troubles respiratoires. La principale source de particules est l'air provenant de l'extérieur, pollué par les émissions des véhicules Diesel.

La dangerosité de telles particules provient de leur petite taille, combinée au fait que des produits toxiques peuvent s'y adsorber.

- Amiante

Ce terme générique s'applique à un groupe de minéraux de silicate hydratés. Jusqu'à récemment, l'amiante était largement utilisé par l'industrie de construction pour la fabrication de nombreux produits. Les matériaux contenant de l'amiante libèrent des fibres microscopiques lorsqu'ils sont sciés, découpés, percés ou lorsqu'ils se dégradent.

Les effets de l'amiante sur la santé ont conduit à introduire une législation interdisant l'utilisation de ce produit dans de nombreux pays. Désormais, la plupart des problèmes de qualité de l'air liés à l'amiante sont associés à une mauvaise gestion des bâtiments existants qui contiennent ce produit.

- Radon

Le radon (Rn 222) est un gaz radioactif inodore et incolore provenant de la désintégration de l'uranium radioactif naturel contenu dans l'écorce terrestre. Il se trouve naturellement dans le sol et dans l'atmosphère.

Le radon se désintègre lui-même en éléments radioactifs qui peuvent se fixer sur des particules présentes dans l'air et ainsi pénétrer dans les poumons.

- Dioxyde de carbone

Le dioxyde de carbone (CO₂) est un gaz incolore et inodore. Il résulte de l'activité métabolique de l'homme et est également le produit principal de la combustion de gaz, de pétrole, de bois et de charbon.

- Monoxyde de carbone

Le monoxyde de carbone (CO) est un gaz toxique inodore produit par la combustion incomplète de carburant.

A forte dose, il peut entraîner le coma puis la mort.

- Dioxyde d'azote

Le dioxyde d'azote (NO₂) est un gaz avec une odeur âcre irritante. Il est formé par la combinaison d'azote et d'oxygène durant la combustion à haute température.

Le dioxyde d'azote peut entraîner une altération de la fonction respiratoire.

- Dioxyde de soufre

Le dioxyde de soufre (SO₂) est un gaz incolore avec une forte odeur irritante produit par l'oxydation d'impuretés de soufre lors de la combustion de charbon ou d'un autre carburant contenant du soufre.

- Fumée de tabac

La fumée de tabac est un aérosol contenant plusieurs centaines de substances, en phase gazeuse ou particulaire, issues de la pyrolyse du tabac. Cette forme de pollution est la plus importante à l'intérieur d'un bâtiment lorsqu'une ou plusieurs personnes fument.

Il est maintenant reconnu que les tabagismes actif et passif entraînent, entre autres, des problèmes cardiovasculaires, des irritations du système respiratoire et le cancer des poumons.

- Composés organiques volatils

Les composés organiques volatils (COV) ont par définition un point d'ébullition qui se situe dans la gamme de température de 50 à 260 °C. Ils peuvent s'évaporer à température ambiante et diffuser dans l'air.

Il existe probablement plusieurs centaines de produits chimiques synthétiques et naturels qui peuvent être qualifiés de COV.

Ils entrent dans la composition de nombreux matériaux et produits utilisés dans le bâtiment : les bois agglomérés ou contre-plaqués, les textiles utilisés pour le mobilier ou la décoration, les revêtements de murs et de sols synthétiques, les peintures, les vernis, les colles et les éléments d'isolation comme les mousses.

Ces substances sont irritantes pour les muqueuses et le système respiratoire.

Le COV majeur à l'intérieur des habitations est le formaldéhyde, gaz incolore à l'odeur piquante émis par les matériaux de construction et d'isolation ainsi que par les meubles en bois (principalement contre-plaqués et agglomérés).

2 c. Pollution biologique

On scinde généralement les agents de la pollution biologique en organismes viables et en particules non viables.

Parmi les organismes viables on trouve :

- champignons
- spores viables de champignons
- bactéries
- virus
- acariens

Parmi les particules non viables on trouve :

- composés chimiques volatils provenant des champignons et des bactéries
- composés chimiques non volatils provenant des champignons et des bactéries
- débris de champignons et de bactéries
- squames d'insectes (acariens)
- poils d'animaux (chats, chiens)
- pollens

Les bioaérosols dans l'environnement intérieur sont généralement des mélanges complexes de particules aéroportées de 0,5 à 50 μm de diamètre contenant des microorganismes, leurs fragments (comme les endotoxines, composés toxiques de la paroi cellulaire des bactéries Gram⁻), ainsi que les métabolites produits par ces organismes (comme les mycotoxines, composés toxiques synthétisés par les champignons microscopiques). ¹³

Les microorganismes sont omniprésents à l'intérieur comme à l'extérieur des bâtiments. Une grande variété de microorganismes tels que les champignons microscopiques (moisissures et levures), les bactéries et les virus peuvent se retrouver à

l'intérieur des habitations. Ce genre de contamination se produit souvent lorsqu'un défaut du bâtiment, du système de ventilation ou un problème d'humidité sur un mur permet la prolifération de ces microbes.

L'évaluation microbienne de l'air intérieur a débuté vers la fin des années 1950, époque à laquelle des infections nosocomiales touchant des patients ont suscité des inquiétudes dans de nombreux hôpitaux. Ces infections étaient entre autres causées par des microorganismes atmosphériques dispersés par le système de ventilation.⁴

Au-delà de l'aspect esthétique, la contamination de l'air intérieur par les microorganismes peut poser de sérieux problèmes de santé.

Les agents biologiques peuvent causer des maladies par des mécanismes atopiques, des processus infectieux ou par toxicité directe.¹²

Les allergies, inflammations et réactions toxiques sont causées par la partie viable mais aussi non viable des bioaérosols.

Les infections ne peuvent être causées que par des organismes pathogènes viables opportunistes (virus, bactéries et champignons).¹⁴

- Allergènes biologiques¹⁵

Dans l'air intérieur, l'allergène le plus fréquent est l'acarien présent dans la poussière, dont les espèces prépondérantes sont *Dermatophagoides pteronyssinus* et *D. farinae*.

Mais l'on rencontre aussi les poils d'animaux comme ceux du chat (*Felis domesticus*) et du chien (*Canis familiaris*), certaines bactéries ou encore le pollen.

De même, certaines espèces de champignons microscopiques des genres *Penicillium*, *Aspergillus*, *Alternaria* et *Cladosporium* peuvent provoquer ou aggraver des maladies allergiques comme l'asthme ou la rhinite allergique.

- Virus, bactéries et champignons microscopiques

Les microorganismes sont une forme importante de pollution de l'environnement intérieur.

La principale source de microorganismes dans l'air intérieur est l'homme, par l'émission permanente de gouttelettes salivaires et nasales et par la perte de squames cutanées.

Une autre source possible est un réservoir d'eau renfermant des microorganismes, comme un pommeau de douche, un nébulisateur ou un humidificateur, qui dissémine des micro-gouttelettes d'eau contaminée dans l'atmosphère.

L'air extérieur est également une source de microorganismes dans l'air intérieur, principalement en ce qui concerne les champignons.

Enfin, les poussières contenant microorganismes, mycotoxines ou endotoxines sont mises en suspension dans l'air par les activités humaines.

Un grand nombre d'espèces de champignons et de bactéries peuvent croître à l'intérieur des bâtiments grâce à l'apport de matières organiques qui leur servent de nourriture telles que les poussières, aliments, cellulose, papier, silicone ou encore plâtre.

La croissance des microorganismes est favorisée par des taux élevés d'humidité et ils sont donc fréquemment rencontrés dans les habitations rencontrant des problèmes d'eau (fuite, infiltration, inondation).

o **Virus**

Les virus causent des maladies, mais l'air intérieur n'est généralement pas la cause des infections virales. En effet, les virus ne survivent pas longtemps à l'extérieur de l'hôte et la transmission dépend du contact avec une personne infectée.

o Bactéries

Les bactéries sont des organismes unicellulaires qui se multiplient par simple division cellulaire. Environ 150.000 espèces sont connues. La majorité des espèces rencontrées

dans l'air sont saprophytes : elles tirent leur énergie des milieux organiques. Elles ont besoin de beaucoup d'humidité pour se multiplier.

Certaines bactéries sont reconnues comme agents responsables de maladies infectieuses. ¹² Par exemple, la maladie du légionnaire est une pneumopathie infectieuse due à l'inhalation de micro-gouttelettes d'eau contaminée par la bactérie *Legionella pneumophila* qui se développe dans des réservoirs d'eau stagnante ou des systèmes de conditionnement d'air mal entretenus.

Les bactéries Gram⁻ produisent des toxines, les endotoxines, qui sont des composants lipopolysaccharidiques de la paroi cellulaire pouvant causer des problèmes respiratoires. ¹⁶

- o Champignons microscopiques

Il existe au moins 100.000 espèces connues de moisissures et de levures, ces deux groupes appartenant à la famille des champignons (Fungi).

Les levures sont des organismes unicellulaires qui se divisent par fission et par bourgeonnement, tandis que les moisissures sont des organismes pluricellulaires qui se propagent par sporulation, les spores étant libérées sous l'effet de mouvements d'air importants ou en réaction à des conditions défavorables en température ou humidité. ¹⁷

Les moisissures peuvent se développer sur de nombreux substrats pourvu qu'il y ait suffisamment d'humidité. ¹⁸

On parle alors de l'activité de l'eau a_w (water activity), c'est-à-dire l'eau disponible sur un substrat. ²

Par exemple, l'activité de l'eau nécessaire pour la croissance de *Aspergillus fumigatus*, *Trichoderma* sp., *Stachybotrys* sp. ou encore *Fusarium* sp. est supérieure à 0,90. Celle requise pour le développement de *Aspergillus versicolor* et *Penicillium* sp. est inférieure à 0,90. ¹⁹

L'eau est nécessaire pour la germination des spores de moisissures. Après germination, l'hyphe secrète des enzymes digestives qui cassent le matériel organique (nourriture). Les enzymes ne sont pas efficaces sans humidité. Ensuite, l'hyphe absorbe les nutriments du mélange prédigéré.

La moisissure peut ainsi se développer, créer des spores et coloniser le matériau.

Si l'habitation est peu aérée, les quantités de champignons microscopiques peuvent rapidement devenir importantes.

A ce stade, il est important de souligner que les moisissures en faible quantité à l'intérieur des bâtiments ne sont pas nocives pour la majorité des habitants.

Cependant, dans le cas où les concentrations en champignons sont élevées, lorsque les personnes souffrent de problèmes respiratoires ou lorsqu'elles ont un système immunitaire déficient, l'exposition aux moisissures peut favoriser l'apparition de certains symptômes. ¹⁷

La réaction à l'exposition de moisissures présentes dans l'air dépend donc de plusieurs facteurs ² :

- la quantité de moisissure
- le type de moisissure
- le temps d'exposition
- la sensibilité de la personne exposée (predisposition génétique aux allergies ou à l'asthme)

Les principaux effets sur la santé associés à une exposition aux moisissures sont les infections, les réactions d'hypersensibilité et l'irritation.

Quelques exemples sont donnés ci-dessous :

- L'aspergillose invasive chez les patients immunodéprimés est une infection qui a pour origine la dissémination de poussières contaminées par le champignon microscopique *Aspergillus fumigatus*.⁵
- L'inhalation de concentrations très importantes de spores de champignons microscopiques peut entraîner une allergie ou une pneumopathie d'hypersensibilité.²

L'allergie est le symptôme le plus souvent associé aux problèmes d'exposition à des moisissures.

En fait, de nombreux champignons produisent naturellement des métabolites secondaires. Parmi ceux-ci, on trouve des mycotoxines qui sont des composés chimiques toxiques pouvant s'adsorber sur les particules présentes dans l'air, dont les spores, viables ou non, et ainsi être facilement transportés dans le système respiratoire.^{19, 20} Certaines espèces de cette catégorie appartiennent aux genres *Aspergillus*, *Penicillium* et *Stachybotrys*.

- En ce qui concerne l'irritation, il faut prendre en compte une autre classe de métabolites secondaires produits par les champignons : les composés organiques volatils dits microbiens, également émis par des bactéries (COVM). Ils sont responsables de l'odeur de « moisi » et peuvent être irritants pour les muqueuses.^{13, 19}

Suite à ce qui a été décrit dans les pages précédentes, il devient évident qu'un habitat humide et mal ventilé constitue un réel problème de santé publique.

Ce problème de l'environnement intérieur doit absolument être approché de manière interdisciplinaire, il faut donc une collaboration entre :

- Scientifiques (chimistes, microbiologistes, mycologues, toxicologues...)
- Médecins, particulièrement les médecins de famille
- Propriétaires des bâtiments, locataires
- Ingénieurs et architectes (matériaux de construction et systèmes d'air conditionné)
- Politiciens

Pour résumer globalement la situation, les contaminants physiques, chimiques et biologiques les plus importants de l'air intérieur sont repris dans le tableau 1 avec leurs principales sources d'émission. ⁸

| <u>Polluants</u> | <u>Sources d'émission majeures</u> |
|---|--|
| Allergènes | Acariens, poils d'animaux domestiques, champignons |
| Amiante | Matériaux d'isolation et d'ignifugation |
| Dioxyde d'azote | Extérieur, combustion à haute température |
| Dioxyde de carbone | Activité métabolique, combustion |
| Dioxyde de soufre | Extérieur, combustion de carburants |
| Formaldéhyde | Mobiliers en bois, matériaux d'isolation et de construction |
| Hydrocarbures aromatiques polycycliques | Combustion de carburant, fumée de tabac |
| Microorganismes | Habitants, animaux, plantes, systèmes de conditionnement d'air |
| Monoxyde de carbone | Combustion incomplète de carburants, fumée de tabac |
| Ozone | Réactions photochimiques |
| Particules | Extérieur, re-suspension, fumée de tabac, combustion |
| Pollens | Extérieur, arbres, plantes, herbe |
| Radon | Sol, matériaux de construction (béton, pierre) |
| Spoires fongiques | Sol, plantes, produits alimentaires |
| Composés organiques | Matériaux de construction, combustion, fumée de tabac, solvants, microorganismes |

Tableau 1 : Principaux contaminants de l'air intérieur et leurs sources d'émission

2 d. Syndrome des Bâtiments Malsains ou Sick-building syndrome (SBS) ⁷

Le Syndrome des Bâtiments Malsains se caractérise par des symptômes non spécifiques qui touchent la peau, les muqueuses, le système respiratoire et le système nerveux central.

Ces symptômes comprennent maux de tête, nausées, fatigue, somnolence, refroidissement, fièvre, toux, irritation des yeux, du nez et de la gorge.

Ils sont directement liés à l'occupation d'un bâtiment. En effet, ils apparaissent rapidement et disparaissent dès que la personne a quitté les lieux.

Parmi les facteurs associés au SBS, on distingue la pollution chimique, la pollution microbiologique, le climat, les facteurs environnementaux ainsi que les facteurs personnels. La plupart de ces symptômes sont bénins, mais lorsqu'ils sont prolongés ou répétés, ils peuvent provoquer un certain mal-être, qui peut devenir responsable d'absentéisme et nécessiter une consultation médicale.

Ces symptômes sont différents de ceux provoqués par les pathologies liées aux bâtiments. Dans ce cas, les symptômes sont spécifiques d'affections précises (rhinite, asthme). Ils se manifestent progressivement et disparaissent après un temps plus long. Ces maladies, qui menacent la santé à court terme, peuvent être dues à une exposition à des champignons, des spores ou encore à des composés chimiques allergènes.

II. La pollution chimique par les microorganismes

Parmi les diverses substances chimiques produites par les microorganismes, seules celles qui pourraient présenter un risque pour la santé sont discutées dans cette partie. Elles sont classées en groupes suivant leur provenance (bactéries et/ou moisissures) et leur structure chimique.

1. Exotoxines

Les exotoxines sont des molécules bioactives toxiques produites par les bactéries. Ce sont des protéines habituellement sécrétées pendant la croissance ou relâchées pendant la lyse de la cellule bactérienne.

La production d'une toxine est spécifique à une espèce donnée. Par exemple, la toxine tétanos est uniquement produite par *Clostridium tetani*, et *Corynebacterium diphtheriae* produit la toxine diphtéria qui n'est produite par aucune autre espèce. Cette dernière toxine, qui est une chaîne polypeptidique d'un poids moléculaire de 60 kDa, est la toxine bactérienne la plus étudiée.

Ces toxines protéiques sont associées à des maladies infectieuses comme le botulisme (toxine botulinum, *Clostridium botulinum*), le choléra (entérotoxine cholera, *Vibrio cholerae*) ou encore le tétanos (toxine tétanos, *Clostridium tetani*).

Les termes tels que « entérotoxine », « neurotoxine » ou « leucotoxine » sont utilisés pour indiquer le site d'action de certaines toxines.

Elles peuvent se retrouver sous la forme d'un aérosol si le substrat qui supportait la croissance bactérienne est réduit en fines particules.¹⁷

Les risques pour la santé associés aux exotoxines dans l'air intérieur ne sont pas documentés dans la littérature scientifique.

2. Endotoxines

Les endotoxines sont des constituants de la paroi cellulaire des bactéries Gram⁻. Il s'agit de lipopolysaccharides, c'est-à-dire des substances amphiphiles complexes de poids moléculaire d'environ 10 kDa, renfermant une partie polysaccharidique et une partie lipidique, ainsi que quelques acides aminés. Ces substances sont solubles dans l'eau et insolubles dans les solvants organiques usuels. ²¹

En général, on parle de lipopolysaccharides lorsqu'ils sont intacts dans la membrane cellulaire et d'endotoxines lorsque l'on parle des effets sur la santé.

Les lipopolysaccharides sont ancrés dans la partie externe de la membrane cellulaire des bactéries Gram⁻ (Schéma 1).

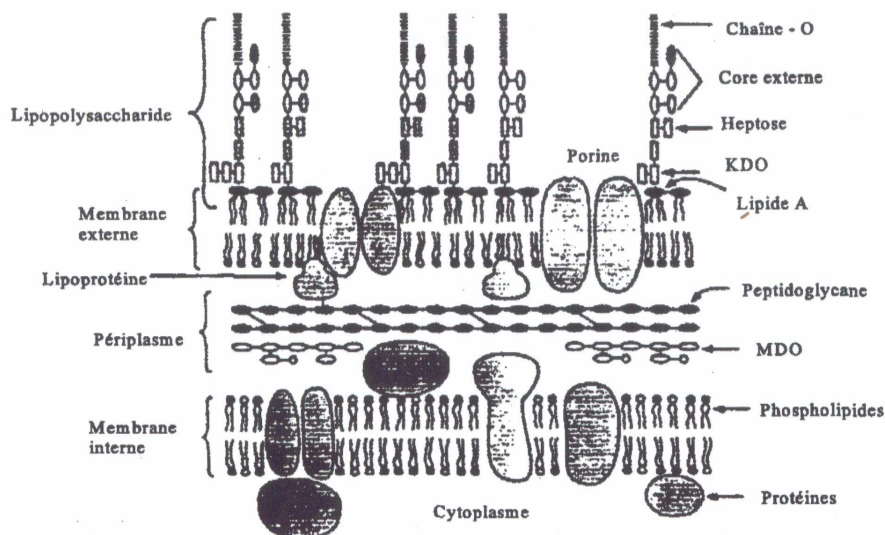


Schéma 1 : Membrane cellulaire de *E. coli* ²²

Les scientifiques s'intéressent aux endotoxines et à leurs effets sur la santé depuis de nombreuses années, principalement dans le milieu du travail. ²²

Les effets sur la santé des endotoxines dans l'air dépendent de l'espèce de bactérie, de la sensibilité de l'individu exposé et de la quantité de substance inhalée. Ces toxines lipopolysaccharidiques provoquent entre autres malaises, fièvre et problèmes respiratoires. ^{16, 17}

Bien qu'une grande diversité structurale soit rencontrée chez les différents sérotypes bactériens, la majorité des lipopolysaccharides présentent une architecture commune, que l'on divise en trois régions ^{21, 22} (Figure 1) :

- le lipide A : il s'agit d'un dimère de N-acétyl-glucosamines phosphorylées (GlcNAc-P) auquel sont attachés 5 à 7 acides gras saturés. Ce glycolipide constitue la partie toxique du lipopolysaccharide.

R1 et R2 = phosphoéthanolamine ou aminoarabinose.

- le cœur : il est constitué d'hétérosaccharides et est lié de façon covalente au lipide A. Deux sucres sont généralement présents en plus du glucose (Glu) et du galactose (Gal) dans ce polysaccharide qui normalement ne varie pas entre les espèces bactériennes d'un même genre : l'heptose (Hep) et l'acide 2-céto-3-déoxyoctanoïque (KDO).

- la chaîne O spécifique : elle est attachée au cœur polysaccharidique et est constituée d'un polymère d'oligosaccharides de 3 à 5 sucres, parmi lesquels on retrouve le galactose et la N-acétyl-glucosamine (GlcNAc).

Jusqu'à 40 unités de ce polymère peuvent se répéter (n = 40). Cette chaîne, qui varie considérablement entre les espèces bactériennes, est bien plus longue que le cœur et est le domaine hydrophile de la molécule de lipopolysaccharide.

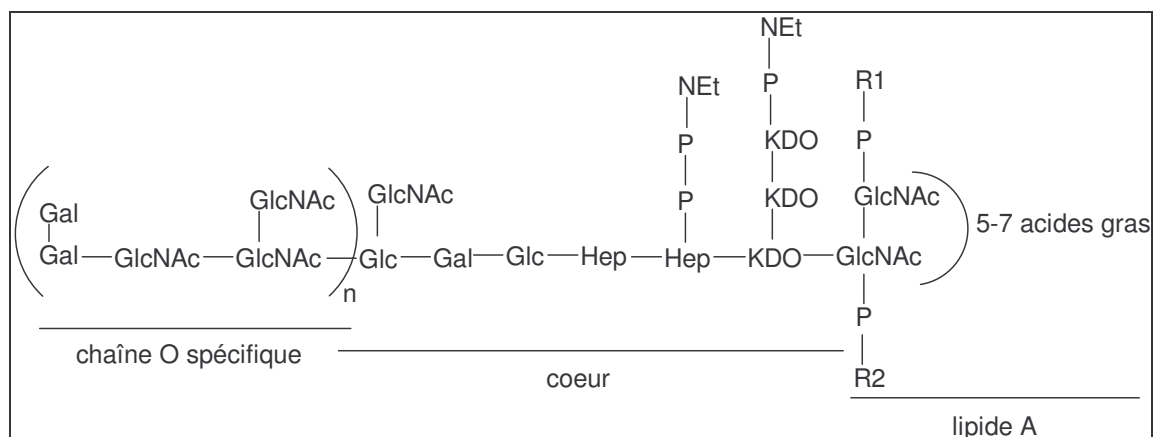


Figure 1 : Structure chimique type d'un lipopolysaccharide (*Salmonella*)

3. Peptidoglycanes

Les peptidoglycane sont des composants de la paroi cellulaire des bactéries. Ce sont des hétéropolymères en échelle composés de chaînes glucidiques reliées les unes aux autres par des ponts peptidiques (Figure 2).

Les deux sucres sont la N-acétyl-glucosamine (GlcNAc ou NAG) et l'acide N-acétyl-muramique (NAM). Une chaîne latérale composée de quelques acides aminés variant suivant les bactéries fait le lien entre les sucres NAM.

Ces molécules biologiques pourraient causer de l'inflammation pulmonaire. ¹⁷

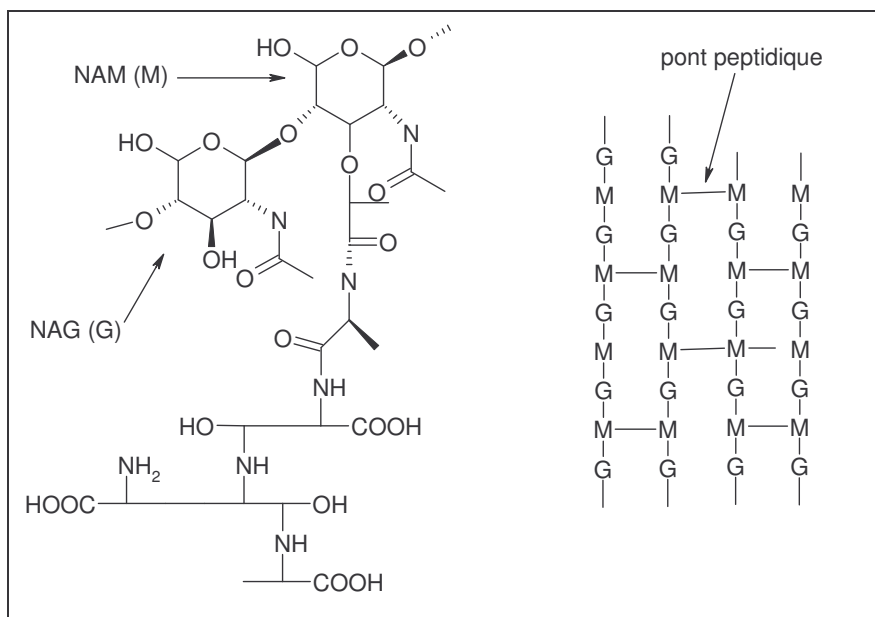


Figure 2 : Structure chimique type des peptidoglycane

Le schéma 2 représente la différence entre deux types bactériens, les bactéries Gram⁺ et les bactéries Gram⁻.

Par la coloration de Gram, les bactéries Gram⁺ prennent une couleur violette, tandis que les bactéries Gram⁻ deviennent rouges.

Les bactéries Gram⁻ possèdent une mince couche de peptidoglycane entourée par une membrane interne et une membrane externe rendue perméable par la présence de porines, tandis que les bactéries Gram⁺ possèdent une couche épaisse de peptidoglycane au-dessus de leur membrane.

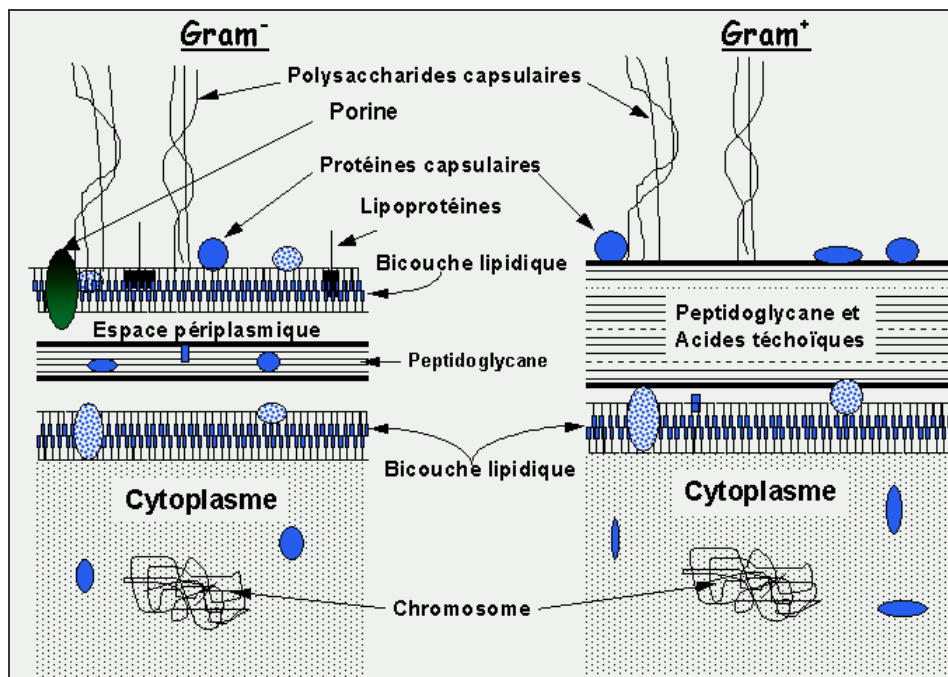


Schéma 2 : Structure de la membrane et de la paroi de peptidoglycane chez les bactéries Gram⁺/Gram⁻ ²³

4. β -D-glucanes

Les β -D-glucanes sont des polymères de glucose (Figure 3), les molécules de glucose pouvant être associées par des liaisons (1 – 3), (1 - 4) ou (1 - 6).

Les (1 \rightarrow 3)- β -D-glucanes sont des polymères de glucose se trouvant dans les parois cellulaires de moisissures et de certaines bactéries.

Ils existent sous différentes formes, caractérisées par leur solubilité dans l'eau, la structure de la macromolécule (hélice simple, hélice triple ou conformation aléatoire) et le nombre de ramifications.

Ces composés pourraient être des agents irritants pour les voies respiratoires. ¹⁷

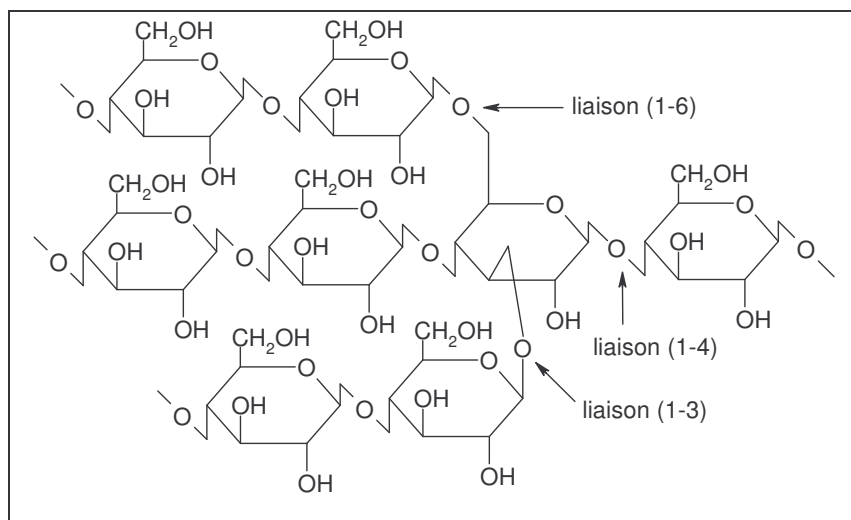


Figure 3 : Structure chimique type des β -D-glucanes

5. Mycotoxines

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires (elles ne sont pas essentielles à la vie de la moisissure) toxiques produits par de nombreuses moisissures dans des conditions non optimales pour leur croissance.²⁰

Plus de 400 mycotoxines ont été identifiées, de nombreux autres composés doivent encore être isolés. Ces substances servent de défense contre les autres microorganismes, dont d'autres champignons^{2, 17} et n'ont pas nécessairement de signification biochimique dans la croissance ou le développement.²⁴

Elles sont par exemple produites par les champignons microscopiques des genres *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Stachybotrys* et *Trichoderma*.

La consommation de nourriture contaminée par des champignons est depuis longtemps liée à des problèmes de santé.

Depuis peu, on se rend compte que les mycotoxines dans l'air peuvent également causer des maladies. Ces toxines peuvent provoquer divers effets chroniques graves qui ne peuvent pas être attribués à une croissance fongique dans l'hôte.

Plusieurs de ces composés sont associés à des cancers dans des études épidémiologiques.²⁰

Quelques-unes des modifications chimiques effectuées par les moisissures sur un stéroïde typique, l'hydrocortisone, sont présentées à la figure 4.²⁵

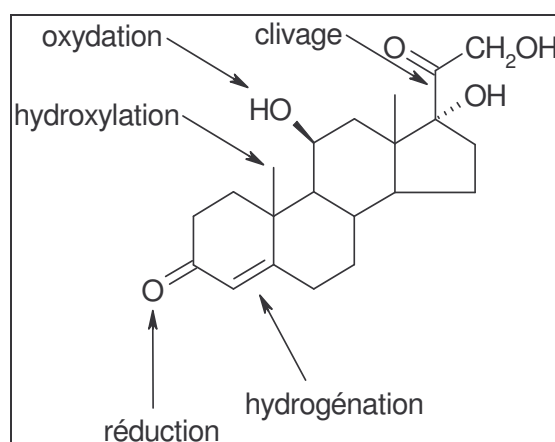


Figure 4 : Exemples de modifications chimiques effectuées par les moisissures

La plupart des mycotoxines étant des molécules avec un poids moléculaire relativement important, elles ne sont pas volatiles et ne sont donc pas présentes dans l'air sous forme d'aérosol. ²⁶

Elles pénètrent alors dans le système respiratoire grâce aux diverses particules en suspension dans l'air. ²⁷

Des particules d'un diamètre inférieur à 60 µm peuvent pénétrer dans le système respiratoire supérieur et celles d'un diamètre plus petit que 4 µm peuvent se loger dans le système respiratoire inférieur. ²⁰

Comme écrit dans l'introduction, les mycotoxines peuvent être présentes sur les spores de champignons. La taille des spores émises dépend de l'espèce de moisissure et est généralement entre 1 et 50 µm.

Le schéma 3 permet de se faire une idée de l'ordre de grandeur de la taille des spores de champignons comparé aux bactéries et aux virus, l'ordonnée du centre d'un cercle représentant le diamètre moyen de la particule, en µm. ²⁸

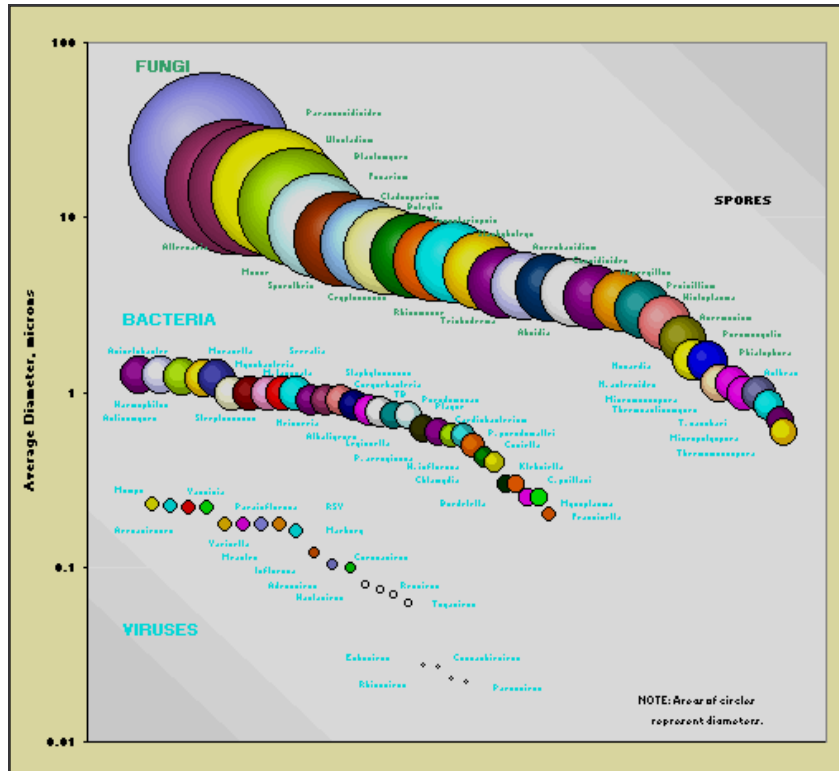


Schéma 3 : Comparaison de la taille des spores de champignons microscopiques, des bactéries et des virus

Différents types de mycotoxines peuvent être présents dans l'air. Certaines moisissures sont capables de produire plusieurs mycotoxines et certaines mycotoxines sont produites par plusieurs espèces fongiques. ²⁴

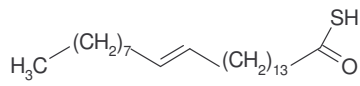
Le tableau 2 est une liste non exhaustive de mycotoxines produites par les moisissures. ^{17, 29}

| <u>Fungi</u> | <i>Mycotoxines</i> |
|--------------------------------|--|
| Alternaria alternata | Acide tenuazoïque Alternariol |
| Aspergillus clavatus | Cytochalasines Patuline |
| Aspergillus flavus | Aflatoxines Citrinine Sterigmatocystine |
| Aspergillus fumigatus | Fumitremorgènes Gliotoxine |
| <i>Aspergillus nidulans</i> | Sterigmatocystine |
| <i>Aspergillus niger</i> | Acide oxalique |
| <i>Aspergillus ochraceus</i> | Acide pénicillique Ochratoxines Viomelléine Xanthomegnine |
| <i>Aspergillus parasiticus</i> | Aflatoxines |
| <i>Aspergillus versicolor</i> | Sterigmatocystine |
| <i>Chaetomium</i> sp. | Chaetomine |
| <i>Cladosporium</i> sp. | Acide épicladosporique Cladosporine |
| <i>Fusarium</i> sp. | Fusarine Moniliformine Toxine T-2 Vomitoxine |

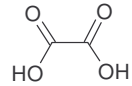
| | |
|---|---|
| | Zearalenone |
| <i>Memnoniella</i> sp. | Griseofulvine |
| Paecilomyces sp. | Paecilotoxines |
| Paecilomyces variati | Patuline |
| <i>Penicillium aurantiogriseum</i> | Acide pénicillique Ochratoxines Verrucosidine Viomelléine |
| <i>Penicillium citrinum</i> | Citrinine |
| <i>Penicillium expansum</i> | Citrinine Patuline |
| <i>Penicillium griseo-fulvum</i> | Griseofulvine |
| <i>Penicillium polonicum</i> | Verrucosidine |
| <i>Penicillium roqueforti</i> | Roquefortine |
| <i>Penicillium viridicatum</i> | Acide pénicillique Griseofulvine Ochratoxines Viomelléine Xanthomegnine |
| <i>Phoma soghina</i> | Acide tenuazoïque |
| <i>Stachybotrys chartarum</i> (= <i>atra</i>) | Satratoxines Verrucarine |
| <i>Trichoderma viridi</i> | Satratoxines Trichodermine |

Tableau 2 : Liste non exhaustive de mycotoxines

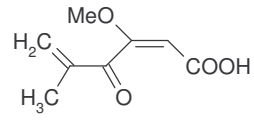
Le groupe des mycotoxines comprend des composés de structures chimiques très diversifiées. Les différentes structures chimiques des mycotoxines du tableau 2 sont représentées ci-dessous par ordre alphabétique :



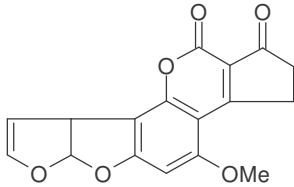
Acide épicladosporique



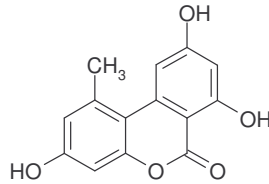
Acide oxalique



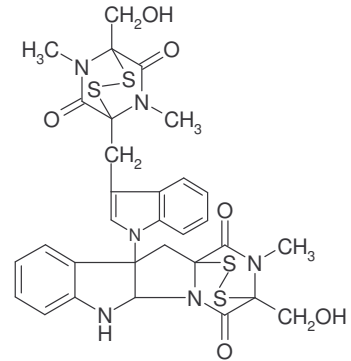
Acide pénicillique



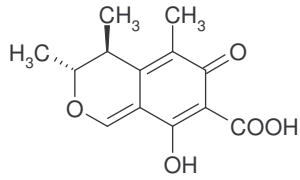
Aflatoxine B₁



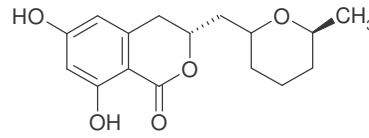
Alternariol



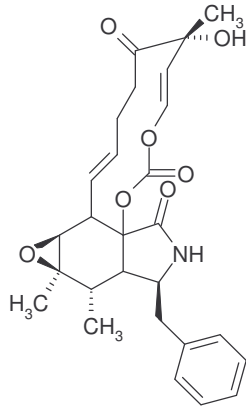
Chaetomine



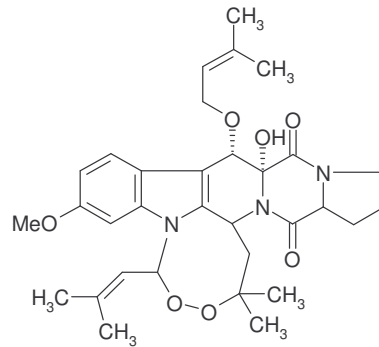
Citrinine



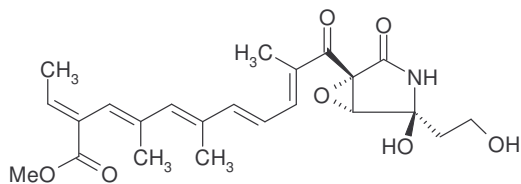
Cladosporine



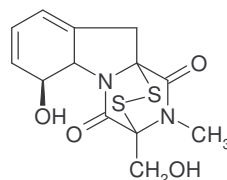
Cytochalasine E



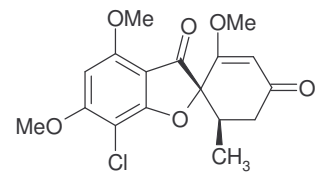
Fumitremorgène A



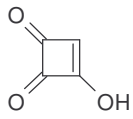
Fusarine C



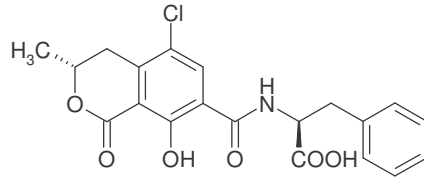
Gliotoxine



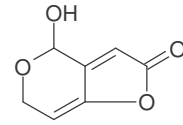
Griseofulvine



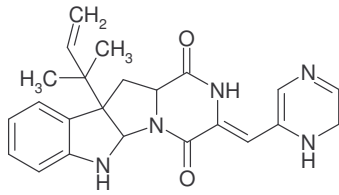
Moniliformine



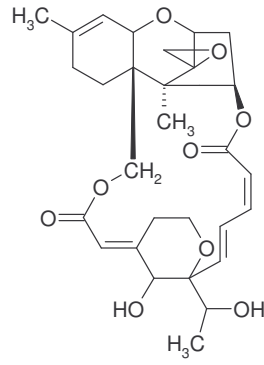
Ochratoxine A



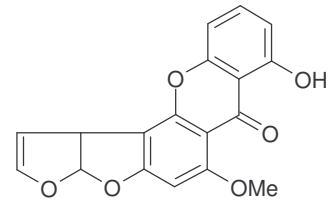
Patuline



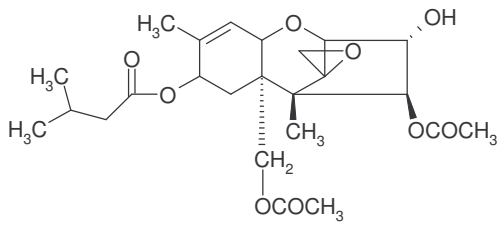
Roquefortine C



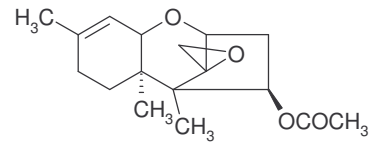
Satratoxine H
(Trichothécène)



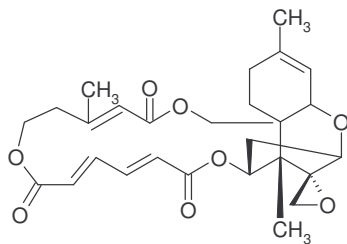
Sterigmatocystine



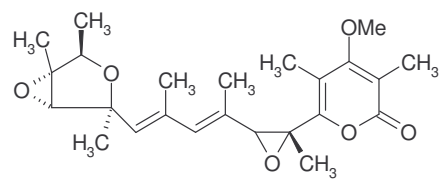
Toxine T-2
(Trichothécène)



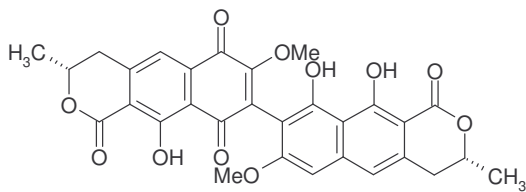
Trichodermin
(Trichothécène)



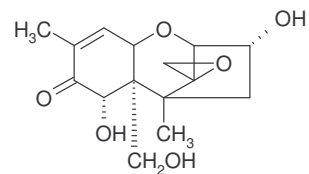
Verrucarine A



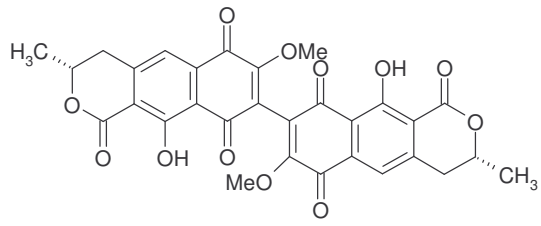
Verrucosidine



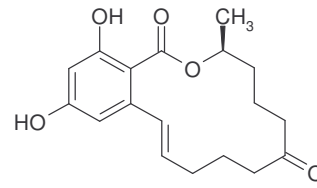
Viomelléine



Vomitoxine
(Trichothécène)



Xanthomegnine



Zearalenone

6. Composés organiques volatils microbiens (COVM)

L'approche traditionnelle pour mesurer la quantité de moisissures ou de bactéries dans une habitation est de déterminer le nombre de spores de champignons ou le nombre de bactéries dans l'air par la mesure des unités formant colonies par m³ d'air (UFC/m³).

Cependant, des études ont montré que la différence du nombre de spores entre les bâtiments « sains » et « malsains » n'est pas significative car les champignons peuvent croître dans les murs et les plafonds et certaines espèces libèrent plus de spores que d'autres. De plus, les spores non viables ne sont pas détectées par la mesure des UFC/m³ d'air. Cette technique de mesure sous-estime donc la quantité de microorganismes dans l'air.

Il existe une méthode alternative qui est de mesurer les composés chimiques émis par certains champignons et bactéries lors du métabolisme secondaire et qui sont appelés composés organiques volatils microbiens (COVM). Ces substances peuvent traverser les matériaux de construction, se retrouver dans l'air intérieur et ainsi servir de marqueurs de contamination microbienne. ³⁰

L'émission de COVM par une espèce de champignon ou de bactérie est fortement influencée par les nutriments disponibles sur le support. ^{30, 31, 32}

Un champignon qui pousse sur un milieu de culture enrichi émet des composés de nature différente et en plus grande quantité comparé à un autre de la même espèce qui croît sur un substrat plus pauvre comme des matériaux de construction. ³³

Pour cette raison, il est nécessaire de cultiver les microorganismes sur les matériaux de construction afin d'avoir une indication sur la nature des substances qui peuvent être présentes à l'intérieur des bâtiments. ³⁰

Naturellement, l'émission de COVM dépend également très fort de l'espèce microbienne et de l'humidité. ^{18, 30, 32, 34}

Enfin, d'autres facteurs comme la température et la concentration en oxygène ont une influence sur le type de composés chimiques émis.

L'utilisation de COVM comme marqueurs de contamination microbienne est toutefois limitée par les nombreuses autres sources de COV, extérieures et intérieures. En effet, sur le terrain, il est complexe de faire la distinction entre les composés chimiques émis par les différents matériaux de construction ^{33, 35}, les microorganismes, les produits de nettoyage, les solvants de peintures, les textiles ou encore ceux engendrés par les activités humaines. ^{32, 36, 37}

De plus, les méthodes couramment utilisées pour analyser les COVM favorisent probablement la détection de certains composés par rapport à d'autres et ne sont pas suffisamment efficaces pour mesurer les produits de réaction d'oxydation des composés fongiques par l'ozone ou les oxydes d'azote. ³⁸

Il est donc difficile d'évaluer l'importance des différences de concentration en COVM entre les habitations saines et les habitations malsaines. ¹

En réalité, quand les autres sources de COV dans les bâtiments sont prises en compte, l'influence des composés émis par les microorganismes (concentration de l'ordre du $\mu\text{g}/\text{m}^3$) sur la concentration totale COVT semble être négligeable. ³⁶

Cependant, les effets d'une exposition à long terme d'une combinaison de ces composés ne sont pas connus et ne peuvent pas être négligés sur base des faibles concentrations. ¹⁶

Par manque d'information pour de nombreuses espèces de champignons et de bactéries, il est impossible de faire une liste complète des COVM.

Il est néanmoins utile de classer les composés suivant leur structure chimique : leurs groupes fonctionnels, leur taille moléculaire (Tableau 3). ³³

- Hydrocarbures
 - Alcanes
 - Alcènes, diènes, triènes
- Terpènes
 - Hemi- (hydrocarbures, alcools, cétones en C5)
 - Mono- (hydrocarbures, alcools, cétones en C10)
 - Sesqui- (hydrocarbures, alcools, cétones en C15)
 - di- (hydrocarbures, alcools, cétones en C20)
- Alcools (saturés, insaturés, branchés)
- Acides carboxyliques et esters (saturés, insaturés, branchés)
- Aldéhydes
- Cétones
- Dérivés soufrés
- Dérivés nitrés
- Composés aromatiques (hydrocarbures, alcools, cétones, phénols)
- Composés hétérocycliques (N : pyrazines, indoles, pyrroles ; O : furanes, lactones)

Tableau 3 : Classification des COVM

Une centaine de COVM relevés dans la littérature sont repris ci-dessous. ^{1, 18, 30, 31, 32, 33, 34, 36, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46}

- Hydrocarbures

Alcanes

| | |
|------------------|----------|
| Pentane | Octane |
| 2-méthyl-pentane | Dodécane |
| Heptane | |

Alcènes

| | |
|---------------|---------------|
| 1-pentène | Nonadiène |
| 1-hexène | 1-undécène |
| 1,3-hexadiène | Undécadiène |
| 1-heptène | 1-tridécène |
| 1-octène | Tridécadiène |
| 1,3-octadiène | Tétradécène |
| 1-nonène | 1-pentadécène |

- Terpènes

| | |
|--------------------------------|------------------------|
| 6-méthyl-5-heptèn-2-one | Limonène |
| 6-méthyl-5-heptèn-1-ol | Thujopsène |
| Linalool | Geosmine |
| Citronellol | Endobornéol |
| Acétate de citronellyle | Carvéol |
| α -terpinéol | Fenchone |
| Acétate de α -terpényle | β -pinène |
| Acétate de neryle | Camphène |
| Acétate de geranyle | α -pinène |
| Nerol | 2-méthylisobornéol |
| Géraniol | β -myrcène |
| Tétrahydronérolidol | γ -terpinène |
| Dihydronérolidol | β -guianène |
| Nérolidol | Cuparène |
| Acétate de dihydrofarnésyle | β -caryophyllène |
| 2,3-dihydro-6-trans-farnésol | β -phellandrène |
| Farnésol | Aromadendrène |

- Alcools

| | |
|--------------------------------------|--------------------|
| Ethanol | Pentèn-3-ol |
| Propan-1-ol | Hexan-1-ol |
| Propan-2-ol | 2-éthyl-hexan-1-ol |
| 2-méthyl-propan-1-ol (Isobutanol) | Heptan-2-ol |
| Butan-1-ol | Octan-1-ol |
| Butan-2-ol | Octan-2-ol |
| 2-méthyl-butane-1-ol | Octan-3-ol |
| 3-méthyl-butane-1-ol | 1-octèn-3-ol |
| 3-méthyl-butane-2-ol | 2-octèn-1-ol |
| Pentan-1-ol | Nonan-2-ol |
| Pentan-2-ol | |

- Acides carboxyliques et esters

Acides carboxyliques

| | |
|----------------|--|
| Acide acétique | |
|----------------|--|

Esters

| | |
|----------------------|-------------------------------|
| Acétate de méthyle | Acétate de 3-méthylbutyle |
| Acétate d'éthyle | Propionate de 2-méthyléthyle |
| Acétate de propyle | Propionate de 2-méthylméthyle |
| Isobutyrate d'éthyle | Butyrate de 2-méthylméthyle |

- Aldéhydes

| | |
|----------|--|
| Furfural | |
|----------|--|

- Cétones

| | |
|-----------------------|-----------------------|
| Acétone | Hexan-3-one |
| Butan-2-one | 4-méthyl-hexan-3-one |
| 3-méthyl-butan-2-one | Heptan-2-one |
| Pentan-2-one | 4-méthyl-heptan-3-one |
| Pentan-3-one | 6-méthyl-heptan-2-one |
| 3-méthyl-pentan-2-one | Octan-3-one |
| Hexan-2-one | Nonan-2-one |

- Dérivés soufrés

| | |
|-----------------|--|
| Diméthylsulfure | |
|-----------------|--|

- Dérivés nitrés

| | |
|--------------|--|
| Nitrométhane | |
|--------------|--|

- Composés aromatiques

| | |
|-------------------------|-----------------|
| Ethylbenzène | 3-méthylanisole |
| 1-éthyl-2-méthylbenzène | Toluène |
| Diméthylbenzène | Styrène |
| Méthoxybenzène | 2-méthylphénol |
| Diméthoxybenzène | |

- Composés hétérocycliques

| | |
|-------------------------------|------------------------|
| 2,6-diméthylpyrazine | 2,5-diméthylfurane |
| 2-isopropyl-3-méthoxypyrazine | 2-éthylfurane |
| 2-méthoxy-3-isopropylpyrazine | 2-éthyl-5-méthylfurane |
| 3-méthylfurane | Isopropylfurane |

III. Mesure de la pollution intérieure

Dans cette partie, différentes techniques de prélèvement et d'analyse sont présentées suivant la nature des particules ou des composés.

Jusqu'à présent, les quelques rares prélèvements et analyses effectuées à l'intérieur d'habitations dans lesquelles les occupants se plaignent se limitent aux poussières, aux spores et parfois à certains COVM caractéristiques.

Il nous semble essentiel à l'avenir de combiner les techniques adaptées aux poussières, aux spores, aux COVM, aux mycotoxines et aux endotoxines afin d'avoir une approche plus globale du problème.

1. Techniques de prélèvement et d'analyse des bioaérosols

Plusieurs techniques permettent d'évaluer la présence dans l'air intérieur de microorganismes, ainsi que les substances chimiques produites par ces organismes, comme les endotoxines ou les mycotoxines.

Certains auteurs ont développé des collecteurs permettant d'échantillonner des bioaérosols dont la taille est comparable à celle des particules capturées par le système respiratoire. ⁴⁷

Dans cette section, nous discutons des bactéries et moisissures, des endotoxines, des β -D-glucanes ainsi que des mycotoxines.

Différentes techniques de prélèvement et d'analyse des composés organiques volatiles microbiens seront décrites dans la section suivante.

1 a. Bactéries et moisissures

Les quantités de bactéries et de moisissures sont généralement évaluées par la mesure des UFC/m³ d'air.

La technique dite d'impaction à l'aide de l'appareil Andersen est largement utilisée pour le prélèvement des microorganismes.

Il y a également moyen de prélever ces organismes sur filtre à l'aide d'une pompe ou d'un aspirateur quand les concentrations sont élevées ($> 10^4$ UFC/m³).

Après le prélèvement, il faut laisser les bactéries et moisissures pousser sur une gélose pendant plusieurs jours avant de compter les colonies.

Cette méthode de dénombrement suite à la culture de microorganismes sur milieux nutritifs a toutefois quelques limitations.

En effet, seuls les organismes viables et pouvant être élevés en laboratoire vont pouvoir être mesurés, et suivant le milieu de culture, les bactéries et moisissures peuvent se développer plus ou moins facilement. Or, on sait que les activités biologiques des composés produits par les microorganismes ne sont pas réduites par la non-viabilité des organismes qui les portent.

De plus, la compétition entre les espèces ainsi que la différence de vitesse de croissance peuvent induire certains biais dans la mesure.

Après avoir dénombré les bactéries et les moisissures, l'identification des espèces permet de déterminer si la situation à l'intérieur d'une habitation est dangereuse ou non.

Les bactéries sont identifiées par des tests biochimiques ou par l'analyse chromatographique de leur contenu en acides gras, tandis que les moisissures sont identifiées par observation de leur morphologie au microscope.

1 b. Endotoxines

L'échantillonnage des endotoxines bactériennes présentes dans l'air s'effectue par prélèvement sur filtre (PVC, fibre de verre, polycarbonate) à l'aide d'une pompe ou d'un aspirateur.²²

Une fois le prélèvement réalisé, les endotoxines piégées sur le filtre sont extraites avec de l'eau ou un tampon phosphate, soit par traitement aux ultrasons, soit par agitation.

Ensuite, les endotoxines peuvent être détectées par la méthode LAL (Lysat d'Amoebocyte de *Limulus polyphemus*) ou par analyse chimique :

- Le test à la limule (LAL) permet de doser les endotoxines bactériennes.

Différents réactifs sont commercialisés pour le dosage des endotoxines à l'aide du test LAL.⁴⁸

Les endotoxines peuvent être quantifiées par la méthode chromogénique cinétique du test LAL ou encore par la méthode turbidimétrique cinétique du test LAL. Ces méthodes sont basées respectivement sur la coloration et la coagulation du lysat d'amoebocyte, qui sont produites par l'activation d'un enzyme présent dans le lysat de l'hémolymphe de *L. polyphemus*.

La concentration en endotoxines est ensuite calculée à partir de courbes standard obtenues à l'aide d'échantillons étalons.

o *méthode chromogénique cinétique :*

Le réactif est préparé à partir de cellules d'hémolymphe du crabe *L. polyphemus* et contient un système enzymatique qui est activé en présence d'endotoxines. L'enzyme activé entraîne l'hydrolyse du substrat chromogénique, ce qui conduit à une coloration du milieu.

La coloration est proportionnelle à la concentration en endotoxines et se mesure par la méthode cinétique : la mesure continue de l'augmentation de la densité optique est effectuée par un lecteur qui enregistre le temps nécessaire pour atteindre une densité optique spécifique.

o *méthode turbidimétrique cinétique* :

Le réactif est également préparé à partir de cellules d'hémolymphe du crabe *L. polyphemus* et contient un système enzymatique activé en présence d'endotoxines. L'enzyme activé entraîne la formation d'un trouble dans le milieu. Ce trouble est proportionnel à la concentration en endotoxines et se mesure également par la méthode cinétique.

- Les méthodes chimiques²² sont basées sur la détection d'un marqueur, comme par exemple l'acide β -hydroxymyristique (BHM).

La détection du BHM se fait à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse (GC) ou de la chromatographie liquide à haute performance (HPLC), qui peuvent être couplés à un spectromètre de masse.

Il existe un projet de norme européenne⁴⁹ visant à standardiser les méthodes d'échantillonnage et d'analyse des endotoxines dans le milieu du travail. Cette normalisation permettra de faire des comparaisons entre différentes études.

1 c. β -D-glucanes

L'échantillonnage des (1→3)- β -D-glucanes s'effectue de la même façon que celui des endotoxines, par prélèvement sur filtre, généralement à l'aide d'un aspirateur.

L'analyse des (1→3)- β -D-glucanes peut s'effectuer à l'aide du test à la limule (LAL) par méthode turbidimétrique cinétique. Ce test a été expliqué dans la section précédente pour le dosage des endotoxines.

Si des endotoxines sont présentes dans l'échantillon de (1→3)- β -D-glucanes à analyser par le test à la limule, l'addition de polymixine B permet d'inhiber spécifiquement l'activation de l'enzyme présent par les endotoxines.

Ce test LAL modifié⁵⁰ permet de faire la distinction entre les endotoxines et les (1→3)- β -D-glucanes.

1 d. Mycotoxines

Les mycotoxines sont prélevées par impaction généralement à l'aide de l'appareil d'Andersen, puis les échantillons sont extraits avec des solvants organiques et aqueux pour éliminer les différents composés qui pourraient interférer avec l'analyse des toxines. ²⁰

Les mycotoxines sont ensuite analysées par chromatographie, comme la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) en utilisant un détecteur à fluorescence ou un détecteur UV, en fonction de la structure chimique des composés.

Les mycotoxines peuvent être présentes sur des spores viables, mais également sur des spores non viables. Une combinaison de techniques de prélèvement, voire une méthode indépendante de la germination est donc nécessaire pour mesurer les mycotoxines dans l'air. ^{20, 25}

Voici en exemple la méthodologie de préparation d'un échantillon d'aflatoxines destiné à être injecté en HPLC (Waters) :

- Diluer l'échantillon dans un mélange MeOH/H₂O
- Filtrer grossièrement
- Diluer avec de l'eau
- Filtrer (taille des pores = 0,45 µm)
- Placer l'aliquote sur une colonne de chromatographie d'affinité spécifique aux aflatoxines
- Laver deux fois avec 10 mL d'eau
- Eluer avec 1 mL de MeOH
- Ajouter 1 mL d'eau
- Injecter en HPLC

2. Techniques de prélèvement et d'analyse des COVM

Les composés organiques volatils microbiens (COVM) sont prélevés et analysés au moyen des méthodes conventionnelles utilisées pour les COV, comme le prélèvement sur des tubes garnis d'adsorbant(s), suivi d'une analyse chromatographique.

Du fait de la faible concentration des molécules dans l'échantillon gazeux à analyser, il est utile d'effectuer une pré-concentration. La préparation de l'échantillon est incontestablement l'étape la plus importante d'une procédure analytique.

De nombreuses méthodes permettent de pré-concentrer un échantillon d'air suivant la nature du ou des analyte(s) ainsi que de la concentration. ^{51, 52, 53}

Cependant, aucune de ces méthodes de préparation ne convient pour tous les échantillons dans toutes les conditions.

Dans cette partie, nous allons présenter les méthodes de préparation d'échantillons les plus adéquates pour analyser les composés organiques volatils présents dans l'air, dont ceux provenant des microorganismes.

On distingue les méthodes actives, qui utilisent une pompe, des méthodes passives. Chacune de ces deux méthodes sera illustrée par la technique la plus appropriée pour l'analyse des COV.

▪ 2 a. Méthodes actives

o Extraction en phase solide ^{54, 55}

L'extraction en phase solide (SPE, Solid Phase Extraction) est une méthode active utilisée pour isoler et concentrer les analytes d'un gaz grâce à leur interaction avec une phase solide immobilisée.

A l'aide d'une pompe à débit constant, généralement de 10 à 200 mL/min, un volume connu d'air passe à travers un tube contenant le substrat solide et les composés

organiques volatils sont extraits de l'air par piégeage, soit par adsorption physique, soit par réaction chimique.

Les composés sont ensuite récupérés par élution (désorption par un solvant) ou par désorption thermique. Le volume d'air prélevé étant connu, la concentration de la substance est aisément calculée après l'analyse.

L'adsorption est un phénomène de surface et la quantité d'adsorbant disponible est donc un facteur important pour piéger les analytes. Toute la surface de l'adsorbant n'est pas disponible, particulièrement quand elle est micro-poreuse, c'est-à-dire lorsque les pores ont un diamètre inférieur à 2 nm. Dans ce cas, les molécules peuvent être trop larges pour rentrer dans les pores.

Les matériaux adsorbants les plus couramment utilisés sont le charbon actif et ses dérivés (Carbotrap, Carboxen, Carbosieve) de même que les polymères poreux (Tenax, Porapack, Chromosorb).

En ce qui concerne le piégeage par réaction, un polymère est utilisé comme support pour des composés chimiques qui peuvent réagir avec des analytes spécifiques afin de former des produits dérivatisés plus stables ou plus faciles à analyser.

Cette méthode est notamment utilisée pour échantillonner des composés carbonylés comme le formaldéhyde à l'aide de la 2,4-dinitrophénylhydrazine (DNPH).

La réaction chimique a lieu suivant le schéma de la figure 5.

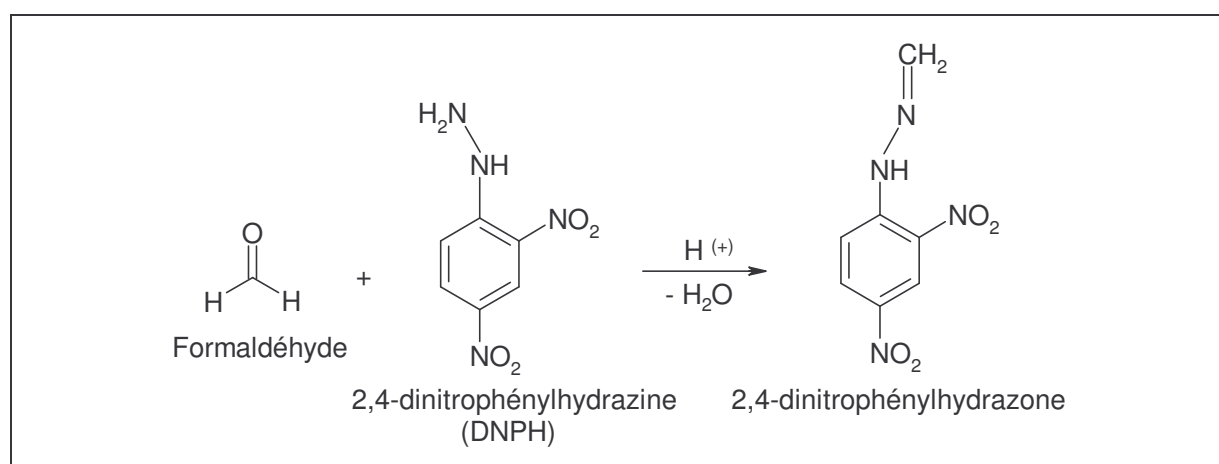


Figure 5 : Réaction de dérivatisation du formaldéhyde par la DNPH

Après avoir piégé les différents composés, il faut les analyser, par exemple à l'aide d'un chromatographe gazeux relié à un spectromètre de masse.

Les composés organiques peuvent être récupérés par désorption par un solvant. Il est important de choisir un solvant qui ne va pas interférer avec la détection des analytes.

Cependant, les échantillons d'air prélevés dans des environnements où les concentrations en polluants sont très faibles, comme l'intérieur des habitations, ne peuvent pas être analysés en utilisant la désorption par solvant sans devoir réaliser une étape de concentration supplémentaire. On peut alors utiliser la désorption thermique qui permet de transférer les composés directement dans l'injecteur du chromatographe gazeux.

Les tubes d'adsorbants utilisés en désorption par solvant sont à usage unique, tandis que ceux utilisés en désorption thermique peuvent être réutilisés plusieurs fois.

Ces dernières années, les tubes contenant plusieurs couches d'adsorbants différents ont connu un certain succès. Ces tubes présentent l'avantage de collecter un grand nombre de composés divers dans un seul échantillon, puisqu'il faut utiliser plusieurs adsorbants pour couvrir différentes classes de composés.

Puisque l'analyse est destructrice, il est utile de faire l'échantillonnage en double afin de confirmer un résultat. De plus, des tubes « témoins », emportés sur le site de prélèvement mais non exposés, doivent être analysés pour mesurer la contamination potentielle des échantillons pendant le transport ou le stockage.

Cette technique de pré-concentration de l'échantillon sur un adsorbant est utilisée avec succès depuis de nombreuses années : [29](#), [31](#), [32](#), [56](#)

En 1977, des COV émis en trace par des champignons ont été isolés et caractérisés par Vanhaelen *et al.* [57](#), suite à la pré-concentration de l'échantillon sur un adsorbant (Tenax GC), combinée à une chromatographie en phase gazeuse après désorption thermique.

Selon ces auteurs, les composés collectés sont qualitativement et quantitativement représentatifs de la composition originale émise par les champignons.

Une étude effectuée par Sunesson *et al.* ⁵⁸ en 1995 a permis de comparer huit adsorbants disponibles dans le commerce en ce qui concerne l'échantillonnage et l'analyse quantitative de COVM.

Ces adsorbants ont été testés dans les conditions trouvées dans les bâtiments malsains, c'est-à-dire des faibles concentrations de composés organiques volatils microbiens (de l'ordre du $\mu\text{g}/\text{m}^3$) et des taux d'humidité variables.

Un mélange de 10 COVM connus, de polarités et de volatilités diverses, a été adsorbé sur les huit phases différentes.

De tous les adsorbants testés, aucun ne convient pour analyser tous les MVOC du mélange utilisé par Sunesson *et al.*

Le polymère poreux TA (2,6-diphényl-para-phénylèneoxyde) est toutefois considéré comme celui ayant les meilleures propriétés pour échantillonner un mélange de composés organiques volatils en faible concentration.

Remarque : L'adsorbant idéal doit être chimiquement inerte, thermiquement stable, stable au stockage, capable d'échantillonner de très faibles quantités, avoir un faible bruit de fond, adsorber et désorber quantitativement (les composés polaires aussi bien que les composés non polaires), et enfin l'adsorption ne doit pas être influencée par l'humidité de l'air.

▪ 2 b. Méthodes passives

Dans le cas des méthodes passives, qui ne nécessitent pas de pompe, les molécules diffusent à travers un volume défini d'air jusqu'à ce qu'elles atteignent la phase solide ou liquide.

Le mouvement des molécules est contrôlé par la première loi de Fick, dans laquelle la vitesse de diffusion v est fonction de la différence de concentration entre les extrémités du chemin de diffusion et de la géométrie du chemin.

Pour une géométrie donnée, la quantité collectée est fonction de la concentration dans l'air analysé, du coefficient de diffusion des molécules ainsi que de la durée d'échantillonnage.

On peut piéger les composés par adsorption, par réaction ou encore suite à une partition entre deux phases. Les adsorbants utilisés sont les mêmes que ceux employés avec la pompe.

o Micro-extraction en phase solide ^{43, 59, 60, 61, 62, 63}

La micro-extraction en phase solide (SPME, Solid Phase Micro-Extraction) est une technique passive utilisée depuis peu dans les analyses de la qualité de l'air et particulièrement de COVM. ⁶³ L'échantillonnage et la pré-concentration sont combinés en une seule étape.

La rétention des analytes se fait sur une courte et fine fibre qui est sortie de l'aiguille et exposée à l'air selon le schéma 4 pendant un temps relativement court car l'équilibre ne doit pas être nécessairement atteint. La fibre est protégée pendant le stockage et le transport en la rétractant dans l'aiguille.

Les analytes sont ensuite directement transférés dans l'injecteur du chromatographe par désorption thermique, en piquant l'aiguille dans l'injecteur et en faisant sortir la fibre. Après désorption, la fibre est réutilisable.

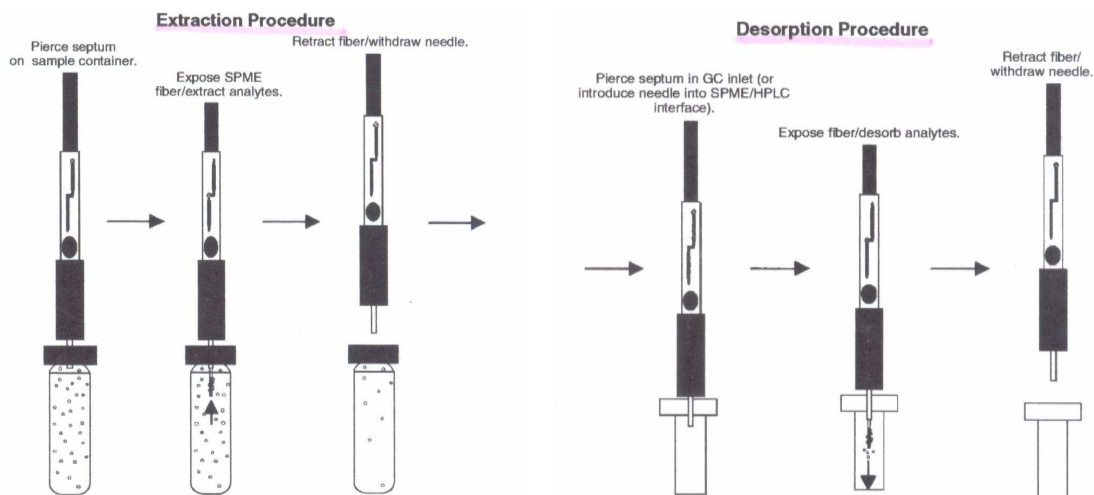


Schéma 4 : Procédure d'extraction et de désorption à l'aide de la SPME (Supelco)

Différents types de fibres peuvent être employés :

- Des phases liquides de chromatographie gazeuse comme le polydiméthylsiloxane ont été utilisées avec cette méthode. On peut également

greffer des réactifs chimiques pour dériver et donc piéger des molécules spécifiques comme les composés carbonylés.

Le processus impliqué est la partition des analytes entre la phase liquide et l'échantillon gazeux.

- Il est également possible d'utiliser des fibres de SPME couvertes de polymères poreux.

Dans ce cas, le processus impliqué est l'adsorption sur support solide.

Dans des conditions statiques d'analyse, l'obtention de données quantitatives est limitée par le déplacement inter-analyte et par l'adsorption compétitive.

Cependant, en exposant la fibre à un échantillon d'air mouvant perpendiculairement à l'axe de la fibre, pendant un temps beaucoup plus court que le temps d'équilibre, tous les analytes qui atteignent la surface du polymère sont immédiatement adsorbés. Comme un grand nombre de sites d'adsorption n'est pas occupé, il n'y a pas de compétition entre les composés et le déplacement inter-analyte est négligeable.

La quantité n d'analyte extrait de l'air dépend de sa concentration C dans l'échantillon, de son coefficient de diffusion dans l'air D , de la longueur L et du rayon b de la fibre, de l'épaisseur δ de la couche entourant la fibre et du temps d'échantillonnage t (éq. 1).

$$C = n \ln \left\{ \frac{(b + \delta)}{\delta} \right\} / 2 \pi D L t \quad (\text{éq. 1})$$

La quantité extraite n peut être calculée à partir de l'aire du pic chromatographique. Plusieurs modèles permettent d'estimer le coefficient de diffusion de composés dans l'air.

En plus des mesures instantanées, la SPME peut aussi être utilisée pour réaliser des mesures de concentrations moyennes (TWA, time-weighted average) en laissant la fibre dans l'aiguille pendant l'échantillonnage.

Des analyses de la qualité de l'air par SPME effectuées par Koziel *et al.* ⁵⁹ en 1999 ont montré que la cette technique permettait de réduire le temps d'échantillonnage et d'analyse à 1 heure.

Les avantages de la SPME sont multiples :

- L'instrument est léger et compact, facile à transporter sur le terrain et son le prix est abordable.
- Aucun solvant n'est utilisé, ce qui classe la méthode dans les techniques de la « chimie verte », un concept qui devient de plus en plus important.
- La sensibilité est bonne.
- La réponse au détecteur est linéaire avec la concentration puisque la méthode est adaptée aux faibles concentrations.
- La possibilité de travailler hors équilibre permet des temps d'analyse courts.
- La fibre peut être réutilisée un certain nombre de fois selon le soin que l'on y porte.

IV. Problèmes de santé liés à la pollution chimique de l'air intérieur par les microorganismes

1. Signification toxicologique

1 a. Problématique

Les obstacles majeurs rencontrés dans l'étude de la pollution intérieure par les microorganismes sont le manque de données toxicologiques sur les mélanges complexes de polluants présents en faible concentration, ainsi que la difficulté de caractériser correctement l'exposition à ces polluants.

De ce fait, on ne connaît pas la nature de la relation dose-réponse entre l'exposition aux microorganismes et l'effet sur la santé.

1 b. VME

Les valeurs limites de moyenne exposition (VME ou TLV-TWA) correspondant aux substances chimiques individuelles et qui ont été adoptées par l'ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists) ne conviennent pas aux composés présents dans l'air intérieur des habitations pour plusieurs raisons.⁴

Premièrement, les VME de l'ACGIH s'appliquent à des travailleurs de l'industrie qui peuvent être exposés à quelques contaminants connus de concentrations élevées pendant une semaine de 40 heures, 8 heures par jour. Par contre, les habitants sont exposés à de faibles concentrations de contaminants nombreux et très divers pendant des périodes hebdomadaires dépassant largement 40 heures.

Ensuite, si l'on fournit habituellement aux travailleurs, relativement jeunes et en bonne santé, de l'équipement de protection adéquat, la population « civile » est quant à elle beaucoup plus diversifiée et est exposée sans protection.

Il semblerait donc que des limites individuelles beaucoup plus faibles que les VME de l'ACGIH conviennent mieux.

1 c. Toxicologie des mélanges

Si les effets toxiques de nombreux composés chimiques individuels sont disponibles, il est plus difficile d'évaluer leurs effets sur la santé lorsque ceux-ci constituent un mélange complexe. Or, nous sommes quotidiennement exposés à une multitude de composés chimiques présents en faible concentration dans notre environnement domestique. ⁶⁴

Les données toxicologiques disponibles pour l'évaluation des composés chimiques ne sont généralement pas utilisables dans le domaine qui nous intéresse, la qualité de l'air intérieur.

En effet, les tests toxicologiques effectués en laboratoire sur des animaux se font à des concentrations relativement élevées de composés chimiques connus, tandis que l'homme est exposé chez lui à un mélange complexe de composés en faible concentration et dont la composition varie avec le temps.

De plus, pour certains composés, les données toxicologiques expérimentales ont été obtenues suite à une administration orale et non pas par inhalation. Il peut y avoir des différences significatives de toxicité entre ces deux formes d'administrations suite au devenir de la substance dans l'organisme : différences d'absorption, de distribution, de métabolisation et d'excrétion.

Il est également intéressant de souligner que la plupart des études sont effectuées à court ou à moyen terme car elles sont moins chères et plus simples à réaliser. Or, les effets chroniques sur la santé des polluants sont évalués sur base des études à long terme.

Pour étudier et évaluer les effets sur la santé d'un mélange complexe de composés chimiques, il est tout d'abord essentiel de comprendre les concepts de base de la toxicologie des mélanges.

Il existe trois manières de décrire l'action toxicologique des constituants d'un mélange ^{65. 66} :

- *Action similaire simple* : un composé chimique du mélange n'affecte pas la toxicité d'un autre composé, chacun agit par le même mécanisme et la seule distinction entre les composés réside dans leur différence d'activité.

On somme les doses de chaque composé, en les pondérant par leur activité toxique.

Cette méthode est valable uniquement pour des courbes dose-réponse linéaires. Elle est aussi appelée addition dose.

- *Action dissimilaire simple* : un composé n'affecte pas l'effet toxique d'un autre composé, mais dans ce cas, le mode d'action des constituants du mélange est différent.

On somme les réponses de l'animal à chaque composé du mélange. Elle est aussi appelée addition réponse.

- *Interaction* : certains composés peuvent réagir entre eux, ce qui modifie l'importance de l'effet toxique. Ainsi, il peut y avoir synergie ou antagonisme.

La toxicité d'un mélange n'est donc pas uniquement déterminée par la toxicité de ses constituants mais également par les possibles interactions entre les composés, qui peuvent augmenter (synergie) ou diminuer (antagonisme) l'effet toxique du mélange. Cela rend l'évaluation toxicologique d'un mélange de produits chimiques assez difficile.

Il est néanmoins possible de calculer une valeur approximative du risque encouru suite à une exposition à un mélange chimique par l'indice HI (Hazard Index, calculé à partir de l'équation 2).⁶⁵

$$HI = \sum E_i/CL_i, \text{ pour } i = 1 \text{ à } n. \quad (\text{éq. 2})$$

E_i est le niveau d'exposition au composé i .

CL_i est la valeur limite d'exposition définie pour le composé i .

Cette méthode est basée sur l'additivité des doses et est donc uniquement valide si tous les composés du mélange induisent des effets toxiques par le même mode d'action (action similaire simple).

Toutefois, il est souvent impossible d'obtenir suffisamment d'informations toxicologiques sur chaque composé du mélange pour faire ce genre de calcul.

Une procédure pour évaluer le risque pour la santé d'un mélange complexe de produits chimiques a été proposée par Feron *et al*⁶⁷ en 1995.

Elle se décompose en deux étapes :

- La première étape consiste à choisir parmi les composés chimiques du mélange ceux ayant le potentiel de risque pour la santé le plus élevé (en général, on choisit 10 composés).

Cette sélection est basée sur le quotient de risque QR, qui est le rapport

$$QR = \frac{\text{niveau d'exposition}}{\text{niveau de toxicité}}$$

Les composés avec les QR les plus élevés sont identifiés comme les composés prioritaires.

- La seconde étape comprend l'évaluation des différents effets sur la santé qui pourraient être associés au mélange des 10 composés. Pour se faire, on se base sur les données toxicologiques et les mécanismes d'action des composés individuels, ainsi que sur la prédiction d'éventuelles interactions entre les constituants du mélange.

Cependant, dans l'hypothèse où toutes les données toxicologiques des composés individuels sont disponibles, se pose toujours le problème de l'extrapolation de données obtenues chez l'animal, à des concentrations relativement élevées, à l'homme qui est exposé à des concentrations beaucoup plus faibles.

Des modèles animaux sont en cours de préparation afin d'être utilisés dans la pollution de l'air pour extrapoler les impacts des différents polluants sur les maladies respiratoires allergiques ou infectieuses de l'animal à l'homme. ⁶⁸, ⁶⁹

1 d. Sensibilité chimique multiple (SCM)

La sensibilité chimique multiple est définie comme la réactivité de certaines personnes à des niveaux d'exposition chimique beaucoup plus faibles que ceux qui causent des problèmes de santé dans la population générale et à des concentrations que la majorité des personnes tolèrent assez bien.⁷⁰

Ces personnes ont généralement une prédisposition génétique à réagir ainsi.

Les personnes hypersensibles peuvent donc présenter de graves réactions lorsqu'elles sont exposées à de très faibles concentrations de divers composés chimiques.

Ces réactions peuvent avoir lieu suite à une exposition à une seule dose sensibilisatrice ou à de faibles doses répétées, après quoi une dose beaucoup plus faible peut provoquer des symptômes.

Les symptômes les plus communs de la SCM sont la congestion nasale, le mal de tête, le manque de concentration et la perte de mémoire.⁷⁰ Ces symptômes étant non-spécifiques, ils sont généralement insuffisants pour permettre de déterminer quels sont les composés chimiques incriminés.

Les investigations pour identifier le mécanisme de la sensibilité chimique multiple sont toujours en cours.⁷¹ Différents processus ont été proposés, parmi lesquels des mécanismes immunologiques, psychologiques, neurologiques ou encore toxicologiques. Plusieurs études indiquent que les symptômes pourraient apparaître suite à une altération de la sensibilité des cellules du système nerveux.

2. Risques pour la santé

2 a. Endotoxines

Les endotoxines sont des toxines lipopolysaccharidiques présentes dans la membrane externe des bactéries Gram ⁻. Le « lipide A » constitue la partie toxique du lipopolysaccharide.

Plusieurs études indiquent que les endotoxines pourraient agir comme des adjuvants d'allergènes. ^{72, 73, 74}

En effet, il a été montré que la gravité de l'asthme est fonction de la quantité d'endotoxines présentes dans la poussière de maison.

Ainsi, les interactions entre les endotoxines et les allergènes dans le compartiment bronchoalvéolaire des poumons de patients asthmatiques pourraient amplifier la réponse inflammatoire locale, aggravant ainsi la maladie.

Inhalées, les endotoxines provoquent une cascade de réactions biochimiques qui conduisent à l'inflammation.

Celle-ci est un processus complexe, faisant intervenir une multitude de médiateurs. Parmi ceux-ci, on retrouve notamment les prostaglandines (PG's), les interleukines (IL's) et le tumor necrosis factor (TNF- α et - β).

A la différence des prostaglandines, l'interleukine IL-1 et le TNF- α sont synthétisés dans un nombre limité de cellules : essentiellement les monocytes et macrophages, ces derniers pouvant être activés entre autres par les endotoxines bactériennes. Donc, dès qu'une endotoxine pénètre dans les poumons, la réponse des macrophages alvéolaires conduit à une inflammation. ⁷⁵

De plus, il apparaît que l'absence d'expositions prolongées aux endotoxines pendant la petite enfance (milieux « aseptisés ») peut retarder la maturation du système immunitaire et donc favoriser l'apparition d'allergies ou d'asthme. ^{72, 74}

2 b. (1→3)-β-D-glucanes ^{73, 76}

Les (1→3)-β-D-glucanes sont des polymères de glucose se trouvant dans les parois cellulaires de moisissures et de certaines bactéries.

Il est établi que les (1→3)-β-D-glucanes sont reconnus par les macrophages, les neutrophiles et certains lymphocytes grâce à un récepteur spécifique.

Plusieurs études ont été réalisées sur la relation entre l'exposition aux (1→3)-β-D-glucanes dans l'air intérieur et la présence de certains symptômes, évalués par des questionnaires. L'une d'elles montre une relation entre la quantité de (1→3)-β-D-glucanes présents dans l'air et l'augmentation de la fréquence d'irritation du nez et de la gorge ainsi que des problèmes respiratoires.

En réalité, après une exposition par inhalation aux (1→3)-β-D-glucanes, ceux-ci ne provoquent pas d'inflammation respiratoire comme celle survenant après une exposition aux endotoxines.

En effet, alors que les endotoxines induisent une invasion de neutrophiles et la production de IL-1 et TNF-α dans les tissus des poumons et des voies respiratoires très peu de temps après l'exposition, l'exposition aux (1→3)-β-D-glucanes n'induit aucun de ces effets.

Il semble cependant que les (1→3)-β-D-glucanes modulent les réponses d'autres agents présents dans l'air intérieur, comme les allergènes.

Ces résultats obtenus suite à des expositions par inhalation sont contradictoires avec des données obtenues au niveau cellulaire. Effectivement, in vitro, les (1→3)-β-D-glucanes initient la sécrétion de différentes cytokines inflammatoires.

D'autres études doivent encore être réalisées avant de conclure s'il y a un lien ou non entre les (1→3)-β-D-glucanes et les symptômes observés.

2 c. Mycotoxines

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires produits par de nombreuses moisissures. Ces composés ne sont pas volatils et pénètrent dans les voies respiratoires via les différentes particules de l'air, dont les spores fongiques. Depuis quelques années, certains auteurs s'intéressent aux effets de l'inhalation de mycotoxines présentes dans l'environnement intérieur. ⁷⁷

Bien que quelques mycotoxines ont été fortement étudiées, comme l'Aflatoxine B1 et l'Ochratoxine A, peu d'informations sont disponibles pour la plupart de ces composés.

Les données accessibles concernant les effets sur la santé de l'homme dérivent de quelques cas enregistrés suite à l'inhalation par des agriculteurs de mycotoxines produites par des moisissures présentes dans les silos à grains.

La majorité des études sur les mycotoxines sont des expériences sur animaux.

Le plus souvent, la voie d'absorption est l'ingestion (mycotoxicoses) et non pas l'inhalation.

Les mycotoxines induisent divers et puissants effets. ^{24, 78} Certaines sont :

- cancérigènes (Aflatoxine B1, Ochratoxine A)
- mutagènes (Aflatoxine B1, Sterigmatocystine)
- tératogènes (Ochratoxine A, Satratoxines G et H)
- oestrogènes (Zearalenone)
- hémorragiques (Trichothécènes, Patuline)
- immunotoxiques (Aflatoxine B1, Ochratoxine A)
- néphrotoxiques (Ochratoxine A, Xanthomegnine, Viomelléine)
- hépatotoxiques (Aflatoxine B1, Ochratoxine A, Xanthomegnine, Viomelléine)
- dermatotoxiques (Trichothécènes)
- neurotoxiques (Verrucosidine),

tandis que d'autres ont des propriétés :

- antitumorales (Acide pénicillique, Sterigmatocystine)
- cytotoxiques (Acide pénicillique, Trichothécènes)
- antimicrobiennes (Acide pénicillique, Citrinine, Patuline).

Le mode d'action des mycotoxines ⁷⁹ varie beaucoup suivant leur structure chimique. Dans le cadre de ce travail, nous ne pouvons évidemment pas détailler tous les modes d'action connus de ces composés.

Nous nous proposons d'en énumérer quelques-uns :

La cytotoxicité des trichothécènes (Satratoxines, Toxine T-2, Trichodermine, Vomitoxine) a été attribuée à leur puissante inhibition de la synthèse des protéines, de l'ARN et de l'ADN par le groupement époxyde. ²⁴

Des études de toxicité sur des souris ont démontré que la Toxine T-2 est au moins 10 fois plus toxique quand elle est administrée par voie respiratoire que par administration orale et au moins 20 fois plus toxique que par administration cutanée. ⁷⁷

Plusieurs études ont mis en évidence l'association entre l'inhalation de poussières contaminées par l'Aflatoxine B1 et de cancers chez l'homme (cancer des poumons, cancer du colon). ²⁷ L'effet cancérigène est dû à l'inhibition de la synthèse de l'ARN et de l'ADN.

Un autre exemple est celui de la Zearalenone. ⁸⁰ Cette lactone macrocyclique a un effet œstrogène bien connu dans la population des oiseaux aquatiques. En fait, la structure de la Zearalenone est suffisamment flexible pour lui permettre d'adopter une conformation semblable à celle d'œstrogènes naturels comme le 17 β -œstradiol. Ainsi, la mycotoxine peut se lier au récepteur œstrogène et est donc capable de perturber le système endocrinien de ces animaux.

Il est pour l'instant difficile de réellement connaître les effets de mycotoxines sur la santé humaine. De nombreuses recherches doivent encore être effectuées.

Cependant, il est prudent de prendre en considération la possibilité d'une exposition à des mycotoxines quand des espèces de moisissures reconnues comme toxigènes sont trouvées dans les environnements intérieurs humides.

Il est alors nécessaire de prendre des mesures d'élimination des moisissures, du moins lorsque celles-ci sont visibles, ainsi que des mesures d'élimination de l'humidité.

2 d. COVM

Les composés organiques volatils microbiens sont des métabolites secondaires produits par certaines moisissures et bactéries.

Les effets sur la santé de l'exposition aux COVM ne sont pas encore bien connus.

La capacité d'induire une irritation des voies respiratoires supérieures chez les souris a été évaluée pour trois COVM individuels (1-octen-3-ol, Octan-3-ol et Octan-3-one) et un mélange de cinq COVM (2-méthyl-propan-1-ol, 3-méthyl-butan-1-ol, 1-octen-3-ol, Heptan-2-one et Octan-3-one) par Korpi *et al.* ⁴⁴

Pour ce faire, les auteurs ont déterminé la RD₅₀ pour les COVM, c'est-à-dire la concentration capable de diminuer de 50% la fréquence respiratoire des souris.

Il découle de cette étude que les composés organiques volatils microbiens pourraient avoir des effets synergiques dans l'irritation sensorielle, ce qui peut être un frein à l'établissement de concentrations limites de COVM individuels.

Cette étude montre également que la contribution des COVM aux symptômes d'irritation rencontrés dans les habitations malsaines semble moindre que supposée précédemment.

Le potentiel génotoxique de quelques COVM a été évalué par Kreja *et al.* ⁸¹ à l'aide de trois techniques in vitro différentes (« comet assay », « micronucleus assay » et « gene mutation assay »). De plus, des études sur la cytotoxicité des composés ont été effectuées en parallèle.

La combinaison de ces méthodes permet d'étudier les effets des COVM à différents niveaux : ADN, chromosome et gène.

L'étude de la génotoxicité à l'aide du « comet assay » montre que les COVM induisent des dommages à l'ADN à des concentrations auxquelles des effets cytotoxiques ont été observés.

Les composés testés n'ont donc pas de potentiel génotoxique, du moins dans les conditions in vitro utilisées dans cette étude.

D'autres études sur les effets des COVM sur la santé doivent être effectuées afin de déterminer avec certitude s'il y a un réel risque pour les occupants des habitations « malsaines ».

V. Politique de gestion de la qualité de l'air intérieur à la recherche de nouveaux critères de salubrité

1. Gestion du risque

Précisons que l'une des étapes essentielles dans l'évaluation, et donc dans la gestion du risque, est l'estimation correcte de l'exposition aux polluants.

Une étude sur l'exposition aux composés chimiques dans l'air répond à des critères de qualité relatifs à ce type de travaux ⁸² :

- Objectivité de l'étude et des responsables de l'évaluation.
- Fiabilité de l'étude, c'est-à-dire la corrélation entre la mesure et le phénomène observé.
- Validité de l'entièreté ou d'une partie de l'étude.

Les résultats de l'évaluation du risque pour la santé humaine des composés chimiques émis par les microorganismes sont utilisés pour choisir et mettre en œuvre une stratégie afin de limiter ce risque.

Une stratégie déjà appliquée consiste à :

- Se rendre au domicile de particuliers et prélever des échantillons
- Analyser les différents échantillons afin de déterminer l'origine de la pollution
- Proposer des remédiations
- Assurer le suivi.

Cependant, réduire les risques pour la santé dans son habitation doit toujours être effectué de manière volontaire. On ne peut pas forcer légalement les gens à prendre des mesures de prévention et/ou de remédiation, souvent coûteuses.

L'acceptabilité du risque est souvent déterminée par les jugements portés sur certains facteurs, comme la force de la preuve scientifique, la nature, la portée et la gravité du danger telles qu'on les a déterminées au cours des évaluations, le degré

de préoccupation du public, mais également le coût et la faisabilité de la réduction des expositions.

Dans le domaine de la pollution intérieure, il faut porter une attention particulière aux personnes les plus sensibles de la population :

- Les enfants, surtout en bas âge.
- Les personnes âgées, qui restent la plupart du temps chez eux.
- Les femmes enceintes.
- Les personnes qui développent une hypersensibilité aux produits chimiques.
- Les personnes allergiques et/ou asthmatiques.

Ainsi, les domiciles, les bureaux, de même que les endroits accueillant des populations sensibles ou fragilisées comme les établissements scolaires (crèches et écoles primaires notamment), les hôpitaux et les maisons de retraite doivent faire l'objet de suivi en ce qui concerne la qualité l'air intérieur.

De plus, les lieux récréatifs comme les salles de sports ou les piscines, où l'intense activité respiratoire augmente l'exposition aux polluants atmosphériques ne doivent pas être négligés.

Comme les connaissances actuelles sur les effets toxicologiques et sensoriels des différents composés produits par les microorganismes ainsi que sur leurs mélanges sont encore incomplètes, il est souhaitable de réduire l'exposition globale aux microorganismes conformément au principe de précaution.

Il convient donc d'éviter toute humidité dans la maison afin de prévenir la croissance des microorganismes.

2. Nouveaux critères de salubrité

Le « droit de vivre dans un environnement intérieur sain » est une formule dérivée des principes fondamentaux des droits de l'homme, dont ceux du droit à un environnement sain et du droit à la santé.⁸³

La salubrité des habitations est un facteur incontournable dans le respect de ce droit.

Afin de juger les conditions d'habitabilité en région wallonne, le Gouvernement a rédigé un arrêté déterminant les huit critères minimaux de salubrité.⁸⁴

Ces critères sont :

- la stabilité
- l'étanchéité
- les installations électriques et de gaz
- la ventilation
- l'éclairage naturel
- l'équipement sanitaire et l'installation de chauffage
- la structure et la dimension du logement, notamment en fonction de la composition du ménage occupant
- la circulation au niveau des sols et des escaliers

Il n'est fait mention nulle part dans le texte de taches d'humidité, ni d'éventuelles contaminations par les microorganismes, comme les colonies bien visibles de champignons quand la situation est réellement critique.

Or, il apparaît clairement que l'humidité, et donc la présence de microorganismes, à l'intérieur des habitations augmente le risque d'avoir des problèmes de santé.⁹ Les effets se localisent principalement au niveau des voies respiratoires comme la toux ou l'asthme.

D'autres effets peuvent être causés par un environnement intérieur humide tels que des symptômes non spécifiques comme la fatigue ou le mal de tête.

Compte tenu des différents groupes sensibles de la population cités dans la section précédente, il est nécessaire de définir des critères de salubrité adéquats pour protéger les personnes les plus à risque.

Cependant, à ce jour, il n'existe aucune norme de salubrité microbienne dans les bâtiments.

Pour déterminer s'il y a un problème de contamination par des microorganismes, on se base sur l'inspection visuelle, c'est-à-dire sur la superficie des surfaces moisies visibles.

Une étude réalisée récemment montre que l'analyse de la poussière domestique est un outil efficace d'évaluation microbienne.⁸⁵

En effet, cette étude montre que la poussière de 68 maisons jugées saines contenait en moyenne 7 fois moins de moisissures que la poussière de 145 maisons jugées malsaines.

Ces résultats démontrent que le contenu en moisissures de la poussière de maison est un bon indicateur du degré de salubrité microbienne.

Des études sur ce sujet devraient se poursuivre car de nombreux spécialistes considèrent que l'analyse de la poussière n'est pas significative de la qualité de l'air.

Bien que des études scientifiques soient en cours pour caractériser les différents effets des composés produits par les microorganismes sur la santé, il semble évident qu'il est impératif de prendre dès maintenant des mesures de prévention contre l'humidité.

Conclusions

Les microorganismes sont omniprésents dans l'environnement de l'homme et sont généralement tolérés à l'intérieur des habitations à de faibles niveaux d'exposition.

Cependant, des effets tels que l'inflammation et l'irritation sensorielle apparaissent quand les niveaux d'exposition sont élevés.

Dans des conditions normales de température et d'humidité, le nombre de microorganismes à l'intérieur des bâtiments est plus ou moins équivalent au nombre de microorganismes à l'extérieur.

Si l'humidité augmente, les microorganismes vont pouvoir se développer, en premier lieu les moisissures qui nécessitent une humidité relative moindre que les bactéries qui prolifèrent dans les endroits où l'eau est stagnante, comme les humidificateurs ou les systèmes de conditionnement d'air.

Depuis quelques années, de nombreux scientifiques ont pris conscience que les composés chimiques produits par les microorganismes peuvent dégrader la qualité de l'air intérieur, ce qui a un impact important sur la santé publique.

Bien que des études épidémiologiques confirment que l'exposition aux polluants microbiologiques de l'air augmente la fréquence d'apparition de maladies respiratoires, il n'est pas possible -pour des raisons éthiques évidentes- de faire des études sur l'homme afin de déterminer à quelles concentrations les différents composés produits par les microorganismes causent ces effets.

Pour remédier à ce problème, des modèles animaux ont été développés dans le but d'extrapoler à l'homme l'apparition de maladies respiratoires observées chez les animaux soumis à l'inhalation prolongée de composés donnés.

L'évaluation du risque pour la santé humaine est alors effectuée en utilisant les données ainsi obtenues et les données épidémiologiques disponibles.

Cette extrapolation reste toutefois un problème délicat.

De nombreuses études sont encore nécessaires car, à l'heure actuelle, les données toxicologiques sur les mélanges de composés produits par les microorganismes, dans les conditions de faibles concentrations rencontrées à l'intérieur des habitations, sont encore trop rares.

De même, les recherches doivent se poursuivre pour isoler les métabolites secondaires des microorganismes.

Une des difficultés dans l'évaluation des effets des microorganismes sur la santé est le fait que les symptômes sont assez diffus. On retrouve par exemple des maladies comme l'asthme, des allergies, des hypersensibilités (SBS et SCM, avec des symptômes non spécifiques), des infections respiratoires et des cancers.

Il semble donc relativement difficile de déterminer la ou les causes exactes de ces maladies.

Le peu d'informations disponibles sur les risques pour la santé des polluants dans les bâtiments est dû au faible nombre d'études scientifiques réalisées dans le domaine de la qualité de l'air intérieur, mais également au fait que cette pollution doit être étudiée de manière multidisciplinaire.

A l'avenir, il serait nécessaire de standardiser les méthodes d'échantillonnage ainsi que les techniques d'analyse des différents composés produits par les microorganismes afin de pratiquer ces tests en routine, de comparer les résultats des différentes études et de mieux évaluer les concentrations auxquelles nous sommes exposés dans notre environnement domestique.

Il nous semble également intéressant de combiner les techniques de prélèvement et d'analyse adaptées aux différents composés produits par les microorganismes, ce qui permettra d'avoir une approche plus générale de cette forme de pollution intérieure.

Il serait aussi utile de poursuivre les études toxicologiques sur les différents composés produits par les microorganismes pour déterminer les concentrations auxquelles ces composés constituent un risque pour la santé.

Enfin, nous pensons que le degré de contamination microbienne d'un logement devrait être repris parmi les critères minimaux de salubrité qui jugent les conditions d'habitabilité car chaque individu a le droit de vivre dans un environnement intérieur sain.

Bibliographie

1. KOSTIAINEN R. (1995), "Volatile organic compounds in the indoor air of normal and sick houses", in *Atmospheric Environment*, vol. 29, n° 6, pp. 693 - 702
2. MILLER J. D. (1992), "Fungi as contaminants in indoor air", in *Atmospheric Environment*, vol. 26A, n° 12, pp. 2163 - 2172
3. CAILLEUX A., TURCANT A., PREMEL-CABIC A., ALLAIN P. (1993), "Volatile organic compounds in indoor air and in expired air as markers of activities", in *Chromatographia*, vol. 37, n° 1 - 2, pp. 57 - 59
4. http://www.hc-sc.gc.ca/ehp/dhm/catalogue/dpc_pubs/93dhm166.pdf
5. SQUINAZI F. (2002), "La pollution de l'air à l'intérieur des bâtiments (allergènes exclus) ", in *Revue Française d'Allergologie et d'Immunologie Clinique*, vol. 42, n° 3, pp. 248 - 255
6. KOPONEN I.K., ASMI A., KERONEN P., PUHTO K., KULMALA M. (2001), "Indoor air measurement campaign in Helsinki, Finland 1999 – the effect of outdoor air pollution on indoor air", in *Atmospheric Environment*, vol. 35, n° 8, pp. 1465 - 1477
7. REDLICH C.A., SPARER J., CULLEN M.R. (1997), "Sick-building syndrome", in *Occupational Medicine*, vol. 349, pp. 1013 - 1016
8. SPENGLER J.D., SEXTON K. (1983), "Indoor air pollution : a public health perspective", in *Science*, vol. 221, n° 4605, pp. 9 - 17
9. BORNEHAG C.G., BLOMQUIST G., GYNTELBERG F., JÄRVHOLM B., MALMBERG P., NORDVALL L., NIELSEN A., PERSHAGEN G., SUNDELL J. (2001), "Dampness in buildings and health. Nordic interdisciplinary review of the scientific evidence on associations between exposure to "dampness" in buildings and health effects (NORDDAMP)", in *Indoor Air*, vol. 11, n° 2, pp. 72 - 86
10. http://www.hc-sc.gc.ca/ehp/dhm/catalogue/dpc_pubs/98dhm211/chapitre3.pdf

11. <http://mrw.wallonie.be/dgtre/energie2plus/CDRom/Climatisation/theorie/ventheconfortthermique.htm>

12. JONES A.P. (1999), "Indoor air quality and health", in *Atmospheric Environment*, vol. 33, n° 28, pp. 4535 - 4564

13. STETZENBACH L.D. (1998), "Microorganisms and indoor air quality", in *Clinical Microbiology Newsletter*, vol. 20, n° 19, pp. 157 - 161

14. AGRANOVSKI I.E., AGRANOVSKI V., REPONEN T., WILLEKE K., GRINSHPUN S.A. (2002), "Development and evaluation of a new personal sampler for culturable airborne microorganisms", in *Atmospheric Environment*, vol. 36, n° 5, pp. 889 - 898

15. CARRER P., MARONI M., ALCINI D., CAVALLO D. (2001), "Allergens in indoor air : environmental assessment and health effects", in *The Science of the Total Environment*, vol. 270, n° 1 - 3, pp. 33 - 42

16. BECHER R., HONGSLO J.K., JANTUNEN M.J., DYBING E. (1996), "Environmental chemicals relevant for respiratory hypersensitivity : the indoor environment", in *Toxicology Letters*, vol. 86, n° 2 - 3, pp. 155 - 162

17. http://www.irsst.qc.ca/htmlfr/pdf_txt/t-23.pdf

18. KORPI A., PASANEN A.L., PASANEN P. (1998), "Volatile compounds originating from mixed microbial cultures on building materials under various humidity conditions", in *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 64, n° 8, pp. 2914 - 2919

19. HUSMAN T. (1996), "Health effects of indoor-air microorganisms", in *Scandinavian Journal of Work, Environment and Health*, vol. 22, n° 1, pp. 5 - 13

20. HENDRY K. M., COLE E.C. (1993), "A review of mycotoxins in indoor air", in *Journal of Toxicology and Environmental Health*, vol. 38, n° 2, pp. 183 - 198

21. ASSELINEAU, in “Les lipides bactériens”, Ed. Hermann, 1962

22. http://www.irsst.qc.ca/htmfr/pgf_txt/B-049.pdf

23. <http://www.unige.ch/cyberdocuments/these2001/Bisognanoc/these-body.html>

24. HUSSEIN H.S., BRASEL J.M. (2001), “Toxicity, metabolism, and impact of mycotoxins on humans and animals”, in *Toxicology*, vol. 167, n° 2, pp. 101 - 134

25. MOREAU, in “Moulds, toxins and food”, Ed. Wiley, 1979

26. PASANEN A.L., NIKULIN M., TUOMAINEN M., BERG S., PARIKKA P., HINTIKKA E.L. (1993), “Laboratory experiments on membrane filter sampling of airborne mycotoxins produced by *Stachybotrys atra* Corda”, in *Atmospheric Environment*, vol. 27A, n° 1, pp. 9 - 13

27. SORENSEN W.G. (1999), “Fungal spores : Hazardous to health?”, in *Environmental Health Perspectives*, vol. 107, suppl. 3, pp. 469 - 473

28. <http://www.engr.psu.edu/ae/wjk/ardtie.html>

29. http://www.aerias.org/jtf_mostwanted.htm

30. SUNESSON A.L., NILSSON C.A., ANDERSSON B., BLOMQUIST G. (1996), “Volatile metabolites produced by two fungal species cultivated on building materials”, in *Annals of Occupational Hygiene*, vol. 40, n° 4, pp. 397 - 410

31. BJURMAN J., KRISTENSSON J. (1992), “Production of volatile metabolites by the soft rot fungus *Chaetomium globosum* on building materials and defined media”, in *Microbios*, vol. 72, n° 290, pp. 47 - 54

32. PASANEN A.L., LAPPALAINEN S., PASANEN P. (1996), “Volatile organic metabolites associated with some toxic fungi and their mycotoxins”, in *Analyst*, vol. 121, n° 12, pp. 1949 - 1953

33. WILKINS K., LARSEN K., SIMKUS M. (2000), "Volatile metabolites from mold growth on building materials and synthetic media", in *Chemosphere*, vol. 41, n° 3, pp. 437 - 446
34. PASANEN P., KORPI A., KALLIOKOSKI P., PASANEN A.L. (1997), "Growth and volatile metabolite production of *Aspergillus versicolor* in house dust", in *Environment International*, vol. 23, n° 4, pp. 425 - 432
35. FANG L., CLAUSEN G., FANGER P.O. (1999), "Impact of temperature and humidity on chemical and sensory emissions from building materials", in *Indoor Air*, vol. 9, n° 3, pp. 193 - 201
36. PASANEN A.L., KORPI A., KASANEN J.P., PASANEN P. (1998), "Critical aspects on the significance of microbial volatile metabolites as indoor air pollutants", in *Environment International*, vol. 24, n° 7, pp. 703 - 712
37. WOLKOFF P., NIELSEN G.D. (2001), "Organic compounds in indoor air – their relevance for perceived indoor air quality", in *Atmospheric Environment*, vol. 35, n° 26, pp. 4407 - 4417
38. WESCHLER C.J., SHIELDS H.C. (1997), "Potential reactions among indoor pollutants", in *Atmospheric Environment*, vol. 31, n° 21, pp. 3487 - 3495
39. SPRECHER E., KUBECZKA K.H., RATSCHKO M. (1975), "Volatile terpenes in fungi", in *Archiv der Pharmazie*, vol. 308, n° 11, pp. 843 - 851
40. DEWEY S., SAGUNSKI H., PALMGREN U., WILDEBOER B. (1995), "Microbial volatile organic compounds. A new approach in assessment health risks by indoor mold?", in *Zentralblatt für Hygiene und Umweltmedizin*, vol. 197, n° 6, pp. 504 - 515
41. WESSEN B., SCHOEPS K.O. (1996), "Microbial volatile organic compounds – what substances can be found in sick buildings?", in *Analyst*, vol. 121, n° 9, pp. 1203 - 1205

42. KORPI A., PASANEN A.L., PASANEN P., KALLIOSKOSKI P. (1997), "Microbial growth and metabolism in house dust", in *International Biodeterioration and Biodegradation*, vol. 40, n° 1, pp. 19 - 27

43. 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", in *Chemosphere*, vol. 39, n° 5, pp. 795 - 810

44. KORPI A., KASANEN J.P., ALARIE Y., KOSMA V.M., PASANEN A.L. (1999), "Sensory irritating potency of some microbial volatile organic compounds (MVOCs) and a mixture of five MVOCs", in *Archives of Environmental Health*, vol. 54, n° 5, pp. 347 - 352

45. FISCHER G., MULLER T., SCHWALBE R., OSTROWSKI R., DOTT W. (2000), "Exposure to airborne fungi, MVOC and mycotoxins in biowaste-handling facilities", in *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, vol. 203, n° 2, pp. 97 - 104

46. PELTOLA J., ANDERSSON M.A., HAAHTELA T., MUSSALO-RAUHAMAA H., RAINEY F.A., KROPPENSTEDT R.M., SAMSON R.A., SALKINOJA-SALONEN M.S. (2001), "Toxic-metabolite-producing bacteria and fungus in an indoor environment", in *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 67, n° 7, pp. 3269 - 3274

47. GRIFFITHS W.D., STEWART I.W., FUTTER S.J., UPTON S.L., MARK D. (1997), "The development of sampling methods for the assessment of indoor bioaerosols", in *Journal of The Aerosol Sciences*, vol. 28, n° 3, pp. 437 - 457

48. <http://www.biogenic.fr/endotoxine/endotoxine.htm>

49. "Workplace atmosphere – Determination of airborne endotoxine", Projet de Norme Européenne n° prEN 14031 (Juillet 2002)

50. TSUCHIYA M., OISHI H., TAKAOKA A., FUSAMOTO M., MATSUURA S. (1990), "Discrimination between endotoxin and (1→3)-β-D-glucan using turbidimetric kinetic

assay with *Limulus* ameobocyte lysate“, in *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, vol. 38, n° 9, pp. 2523 - 2526

51. JURSIK T., STRANSKY K., UBIK K. (1991), “Trapping system for trace organic volatiles”, in *Journal of Chromatography*, vol. 586, n° 2, pp. 315 - 322

52. BLANCH G.P., HERRAIZ M., REGLERO G., TABERA J. (1993), “Preconcentration of samples by steam distillation-solvent extraction at low temperature”, in *Journal of Chromatography A*, vol. 655, n° 1, pp. 141 - 149

53. LARSEN T.O., FRISVAD J.C. (1995), “Comparison of different methods for collection of volatile chemical markers from fungi”, in *Journal of Microbiological Methods*, vol. 24, n° 2, pp. 135 - 144

54. POOLE C.F., POOLE S.K., SEIBERT D.S., CHAPMAN C.M. (1997), “Determination of kinetic and retention proprieties of cartridge and disk devices for solid-phase extraction”, in *Journal of Chromatography B*, vol. 689, n° 1, pp. 245 - 259

55. HARPER M. (2000), “Sorbent trapping of volatile organic compounds from air”, in *Journal of Chromatography A*, vol. 885, n° 1 - 2, pp. 129 - 151

56. BÖRJESSON T., STÖLLMAN U., SCHNÜRER J. (1992), “Volatile metabolites produced by six fungal species compared with other indicators of fungal growth on cereal grains”, in *Applied and Environmental Microbiology*, vol. 58, n° 8, pp. 2599 - 2605

57. VANHAELEN M., VANHAELEN-FASTRE R, GEERAERTS J. (1977), "Isolation and characterization of trace amounts of volatile compounds affecting insect chemosensory behaviour by combined pre-concentration on Tenax GC and gas chromatography", in *Journal of Chromatography*, vol. 144, n° 1, pp. 108 - 112

58. SUNESSON A.L., NILSSON C.A., ANDERSSON B. (1995), "Evaluation of adsorbents for sampling and quantitative analysis of microbial volatiles using thermal desorption-gas chromatography", in *Journal of Chromatography A*, vol. 699, n° 1 - 2, pp. 203 - 214

59. KOZIEL J., JIA M., KHALED A., NOAH J., PAWLISZYN J. (1999), "Field air analysis with SPME device", in *Analytica Chimica Acta*, vol. 400, n° 1 - 3, pp. 153 - 162

60. KHALED A., PAWLISZYN J. (2000), "Time-weighted average sampling of volatile and semi-volatile airborne compounds by solid-phase microextraction device", in *Journal of Chromatography A*, vol. 892, n° 1 - 2, pp. 455 - 467

61. AUGUSTO F., KOZIEL J., PAWLISZYN J. (2001), "Design and validation of portable SPME devices for rapid field air sampling and diffusing-based calibration", in *Analytical Chemistry*, vol. 73, n° 3, pp. 481 - 486

62. GÓRECKI T., NAMIESNIK J. (2002), "Passive sampling", in *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 21, n° 4, pp. 276 - 291

63. ELKE K., BEGEROW J., OPPERMANN H., KARMER U., JERMANN E., DUNEMANN L. (1999), "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 indoor mould fungi?", in *Journal of Environmental Monitoring*, vol.1, n° 5, pp. 445 - 452

64. SIMMONS J.E. (1995), "Chemical mixture : challenge for toxicology and risk assessment", in *Toxicology*, vol. 105, n° 2 - 3, pp. 115 - 119

65. CASSEE F.R., GROTEN J.P., VAN BLADEREN P.J., FERON V.J. (1998), "Toxicological evaluation and risk assessment of chemical mixtures", in *Critical Reviews in Toxicology*, vol. 28, n° 1, pp. 73 - 101
66. FERON V.J., GROTEN J.P. (2002), "Toxicological evaluation of chemical mixtures", in *Food and Chemical Toxicology*, vol. 40, n° 6, pp. 825 - 839
67. FERON V.J., WOUTERSEN R. A., ARTS J.H.E., CASSEE F.R., DE VRIJER F., VAN BLADEREN P.J. (1995), "Safety evaluation of the mixture of chemicals at a specific workplace : theoretical considerations and a suggested two-step procedure", in *Toxicology Letters*, vol. 76, n° 1, pp. 47 - 55
68. SELGRADE M.K. (2000), "Air pollution and respiratory disease : extrapolation from animal models to human health effects", in *Immunopharmacology*, vol. 48, n° 3, pp. 319 - 324
69. THORNE P.S. (2000), "Inhalation toxicology models of endotoxin- and bioaerosols-induced inflammation", in *Toxicology*, vol. 152, n° 1 - 3, pp. 13 - 23
70. FISHBEIN L. (1996), "Multiple chemical sensitivities : an overview", in *Environmental Toxicology and Pharmacology*, vol. 2, n° 2 - 3, pp. 193 - 195
71. WINDER C. (2002), "Mechanisms of multiple chemical sensitivity", in *Toxicology Letters*, vol. 128, n° 1 - 3, pp. 85 - 97
72. LAPA E SILVA J.R., POSSEBON E SILVA M.D., LEFORT J., VARGAFTIG B.B. (2000), "Endotoxins, asthma and allergy immune response", in *Toxicology*, vol. 152, n° 1 - 3, pp. 31 - 35
73. RYLANDER R. (1998), "Microbial cell wall constituents in indoor air and their relation to disease", in *Indoor Air*, Suppl. 4, pp. 59 - 65
74. MICHEL O. (2000), "Systemic and local airways inflammatory response to endotoxin", in *Toxicology*, vol. 152, n° 1 - 3, pp. 25 - 30

75. SCHORDERET, in "Pharmacologie. Des concepts fondamentaux aux applications thérapeutiques", Ed. Slatkine, 1992

76. RYLANDER R., LIN R-H. (2000), " (1→3)-β-D-glucan – relationship to indoor air-related symptoms, allergy and asthma", in *Toxicology*, vol. 152, n° 1 - 3, pp. 47 - 52

77. HINTIKKA E.L., NIKULIN M. (1998), "Airborne mycotoxins in agricultural and indoor environments", in *Indoor Air*, Suppl. 4, pp. 66 - 70

78. STEYN P.S. (1995), "Mycotoxins, general view, chemistry and structure", in *Toxicology Letters*, vol. 82 - 83, pp. 843 - 851

79. BETINA V. (1989), "Structure-activity relationship among mycotoxins", in *Chemico-Biological Interactions*, vol. 71, n° 2 - 3, pp. 105 - 146

80. SHIER W.T., SHIER A.C., XIE W., MIROCHA C.J. (2001), "Structure-activity relationship for human estrogenic activity in zearalenone mycotoxins", in *Toxicon*, vol. 39, n° 9, pp. 1435 - 1438

81. KREJA L., SEIDEL H.J. (2002), "Evaluation of the genotoxic potential of some microbial volatile organic compounds (MVOC) with the comet assay, the micronucleus assay and the HPRT gene mutation assay", in *Mutation Research*, vol. 513, n° 1 - 2, pp. 143 - 150

82. SEIFERT B. (1995), "Validity criteria for exposure assessment methods", in *The Science of the Total Environment*, vol. 168, n° 2, pp. 101 - 107

83. MOLHAVE L., KRZYZANOWSKI M. (2000), "The right to healthy indoor air", in *Indoor Air*, vol. 10, n° 4, pp. 211

84. <http://mrw.wallonie.be/dgatlp/dgatlp/Pages/Log/Pages/SalLog/SalLog.htm>

85. <http://www.naturair-kiwatin.com/index1.html>