

# Effets sanitaires des moisissures dans l'habitat

## L'enquête Esmha, pilote d'une étude épidémiologique

Sabine Host<sup>1</sup>, Dorothée Grange<sup>1</sup>, Edouard Chatignoux<sup>1</sup>, Cécile Sommen<sup>1</sup>, Isabelle Grémy<sup>1</sup>, avec la participation de Murielle Dusséaux<sup>2</sup>, Valérie Bex-Capelle<sup>2</sup> et Stéphane Moularat<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ORS Ile-de-France

<sup>2</sup> Laboratoire d'hygiène de la ville de Paris (LHVP)

<sup>3</sup> Centre scientifique et technique du bâtiment (CSTB)

### L'amélioration de la qualité de l'air intérieur, un axe fort de progrès en santé environnementale, un vaste champ de connaissances à explorer

*Ces dernières années, la connaissance des pollutions de nos environnements intérieurs a fortement progressé, avec notamment le lancement par l'Observatoire de la qualité de l'air intérieur (OQAI) d'enquêtes nationales sur la qualité de l'air dans les logements et dans les écoles. Une politique active en faveur de cette problématique est menée au niveau national, en particulier au travers de plans nationaux santé environnement et des travaux de l'Agence nationale de sécurité sanitaire (Anses<sup>1</sup>) qui œuvre à l'élaboration de « valeurs guides de qualité d'air intérieur » afin de fournir une traduction sanitaire aux niveaux relevés. Toutefois, il n'en demeure pas moins que le champ des connaissances à explorer est large.*

*Il existe, en effet, une grande diversité de polluants intérieurs avec des niveaux d'exposition variables et les conséquences sur la santé qui leur sont attribuables sont de nature et de gravité différentes. Parmi les troubles associés à une mauvaise qualité de l'air intérieur, les pathologies du système respiratoire (rhinite, bronchite, asthme...) sont fréquemment observées. Parmi ces manifestations, beaucoup sont de nature allergique. Cependant, la relation de causalité entre la présence de ces polluants de l'air intérieur et les effets sanitaires observés est souvent complexe à établir. D'une part, nombre de ces pathologies ne sont pas spécifiques*

*d'un polluant donné. D'autre part, les études épidémiologiques sont souvent confrontées à la difficulté d'évaluer les expositions à ces polluants.*

*Dans ce contexte, l'ORS Ile-de-France a mené dès 2005 une réflexion à ce sujet afin d'identifier les questions les plus pertinentes pour la région Ile-de-France compte-tenu de ses spécificités. Ce premier travail a conduit à la publication d'un état des connaissances concernant les effets sanitaires de la pollution de l'air intérieur (Host et al., 2005) et a souligné l'importance des problèmes d'humidité et de moisissures en termes de prévalence et d'effets sanitaires. En effet, la prolifération de moisissures dans l'habitat, liée la plupart du temps à des problèmes d'humidité, s'avère préoccupante pour la santé des occupants. Outre les effets allergiques tels que rhinite, sinusite allergique ou asthme, les moisissures peuvent également être impliquées dans des mécanismes infectieux, et des effets toxiques et irritatifs leur sont aussi attribuables. Alors que la proportion de logements concernés apparaît importante, notamment en Ile-de-France du fait d'un parc de logements ancien (en 2006, 33 % des résidences principales dataient d'avant 1949) et surpeuplé (19 % contre 9 % au niveau national d'après l'enquête logement Insee 2006), l'impact sanitaire pourrait être non négligeable. Toutefois, en l'absence d'indicateurs d'exposition fiables, cet impact est difficilement quantifiable. Ainsi, le grand*

<sup>1</sup> L'Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail est devenue l'Anses le 1<sup>er</sup> juillet 2010.

Nous adressons nos remerciements aux membres du comité de pilotage, Isabella Annesi Maesano (Inserm), Philippe Bretin (InVS) et Claire Dassonville (Laboratoire de Santé Publique et Environnement – Paris V), qui ont accompagné ce travail.

public comme les acteurs français du bâtiment (entrepreneurs et bailleurs sociaux), de la santé ainsi que les décideurs sont peu sensibilisés à cette problématique. Si les moisissures sont identifiées comme une source de pollution de l'air intérieur, les risques sanitaires liés à cette pollution sont faiblement perçus par la population francilienne et les comportements sont souvent défavorables à la qualité de l'air (cf. encadré ci-contre).

Dans ce contexte, l'ORS Ile-de-France a proposé de mettre en place une enquête épidémiologique dans la région pour étudier les effets sanitaires des moisissures dans l'habitat. La difficulté d'une telle étude réside notamment dans l'estimation de l'exposition aux moisissures, évaluée généralement de façon indirecte, via le niveau de contamination fongique du logement. Différentes techniques, parfois difficiles à mettre en œuvre et coûteuses, permettent de caractériser cette contamination. Afin d'explorer cette question et de tester la faisabilité d'une telle étude, l'ORS Ile-de-France a réalisé une enquête pilote portant sur un échantillon de 150 logements : l'enquête ESMHA "Effets Sanitaires des Moisissures dans l'Habitat". Ce travail a été mené en partenariat avec le Laboratoire d'hygiène de la ville de Paris et le Centre scientifique et technique du bâtiment qui ont réalisé les analyses environnementales. Le

recueil des données a été confié à l'Institut de sondages BVA et a été réalisé entre novembre 2007 et septembre 2009.

#### **Une faible perception des risques sanitaires liés à la pollution de l'air intérieur**

Certains comportements susceptibles d'entraîner une dégradation de la qualité de l'air intérieur des logements sont relativement fréquents en Ile-de-France. En effet, selon les données du Baromètre santé environnement (Inpes, 2008), 24 % des Franciliens déclaraient en 2007 utiliser des chauffages d'appoint pendant les saisons froides, 13 % aérer leur logement moins d'une fois par jour en hiver, 8 % avoir bouché les orifices d'aération au cours des douze derniers mois.

En outre, les risques sanitaires liés à la pollution de l'air intérieur sont perçus comme faibles par près d'un Francilien sur deux (49 %). Les connaissances de la population à ce sujet sont aussi très variables. Si certains facteurs sont identifiés par plus de 80 % des Franciliens comme sources de pollution (fumée de tabac, produits d'entretien, mais aussi moisissures), d'autres, tels que le mobilier le sont par moins d'un Francilien sur deux.

Une sensibilisation de la population s'avère donc importante, d'autant plus que seuls 46 % des Franciliens ont le sentiment d'être bien informés sur cette thématique.

#### **Objectifs de l'enquête Esmha, pilote d'une étude épidémiologique**

Cette enquête pilote avait pour but d'identifier les difficultés et contraintes concernant l'adhésion des foyers à l'enquête d'une part, ainsi que la collecte des données sanitaires et environnementales d'autre part, afin d'optimiser le protocole de recueil à grande échelle. Par ailleurs, un plan de sondage visant à surreprésenter les logements contaminés dans l'échantillon pour améliorer la puissance de l'étude a été mis en œuvre. Ainsi, ce travail visait également à valider l'efficacité et la pertinence de cette stratégie d'échantillonnage.

Une attention particulière a été portée au recueil des données environnementales qui a constitué le cœur de ce pilote. Différentes techniques de recueil d'indices de contamination fongique ont ainsi été mises en œuvre (prélèvements environnementaux - air et surface - et données descriptives recueillies par questionnaire) afin de tester leur faisabilité sur le terrain ainsi que leur fiabilité. La confrontation de ces indices a permis de décrire les différentes situations de contamination et de proposer des hypothèses afin de les traduire en termes d'expositions. Les mesures environnementales étant difficiles et coûteuses à mettre en œuvre, la possibilité de prédire une exposition uniquement à partir de données descriptives a été étudiée. Afin de sélectionner les facteurs prédictifs à retenir, les liens entre les indices de contamination et les caractéristiques de l'environnement domestique ont été examinés. Des profils de logement et de comportement des foyers déterminant les contaminations fongiques ont par ailleurs été établis.

Le protocole de l'enquête ainsi que les résultats de ces travaux sont détaillés dans un rapport (Host *et al.*, 2010), disponible sur le site internet de l'ORS, et sont ici synthétisés.

## L'échantillon de logements : constitution et caractéristiques

L'objectif du plan d'échantillonnage était de surreprésenter les logements contaminés afin d'améliorer la puissance de l'étude.

### Stratégie d'échantillonnage et tirage au sort

Un sondage stratifié a été mis en œuvre afin de sélectionner préférentiellement des logements dont les caractéristiques seraient susceptibles de favoriser le développement de moisissures.

Un niveau de risque en trois classes a été calculé pour chaque logement à partir des données constituant a priori des facteurs de risque de la présence d'humidité et issues du recensement de l'Insee de 1999, soit :

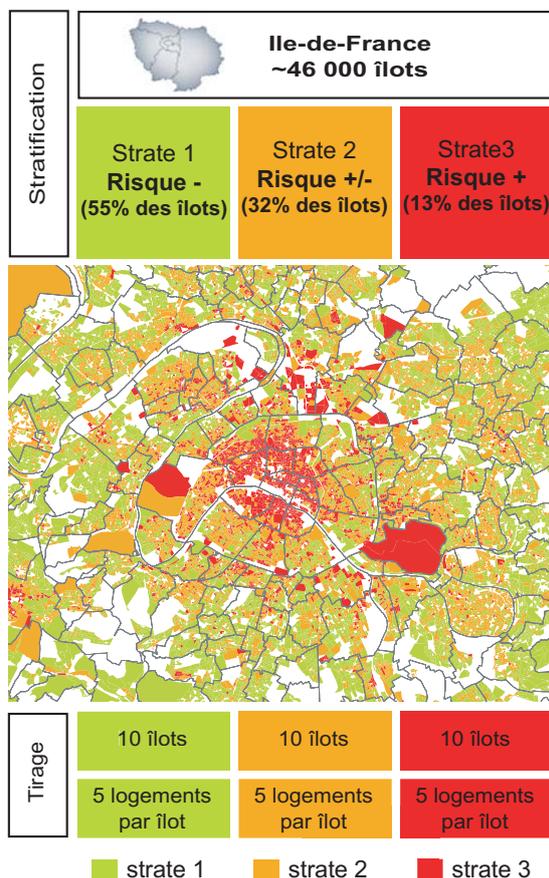
- la **date d'achèvement de la construction** à laquelle correspondent des normes de ventilation et d'isolation, dont les plus anciennes sont susceptibles de favoriser l'accumulation d'humidité ;
- le **taux de peuplement**, la concentration de présence humaine étant susceptible de produire une humidité excessive.

Un taux de logements « à risque » a ensuite été calculé pour chaque îlot Insee<sup>2</sup> permettant de les classer en trois strates. Ainsi, la strate la moins à risque (strate 1) était constituée de 55 % des îlots, la strate intermédiaire (strate 2) de 32 % et la strate la plus à risque (strate 3) de 13 % des îlots (cf. Figure 1).

Dix îlots ont été sélectionnés aléatoirement dans chaque strate et cinq ménages ont été tirés au sort parmi les résidents de l'îlot figurant dans les pages blanches de l'annuaire téléphonique. Pour pouvoir être inclus dans l'échantillon, les membres du foyer devaient, d'une part, occuper leur logement au titre de résidence principale et d'autre part, maîtriser le français oral et écrit.

L'objectif était d'enquêter 150 logements. Pour parvenir à cet effectif, 405 ménages ont été joints. Parmi eux, 56 % ont refusé de participer à l'étude et 6 % n'ont pu être recrutés du fait d'un manque de maîtrise de la langue française. Etant donné la lourdeur du dispositif d'enquête pour les foyers enquêtés, le taux de participation d'environ 40 % apparaît satisfaisant.

Figure 1 : Constitution de trois strates d'îlots et tirage au sort de l'échantillon de logements



### Efficacité de la stratégie d'échantillonnage

Comme attendu, les logements anciens étaient surreprésentés dans la strate la plus à risque. En effet, 76 % des logements de la strate 3 dataient d'avant 1949 contre 16 % dans la strate 1. En revanche, concernant le degré de peuplement, bien que les logements faiblement peuplés étaient en proportion plus nombreux dans la strate 1 (68 %) que dans la strate 3 (49 %), la stratégie d'échantillonnage n'a pas permis d'inclure préférentiellement les logements surpeuplés, faiblement surreprésentés dans la strate 3 (4 % des logements contre 2 % dans la strate 1). Ceci peut être mis en lien avec le niveau de revenus des foyers enquêtés. En effet, la répartition du niveau de revenus des foyers était indépendante de la strate.

La stratégie d'échantillonnage ne semble donc pas avoir permis de surreprésenter les logements occupés

<sup>2</sup> L'îlot est l'unité géographique de base pour la statistique et la diffusion du recensement.

par des personnes en situation précaire, logements potentiellement insalubres. Ces personnes s'avèrent difficilement accessibles, elles ont pu davantage refuser de participer à l'enquête ou n'ont pas pu être incluses pour différentes raisons, notamment des problèmes de compréhension du français ou encore

l'absence de ligne téléphonique fixe dans le logement. Par ailleurs, dans certains cas, la peur du propriétaire ou du bailleur a pu être évoquée.

Ainsi, dans le cadre d'une enquête épidémiologique, le plan de sondage devra être adapté afin d'inclure les populations les plus à risque dans l'échantillon.

## Contaminations des logements par les moisissures

### Des méthodes de mesures variées et complémentaires

L'exposition des personnes aux moisissures de l'habitat est généralement évaluée de façon indirecte, via le niveau de contamination fongique du logement qui peut être approché selon différentes méthodes, plus ou moins faciles à mettre en œuvre.

Les moisissures, ou plus exactement les fragments mycéliens et les spores, peuvent être analysés dans l'air, sur les surfaces, dans les poussières ou dans les matériaux. Les prélèvements sont généralement mis en culture<sup>3</sup> avant de procéder à l'identification des espèces et à la quantification des éléments fongiques viables<sup>4</sup>. Toutefois, des prélèvements simples de surface à l'aide d'un ruban adhésif suivi d'une identification directe au microscope sont également possibles.

L'échantillonnage de l'air est souvent préféré car, a priori, il reflète mieux l'exposition par voie d'inhalation (Douwes et Pearce, 2003). Toutefois, ces prélèvements sont effectués sur de courtes durées, ce qui limite la représentativité des niveaux mesurés. Des techniques d'analyses moléculaires sont cependant en cours de développement et devraient considérablement améliorer et simplifier ces détections.

A côté de ces techniques de détection directe de la flore fongique, la contamination peut être appréciée à l'aide d'indicateurs globaux tels que l'ergostérol ou les  $\beta(1-3)$ glucanes, composants des moisissures. La mesure de ces composés dans l'air est plus représentative car elle se réalise sur des temps de prélèvement plus longs. En revanche, elle ne donne pas d'information sur les espèces en présence, or les propriétés allergisantes, toxiques ou encore infectieuses des moisissures sont variables selon les espèces. Le dosage des mycotoxines dans l'air peut

cependant fournir une information sur la toxicité de l'aérosol fongique inhalable (Robine *et al.*, 2005).

Il est également possible de détecter une contamination fongique au travers de traceurs, en particulier les composés organiques volatils émis par les moisissures lors de leur croissance. A ce titre, un indice permettant de confirmer ou infirmer la présence d'un développement actif de moisissures à l'intérieur d'un logement a été développé (Moulatat, 2007a). Toutefois, cet indice ne fournit pas d'indication quantitative, ni d'information sur les espèces en présence.

A côté de ces analyses environnementales, le questionnaire descriptif constitue, quant à lui, un outil de recueil plus simple. Cependant, il n'offre qu'une évaluation qualitative de la contamination et ne laisse pas présager de son niveau dans l'air. Il est par ailleurs soumis à l'appréciation subjective de l'observateur et ne permet de détecter que les moisissures visibles. Enfin, il n'indique pas si les moisissures détectées présentent un risque sanitaire.

Au final, plusieurs approches sont possibles pour détecter les contaminations fongiques à l'intérieur des logements, chacune présentant ses propres avantages et limites. Elles sont par ailleurs souvent complémentaires. Ainsi, dans le cadre de cette étude pilote, plusieurs techniques ont été testées afin de décrire au mieux les différentes situations de contamination en vue de leur traduction en termes d'expositions.

### Les données environnementales recueillies pour l'étude

Lors d'une première visite, un **questionnaire environnemental** était renseigné par un enquêteur formé. Lors de cette visite, des prélèvements environnementaux étaient également effectués.

<sup>3</sup> Le choix du milieu de culture peut favoriser certaines espèces au détriment d'autres qui ne seront pas détectées.

<sup>4</sup> Les spores mortes ne peuvent pas être comptabilisées.

Ceux-ci sont présentés schématiquement sur la Figure 2. Trois systèmes de **prélèvement d'air** étaient mis en place, à l'intérieur (dans le séjour) ou à l'extérieur (sur un rebord de fenêtre ou un balcon) :

- deux capteurs (CIP10) mesurant le niveau intérieur d'ergostérol et de mycotoxines (Moularat, 2007b) ;
- un capteur (CAP) mesurant le niveau ambiant extérieur d'ergostérol ;
- un tube passif permettant de détecter les COV microbiens intérieurs afin de déterminer un indice de contamination fongique (indice COV) et mettre en évidence un développement actif de moisissures (Moularat, 2007a).

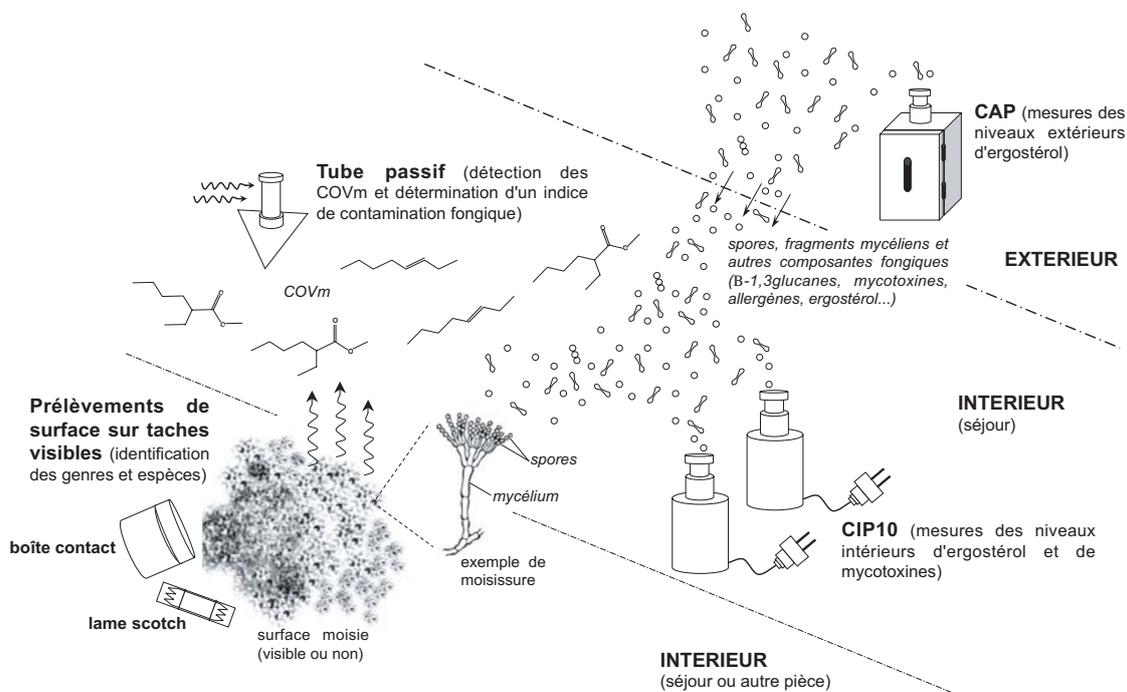
Les appareils étaient retirés 7 à 10 jours plus tard et

les échantillons expédiés au laboratoire pour analyse. En cas de moisissures visibles, des **prélèvements de surfaces contaminées** étaient réalisés afin d'identifier les principaux genres et espèces habituellement retrouvés dans des intérieurs humides et/ou responsables d'effets sanitaires. Deux techniques de prélèvement de moisissures visibles étaient mises en œuvre en parallèle :

- des prélèvements à l'aide de boîtes contacts, suivis d'une mise en culture ;
- des prélèvements à l'aide d'un ruban adhésif, suivis d'une identification directe au microscope.

Cette étude est la première à confronter ces différentes techniques.

Figure 2 : Systèmes de prélèvement d'air et de surface mis en œuvre dans le cadre de cette étude



### Faisabilité des techniques de mesures mises en œuvre et caractérisation de la contamination des logements

Le questionnaire environnemental a permis de détecter une trace d'humidité ou de moisissures dans 25 % des logements. Des moisissures étaient visibles dans 17 % des logements. Pour les 3/4 de ces derniers, des prélèvements de surface ont été effectués : 90 % présentaient une espèce ou un genre potentiellement allergisant, avec une prédominance des genres *Cladosporium*, *Aspergillus* et *Penicillium*, respectivement

observés dans 80 %, 50 % et 45 % des logements où les prélèvements ont été effectués. Certains prélèvements n'ont pu être effectués en raison de l'accessibilité difficile des zones contaminées. Par ailleurs, la gestion du matériel de prélèvement pour la technique de mise en culture s'est avérée contraignante, de même que la conservation des échantillons prélevés. La technique utilisant un ruban adhésif avec examen direct s'est avérée beaucoup plus simple à mettre en œuvre. Les deux techniques donnent des résultats assez proches en ce qui concerne les genres identifiés. Toutefois, la

mise en culture permet d'identifier plus de genres et d'affiner jusqu'à l'espèce fongique, ce qui représente un intérêt dans la recherche des germes responsables d'effets sanitaires.

Par ailleurs, les résultats des mesures réalisées dans l'air sont présentés dans le Tableau 1.

**Tableau 1 : Mise en place des prélèvements d'air et résultats des analyses**

Type d'analyses	% d'échantillons prélevés	% d'échantillons perdus parmi ceux prélevés	% de logements pour lesquels résultats disponibles	Nombre de logements pour lesquels résultats disponibles	% logements contaminés	% de mesures dont les niveaux > limite de détection <sup>(1)</sup>	Concentration médiane (ng/m <sup>3</sup> )	Concentration maximale (ng/m <sup>3</sup> )
COV microbiens	92 %	24 %	70 %	105	80 %	nd	nd	nd
Niveau intérieur d'ergostérol	54 %	24 %	41 %	61	nd	51 %	0,34	7,93
Niveau extérieur d'ergostérol	45 %	24 %	34 %	51	nd	69 %	0,53	19,35
Niveau intérieur d'ergostérol endogène <sup>(2)</sup>	nd	nd	37 %	55	22 %	nd	1,17 <sup>(3)</sup>	3,22 <sup>(3)</sup>
Niveau de mycotoxines	39 %	18 %	32 %	48	0 %	0 %	0	0

<sup>(1)</sup> Limite de détection théorique égale à 0,25 ng/m<sup>3</sup>

<sup>(2)</sup> Cas où le niveau intérieur d'ergostérol est supérieur au niveau extérieur

<sup>(3)</sup> Parmi les 22 % de logements contaminés (soit 12 logements)

nd : non déterminé

Le tube passif permettant l'analyse des COV d'origine fongique a pu être mis en place dans 92 % des logements enquêtés. La pose du tube diffusif n'a pas engendré de réticence auprès des occupants et les enquêteurs n'ont pas fait part de difficultés. L'absence de bruit et de branchement électrique pour cette mesure est un atout incontestable pour ce type d'enquête. L'indice de contamination fongique, analysé au final dans 70 % des logements, concluait à une contamination active dans 80 % des cas.

Les dispositifs de prélèvements d'ergostérol se sont avérés lourds à mettre en œuvre dans les conditions de l'enquête (encombrement et problème d'autonomie des appareils, pannes fréquentes...). Par ailleurs, les temps de prélèvement ont été estimés avec une fiabilité limitée, ce qui ajoute de l'incertitude aux niveaux mesurés. Au final, les niveaux intérieurs d'ergostérol ont pu être estimés dans 41 % des logements, la concentration médiane s'élevait à 0,34 ng/m<sup>3</sup> et le niveau maximum était de 7,93 ng/m<sup>3</sup>. La présence éventuelle d'une source endogène a pu être déterminée pour 37 % des logements. Parmi eux, 22 % présentaient un niveau intérieur d'ergostérol supérieur au niveau extérieur, signe d'une contamination liée au logement. Les niveaux de mycotoxines, mesurés à partir du

même système de prélèvements, ont pu être estimés pour 32 % des logements. Pour ce sous-échantillon de 48 logements, aucune mycotoxine n'a été détectée. Malgré des seuils de détection très bas, les faibles niveaux de concentration de mycotoxines généralement rencontrés dans ces environnements rendent ce dosage plus sensible aux incertitudes de mesures.

#### Une grande variété de situations de contamination

Sept situations de contamination du point de vue des différents indices décrits précédemment peuvent être décrites telles qu'illustrées dans le Tableau 2.

Les résultats présentés ici portent uniquement sur le sous-échantillon de logements pour lesquels

**Tableau 2 : Les différentes situations de contamination (sous-échantillon de 41 logements)**

	Ergostérol endogène	Moisissures visibles		Absence de moisissures visibles	
		Spores +	Spores -	Spores +	Spores -
Contamination active					
COVm +		12 %	7 %	10 %	56 %
COVm -		0 %	2 %	2 %	10 %

l'ensemble des données de mesures était disponible, soit 41 logements. Par ailleurs, le cas échéant, la présence de moisissures visibles a été objectivée par les analyses microbiologiques.

Au final, la présence de moisissures a été mise en évidence par au moins un des indicateurs dans 90 % des logements. Seuls 10 % des logements ne présentaient donc aucune contamination. Dans 29 % des logements, la présence de moisissures était révélée par au moins deux indicateurs. Les trois indicateurs de contamination étaient positifs dans 12 % des logements.

Pour expliquer ces situations, les différents indices sont interprétés en fonction des caractéristiques des moisissures, leurs modes de développement et de dissémination. Ainsi, l'émission de spores ou d'autres éléments mycéliens dans l'air dépend du type de moisissures, de la nature du support ainsi que de son taux d'humidité. La présence de moisissures visibles ne se traduit donc pas nécessairement par l'émission de spores dans l'air, ce qui était le cas pour 9 % des logements. A l'inverse, même si une source endogène d'ergostérol a été détectée, l'enquêteur a pu ne pas repérer la présence de moisissures, potentiellement masquées par un revêtement, un meuble, ou bien tout simplement parce qu'elles sont incolores. Cette situation représente 12 % des cas. Toutefois, la présence d'une source intérieure d'ergostérol était liée significativement à la présence de moisissures visibles. En effet, une source intérieure d'ergostérol était retrouvée dans 55 % des logements présentant des moisissures visibles, contre 14 % des logements où aucune moisissure n'était apparente ( $p < 0,01$ ). De même le niveau intérieur d'ergostérol semble lié à la taille des surfaces contaminées.

Les contaminations fongiques révélées par un indice COV positif n'étaient, quant à elles, pas associées à la présence de moisissures visibles, ni à la présence d'une source intérieure d'ergostérol. L'indice COV permet de détecter des contaminations récentes potentiellement peu étendues donc moins facilement décelables à l'examen visuel et accompagnées d'une faible dissémination de spores, ce qui explique les cas où la présence d'une contamination est décelée uniquement par cet indice, soit 56 % des logements. La contamination peut également être étendue mais localisée derrière un obstacle qui la masque et prévient

l'émission de spores dans l'air. Enfin, une absence de développement fongique peut malgré tout se traduire par la présence de moisissures visibles, dans la mesure où la source d'humidité qui alimentait à l'origine la surface contaminée a pu être tarie. Toutefois, ce cas de figure n'a concerné ici que 2 % des logements.

D'un point de vue sanitaire, l'enjeu est de traduire ces différentes situations en termes d'expositions présentant potentiellement un risque pour la santé des occupants du logement. A ce titre, l'inhalation de COV microbiens peut présenter un risque sanitaire. En effet, des effets irritatifs ont pu être observés, toutefois, ils sont susceptibles d'intervenir à des niveaux élevés (Korpi *et al.*, 2009). Or, dans le cadre de cette enquête, les niveaux de COV n'ont pas été quantifiés. L'indice COV déterminé ici a fourni uniquement une information sur la présence ou non d'un développement actif. Ici, l'analyse de l'indice COV a montré une grande sensibilité de cette mesure puisqu'il était positif dans 80 % des logements testés. Ainsi, bien que discriminant vis-à-vis de la détection des contaminations fongiques actives, l'indice COV s'avère peu discriminant en vue de la détermination d'une exposition dans le cadre d'une enquête épidémiologique.

Les niveaux intérieurs d'ergostérol constituent, quant à eux, un bon indicateur de la biomasse fongique inhalable (Robine *et al.*, 2005). Cette information, croisée avec les caractéristiques de la flore fongique, permet a priori d'évaluer l'exposition potentielle des occupants du logement aux composantes et/ou métabolites des moisissures d'intérêt sanitaire. Dans l'optique d'une recherche épidémiologique, l'idéal serait de recueillir ces deux informations de manière exhaustive. Or le travail mené ici a démontré qu'il n'était pas possible d'effectuer la mesure du niveau d'ergostérol à grande échelle. Afin de pallier cette contrainte, l'enjeu du travail mené ici était de prédire ces niveaux à partir des caractéristiques du logement. En effet, pour qu'un développement fongique survienne, il faut que plusieurs conditions soient réunies. Ainsi, la démarche a été de recueillir les informations concernant l'état du bâti (vétusté, isolation...), les sources d'humidité ainsi que l'aération des logements qui permettent a priori d'approcher au mieux ces conditions, ce sont les déterminants ou facteurs de risques tels que développés dans la partie suivante.

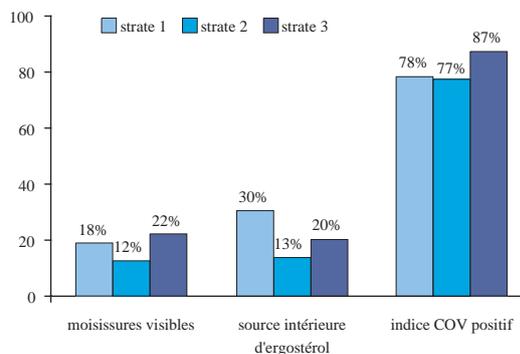
### Les différents indices de contamination selon la strate : pertinence de la stratégie d'échantillonnage

Afin de vérifier l'efficacité de la stratégie d'échantillonnage, les proportions de logements contaminés dans chacune des strates, selon les trois indicateurs décrits précédemment, ont été comparées (cf. Figure 3).

Quel que soit l'indicateur de contamination considéré, les trois strates n'apparaissent pas significativement différentes. De plus, dans notre échantillon, 17 % des logements présentaient des contaminations visibles et ce pourcentage est du même ordre de grandeur que ce qui a été observé dans la campagne nationale logements de l'OQAI, soit 15 % (Moularat, 2007c). Ainsi, la stratégie d'échantillonnage mise en œuvre dans le cadre de ce

pilote n'a pas permis de surreprésenter les logements présentant des contaminations.

**Figure 3 : Proportion de logements contaminés dans chaque strate selon l'indicateur fongique**



### Trois profils de logements

Afin d'avoir une vision synthétique des caractéristiques des logements enquêtés, une analyse factorielle multiple a été réalisée. Sur la base de cette analyse, une classification ascendante hiérarchique a permis de dégager trois profils de logements, établis d'après les caractéristiques de l'habitat ainsi que les comportements des occupants déterminant les contaminations fongiques.

Les logements « sains », qui représentaient 73 % de l'échantillon, se différenciaient des deux autres profils principalement par l'absence totale de condensation visible et quasi-totale de moisissures (0,9 % par rapport à plus de 60 % dans les autres profils de logement).

Les logements « moisiss », qui représentaient 14 % de l'échantillon, se caractérisaient principalement par la présence de tache de moisissures et d'humidité. Par ailleurs, il a été mis en évidence une proportion plus élevée d'espèces de moisissures potentiellement allergisantes ou responsables d'alvéolites (inflammations pulmonaires) dans ces logements, respectivement 62 % et 43 % contre 13 % et 11 % dans l'échantillon global.

Les logements « moisiss vétustes », représentant 13 % de l'échantillon, se caractérisaient par la présence de taches de moisissure et d'humidité et par des problèmes déclarés d'humidité et d'isolation. Des problèmes de condensation étaient par ailleurs constatés dans une proportion importante de ces logements. De plus, la proportion de logements où les occupants ont déclaré être bien chauffés en hiver était beaucoup plus faible que dans l'ensemble de l'échantillon (30 % contre 85 %). Enfin, une impression d'humidité ou une odeur de moisi était plus souvent déclarée par les occupants de ces logements.

### Les facteurs de risque de développement de moisissures à l'intérieur des logements

#### La survenue d'un dégât des eaux et la suroccupation accentuent le risque de contamination

La présence de moisissures visibles était très liée à l'existence d'un dégât des eaux non résolu ou résolu au cours des douze derniers mois, déclarée pour 11 % des logements enquêtés. En effet, 56 % des logements présentant un tel problème d'humidité avaient des

moisissures visibles, contre 12 % de ceux qui en étaient exempts ( $p < 0,001$ ).

La présence de moisissures visibles était également liée à la suroccupation. Ainsi, 63 % des logements suroccupés avaient des moisissures visibles contre 15 % de ceux non suroccupés ( $p < 0,001$ ).

Outre la survenue récente d'un dégât des eaux et la densité d'occupation importante, d'autres sources d'humidité ont été prises en compte telles que le fait d'étendre du linge dans le logement, la présence d'un aquarium, de plantes, de fontaines décoratives, d'humidificateurs. Ainsi, un logement présentant un nombre élevé de sources d'humidité semblait également présenter un risque accru de présence de moisissures visibles. En effet, 42 % des logements ayant trois ou quatre sources d'humidité parmi celles recueillies avaient des moisissures visibles contre 15 % de ceux ayant un nombre moins élevé de sources ( $p < 0,05$ ).

La présence d'une source endogène d'ergostérol apparaissait peu liée aux sources d'humidité étudiées, probablement en raison des faibles effectifs de l'échantillon (sous-effectif de 55 logements), toutefois une tendance à une plus forte proportion de logements contaminés parmi ceux suroccupés a été observée.

L'indice COV, quant à lui, n'était lié à aucun de ces facteurs.

#### **La ventilation, un facteur déterminant difficile à caractériser**

Dans le cadre de cette enquête, les performances de la ventilation et la qualité du renouvellement de l'air ont été approchées qualitativement via le questionnaire environnemental (présence et état des grilles d'aération et ouvrants, habitudes d'ouverture des fenêtres...). A chaque type de dispositif correspond une configuration particulière des entrées et sorties d'air ; selon ces critères, seulement 19 % des logements disposaient d'un système a priori opérationnel. Considérant que les infiltrations d'air peuvent compenser les défauts de dispositif, la proportion de logements susceptibles de présenter un risque de confinement représenterait 71 %. Toutefois, ce risque est à relativiser en tenant compte des habitudes d'aération des occupants. En effet, la moitié des foyers a déclaré aérer son logement plus d'une demi-heure par jour, hiver comme été. Au final, 39 % des logements cumuleraient les risques de confinement.

Aucun de ces critères n'a pu être relié à un des indices de contamination. Or, un défaut d'aération constitue un facteur de risque en faveur du développement des moisissures. En effet, l'aération des logements permet d'évacuer les polluants éventuellement émis à l'intérieur ainsi que l'humidité produite par les occupants et leurs

activités. Ainsi, un manque d'aération est susceptible d'entraîner une accumulation de ces polluants et un excès d'humidité, favorable à la croissance des moisissures.

De ce fait, la caractérisation de la ventilation à partir de données descriptives s'avère sans doute insuffisante dans un contexte d'étude épidémiologique. Des mesures objectives de taux de renouvellement d'air, telles que le suivi de la concentration de dioxyde de carbone, seraient vraisemblablement nécessaires.

#### **Une présence de moisissures visibles reliée à des problèmes d'isolation**

Une mauvaise isolation thermique est susceptible d'entraîner des problèmes de condensation sur les surfaces, telles que les murs, les plafonds ou encore les sols, qui demeurent froides lors de la saison hivernale. Ce paramètre a été recueilli sur la base de déclarations de l'occupant. La présence de contaminations visibles était associée à un logement mal chauffé en hiver (15 % des logements) ainsi qu'à des problèmes d'isolation (10 % des logements) : 36 % des logements mal chauffés et 40 % des logements mal isolés présentaient des moisissures contre 14 % et 15 % des logements où ces problèmes n'étaient pas déclarés ( $p < 0,05$ ).

#### **Prédire une exposition aux moisissures**

Un des objectifs de cette étude était de réaliser un modèle pour prédire la présence d'une contamination fongique objectivée par la mesure, à savoir la présence d'une source intérieure d'ergostérol et celle d'un développement fongique actif (indice COV positif), à partir des variables issues du questionnaire environnemental. Pour cela, des modèles de régression PLS (Partial Least Square), permettant de relier des variables à prédire à un ensemble de variables explicatives lorsque le nombre de variables explicatives est élevé, ont été mis en œuvre.

Ils ont permis de prédire la présence d'une source intérieure d'ergostérol avec seulement 19 % d'erreur (uniquement des faux négatifs). Toutefois, ces modèles, très préliminaires, devraient être appliqués à un autre jeu de données pour vérifier leur validité.

### **L'état du bâti, plus que l'ancienneté, lié à la présence de moisissures visibles**

Aucun lien n'a été mis en évidence entre l'ancienneté du bâti et les différents indicateurs de contamination. L'âge du bâti n'apparaît donc pas être un critère pertinent. En effet, il ne renseigne pas sur les éventuels travaux de rénovation ou de modernisation qui ont pu être effectués depuis la construction du logement. Toutefois, d'autres paramètres tels que l'état de la toiture, des gouttières et

de la façade peuvent renseigner sur l'état du bâti. Ainsi, 26 % des logements présentaient au moins une dégradation extérieure. Or, une façade dégradée était reliée à la présence de trace de moisissures ou d'humidité. En effet, 50 % des logements concernés par ce problème étaient contaminés par des moisissures visibles ou des traces d'humidité, contre seulement 20 % de logements contaminés parmi ceux dont la façade était en bon état ( $p < 0,01$ ).

## **Moisissures dans l'habitat et effets sur la santé des occupants : recueil des indicateurs sanitaires**

L'enquête pilote, compte tenu de l'échantillon réduit de logements enquêtés, n'avait pas pour ambition de mettre en relation une exposition aux moisissures et d'éventuels effets sanitaires. Ainsi, les données sur la santé des membres des foyers enquêtés ont été collectées uniquement afin de tester la faisabilité du recueil en vue d'une enquête épidémiologique à grande échelle. Après une brève revue de la littérature sur les effets attribuables aux moisissures, les indicateurs sanitaires recueillis sont décrits.

### **Effets sanitaires des moisissures**

L'exposition aux moisissures, en particulier par inhalation de spores et autres éléments mycéliens émis dans l'air par les moisissures, est susceptible d'entraîner des pathologies respiratoires et cutanées diverses parmi lesquelles les manifestations allergiques occupent une place prépondérante à côté de mécanismes infectieux, irritatifs et toxiques.

#### *Les mécanismes allergiques*

L'allergie, dont l'expression clinique peut être la rhinite, la conjonctivite et l'asthme, a fait l'objet de nombreuses études. Cependant, en raison de l'absence de standardisation de certains extraits allergéniques, le rôle des moisissures dans ces pathologies est difficile à démontrer. Des associations entre une prévalence accrue de symptômes associés à l'asthme, tels que la respiration sifflante et la toux, et des expositions aux moisissures du milieu intérieur ont été mises en évidence par certains travaux, mais cette relation n'est pas retrouvée dans toutes les études (Bush *et al.*, 2006). D'autres études évoquent la possibilité d'apparition de l'asthme en relation avec une exposition aux moisissures (Sahakian *et al.*, 2008).

#### *Les mécanismes irritatifs*

Les moisissures produisent de nombreuses substances potentiellement irritantes. Les particules fongiques telles que des fragments d'hyphes ou spores ont d'une part, une action mécanique et d'autre part, sont susceptibles de produire une irritation liée aux constituants même tels que les  $\beta(1-3)$ glucanes (Fung et Hughson, 2003). Ces substances agissent comme puissants agents inflammatoires, quelques études rapportent une augmentation de la prévalence des signes respiratoires corrélée à l'augmentation du taux de glucanes chez des personnes exposées.

Ces effets irritatifs peuvent également être liés aux COV microbiens. Des symptômes d'irritation des yeux, du nez et de la gorge ont en effet souvent été rapportés en présence de fortes odeurs produites par une croissance abondante de moisissures (Walinder *et al.*, 2005).

#### *Les mécanismes toxiques*

Les effets toxiques résultent de l'action pathogène de mycotoxines dont les effets délétères sur les voies respiratoires peuvent mener à l'exacerbation de l'asthme, à des infections fongiques (immunodéprimés) ou à des infections secondaires dues aux effets immunosuppresseurs des mycotoxines. L'exposition à ces toxines pourrait aussi être à l'origine de symptômes généraux non spécifiques tels que maux de tête, de gorge, diarrhée, fièvre... (Hodgson et Dearborn, 2009)

### **Indicateurs sanitaires recueillis pour l'étude**

Ainsi, un questionnaire auto-administré, élaboré à partir des éléments rapportés dans la littérature et de questionnaires standardisés, a permis de recueillir les

symptômes d'asthme, de bronchite et de rhinite allergique et la fréquence d'infections respiratoires et de symptômes généraux (fatigue, maux de tête, nausées). Une version allégée a été développée pour les enfants (< 15 ans). Ces questionnaires étaient remis lors de la première visite de l'enquêteur. Ils ont reçu une bonne adhésion puisqu'ils ont été complétés par 95 % des foyers enquêtés. Ainsi, 222 questionnaires adultes et 47 questionnaires enfants ont été recueillis.

Les indicateurs sanitaires concernant les adultes sont présentés dans le Tableau 3. Ces résultats sont assez proches de ceux observés dans d'autres enquêtes, en particulier en ce qui concerne l'asthme, la rhinite allergique et la bronchite chronique (Delmas *et al.*, 2008 ; Fuhrman et Delmas, 2010).

Concernant les enfants, un asthme a été déclaré pour 9 % d'entre eux, une allergie nasale pour 9 % également. Aucune allergie aux moisissures n'a été déclarée. Au cours des douze derniers mois, 6 % des enfants ont consulté au moins quatre fois pour une infection des voies respiratoires supérieures et aucun n'a consulté plus d'une fois pour une infection des voies respiratoires inférieures.

**Tableau 3 : Principales données sanitaires concernant les adultes enquêtés (âgés d'au moins 15 ans)**

Symptômes ou pathologies	% d'adultes (n=222)
Asthme confirmé par un médecin	10 %
Asthme actuel : symptômes d'asthme dans les 12 derniers mois (sifflements, gêne respiratoire ou essoufflement nocturne) et/ou prise d'un traitement pour cette pathologie	8 %
Asthme grave : consultation aux urgences ou hospitalisation dans les 12 derniers mois	0 %
Rhinite allergique (SFAR <sup>a</sup> )	24 %
Allergie confirmée par un médecin ou un test +	30 %
Allergie aux moisissures (diagnostiquée par un médecin et/ou test positif)	4 %
Symptômes de bronchite chronique : toux et crachats quotidiens pendant 3 mois consécutifs chaque année	3 %
Infections des voies respiratoires inférieures (bronchite, pneumonie) : au moins 2 consultations au cours des 12 derniers mois	3 %
Infections des voies respiratoires supérieures (rhume, sinusite, angine) : au moins 4 consultations au cours des 12 derniers mois	11 %
Symptômes généraux (fatigue, maux de tête/migraine et nausées/perte d'appétit) : avoir ressenti plus d'une fois par mois ou avoir consulté pour au moins deux de ces symptômes au cours des 12 derniers mois	17 %

<sup>a</sup> Score For Allergic Rhinitis (Annesi-Maesano *et al.*, 2002)

## Conclusion et perspectives

### Les problèmes d'humidité et de moisissures dans les logements largement répandus

Dans le cadre de ce pilote, 25 % des logements enquêtés présentaient au moins une tache d'humidité ou de moisissures. Ces chiffres sont tout à fait comparables à ceux de l'enquête sur les conditions de logement en Ile-de-France en 2006. En effet, 21 % des ménages interrogés faisaient état de traces d'humidité sur les murs de leur logement, l'humidité constituant ainsi la première cause d'inconfort (IAU Ile-de-France, 2009). S'agissant des contaminations fongiques, 17 % des logements de notre échantillon présentaient des moisissures visibles. Une source endogène d'ergostérol a été détectée pour 22 % des logements où la mesure a été effectuée.

En raison de l'échantillonnage et du faible effectif de logements concernés, ces chiffres ne peuvent pas être extrapolés à l'ensemble de la région. Toutefois, ils

sont susceptibles de sous-estimer la réalité compte-tenu du fait que les foyers les plus précaires n'ont pu être inclus dans l'échantillon.

Le problème des moisissures dans l'habitat apparaît ainsi comme un phénomène de grande ampleur. Toutefois, en l'absence de relations dose-réponse, les risques sanitaires ne peuvent être quantifiés. A cet égard, il apparaît important de déterminer un éventuel seuil de contamination au-delà duquel se manifestent les effets connus sur la santé tels qu'exacerbation des symptômes d'asthme et d'allergie et autres atteintes du système respiratoire, ainsi que d'identifier les populations les plus sensibles. La mise en œuvre de mesures de gestion se heurte en effet au manque d'appréciation des situations de contamination les plus à risque. Il est donc nécessaire de poursuivre les recherches, en particulier pour améliorer la mesure des expositions

aux moisissures. Le travail mené dans le cadre de ce pilote s'inscrit dans ces démarches et contribue à l'amélioration des connaissances.

### Une amélioration nécessaire des connaissances épidémiologiques

Au final, ce travail a permis de mieux décrire les différentes situations de contamination, ce qui constitue un pas de plus vers la compréhension des phénomènes. Toutefois, il souligne les difficultés à objectiver et recueillir les expositions aux moisissures de l'habitat, notamment dans le cadre d'une enquête à grande échelle. En effet, les situations d'exposition s'avèrent multiples et difficiles à prédire en fonction des caractéristiques environnementales des logements. Néanmoins, la bonne corrélation retrouvée dans le cadre de ce pilote entre les niveaux de biomasse fongique dans l'air et les surfaces de moisissures visibles tend à confirmer que la présence de moisissures visibles pourrait être utilisée, en première approche, comme indicateur d'une exposition aux moisissures. Des travaux plus

poussés seraient nécessaires afin de conforter ces premiers résultats et d'établir d'éventuelles classes d'exposition.

A la vue de ces résultats, la réalisation d'une enquête épidémiologique semble se heurter encore aujourd'hui au manque de maturité des méthodes de recueil des expositions aux moisissures actuellement disponibles, en particulier pour l'établissement de relations dose-réponse qui nécessite une estimation quantitative de l'exposition. Toutefois, une estimation plus « rudimentaire » des expositions, à partir d'un questionnaire environnemental et éventuellement de prélèvements de surface simples, dans le cadre d'une enquête épidémiologique, pourrait fournir des premiers enseignements utiles en termes de gestion de la santé publique, ainsi qu'une plus grande mobilisation des pouvoirs publics et des acteurs de terrain. Le plan de sondage d'une telle enquête devrait par ailleurs privilégier l'inclusion des foyers les plus à risque, en particulier les ménages en situation de surpeuplement.

### Références

- Annesi-Maesano I, Didier A, Klossek M, Chanal I, Moreau D et Bousquet J. The score for allergic rhinitis (SFAR) : a simple and valid assessment method in population studies. *Allergy*, 2002 ; 57 : 107-14.
- Bush RK, Portnoy JM, Saxon A, Terr AI et Wood RA. The medical effects of mold exposure. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 2006 ; 117 : 326-33.
- Delmas M, Leynaert B, Com-Ruelle L, Annesi-Maesano I et Fuhrman C. Asthme : prévalence et impact sur la vie quotidienne. Analyse des données de l'enquête décennale santé 2003 de l'Insee. 2008, 89 p.
- Douwes J et Pearce N. Invited commentary: is indoor mold exposure a risk factor for asthma ? *Am. J. Epidemiol.*, 2003 ; 158 : 203-6.
- Fuhrman C et Delmas M. Bronchite chronique : prévalence et impact sur la vie quotidienne. Analyse des données de l'enquête santé Insee 2002-2003. *Rev. Mal. Respir.*, 2010 ; 27 : 160-8.
- Fung F et Hughson WG. Health effects of indoor fungal bioaerosol exposure. *Appl. Occup. Environ. Hyg.*, 2003 ; 18 : 535-44.
- Hodgson MJ et Dearborn DG. Literature on mycotoxins and human health at the time of the ACOEM report. *Int. J. Occup. Environ. Health*, 2009 ; 15 : 115-7.
- Host S, Agnès Lefranc, Camard J, Chardon B et Grémy I. Pollution de l'air intérieur : Etat de connaissances concernant les effets sanitaires et faisabilité d'une étude épidémiologique en Ile-de-France. 2005, 108 p.
- Host S, Grange D, Sommen C, Chatignoux E, Dusséaux M, Bex-Capelle V, Moularat S et Grémy I. Effets sanitaires des moisissures dans l'habitat. L'enquête Esmha, pilote d'une étude épidémiologique en Ile-de-France. 2010, 141 p.
- IAU Ile-de-France, Insee, Dreif. Les conditions de logement en Ile-de-France en 2006. 2009, 159 p.
- Inpes. Baromètre santé environnement 2007. 2008, 405 p.
- Korpi A, Jarnberg J et Pasanen A. Microbial volatile organic compounds. *Crit. Rev. Toxicol.*, 2009 ; 39 : 139-93.
- Moularat S. Procédé de détection d'une contamination fongique. France, INPI n°07 01578. 2007a.
- Moularat S. Procédé de dosage d'ergostérol et de mycotoxines. France, INPI n°07 01583. 2007b.
- Moularat S. Contamination fongique dans le parc de logements français. La qualité de l'air intérieur, lieux de vie et santé. Pollutec, Paris-Nord/Villepinte, 28 novembre 2007c.
- Robine E, Lacaze I, Moularat S, Ritoux S et Boissier M. Characterisation of exposure to airborne fungi : measurement of ergosterol. *J. Microbiol. Methods*, 2005 ; 63 : 185-92.
- Sahakian NM, Park J et Cox-Ganser JM. Dampness and mold in the indoor environment : implications for asthma. *Immunol. Allergy Clin. North Am.*, 2008 ; 28 : 485-505, vii.
- Walinder R, Ernstgard L, Johanson G, Norback D, Venge P et Wieslander G. Acute effects of a fungal volatile compound. *Environ. Health Perspect.*, 2005 ; 113 : 1775-8.