

Caractérisation et analyse de la contamination fongique de l'habitat en Picardie

Marine Deffontaine

▶ **To cite this version:**

Marine Deffontaine. Caractérisation et analyse de la contamination fongique de l'habitat en Picardie. Médecine humaine et pathologie. 2015. dumas-01284234

HAL Id: dumas-01284234

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01284234

Submitted on 7 Mar 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE DE PICARDIE JULES VERNE
FACULTE DE MEDECINE D'AMIENS

Année 2015 N° 2015 - 75

CARACTERISATION ET ANALYSE DE LA CONTAMINATION FONGIQUE DE L'HABITAT EN PICARDIE

MEMOIRE DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES DE BIOLOGIE MEDICALE
TENANT LIEU DE
THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 30 JUIN 2015
PAR MARINE DEFFONTAINE

PRESIDENTE DU JURY :	PROFESSEUR ANNE TOTET
MEMBRES DU JURY :	PROFESSEUR GILLES NEVEZ
	PROFESSEUR GILLES DUVERLIE
DIRECTRICE DE THESE :	DOCTEUR CÉLINE DAMIANI
CO-DIRECTRICE DE THESE :	DOCTEUR SOLÈNE LE GAL

REMERCIEMENTS

A Madame le Professeur Anne TOTET,

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier
(Parasitologie et mycologie)
Chef de service du laboratoire de Parasitologie et Mycologie médicales
Pôle biologie, pharmacie et santé des populations
Centre Hospitalier Universitaire d'Amiens

Merci d'avoir accepté de présider ce jury.
Je vous remercie surtout pour votre disponibilité, votre aide et votre soutien tout au long de cette expérience.
Merci encore de m'avoir sauvée lors de mon dérapage dans le choix du sujet de Master 1 et de m'avoir fait apprécier la recherche.
Soyez assurée de mon respect et de ma gratitude.

A Monsieur le Professeur Gilles NEVEZ,

Professeur des universités - Praticien Hospitalier

(Parasitologie et mycologie)

Pôle de Biologie-Pathologie

Faculté de médecine, Université de Bretagne occidentale

Centre Hospitalier Régional et Universitaire de Brest

Merci d'avoir accepté de juger ce travail et de me faire l'honneur de votre présence.

Je sais que vous entendez beaucoup parler de « FONGIPIC » et j'espère vous avoir exposé au mieux le sujet.

Veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon profond respect.

A Monsieur le Professeur Gilles DUVERLIE,

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier

(Virologie, biologie)

Chef de service du laboratoire de Virologie

Pôle biologie, pharmacie et santé des populations

Centre Hospitalier Universitaire d'Amiens

Doyen, Directeur de l'Unité de Formation et de Recherche de Pharmacie d'AMIENS

Chevalier dans l'Ordre des Palmes Académiques

Vous avez accepté de juger ce travail,

Veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon profond respect.

A Madame le Docteur Solène LE GAL,

Maitre de Conférences des Universités-Praticien Hospitalier

(Parasitologie et Mycologie)

Laboratoire de Parasitologie et Mycologie

Pôle de Biologie-Pathologie

Centre Hospitalier Régional Universitaire de Brest

Merci d'avoir accepté de m'encadrer pour ce travail.
Je te remercie pour ta disponibilité, ton aide et surtout pour ton apprentissage des clés d'identification des moisissures inhabituelles.
Merci aussi de m'avoir soutenue dans mes doutes au-delà de cette thèse.

A Madame le Docteur Céline DAMIANI,

Maître de Conférences des Universités-Praticien Hospitalier

(Parasitologie et mycologie)

Pôle biologie, pharmacie et santé des populations

Centre Hospitalier Universitaire d'Amiens

Merci d'avoir accepté de m'encadrer pour ce travail.

Je te remercie pour ta disponibilité, ton aide et ton soutien lorsque Solène a rejoint la Bretagne.

Après ton encadrement pour mon Master 1, faire ma thèse avec toi était une évidence.

Je te souhaite beaucoup de bonheur avec ta petite famille.

A Sylvie TAILLAINT (TAILLANT),

Merci de m'avoir accompagnée faire tous ces prélèvements. Merci pour ces nombreux fous rires, notre voyage à Fresnoy-le-Grand restera le meilleur souvenir de ce travail ! Merci d'avoir été rapide et efficace lors de nos visites, d'avoir été patiente même lorsque j'oubliais les « tubes », d'avoir couru après le chien qui s'était sauvé, et d'avoir toujours su trouver les mots justes pour ces occupants de logements contaminés.

Aux techniciens du service de parasitologie-mycologie,

Merci à Louis-Victor pour ses précieux conseils techniques en sérologie-BM.

Merci à Jean-Michel de s'être inquiété très souvent de l'avancée de ma thèse.

Merci à Xavier de me considérer comme la meilleure des internes.

A ma famille,

A mes parents, merci de m'avoir permis d'en arriver là, de m'avoir construite et soutenue tout au long de mes études. A Juliette, merci pour tes conseils de Christina.

A mes amis internes (et anciens internes),

Un grand merci à Axelle, Judith et Pierrette (les copines !) de m'avoir aidée à faire des choix et soutenue que ce soit professionnellement ou dans ma vie privée ; d'être passés avant moi dans cette grande étape de « la thèse » et d'avoir pu me guider. Mais surtout merci d'être là au quotidien pour les bons et les moins bons moments.

Merci à mes co-internes lors de mon semestre de Parasitologie (Nico, Jordy, et Benoît) pour votre soutien et votre travail pendant que « je n'étais jamais là ».

Merci à Morgane, au groupe des vieux, et tous les autres internes pour ces moments de travail mais surtout de détente et de rire.

A mes amis,

Merci à Fanny, Dinah, Julie et Pain au lard pour ces moments de détente que vous m'avez offert tout au long de mes études.

Merci à Daphné, seule survivante du groupe de fac, d'être toujours là à mes côtés, même si j'ai une mauvaise influence sur toi.

Merci à Thibaut, sans qui je ne serais pas en Picardie, ni en biologie. Merci pour ces révisions pour l'internat qui nous ont permis d'avoir une spécialité, merci d'avoir négocié avec ton pote qui allait me voler ma place en Picardie, merci pour ces 3 ans passés ensemble (plein de joie et surtout d'embrouilles) et merci d'avoir fait semblant de faire mes stats pendant un mois même si j'ai tout recommencé derrière.

Merci à Cynt, Xav, Got et Matt, pour ces parties de Mario endiablés.

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS 11

TABLE DES ILLUSTRATIONS 12
Figures 12
Tableaux 12

INTRODUCTION ET OBJECTIFS 13

REVUE DE LA LITTÉRATURE 14
I/ Les moisissures 14
II/ Effets des moisissures sur la santé 15
1/ Manifestations infectieuses 15
2/ Manifestations toxiques 16
3/ Manifestations irritatives 16
4/ Manifestations allergiques 17
III/ Les moisissures dans l'environnement intérieur 18
1/ Développement des moisissures 18
2/ Effets sanitaires de l'exposition aux moisissures domestiques 18
3/ Techniques d'évaluation de la contamination fongique domestique 20

MATÉRIELS ET MÉTHODES 22
I/ Choix des logements 22
II/ Recueil des données médicales 22
III/ Questionnaire environnemental 23
IV/ Enquête environnementale du logement 23
V/ Analyse mycologique 24
1/ Ensemencement des échantillons 24
2/ Caractérisation de la contamination fongique 24
2.1 Identification des moisissures 24
2.1.1. Identification morphologique 24
2.1.2. Identification par séquençage 25
2.2. Détermination de la concentration fongique totale 25
2.2.1. Dénombrement des colonies sur milieux de culture : expression des résultats en UFC/m^3 d'air 25
2.2.2. PCR quantitative : expression des résultats en copies d'ADN/m^3 d'air 26
2.2.3. Dosage du ß-1,3-D glucane dans les échantillons d'air : expression des résultats en picogrammes/m^3 d'air 27

VI/ Analyse statistique 27

RÉSULTATS 29
I/Logements inclus 29
II/ Recueil des données médicales 30
III/ Questionnaire environnemental 31
IV/ Enquête environnementale du logement 33
1/ Concentration en CO_2 34
2/ Température 35
3/ Humidité relative ambiante 36
V/ Analyse mycologique : caractérisation de la contamination fongique 37
1/ Identification des moisissures 37
1.1 Prélèvements d'air 37
1.2. Diversité des moisissures identifiées dans chaque groupe 39
1.3. Echantillons de surface 41
3/ Détermination de la concentration spécifique de chaque moisissure dans les échantillons d'air 43
4/ Détermination de la concentration fongique totale 45
4.1 Concentration fongique totale exprimée en UFC/m^3 d'air 46
4.2 Concentration fongique totale exprimée en copies d'ADN/m^3 d'air 47
4.3 Concentration fongique totale exprimée en picogrammes de glucane/m^3 d'air 48
4.4. Corrélation des trois techniques de détermination de la concentration fongique 49
4.5. Analyse des caractéristiques des logements en fonction de la concentration fongique totale 49

DISCUSSION 50

CONCLUSION 56

ANNEXES 57
Annexe 1 : Questionnaire médical auto-administré 57
Annexe 2 : Questionnaire environnemental 58

BIBLIOGRAPHIE 59

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN = Acide DésoxyriboNucléique

ARN = Acide RiboNucléique

BDG = ß-1,3-D glucane

CHU = Centre Hospitalier Universitaire

CMEI = Conseiller Médical en Environnement Intérieur

COVf = Composé Organique Volatile d'origine fongique

CPP = Comité de protection des personnes

Ct = Cycle threshold (Cycle seuil)

DG = Dichloran Glycérol

ELISA = Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

et al. = *et alii*, et les autres

i.e = *Id Est*, c'est-à-dire

Ig = Immunoglobuline

LAL = Lysat d'Amoebocyte de Limule

Log = Logarithme

m= moyenne

MAE = Malt Extract Agar

max = maximum

min = minimum

OMS = Organisation Mondiale de la Santé

OQAI = Observatoire de la Qualité de l'Air Intérieur

ORL = Oto Rhino Laryngologie

PBS = Phosphate Buffer Saline

PCR = Réaction de Polymérisation en Chaine

ppm = partie par million

qPCR = PCR quantitative

s= écart-type

sp.= species

UFC = Unité Formant Colonie

VEMS = Volume Expiratoire Maximal par Seconde

VMC = Ventilation Mécanique Contrôlée

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figures

Figure 1. Cycle de vie des moisissures.
Figure 2. Q-track ™ (TSI) à gauche et Coriolis µ ® (Bertin Technologies) à droite.
Figure 3. Répartition mensuelle de l'inclusion des logements.
Figure 4. Répartition régionale de l'inclusion des logements.
Figure 5. Box plot du score au questionnaire médical.
Figure 6. Box plot du taux de CO_2 des logements (cumul des pièces saines et humides) dans les trois groupes.
Figure 7. Box plot de la température des logements (cumul des pièces saines et humides) dans les trois groupes.
Figure 8. Box plot du taux d'humidité relative ambiante des logements (cumul des pièces saines et humides) dans les trois groupes.
Figure 9. Box plot de la diversité fongique des logements (cumul des pièces saines et humides) dans les trois groupes.
Figure 10. Box plot en log des rapports [intérieur/extérieur] de la concentration fongique totale exprimée en UFC/m^3 d'air dans les trois groupes.
Figure 11. Box plot en log des rapports [intérieur/extérieur] de la concentration fongique totale exprimée en copies d'ADN/m^3 d'air dans les trois groupes.
Figure 12. Box plot en log des rapports [intérieur/extérieur] de la concentration fongique totale exprimée en pg de ß-1,3-D glucane/m^3 d'air dans les trois groupes.

Tableaux

Tableau 1. Moisissures et leurs impacts sur la santé ; tableau extrait de l'avis relatif aux contaminations fongiques intérieures.
Tableau 2. Caractéristiques des logements.
Tableau 3. Moyennes des paramètres de confort mesurés à l'extérieur, dans les pièces saines, les pièces humides et les logements (cumul des deux types de pièce) pour chaque groupe.
Tableau 4. Fréquence d'isolement de chaque moisissure dans les échantillons d'air de l'extérieur, des pièces saines, des pièces humides et des logements (cumul des deux pièces) pour les trois groupes.
Tableau 5. Moyennes des rapports de la diversité fongique pour chaque groupe.
Tableau 6. Fréquence d'isolement de chaque moisissure dans les échantillons de surface des pièces saines, des pièces humides et des logements (cumul des deux pièces) pour les trois groupes.
Tableau 7. Moyenne de la concentration exprimée en UFC/m^3 d'air pour chaque moisissure identifiée à l'extérieur, dans les pièces saines, les pièces humides et les logements (cumul des deux pièces) pour les trois groupes.
Tableau 8. Moyenne des rapports des concentrations fongiques totales exprimées en Unité Formant Colonies par mètre cube d'air (UFC/m^3 d'air), en copies d'ADN/m^3 d'air et en picogrammes (pg) de glucane/m^3 d'air dans les trois groupes.

INTRODUCTION ET OBJECTIFS

Dans une société où la majorité de la population passe son temps à l'intérieur des locaux, la pollution de l'air intérieur est devenue un problème de santé publique. De ce fait, ces dernières années, de nombreuses enquêtes nationales sur la qualité de l'air des logements et des écoles ont été réalisées par l'Observatoire de la Qualité de l'Air Intérieur (OQAI). La qualité de l'air intérieur est reconnue comme étant un facteur de risque de mortalité aussi bien dans les pays développés que sous-développés [1]. Il existe une grande diversité de polluants intérieurs avec des niveaux d'exposition variables et les effets sur la santé sont de nature et de gravité différentes. La plupart de ceux-ci sont surtout des symptômes respiratoires, et notamment allergiques.

Les moisissures font partie des polluants des environnements intérieurs, au même titre que le tabac, les produits d'entretien ou encore le chauffage au fioul, au gaz, au kérosène, ou au charbon. Les moisissures sont des organismes eucaryotes qui se développent principalement sur les matières organiques en décomposition. Plusieurs centaines d'espèces de moisissures occupent en permanence l'environnement. Les spores de moisissures en suspension dans l'air pénètrent dans les habitations par l'extérieur. De plus, certaines espèces trouvent dans l'habitat des substrats propices à leur développement tels que le plâtre, les papiers peints, la peinture et le mobilier en bois qui contiennent des sources de carbone et d'azote [2]. Les moisissures libèrent dans l'air intérieur des spores qui peuvent être inhalées en raison de leurs petits diamètres. Elles pénètrent dans le système respiratoire et libèrent leurs allergènes et toxines. Les effets potentiels sur la santé humaine de la contamination de l'air intérieur par des moisissures ont donc retenu l'attention de la population générale. Il a été constaté un nombre croissant de plaintes pour présence des moisissures de la part des occupants de logements humides. Toutefois, peu de données françaises existent sur la contamination fongique de l'habitat [3-6] et aucune étude n'a été menée en Picardie. De surcroît, les méthodes de mesure de cette contamination sont disparates rendant complexe l'interprétation des résultats.

Objectifs

L'objectif principal de cette étude est de caractériser et d'analyser la contamination fongique des logements de Picardie et d'évaluer de manière quantitative cette exposition. L'objectif secondaire est de comparer différentes méthodes de mesure de la concentration fongique totale.

REVUE DE LA LITTÉRATURE

I/ Les moisissures

Les moisissures sont des micromycètes filamenteux ubiquitaires qui regroupent des centaines d'espèces. Ce sont des organismes eucaryotes unicellulaires ou pluricellulaires, aérobies. Dans la classification du monde vivant, les micromycètes constituent un règne à part, le règne des *Fungi*, distinct de celui des plantes ou des animaux [7]. Ils sont caractérisés par la présence d'une paroi constituée de polysaccharides tels que le ß-1,3-D glucane (BDG) et la chitine ainsi que par l'absence de chlorophylle et d'organe de mobilité. Ce sont des organismes hétérotrophes, c'est-à-dire qu'ils puisent dans l'environnement l'eau et les substances organiques et minérales nécessaires à leur développement. Leur reproduction peut être sexuée, le micromycète étant alors sous forme téléomorphe ou parfaite, ou non sexuée, le micromycète étant alors sous forme anamorphe ou imparfaite. Ils produisent un grand nombre de spores, ce qui leur confère un pouvoir de contamination important [7].

Historiquement, on distingue dans le règne des *Fungi* cinq *phyla* selon leur mode de reproduction: les *Chytridiomycotina*, non impliqués en pathologie humaine, les *Zygomycotina*, les *Ascomycotina*, les *Basidiomycotina* et les *Deuteromycotina*. Récemment, des études phylogéniques basées sur l'étude de plusieurs gènes ont permis une nouvelle classification mais les critères de classification basés sur le mode de production des spores restent utilisés dans la pratique courante [8-9].

Les moisissures qui prolifèrent dans l'environnement intérieur appartiennent essentiellement aux *phyla* des *Zygomycotina* et des *Deuteromycotina*. Ces derniers sont divisés en trois classes : les blastomycètes, les hyphomycètes et les coelomycètes.

Les blastomycètes regroupent l'ensemble des micromycètes levuriformes. Les hyphomycètes regroupent les micromycètes filamenteux à thalle septé dont les cellules conidiogènes sont libres. On distingue les hyalohyphomycètes et les phaeohyphomycètes, en fonction de la couleur du thalle. Les coelomycètes rassemblent les micromycètes filamenteux dont les cellules conidiogènes sont contenues dans des organes protecteurs appelés pycnides [10].

Le développement des micromycètes filamenteux s'effectue en trois phases : la germination, la croissance et la sporulation (Figure 1). La germination est la phase pendant laquelle la spore s'hydrate pour former un hyphe. La croissance de cet hyphe permet d'obtenir une structure ramifiée. La sporulation permet la dissémination par la formation de particules de trois à 30 micromètres appelées spores. Ces spores peuvent être enveloppées dans une paroi épaisse (chlamydospores), enfermées dans des sacs à l'extrémité de l'hyphe

(sporangiospores), produites sur les côtés ou les extrémités de l'hyphe (conidiospores) ou générées par bourgeonnement d'une cellule mère végétative (blastospores).

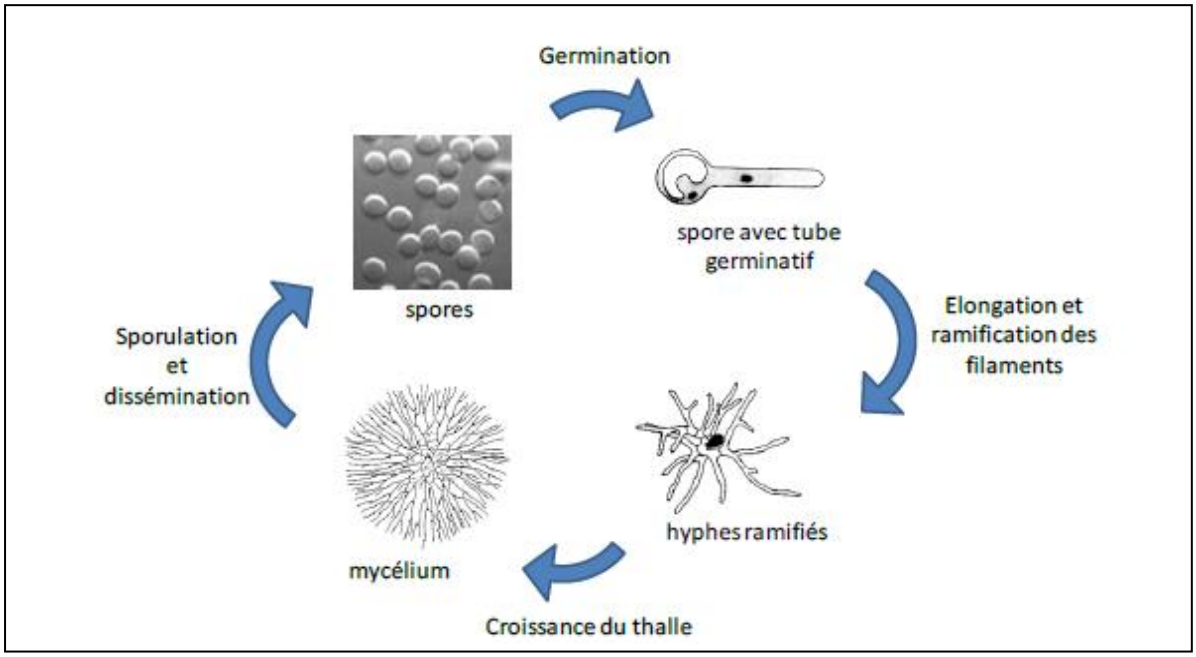


Figure 1. Cycle de vie des moisissures [11].

II/ Effets des moisissures sur la santé

Les effets des moisissures sur la santé dépendent de divers facteurs tels que l'âge, le terrain sous-jacent et le mode d'exposition. De plus, la susceptibilité aux moisissures est différente entre chaque individu et même selon l'espèce de moisissure pour un même individu. Les sujets atopiques, les personnes atteintes de mucoviscidose, les patients souffrant de maladies respiratoires telles que l'asthme et la bronchopathie chronique obstructive, les nourissons, les personnes âgées et les patients immunodéprimés sont plus susceptibles de développer des problèmes de santé liés aux moisissures. Divers composants fongiques tels que les BDG, les allergènes, les composés organiques volatiles d'origine fongique (COVf) et les mycotoxines peuvent être responsables d'effets cliniques. On distingue les manifestations infectieuses, toxiques, irritatives et allergiques.

1/ Manifestations infectieuses

Les effets infectieux résultent directement de la croissance fongique et sont responsables de mycoses superficielles à type de kératite ou de dermatomycose. Ils peuvent également être responsables d'aspergillose pulmonaire invasive, notamment chez les sujets immunodéprimés [12].

2/ Manifestations toxiques

Les effets toxiques des moisissures sont liés aux mycotoxines [13]. Ces dernières sont des métabolites secondaires des moisissures qui ont pour fonction de permettre aux moisissures de combattre d'autres micro-organismes présents sur le même substrat. Elles interfèrent avec la synthèse de l'acide ribonucléique (ARN) et causent des lésions de l'acide désoxyribonucléique (ADN). Leur biosynthèse est réalisée sous certaines conditions de température, d'intensité lumineuse, de concentration en dioxyde de carbone (CO_2) et de la présence d'éléments nutritifs [14]. Seules certaines espèces fongiques sont capables de les produire. Elles subsistent même après disparition des moisissures. Environ 400 mycotoxines sont répertoriées, une vingtaine sont potentiellement dangereuses pour la santé [15]. Dans l'environnement intérieur, les principales moisissures capables de produire des mycotoxines sont *Alternaria* sp., *Aspergillus* sp., *Chaetomium* sp., *Cladosporium* sp., *Fusarium* sp., *Penicillium* sp., *Stachybotrys* sp. et *Trichoderma* sp. [16]. Ces mycotoxines peuvent être ingérées, inhalées ou absorbées par la peau. Des effets hépatotoxiques, neurotoxiques, mutagènes, tératogènes et cancérigènes ont été mis en évidence chez l'animal [17]. Certaines mycotoxines peuvent bloquer la production de surfactant ou détruire les macrophages au niveau pulmonaire ce qui génère l'exacerbation d'un asthme ou la survenue d'infections fongiques chez les patients immunodéprimés [18]. Une exposition à plusieurs espèces de moisissures ou à de multiples mycotoxines mène à une synergie ou une potentialisation des effets de celles-ci [19].

3/ Manifestations irritatives

Les effets irritatifs des moisissures sont liés aux COVf produits lors du métabolisme fongique. Ils sont responsables de l'odeur caractéristique due à la présence de moisissures [20]. Ils sont composés de carbone, d'oxygène et d'hydrogène et se trouvent sous forme gazeuse dans l'atmosphère. Dans l'environnement intérieur, les COVf sont présents en faible quantité mais pourraient être en cause dans le « syndrome des bâtiments malsains » qui consiste en divers symptômes aspécifiques tels que des troubles ORL à type de rhinite, nez bouché et sécheresse de la gorge, des manifestations oculaires, cutanées, des somnolences et des céphalées [21].
Les effets irritatifs des moisissures sont également liés aux BDG. Les BDG sont des polymères de glucose non allergéniques et insolubles dans l'eau. Ils représentent jusqu'à 60 % des composants de la paroi fongique [22]. Ils ne sont toutefois pas spécifiques des moisissures et sont également présents dans la paroi des bactéries et des plantes [23]. Au niveau de la

paroi fongique, ils sont associés à des protéines, des lipides et des hydrates de carbone tels que la chitine et le mannane. Les BDG ont des propriétés immuno-modulatrices et peuvent affecter le système respiratoire [24]. Ils se lient à des récepteurs spécifiques de cellules phagocytaires et entraînent des changements du métabolisme de ces cellules. Diverses études rapportent une association entre BDG et symptomatologie à type d'irritation des voies respiratoires et de signes inflammatoires [25-31] ainsi que des troubles digestifs, des céphalées ou une fatigabilité [32]. Rylander *et al.* ont montré que les enfants représenteraient un groupe de sujets plus à risque lors d'une exposition prolongée aux moisissures domestiques [33]. Par ailleurs, les symptômes liés à l'exposition aux BDG seraient réversibles. En effet, les concentrations de BDG mesurées dans l'air intérieur de logements contaminés par des moisissures diminuaient de façon significative après éviction de la contamination fongique par rénovation. Parallèlement, les auteurs ont noté une augmentation du Volume Expiratoire Maximal par Seconde (VEMS) et une amélioration de la symptomatologie respiratoire chez les occupants [34].

4/ Manifestations allergiques

Les allergènes des moisissures sont contenus dans les spores et les fragments mycéliens. Ils sont essentiellement libérés lors de la germination et de la croissance du mycélium. Ces étapes du cycle fongique peuvent se produire à l'intérieur des voies respiratoires [35]. Les effets immuno-allergiques se traduisent par des réactions d'hypersensibilité de type I ou III. L'hypersensibilité de type I ou immédiate est caractérisée par la production d'immunoglobulines de type IgE [36]. Les manifestations cliniques de ce type d'hypersensibilité sont regroupées sous le terme d'atopie. Elles comprennent l'asthme, la dermatite atopique, la rhinite allergique et l'urticaire. L'hypersensibilité de type III est due à une exposition chronique aux fragments et spores mycéliens. Les manifestations cliniques de ce type d'hypersensibilité comprennent la maladie des poumons de fermiers et celle des éleveurs d'oiseaux. Les principales moisissures produisant des allergènes sont *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Alternaria* sp. et *Cladosporium* sp. [1]. Ces deux dernières sont reconnues comme étant les plus allergisantes [37-39]. De nombreuses études ont montré un lien entre l'asthme allergique et la sensibilisation aux moisissures [40-42]. En revanche, peu d'études sont contributives lorsqu'il s'agit de montrer un lien entre l'exposition aux moisissures et la rhinite allergique d'une part [30 ; 37 ; 43] et la dermatite atopique d'autre part [44-46].

III/ Les moisissures dans l'environnement intérieur

1/ Développement des moisissures

Le réservoir naturel des moisissures se situe principalement à l'extérieur, sur les matières organiques en décomposition tels que les végétaux. Lorsque les conditions le permettent, elles produisent des spores, aérosolisées par le vent et pénètrent facilement dans les environnements intérieurs par l'intermédiaire des habitants ou des systèmes d'aération. De nombreux facteurs environnementaux tels que la température, le niveau d'oxygène, la présence de lumière, de nutriments et d'humidité influencent leur croissance. Elles se développent à des températures comprises entre 0° et 60°C avec un optimal thermique entre 5° et 25°C [12 ; 47].

L'eau est une condition essentielle à leur développement. Dans les bâtiments, elle peut être sous forme liquide ou gazeuse. L'humidité d'un bâtiment peut être mesurée par l'humidité relative ambiante qui correspond au rapport entre la quantité d'eau sous forme gazeuse dans l'air sur la quantité d'eau qu'il faudrait pour saturer cet air à une température donnée [48]. Pour assurer une qualité de l'air intérieur optimale, l'humidité relative ambiante doit être comprise entre 40% et 60%. Un taux trop élevé peut provenir de causes accidentelles telles qu'une infiltration, une rupture de canalisation, ou une inondation ; d'une mauvaise conception architecturale de type ponts thermiques, défaut d'isolation des toitures et des murs et de l'activité humaine telle que la respiration, les activités de cuisine et d'étendage de linge et l'absence de ventilation [49]. Une forte proportion de la population mondiale vit dans des logements où l'humidité est un problème de santé environnementale et l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime que 20% des habitations présentent des signes d'humidité [50]. En France, l'humidité est le défaut le plus fréquent des habitations [51].

2/ Effets sanitaires de l'exposition aux moisissures domestiques

Les moisissures les plus fréquemment rencontrées dans l'environnement intérieur sont *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., *Cladosporium* sp. et *Alternaria* sp. [52]. En 2006, le sous-groupe de travail « Moisissures dans l'habitat » du groupe à caractère permanent « Batiment-santé » de la section des milieux de vie du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France a publié un avis relatif aux contaminations fongiques intérieures comprenant une liste de 16 moisissures ayant un impact potentiel sur la santé (Tableau 1) [47].

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

Tableau 1. Moisissures et leurs impacts sur la santé ; tableau extrait de l'avis relatif aux contaminations fongiques intérieures [47].

Les symptômes rapportés sont le plus souvent respiratoires mais peuvent toucher les autres systèmes. En effet, l'exposition aux moisissures dans les environnements intérieurs peut se faire par inhalation, contact cutané ou ingestion [53].

L'OMS a déterminé que les occupants de logements humides ou inondés ont 75% plus de risque de présenter des symptômes respiratoires et de l'asthme [1]. Plusieurs études ont montré qu'il existait un lien entre différents symptômes allergiques tels que l'asthme, la dyspnée, la toux, la rhinite allergique, la dermatite atopique et le fait d'habiter un logement humide [54-57]. D'autres auteurs ont quant à eux montré que l'exposition aux moisissures pendant les premières années de la vie ou la présence d'odeur de moisi représentaient un facteur de risque important d'asthme ultérieur [58-59]. D'autres évoquent un lien entre le temps d'exposition aux moisissures et l'apparition de l'asthme [60].

Cependant, le milieu intérieur contient d'autres contaminants tels que le tabac, les produits d'entretien, ou la présence d'acariens et il est difficile d'établir un lien de cause à effet entre les moisissures et les symptômes rencontrés. Ainsi, d'autres auteurs restent sceptiques sur le lien entre exposition aux moisissures dans l'environnement intérieur et effets sur la santé. En effet, de fortes doses d'exposition semblent nécessaires pour obtenir ces effets [61]. Certains auteurs ont par ailleurs montré une relation inverse. Une exposition aux endotoxines d'*Aspergillus* sp. et de *Penicillium* sp. serait un facteur protecteur de survenue d'asthme [62 ;

63] ou d'atopie [64 ; 65]. Osborne *et al.* ont suggéré qu'une exposition à *Cladosporium* sp. réduirait le risque d'atopie alors que celui-ci augmenterait lors d'une exposition à *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp. et *Alternaria* sp. [66].

3/ Techniques d'évaluation de la contamination fongique domestique

Une étape d'échantillonnage et une étape d'analyse sont nécessaires pour évaluer la contamination fongique domestique. L'échantillonnage peut être réalisé par des prélèvements d'air à l'aide de différents systèmes de collection tels que la sédimentation, l'impaction sur supports adhésifs, sur géloses ou en milieu liquide, et la filtration [47].

La collection d'air par sédimentation est une technique qui consiste à exposer un support nutritif à la chute naturelle des spores. Elle permet d'avoir une grande durée d'échantillonnage mais sélectionne les spores les plus volumineuses et n'est plus utilisée aujourd'hui.

La collection d'air par impaction sur milieu solide à type d'adhésifs ou de géloses consiste à créer une accélération de l'air dans un passage réduit puis une déviation sur le support. Selon ce principe, une quantité d'air définie est aspirée à travers un impacteur contenant une ou plusieurs boîtes de milieu gélosé. Les particules dans le courant d'air s'impactent sur la surface de la gélose en raison de leur inertie lorsque la direction de l'écoulement d'air est détournée pour contourner la surface solide. Les moisissures en suspension dans l'air sont ainsi directement recueillies sur les boîtes contenant la gélose. L'impaction sur milieu liquide repose sur le même principe. De plus, le liquide de collecte peut être dilué ou concentré et est compatible avec un grand nombre de méthodes d'analyse telles que la culture, les tests biochimiques et immunologiques, ou la biologie moléculaire.

La collection d'air par filtration est une technique qui permet de sélectionner les spores en fonction de leur taille. Les cassettes filtrantes sont reliées à des pompes aspirantes afin de les collecter. A la différence des impacteurs, la durée d'échantillonnage est plus longue mais cette technique présente l'inconvénient de surestimer la quantification des moisissures par agitation des agrégats présents dans l'air.

Cet échantillonnage peut également reposer sur des prélèvements de surface réalisés à l'aide de géloses contact, d'adhésifs ou d'écouvillons ou sur des prélèvements de poussières qui reflètent l'exposition chronique aux moisissures [47].

Dans un deuxième temps, la caractérisation des moisissures dans les échantillons d'air peut être réalisée par ensemencement sur des milieux de culture spécifiques, par biologie moléculaire, par analyse immunologique ou biochimique.

La culture permet de quantifier et d'identifier les moisissures vivantes et cultivables. Les résultats dépendent des milieux de culture utilisés, des conditions d'incubation, et du phénomène de compétition entre espèces. Cette méthode est la plus couramment utilisée mais les moisissures mortes ne sont pas prises en compte alors que leurs spores possèdent des propriétés toxiques et allergiques [47].

La recherche d'indicateurs globaux de la biomasse fongique constitue également une approche intéressante pour évaluer l'exposition aux moisissures. Des techniques chromatographiques ou ELISA permettent la détection des COVf et des mycotoxines. Ce sont des indicateurs chimiques pertinents pour la détection de contamination cachée et récente. En effet, les COVf sont émis précocement par les moisissures, ainsi leur détection est possible avant même que les moisissures soient visibles [67].

Les techniques de PCR quantitative (qPCR) panfongiques permettent de quantifier les espèces présentes. Ces techniques sont rapides, sensibles, reproductibles et permettent d'obtenir des seuils de détection très bas. Leur utilisation permet d'éliminer les difficultés et les incertitudes liées à la culture. Elles présentent l'avantage de détecter les moisissures non cultivables, permettant ainsi une estimation plus juste de leur concentration. Les techniques de qPCR spécifiques d'espèce permettent quant à elles de quantifier les espèces précisément mais ne reflètent pas la contamination fongique totale.

Par ailleurs, des méthodes de mesure des composés pariétaux des moisissures tels que les BDG existent. Le principe du dosage du BDG est basé sur sa capacité à activer la cascade de coagulation du limule, arthropode marin dont l'hémolymphe est extraite pour produire un réactif, appelé lysat d'amoebocyte de limule (LAL). Ce dosage est une méthode sensible et permet de détecter des quantités de spores très faibles [68]. Il présente de plus l'avantage de constituer un marqueur d'effets sanitaires provoqués par les moisissures puisque les données actuellement disponibles suggèrent une association entre une exposition aux BDG et une inflammation des voies respiratoires [23]. Les BDG ne sont toutefois pas spécifiques des moisissures ; ils sont aussi retrouvés dans d'autres cellules végétales, telles que le pollen ou les plantes, et quelques bactéries [23].

MATÉRIELS ET MÉTHODES

I/ Choix des logements

L’étude a reçu le soutien financier du Conseil Régional de Picardie et du Fonds Européen de Développement Régional.

Trois groupes de logements ont été inclus dans cette étude prospective. Il s’agissait de logements contaminés, de logements de patients allergiques et de logements contrôles. Les logements contaminés étaient des logements habités par des personnes ayant déclaré auprès des autorités compétentes la présence de tâches de moisissures dans leur logement, sur une surface d’au minimum 100 cm^2 dans une pièce de vie. Les logements de patients allergiques étaient des logements occupés par des patients ayant consulté un médecin allergologue en raison de manifestations allergiques de type respiratoire telles que rhinites, asthmes, pneumopathies d’hypersensibilité et pour lesquelles un lien avec l’environnement intérieur avait été suspecté. Ces logements de patients allergiques ont été identifiés par le réseau picard des neuf médecins partenaires de l’étude. Cette partie de l’étude a obtenu un avis favorable du Comité de Protection des Personnes (CPP) "Nord-Ouest II" et l'autorisation de l'Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé le 7 mai 2013. Les logements contrôles étaient des logements sans problème d’humidité manifeste et dont les occupants ne présentaient pas d’allergie respiratoire. Ils ont été identifiés par les médecins partenaires de l’étude ou étaient occupés par des volontaires sains.

II/ Recueil des données médicales

Un questionnaire médical auto-administré, présenté en annexe 1, a été complété par tous les occupants des logements inclus dans l’étude. Ce questionnaire concernait la survenue, la fréquence et la périodicité de manifestations allergiques respiratoires. Un score variant de 0 à 2 points a été attribué à chaque item en fonction des réponses apportées. Le score maximal pour l’ensemble des items du questionnaire était de 17 points et correspondait à la survenue, la fréquence et la périodicité des manifestations allergiques les plus importantes.

III/ Questionnaire environnemental

Un questionnaire environnemental, présenté en annexe 2, a été complété par les occupants des logements inclus dans l'étude. Ce questionnaire reprenait la collecte d'informations générales sur les occupants et d'informations environnementales telles que le type et la surface du logement, le nombre d'occupants, le type de chauffage, de revêtement au sol et aux murs, ainsi que la présence ou non d'une ventilation mécanique contrôlée (VMC), d'entrées d'air aux fenêtres, d'une aération quotidienne, de signes d'humidité, de présence de moisissures et d'odeur de moisi.

Les réponses des occupants ont été comparées pour les différents groupes de logement et ont été analysées en fonction de la concentration fongique totale des logements.

IV/ Enquête environnementale du logement

Dans tous les logements inclus, l'évaluation de la contamination fongique a été réalisée au cours d'une enquête environnementale effectuée par les conseillers médicaux en environnement intérieur (CMEI) de l'association ATMO Picardie. Cette évaluation comportait trois séries de mesures. La première série a été réalisée à l'extérieur, la deuxième dans une pièce saine, *i.e.* ne présentant pas de traces d'humidité ou de moisissures dans la mesure du possible, et la troisième dans une pièce humide, *i.e.* une pièce présentant des moisissures visibles, ou une pièce d'eau telle que la salle de bain ou la cuisine.

Pour chacune des trois séries, les mesures comprenaient :

- les mesures de paramètres de confort effectuées à l'aide du Q-trak™ (TSI) (Figure 2) : concentration en CO_2, température ambiante et humidité relative ambiante.
- des prélèvements d'air afin d'identifier et de quantifier les moisissures présentes dans l'environnement. Les prélèvements d'air ont été effectués par impaction en milieu liquide à l'aide du Coriolis µ® (Bertin Technologies) avec un débit de 0,3 m^3 /minute (Figure 2). Ainsi, 1,5 m^3 ont été impactés dans 15 mL de tampon PBS additionné de 0,002% de Tween 80 contenus dans un cône de prélèvement.

De plus, des prélèvements de surface ont été réalisés à l'intérieur des logements sur écouvillons humides avec milieu de transport adapté aux échantillons environnementaux. L'écouvillonnage a été réalisé soit directement sur une tache de moisissures visibles, soit à 5 cm en dessous du centre d'une fenêtre en l'absence de moisissures visibles.





Figure 2. Q-track ™ (TSI) à gauche et Coriolis µ ® (Bertin Technologies) à droite.

V/ Analyse mycologique

1/ Ensemencement des échantillons

A réception au laboratoire de parasitologie-mycologie du CHU Amiens-Picardie, les échantillons d'air ont été centrifugés dix minutes à 2500 g pour récupérer un culot d'1 mL. 100 µL du culot ont été ensemencés en étoile sur chacune des différentes géloses : deux géloses MAE (Malt Extract Agar plus chloramphenicol, Merck) et une gélose DG18 (dichloran glycerol 18%, Merck).

D'autres aliquotes du culot ont été conservées en vue d'analyses ultérieures : 200 µL pour le dosage du BDG ont été conservés à -20°C ; 200 µL pour les analyses de biologie moléculaire ont été conservés à -80°C et 300 µL ont été archivés à -80°C.

100 µL du milieu de transport des échantillons de surface ont été ensemencés sur des géloses identiques à celles utilisées pour les échantillons d'air.

Pour chaque échantillon, une gélose MAE et une gélose DG18 ont été incubées à 25°C pendant sept jours pour favoriser la pousse des flores fongiques globales. Pour sélectionner les espèces thermotolérantes, la seconde gélose MAE a été incubée à 35°C pendant sept jours.

2/ Caractérisation de la contamination fongique

2.1 Identification des moisissures

2.1.1. Identification morphologique

L'identification des moisissures a reposé sur l'analyse de leurs caractéristiques macroscopiques et microscopiques. La macroscopie a permis de déterminer l'aspect visuel

des colonies, en particulier leur couleur et leur texture. La microscopie a été réalisée par la technique du scotch-test qui consiste en l'application d'un morceau de ruban adhésif sur la colonie qui est ensuite déposé entre lame et lamelle et coloré par du bleu coton. L'identification a été faite par les clés d'identification d'ouvrages de référence en fonction du mode de formation des spores, leur type de groupement, leur couleur et leur forme [69]. Les moisissures ont ainsi été identifiées au niveau du genre et, chaque fois que possible, de l'espèce.

2.1.2. Identification par séquençage

Les moisissures non identifiables par leurs caractères morphologiques l'ont été par séquençage des domaines D1 et D2 du gène codant la sous-unité 28S du ribosome. L'ADN fongique a été extrait à partir des colonies obtenues en culture à l'aide de l'automate NucliSENS® easyMag® (BioMérieux). La réaction de PCR a été réalisée selon le protocole de Kurtzmann et Robnett dans un volume final de 50 µL comprenant les amorces NL1 (5'-GCA TAT CAA TAA GCG GAG GAA AAG-3') et NL4 (5'-GGT CCG TGT TTC AAG ACG G-3') à la concentration de 0,5 µM chacune, du $MgCl_2$ à 2,5 mM, du tampon d'activation, des nucléotides triphosphates (dNTP) à 0,25 mM, 1 unité de Taq Polymérase et 5 µL d'ADN extrait [70]. Le séquençage automatisé des produits de PCR a été réalisé à l'aide de l'automate 3500xL Dx Genetic Analyzer (Applied Biosystems). Les séquences obtenues ont été comparées à la base de données BLAST du site Pubmed [71] et à celle du « Centraalbureau voor Schimmelcultures-Fungal Biodiversity Center » (CBS-Knaw) [72].

2.2. Détermination de la concentration fongique totale

La détermination de la concentration fongique totale a été réalisée à partir des échantillons d'air, à l'aide de trois méthodes différentes.

2.2.1. Dénombrement des colonies sur milieux de culture : expression des résultats en UFC/m^3 d'air

Les géloses sur lesquelles ont été ensemencés les échantillons d'air ont été examinées une première fois au bout de deux jours puis à intervalles réguliers pendant sept jours. Le nombre maximal de colonies comptées dans les sept jours d'incubation pour chaque gélose a été noté. Le calcul de la concentration a été réalisé pour chaque moisissure identifiée sur la gélose DG18. Seules les espèces ne se développant pas sur DG18 ont été dénombrées sur MAE. La

concentration, en unités formant colonie par mètre cube (UFC/m^3) d'air, *C*I, a été calculée à l'aide de l'équation suivante: *C*I = *n*ufc x10 / *VI* où *n*ufc est le nombre total d'unités formant colonie sur les géloses et *V*I est le volume total d'air prélevé, en mètres cubes.

2.2.2. PCR quantitative : expression des résultats en copies d'ADN/m^3 d'air

Une technique de PCR en temps réel quantitative (qPCR) panfongique a été réalisée sur l'automate AbiPrism® 7500 (Applied biosystems) et consiste en une amplification d'une portion du gène codant l'ARNr 5.8 S de la grande sous-unité du ribosome, selon le protocole décrit par Cai *et al.* [73]. Une étape de prétraitement des 200 µL d'échantillon d'air préalablement conservés à – 80 °C a été utilisée par ajout de protéinase K pendant quatre heures à 56°C sous agitation [74]. L'extraction d'ADN a été réalisée sur l'automate NucliSENS® easyMag® (BioMérieux) selon le protocole du fournisseur sur un volume de 200 µL pour un volume d'élution de 50 µL. La PCR a été réalisée dans un volume final de 25 µL comprenant 5 µL d'extrait d'ADN, 0,2 µM de l'amorce sens 5.8F1 (5'-AAC TTT CAA CAA CGG ATC TCT TGG-3') et de l'amorce anti-sens 5.8R1 (5'-GCG TTC AAA GAC TCG ATG ATT CAC-3'), 0,1 µM de la sonde TaqMan® 5.8P1 (5'-CAT CGA TGA AGA ACG CAG CGA AAT GC- 3'; Applied Biosystems) et le TaqMan® Universal Master Mix (Applied Biosystems) contenant les dNTP, la Taq polymerase et l'uracyl-N-glycosylase. La présence d'éventuels inhibiteurs a été détectée par l'amplification d'un contrôle interne (Taqman® Exogenous Internal Positive Control Kit, Applied biosystems). Le programme d'amplification comprenait une étape d'activation de l'uracyl-N-glycosylase pendant 2 minutes à 50°C, une étape d'activation de la Taq polymérase pendant 10 minutes à 95°C puis 45 cycles de 15 secondes de dénaturation à 95°C suivies par 1 minute d'hybridation et d'élongation à 60°C. Tous les échantillons ont été testés en duplicat. Un contrôle négatif (eau stérile) a été inclus dans chaque série de PCR.

Afin d'établir une correspondance entre les valeurs des cycles seuils (Ct) obtenues par qPCR et la quantité de moisissures présentes dans l'échantillon, une gamme étalon a été constituée à partir d'une suspension de plasmide. Cette suspension a été obtenue par clonage après insertion du gène codant l'ARNr 5.8 S de la grande sous-unité du ribosome d'*Aspergillus fumigatus* dans le vecteur plasmidique pGEM®-T (pGEM®-T Easy VectorSystem II, Promega). Après propagation et purification du plasmide, la concentration du gène de l'ARNr 5.8 S a été déterminée en nombre de copies/µL d'ADN extrait. Des dilutions de raison 10 de cette suspension plasmidique ont été réalisées pour obtenir sept points de gamme allant de 10^7 à 10 copies/µL d'ADN extrait. La courbe de calibration établie à partir de cette gamme de

dilutions a montré une linéarité satisfaisante entre la valeur de Ct et le nombre de copies du gène de l'ARNr 5.8S/µL d'ADN extrait dans l'échantillon (r^2 =0,995).
La concentration Cf des moisissures dans chaque échantillon d'air a ensuite été exprimée en nombre de copies d'ADN/m^3 d'air selon la formule suivante : Cf = Ci x 50 x 5 / 1, 5 où Ci est le nombre de copies/µL d'ADN extrait.

2.2.3. Dosage du ß-1,3-D glucane dans les échantillons d'air : expression des résultats en picogrammes/m^3 d'air

Une autre technique de quantification a été réalisée par dosage du BDG à l'aide du coffret Glucatell® (Associates of Cape Cod, Inc., Cape Cod, MA). Afin d'extraire le BDG, un prétraitement des 200 µL d'échantillon d'air préalablement conservés à – 20 °C a été réalisé par ajout de NaOH 0.6 M (4 fois le volume de l'échantillon à tester) et incubation pendant deux heures et demie. La réaction a été stoppée par ajout de TrisHCl 1M (5 fois le volume de l'échantillon à tester) [75-76]. Afin d'obtenir des résultats représentatifs, deux dilutions ont été réalisées : 1/$10^{ème}$ et 1/$100^{ème}$. Les densités optiques de chaque échantillon ont été lues à la longueur d'onde de 405 nanomètres toutes les 30 secondes pendant 25 minutes et à 37°C par un lecteur de microplaque. Le taux de BDG de chaque échantillon a été calculé par l'élaboration d'une courbe de calibration couvrant des concentrations allant de 31,25 à 500 pg/mL. La concentration en BDG dans chaque échantillon d'air a ensuite été exprimée en pg/m^3 d'air.

VI/ Analyse statistique

L'ensemble de l'analyse statistique a été réalisé en ligne à l'aide du logiciel R [77].
Concernant les données quantitatives, les trois groupes ont d'abord été comparés ensemble à l'aide de l'analyse des variances ANOVA. S'il existait une différence significative, ils ont ensuite été comparés deux à deux, à l'aide du test de Student ou du test de Wilcoxon-Mann Whitney. Pour cela, la distribution des résultats dans chaque groupe a été analysée par le test de Shapiro-Wilk. Les données pour lesquelles la distribution était normale ont été analysées par le test paramétrique de Student. Les données pour lesquelles la distribution n'était pas normale ont été analysées par le test non-paramétrique de Wilcoxon-Mann Whitney.
Concernant les données qualitatives, les trois groupes ont d'abord été comparés ensemble à l'aide du test du Chi². S'il existait une différence significative, ils ont ensuite été comparés deux à deux à l'aide du test du Chi² ou, pour les faibles effectifs, à l'aide du test exact de Fisher.

Une corrélation entre les trois techniques de détermination de la concentration fongique totale a été étudiée par le test de Spearman.

Pour chaque test, une différence a été considérée significative pour une valeur de $p<0,05$.

Afin de s'affranchir des variations saisonnières extérieures en moisissures, les résultats des concentrations et des diversités fongiques intérieures ont été exprimés en les rapportant aux résultats extérieurs.

RÉSULTATS

I/Logements inclus

La période d'inclusion s'est étendue de mai 2013 à juillet 2014 (Figure 3) et a concerné les trois départements de la région (Figure 4). Trente-deux logements (32 occupants) ont été inclus dans le groupe logements contaminés, 15 par l'intermédiaire du Service Communal d'Hygiène et de Santé Environnementale de la ville d'Amiens, 13 par l'intermédiaire de l'Agence Régionale de Santé de Picardie, deux par l'intermédiaire de la Direction Départementale du Territoire de l'Oise, un par l'intermédiaire d'une mairie et un par l'intermédiaire de l'association Eco&Logique. Trente-deux logements (34 patients) ont été inclus dans le groupe logements de patients allergiques. Parmi eux, deux logements ont été inclus avec deux membres d'une même famille. Vingt-cinq logements (26 occupants) ont été inclus dans le groupe logements contrôles. Parmi eux, un logement a été inclus avec deux membres d'une même famille.

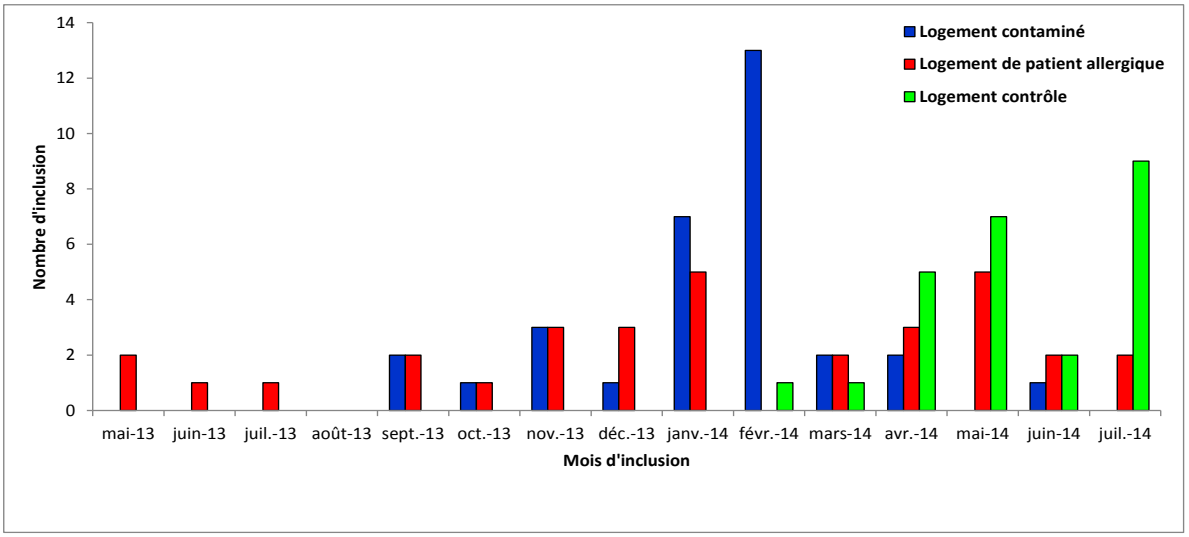


Figure 3. Répartition mensuelle de l'inclusion des logements.

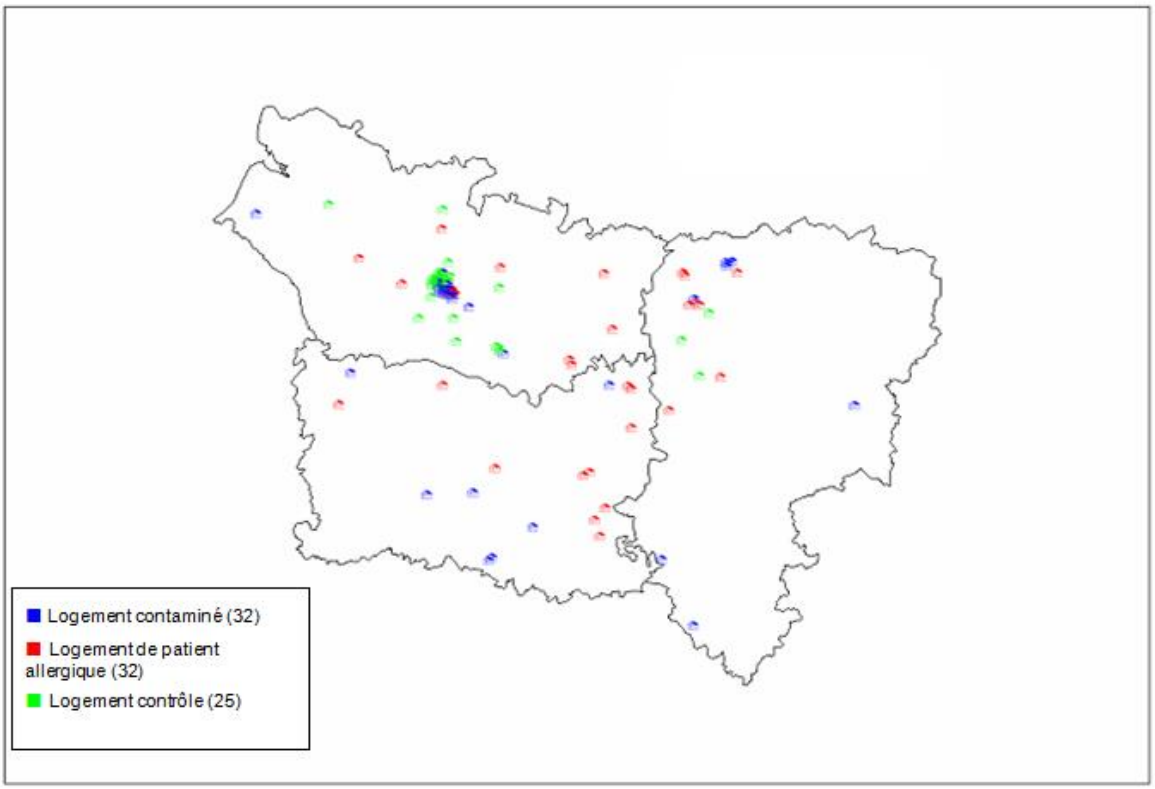


Figure 4. Répartition régionale de l'inclusion des logements.

II/ Recueil des données médicales

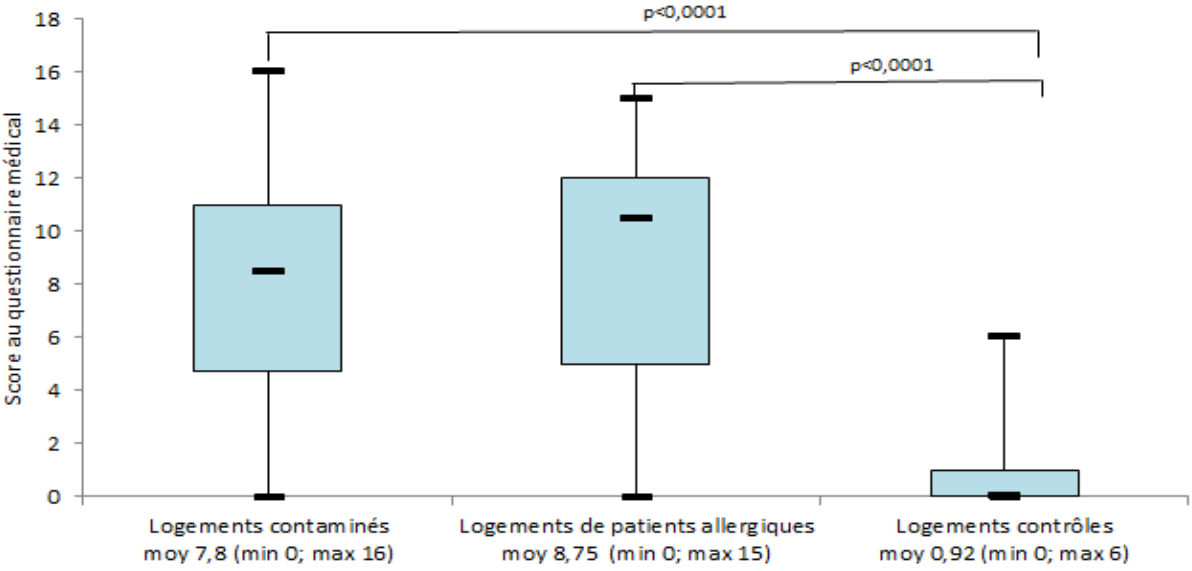


Figure 5.Box plot du score au questionnaire médical.

Les moyennes du score obtenu au questionnaire médical pour les occupants des logements contaminés, des patients allergiques et des logements contrôles étaient respectivement de 7,8 (min=0, max=16), 8,75 (min=0, max=15) et 0,92 (min=0, max=6) (Figure5).

Le score était significativement différent entre les trois groupes ($F_{2,92}$=34, p<0,0001). Le score obtenu par les occupants des logements contrôles était significativement plus bas que celui obtenu par les patients allergiques (p<0,0001) et que celui obtenu par les occupants des logements contaminés (p<0,0001). Le score obtenu par les patients allergiques ne différait pas significativement du score obtenu par les occupants des logements contaminés.

En reprenant les items séparément, ceux qui ont montré des différences significatives entre les trois groupes étaient la présence de sifflements dans la poitrine ($F_{2,82}$=16, p<0,0001), de crises d'asthme ($F_{2,82}$=8, p=0,0007), de sifflements pendant ou après un effort ($F_{2,79}$=7, p=0,002), d'une toux sèche la nuit ($F_{2,78}$=15, p<0,0001), d'éternuements, nez qui coule ou nez bouché ($F_{2,81}$=58, p=0,0007), de rhume des foins ($F_{2,80}$=3, p=0,04), avec une symptomatologie survenant plus souvent à domicile ($F_{2,80}$=23, p<0,0001). Pour l'ensemble de ces items, les occupants des logements contaminés et les patients allergiques avaient plus de symptômes que les occupants des logements contrôles. Aucune différence significative n'a été retrouvée entre les occupants des logements contaminés et les patients allergiques.

III/ Questionnaire environnemental

Le tableau 2 présente, pour chaque item du questionnaire environnemental, la synthèse des réponses apportées par les occupants des trois groupes de logements.

La comparaison des logements contaminés et des logements contrôles a permis de montrer que les logements contaminés étaient plus souvent des appartements (p=0,003), présentaient significativement plus de signes d'humidité (p<0,0001) et de tâches de moisissures (p<0,0001), qu'une odeur de moisi y était plus fréquente (p<0,0001), dans lesquels la densité d'occupation y était significativement plus élevée (p=0,004) et que les occupants étaient plus souvent locataires de leur logement (p<0,0001).

La comparaison des logements de patients allergiques et des logements contrôles a permis de montrer que les logements de patients allergiques présentaient significativement plus de signes d'humidité (p=0,01), qu'une odeur de moisi y était plus fréquente (p<0,0001) et que la densité d'occupation y était plus élevée (p=0,04).

La comparaison des logements de patients allergiques et des logements contaminés a permis de montrer que les logements contaminés étaient plus souvent des appartements (p=0,02), présentaient significativement plus de signes d'humidité (p=0,03) et de tâches de moisissures (p<0,0001), que le revêtement mural était plus souvent du papier peint (p=0,005) et que les occupants étaient plus souvent locataires de leur logement (p<0,0001).

Variables		Logements contaminés (n=32)	Logements de patients allergiques (n=32)	Logements contrôles (n=25)	Statistique comparative des trois groupes
Statut des occupants	**Propriétaire**	3	13	6	p<0,0001
	Locataire	29	21	20	
Type de logement	**Maison**	13	25	20	p=0,001
	Appartement	19	7	5	
Densité d'occupation du logement[a] (moyenne)		28,3	41,7	70,5	p=0,01
Type de chauffage	**Gaz**	20 (62.5%)	16 (50%)	10 (40%)	p=0,009
	Electricité	6 (19%)	6 (19%)	5 (20%)	
	Fioul	2 (6%)	2 (6%)	3 (12%)	
	Bois	3 (9,5%)	0 (0%)	0 (0%)	
	Mixte	1 (3%)	8 (25%)	7 (28%)	
Type de sol	**Carrelage**	7 (22%)	5 (15,5%)	0 (0%)	p=0,01
	Lino	15 (47%)	7 (22%)	2 (8%)	
	Moquette	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	
	Parquet	0 (0%)	0 (0%)	3 (12%)	
	Mixte	9 (28%)	20 (62.5%)	20 (80%)	
Revêtement mural	**Papier peint**	13 (40.5%)	7 (22%)	8 (32%)	p=0,03
	Peinture	13 (40.5%)	14 (44%)	10 (40%)	
	Mixte	6 (19%)	11 (34%)	7 (28%)	
Présence d'une VMC		13 (40.6%)	21 (65.6%)	15 (60%)	p=0,11
Aération quotidienne		31 (97%)	25 (78%)	20 (80%)	p=0,05
Entrée d'air aux fenêtres		23 (72%)	19 (59%)	17 (68%)	p=0,57
Signes d'humidité		31 (97%)	24 (75%)	10 (40%)	p<0 ,0001
Signes de moisissures		32 (100%)	21 (65.6%)	11 (44%)	p<0 ,0001
Odeur de moisi		15 (47%)	13 (41%)	0 (0%)	p=0,0002

Tableau 2. Caractéristiques des logements.

[a] Densité d'occupation = surface du logement en m²/ nombre d'occupants

VMC : ventilation mécanique contrôlée

En cumulant les caractéristiques des logements et les scores obtenus au questionnaire médical pour les trois groupes, nous avons montré que le score était plus élevé lors de la présence de moisissures visibles dans le logement (p=0,01) et de la présence d'odeur de moisi (p=0,002).

IV/ Enquête environnementale du logement

Le tableau 3 présente les moyennes des paramètres de confort mesurés à l'extérieur, dans les pièces saines, dans les pièces humides ainsi que dans le cumul des deux types de pièce pour chaque groupe de logements.

		Logements contaminés	Logements de patients allergiques	Logements contrôles
Extérieur	**Concentration en CO_2 (ppm)**	m=369 [303-418] s=20,9	m=366 [295-569] s=46,9	m=373 [335-517] s=38,2
	Température (°C)	m=10,2 [4,6-20,1] s=4,2	m=15,3 [4,6-27] s=6,6	m=18,9 [9,7-29,3] s=5,7
	Humidité relative (%)	m=58,5 [31,9-78,4] s=11,2	m=54,1 [24,5-81,1] s=12,8	m=55,5 [31,6-75,8] s=13,4
Pièces saines	**Concentration en CO_2 (ppm)**	m=1019, 9 [394-2768] s=544,1	m=800,7 [348-1584] s=317,8	m=577, 1 [382-1149] s=207
	Température (°C)	m=19,1 [11,2-27,7] s=2,3	m=21,6 [16,1-29,9] s=3,3	m=21,6 [17,7-28,4] s=3,2
	Humidité relative (%)	m=55 [34,3-81] s=11,2	m=51,3 [30,3-74,4] s=9,9	m=53 [33,2-67] s=9,3
Pièces humides	**Concentration en CO_2 (ppm)**	m=1065,7 [425-2944] s=548,6	m=830,9 [312-1816] s=344,7	m=572 [409-1030] s=137,2
	Température (°C)	m=19,4 [11,5-23,1] s=2,5	m=21,2 [16-27,6] s=2,4	m=21,3 [17,1-27,6] s=3
	Humidité relative (%)	m=54,3 [36-70] s=8,6	m=52,5 [36,2-69,2] s=7,7	m=54,7 [39,4-67,3] s=7
Logement	**Concentration en CO_2 (ppm)**	m=1043,1 [394-2944] s=542,6	m=816 [312-1816] s=329,5	m=574,6 [382-1149] s=174,6
	Température (°C)	m=19,2 [11,2-23,1] s=2,4	m=21,3 [16-29,9] s=2,9	m=21,5 [17,1-28,4] s=3,1
	Humidité relative (%)	m=54,7 [34,3-81] s=9,9	m=51,9 [30,3-74,4] s=8,8	m=53,8 [33,2-67,3] s=8,2

Tableau 3. Moyennes des paramètres de confort mesurés à l'extérieur, dans les pièces saines, les pièces humides et les logements (cumul des deux types de pièce) pour chaque groupe.

m, moyenne [min-max]; s, écart-type; ppm, partie par million

1/ Concentration en CO_2

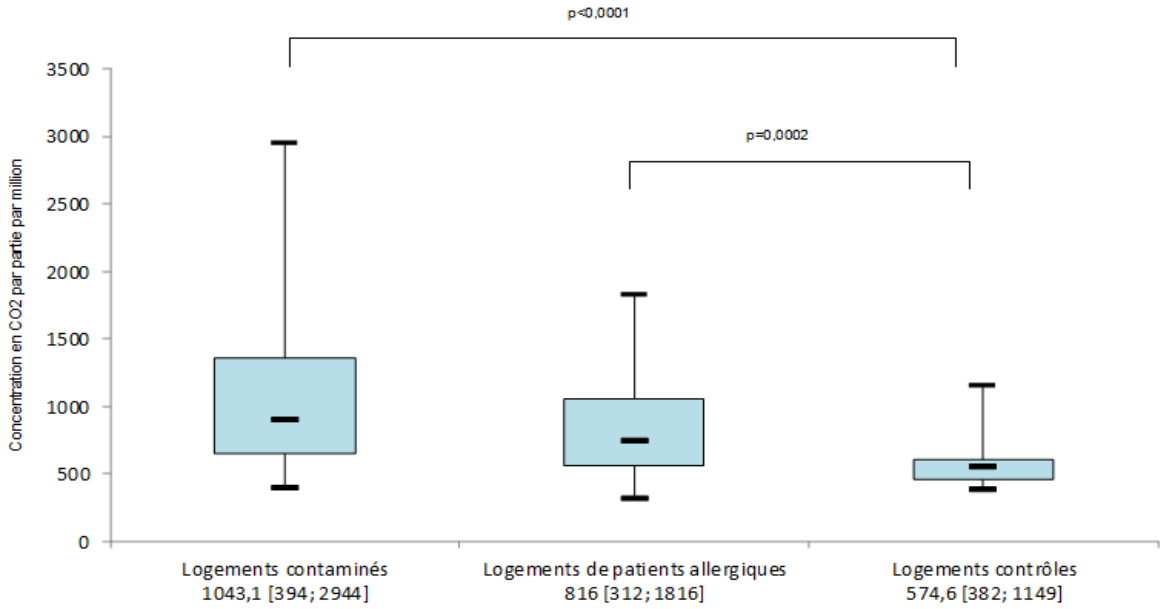


Figure 6. Box plot de la concentration en CO_2 des logements (cumul des pièces saines et humides) dans les trois groupes.

Les moyennes des concentrations en CO_2 mesurées à l'intérieur des logements contaminés, des logements de patients allergiques et des logements contrôles étaient respectivement de 1043,1, 816 et 574,6 ppm (Figure 6).

Les concentrations en CO_2 mesurées dans les pièces saines, les pièces humides et le cumul des deux pièces étaient significativement différentes entre les trois groupes de logement ($F_{2,86}$=9, p=0,0003 ; $F_{2,86}$=12, p<0,0001 et $F_{2,86}$=12, p<0,0001 respectivement).

Les concentrations en CO_2 mesurée dans les pièces saines étaient significativement plus basses dans les logements contrôles que dans les logements contaminés (p<0,0001) et que dans les logements de patients allergiques (p=0,04). Les concentrations en CO_2 mesurées dans les pièces saines des logements allergiques étaient significativement plus basses que celles des logements contaminés (p=0,03).

De la même manière, les concentrations en CO_2 mesurées dans les pièces humides étaient significativement plus basses dans les logements contrôles que dans les logements contaminés (p<0,0001) et que dans les logements de patients allergiques (p=0,02). Les concentrations en CO_2 mesurées dans les pièces humides des logements de patients allergiques étaient significativement plus basses que celles des logements contaminés (p=0,01).

Par ailleurs, les concentrations en CO_2 du cumul des pièces saines et humides étaient significativement plus basses dans les logements contrôles que dans les logements contaminés (p<0,0001) et que dans les logements de patients allergiques (p=0,0002). Aucune différence

significative n'a été mise en évidence entre les logements contaminés et les logements de patients allergiques.

2/ Température

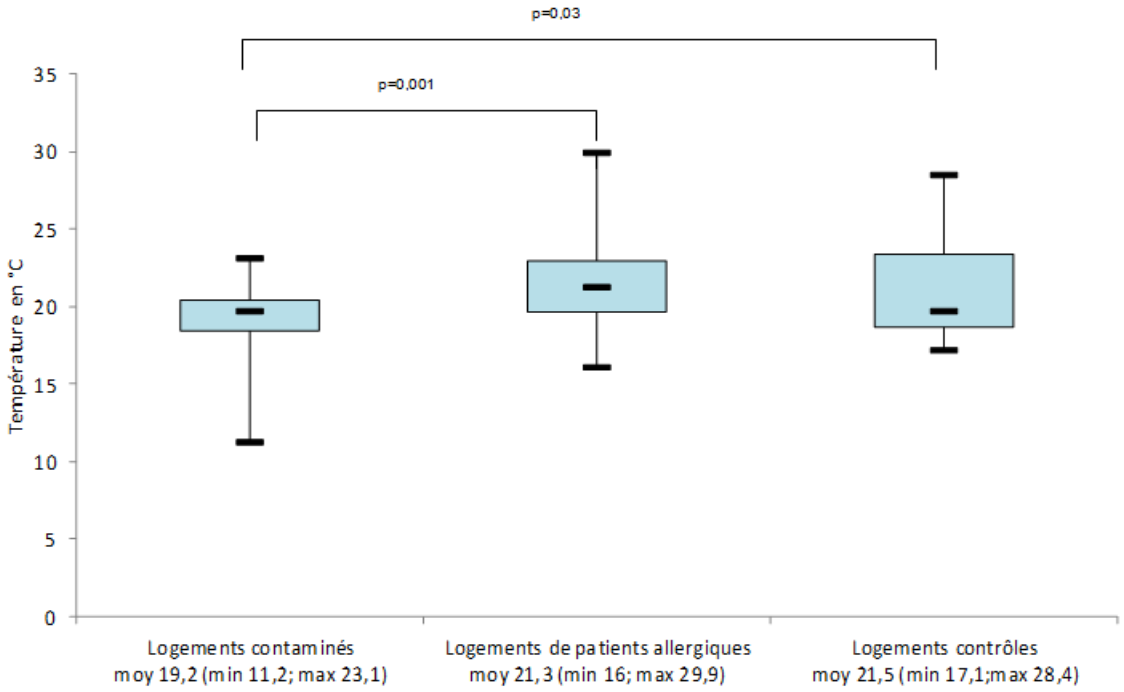


Figure 7. Box plot de la température des logements (cumul des pièces saines et humides) dans les trois groupes.

Les moyennes des températures mesurées à l'intérieur des logements contaminés, des logements de patients allergiques et des logements contrôles étaient respectivement de 19,2, 21,3 et 21,5°C (Figure 7).

Les températures mesurées dans les pièces saines, les pièces humides et le cumul des deux pièces étaient significativement différentes entre les trois groupes de logements ($F_{2,86}$ = 7 ; p=0.001 ; $F_{2,86}$ = 5 ; p=0.009 et $F_{2,86}$ = 7 ; p=0.002 respectivement).

Les températures des pièces saines des logements contaminés étaient significativement plus basses que celles des logements contrôles (p=0,002) et que celles des logements de patients allergiques (p=0,002). Les températures des pièces saines des logements contrôles n'étaient pas significativement différentes de celles des logements de patients allergiques.

Les températures des pièces humides des logements contaminés étaient significativement plus basses que celles des logements contrôles (p=0,006) et que celles des logements de patients allergiques (p=0,01). Les températures des pièces humides des logements contrôles n'étaient pas significativement différentes de celles des logements de patients allergiques.

Par ailleurs, les températures cumulées des pièces saines et humides des logements contaminés étaient significativement plus basses que celles des logements contrôles (p=0,03) et que celles des logements de patients allergiques (p=0,001). Les températures des logements contrôles n'étaient pas significativement différentes de celles des logements de patients allergiques.

3/ Humidité relative ambiante

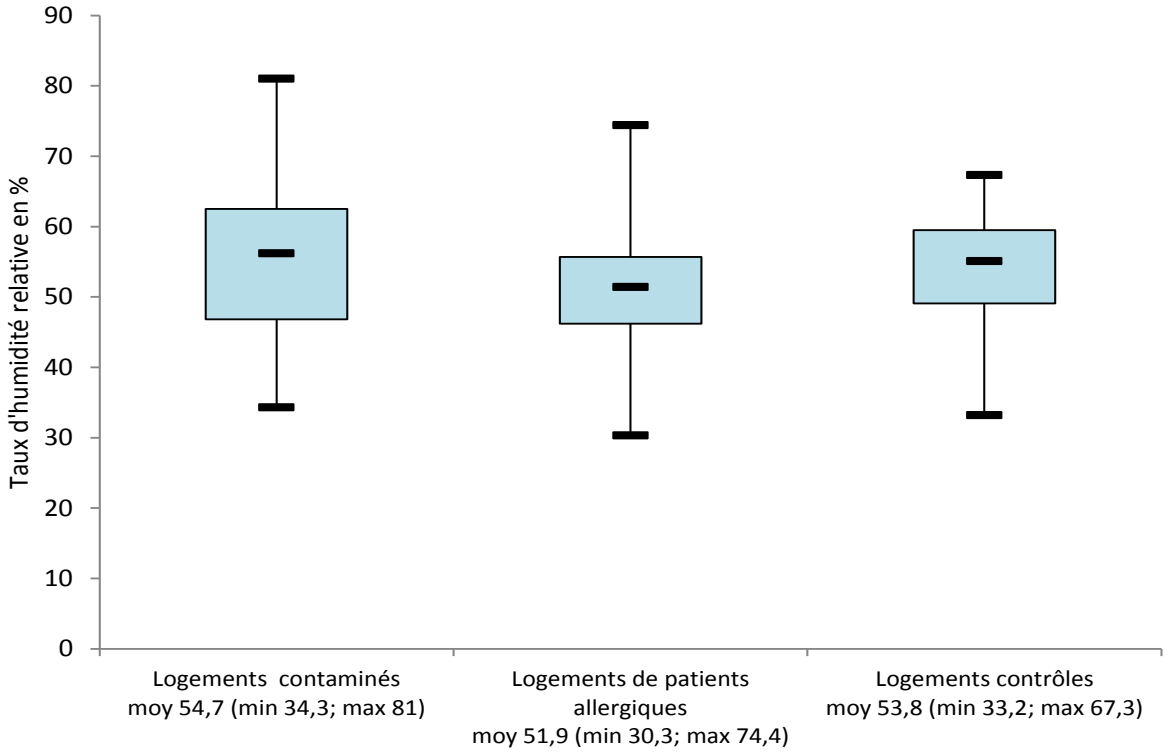


Figure 8. Box plot des taux d'humidité relative ambiante des logements (cumul des pièces saines et humides) des trois groupes.

Les moyennes des taux d'humidité relative ambiante mesurés à l'intérieur des logements contaminés, des logements de patients allergiques et des logements contrôles étaient respectivement de 54,7, 51,9 et 53,8% (Figure 8).

Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre les trois groupes que ce soit dans les pièces saines ou les pièces humides.

V/ Analyse mycologique : caractérisation de la contamination fongique

1/ Identification des moisissures

1.1 Prélèvements d'air

Treize genres ont été identifiés dans les échantillons d'air des logements contaminés : *Alternaria, Aspergillus, Botrytis, Cladosporium, Lecanicillium, Mucor, Penicillium, Phoma, Stachybotrys, Trichoderma, Ulocladium, Verticillium et Wallemia*. Les trois genres les plus fréquemment isolés étaient *Aspergillus, Cladosporium,* et *Penicillium*.
Dix-neuf genres ont été identifiés dans les échantillons d'air des logements de patients allergiques : *Absidia, Alternaria, Arthrinium, Aspergillus, Aureobasidium, Beauveria, Botrytis, Cladosporium, Epicoccum, Exophiala, Fusarium, Hormographiella, Mucor, Myriodontium, Penicillium, Phoma, Ulocladium, Verticillium et Wallemia*. Les trois genres les plus fréquemment isolés étaient identiques à ceux des logements contaminés.

Dix-sept genres ont été identifiés dans les échantillons d'air des logements contrôles : *Absidia, Alternaria, Arthrinium, Aspergillus, Beauveria, Botrytis, Cladosporium, Chrysosporium, Fusarium, Hormographiella, Lecanicicillium, Mucor, Penicillium, Phoma, Rhizomucor, Rhizopus et Wallemia*. Les trois genres les plus fréquemment isolés étaient identiques à ceux des logements contaminés et des patients allergiques.

La fréquence d'isolement des différentes moisissures dans les échantillons d'air est présentée dans le tableau 4.

Moisissure isolée	Fréquence d'isolement dans les logements contaminés				Fréquence d'isolement dans les logements de patients allergiques				Fréquence d'isolement dans les logements contrôles			
	Extérieur (%) N = 31	Pièce saine (%) N = 32	Pièce humide (%) N = 33	Logement (%) N = 32	Extérieur (%) N = 32	Pièce saine (%) N = 32	Pièce humide (%) N = 33	Logement (%) N = 32	Extérieur (%) N = 24	Pièce saine (%) N = 26	Pièce humide (%) N = 25	Logement (%) N= 25
Absidia sp.	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3%)	0 (0%)	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (4%)	1 (4%)
Acremonium sp.	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (4%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Alternaria sp.	2 (6%)	1 (3%)	2 (6%)	3 (9%)	8 (25%)	7 (22%)	5 (15%)	10 (31%)	5 (21%)	5 (19%)	4 (16%)	8 (32%)
Arthrinium sp.	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3%)	1 (3%)	1 (4%)	1 (4%)	0 (0%)	1 (4%)
Aspergillus flavus	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1(3%)	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Aspergillus fumigatus	16 (51%)	9 (28%)	13 (39%)	17 (53%)	11 (34%)	13 (41%)	12 (36%)	21 (65,6%)	12 (50%)	12 (46%)	13 (52%)	15 (60%)
Aspergillus glaucus	4 (13%)	10 (31%)	9 (27%)	14 (44%)	10 (31%)	7 (22%)	8 (24%)	11 (34%)	3 (12%)	3 (11%)	4 (16%)	5 (20%)
Aspergillus nidulans	0 (0%)	0 (0%)	1(3%)	1 (3%)	2 (6%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (4%)	4 (15%)	4 (16%)	6 (24%)
Aspergillus niger	1 (3%)	3 (9%)	2 (6%)	4 (13%)	3 (9%)	0 (0%)	3 (9%)	3 (9%)	2 (8%)	4 (15%)	2 (8%)	5 (20%)
Aspergillus ochraceus	0 (0%)	1 (3%)	1 (3%)	1 (3%)	0 (0%)	2 (6%)	3 (9%)	4 (12%)	0 (0%)	1 (4%)	4 (16%)	4 (16%)
Aspergillus terreus	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3%)	0 (0%)	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Aspergillus sp.	0 (0%)	2 (6%)	7 (21%)	9 (28%)	4 (12%)	5 (16%)	7 (21%)	10 (31%)	1 (4%)	1 (4%)	3 (12%)	3 (12%)
Aspergillus ustus	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3%)	0 (0%)	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Aspergillus versicolor	4 (13%)	16 (50%)	19 (57%)	21 (66%)	7 (22%)	17 (53%)	24 (73%)	25 (78%)	6 (25%)	10 (38%)	7 (28%)	11 (44%)
Aureobasidium sp.	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3%)	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Beauveria sp.	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3%)	0 (0%)	1 (3%)	1 (3%)	4 (17%)	3 (11%)	3 (12%)	4 (16%)
Botrytis sp.	2 (6%)	2 (6%)	1 (3%)	2 (6%)	7 (22%)	6 (19%)	3 (9%)	8 (25%)	13 (54%)	13 (50%)	7 (28%)	15 (60%)
Cladosporium sp.	14 (45%)	22 (69%)	26 (79%)	27 (84%)	24 (75%)	26 (81%)	27 (82%)	29 (91%)	22 (92%)	22 (85%)	22 (88%)	23 (92%)
Chrysosporium sp.	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (4%)	1 (4%)
Epicoccum sp.	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (9%)	1 (3%)	1 (3%)	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Exophiala dermatitidis	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3%)	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Fusarium sp.	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1(3%)	0 (0%)	1 (3%)	2 (8%)	1 (4%)	0 (0%)	1 (4%)
Hormographiella sp.	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	7 (22%)	4 (12%)	2 (6%)	5 (16%)	5 (21%)	2 (8%)	0 (0%)	2 (8%)
Lecanicillium sp.	1 (3%)	0 (0%)	2 (6%)	2 (6%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (4%)	1 (4%)
Mucor sp.	0 (0%)	2 (6%)	2 (6%)	2 (6%)	0 (0%)	2 (6%)	2 (6%)	4 (12%)	1 (4%)	1 (4%)	1 (4%)	1 (4%)
Myriodontium sp.	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1(3%)	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Penicillium sp.	14 (45%)	27 (84%)	27 (82%)	31 (97%)	26 (81%)	27 (84%)	31 (94%)	30 (94%)	19 (42%)	23 (88%)	22 (88%)	23 (92%)
Phoma sp.	0 (0%)	0 (0%)	1 (3%)	1 (3%)	2 (6%)	1(3%)	1(3%)	2 (6%)	1 (4%)	1 (4%)	0 (0%)	1 (4%)
Rhizomucor sp.	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (4%)	0 (0%)	1 (4%)	1 (4%)
Rhizopus sp.	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (4%)	1 (4%)
Scopulariopsis sp.	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Stachybotrys sp.	0 (0%)	1(3%)	0 (0%)	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Trichoderma sp.	0 (0%)	0 (0%)	2 (6%)	2 (6%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (4%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Ulocladium sp.	0 (0%)	0 (0%)	3 (9%)	3 (9%)	0 (0%)	0 (0%)	1(3%)	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Verticillium sp.	0 (0%)	0 (0%)	1 (3%)	1 (3%)	1 (3%)	1(3%)	1(3%)	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Wallemia sebi	5 (16%)	1(3%)	3 (9%)	4 (13%)	6 (19%)	3 (9%)	5 (15%)	5 (16%)	1 (4%)	2 (8%)	0 (0%)	2 (8%)

Tableau 4. Fréquence d'isolement de chaque moisissure dans les échantillons d'air de l'extérieur, des pièces saines, des pièces humides et des logements (cumul des deux pièces) pour les trois groupes.

N : nombre total d'échantillons

La fréquence d'isolement de chaque moisissure a été comparée dans les trois groupes de logements. Une différence significative entre les logements contaminés et les logements contrôles a été mise en évidence pour :

-*Alternaria* sp., qui a été plus fréquemment isolé dans les pièces saines des logements contrôles que dans celles des logements contaminés (p=0,008) ;

- *Aspergillus nidulans*, qui a été plus fréquemment isolé dans les logements contrôles que dans les logements contaminés (p=0,03) et en particulier dans les pièces saines de ces deux groupes de logements (p=0,03) ;

-*Aspergillus versicolor*, qui a été plus fréquemment isolé dans les pièces humides des logements contaminés que dans celles des logements contrôles (p=0,02).

Une différence significative entre les logements de patients allergiques et les logements contrôles a été mise en évidence pour :

-*Aspergillus nidulans* qui a été plus fréquemment isolé dans les logements contrôles que dans les logements de patients allergiques (p=0,004), ainsi que dans les pièces saines (p=0,03) et les pièces humides (p=0,03) de ces deux groupes de logements ;

-*Aspergillus niger* qui a été plus fréquemment isolé dans les pièces saines des logements contrôles que dans celles des logements de patients allergiques (p=0,03) ;

- *Aspergillus versicolor* qui a été plus fréquemment isolé dans les logements de patients allergiques que dans les logements contrôles (p=0,008).

1.2. Diversité des moisissures identifiées dans chaque groupe

Le tableau 5 présente les moyennes des rapports de la diversité fongique mesurée dans les pièces saines, les pièces humides ainsi que dans le cumul des deux types de pièce pour chaque groupe de logements.

Diversité fongique (nombre de moisissures identifiées)	Logements contaminés	Logements de patients allergiques	Logements contrôles
Pièce saine/Extérieur	m=1,68 [0-6], s=1,32	m=1,24 [0-5], s=1,31	m=1,10 [0,25-3], s=1,28
Pièce humide/Extérieur	m=2,18 [0-5], s=1,32	m=1,38 [0-7], s=1,31	m=1,02 [0-2], s=1,28
Logement/Extérieur	m=1,96 [0-5], s=1,19	m=1,40 [0-6], s=1,18	m=1,02 [0,25-2], s=1,22

Tableau 5. Moyennes des rapports de la diversité fongique pour chaque groupe.

m, moyenne [min-max]; s, écart-type

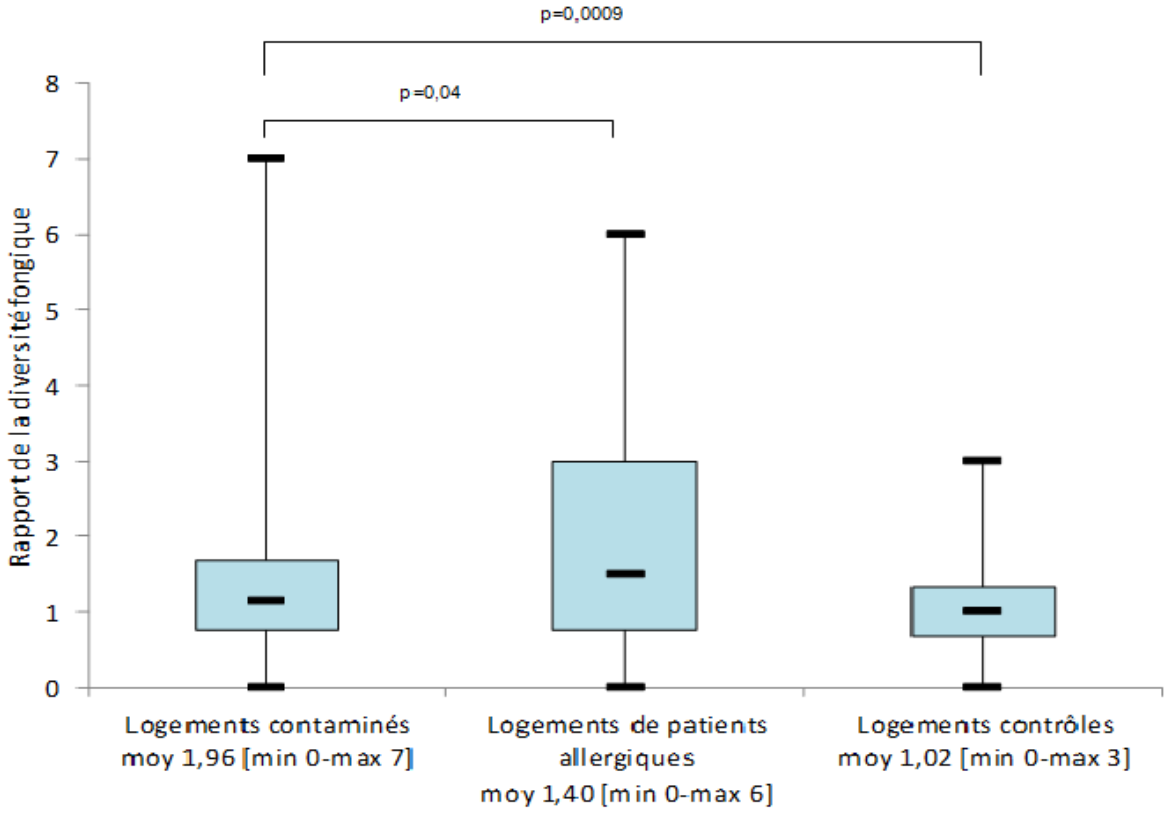


Figure 9. Box plot des rapports de la diversité fongique des logements (cumul des pièces saines et humides) dans les trois groupes.

En raison de la variation saisonnière extérieure en moisissures, pour chacun des trois groupes, le nombre d'espèces fongiques identifiées dans chaque pièce a été comptabilisé et rapporté au nombre de genres fongiques identifiés à l'extérieur. Ce rapport a ensuite été comparé pour les différents groupes de logements.

Les moyennes des diversités fongiques étaient de 1,96 dans les logements contaminés, 1,40 dans les logements de patients allergiques et 1,02 dans les logements contrôles (Figure 9).

La diversité fongique mesurée dans les pièces saines, les pièces humides et le cumul des deux pièces étaient significativement différentes entre les trois groupes de logement ($F_{2,85}$=6,8, p=0,002 ; $F_{2,84}$=7, p=0,002 et $F_{2,84}$=6, p=0,003 respectivement).

La diversité fongique des pièces saines était significativement plus élevée dans les logements contaminés que dans les logements contrôles (p=0,0006) et que dans les logements de patients allergiques (p=0,01). En revanche, la diversité fongique des pièces saines n'était pas significativement différente entre les logements contrôles et les logements de patients allergiques.

De la même manière, la diversité fongique des pièces humides était significativement plus élevée dans les logements contaminés que dans les logements contrôles (p=0,0005) et que dans les logements de patients allergiques (p=0,01). En revanche, la diversité fongique des

pièces humides n'était pas significativement différente entre les logements contrôles et les logements de patients allergiques.

Au total, la diversité fongique du logement, correspondant au cumul des deux pièces, était significativement plus élevée dans les logements contaminés que dans les logements contrôles (p=0,0009) et que dans les logements de patients allergiques (p=0,04). En revanche, la diversité fongique des logements n'était pas significativement différente entre les logements contrôles et les logements de patients allergiques.

1.3. Echantillons de surface

La fréquence d'isolement des différentes moisissures dans les échantillons de surface est présentée dans le tableau 6.

Des genres fongiques non détectés dans les échantillons d'air l'ont été dans les échantillons de surface. Il s'agissait d'*Absidia* et de *Fusarium* dans les logements contaminés, de *Chaetomium, Cunninghamella, Lecythophora, Scopulariopsis,* S*tachybotrys* et *Trichoderma* dans les logements de patients allergiques et d'*Aureobasidium,* S*tachybotrys* et *Trichoderma* dans les logements contrôles.

La fréquence d'isolement de chaque moisissure a été comparée dans les trois groupes de logements. Une différence significative a été mise en évidence pour :

-*Alternaria* sp., qui a été plus fréquemment isolé dans les logements contaminés et les logements de patients allergiques que dans les logements contrôles (p=0,009 et p=0,03 respectivement)

-*Aspergillus versicolor,* qui a été plus fréquemment isolé dans les logements contaminés et les logements de patients allergiques que dans les logements contrôles (p<0,0001 et p=0,002 respectivement)

-*Cladosporium* sp., qui a été plus fréquemment isolé dans les logements contaminés et de patients allergiques que dans les logements contrôles (p<0,0001 et p<0,0001 respectivement)

-*Penicillium* sp., qui a été plus fréquemment isolé dans les logements contaminés et les logements de patients allergiques que dans les logements contrôles (p<0,0001 et p<0,0001 respectivement).

Moisissure isolée	Fréquence d'isolement dans les logements contaminés N=64	Fréquence d'isolement dans les logements de patients allergiques N=65	Fréquence d'isolement dans les logements contrôles N=45
Absidia sp.	1 (1,6%)	0 (0%)	0 (0%)
Acremonium sp.	0 (0%)	4 (6,2%)	0 (0%)
Alternaria sp.	9 (14,1%)	6 (9,2%)	0 (0%)
Aspergillus fumigatus	7 (11%)	6 (9,2%)	2 (4,4%)
Aspergillus glaucus	6 (9,4%)	3 (4,6%)	2 (4,4%)
Aspergillus nidulans	0 (0%)	0 (0%)	1 (2,2%)
Aspergillus niger	2 (3,1%)	2 (3,1%)	1 (2,2%)
Aspergillus ochraceus	0 (0%)	1 (1,5%)	0 (0%)
Aspergillus sp.	3 (4,7%)	5 (7,7%)	0 (0%)
Aspergillus versicolor	25 (39,1%)	21 (32,3%)	3 (6,7%)
Aureobasidium sp.	0 (0%)	3 (4,6%)	1 (2,2%)
Beauveria sp.	0 (0%)	0 (0%)	1 (2,2%)
Botrytis sp.	0 (0%)	0 (0%)	1 (2,2%)
Cladosporium sp.	49 (76,6%)	45 (69,2%)	11 (24,4%)
Chaetomium sp.	0 (0%)	4 (6,2%)	0 (0%)
Cuninghamella sp.	0 (0%)	1 (1,5%)	0 (0%)
Epicoccum sp.	0 (0%)	1 (1,5%)	0 (0%)
Exophiala dermatitidis	0 (0%)	1 (1,5%)	0 (0%)
Fusarium sp.	1 (1,6%)	5 (7,7%)	7 (15,6%)
Lecanicillium sp.	1 (1,6%)	0 (0%)	0 (0%)
Lecythophora sp.	0 (0%)	1 (1,5%)	0 (0%)
Mucor sp.	1 (1,6%)	2 (3,1%)	4 (8,9%)
Penicillium sp.	43 (67,2%)	44 (67,7%)	9 (20%)
Scopulariopsis sp.	1 (1,6%)	1 (1,5%)	0 (0%)
Stachybotrys sp.	0 (0%)	2 (3,1%)	1 (2,2%)
Trichoderma sp.	0 (0%)	1 (1,5%)	1 (2,2%)
Ulocladium sp.	8 (12,5%)	5 (7,7%)	0 (0%)
Wallemia sebi	0 (0%)	1 (1,5%)	0 (0%)

Tableau 6. Fréquence d'isolement de chaque moisissure dans les échantillons de surface des pièces saines, des pièces humides et des logements (cumul des deux pièces) pour les trois groupes.

N : nombre total d'échantillons

2/ Techniques d'identification

La majorité des moisissures ont été identifiées sur des critères morphologiques. En cas d'échec, nous avons procédé à une identification par séquençage qui nous a permis de mettre en évidence les genres suivants : *Epicoccum, Lecanicillium, Myriodontium, Hormographiella, Wallemia* et *Alternaria*.

3/ Détermination de la concentration spécifique de chaque moisissure dans les échantillons d'air

Pour chaque moisissure identifiée, nous avons calculé la moyenne de sa concentration exprimée en UFC/m^3 d'air dans les trois groupes de logements (Tableau 7).

La concentration des différentes moisissures dans les échantillons d'air dans les pièces saines, les pièces humides et le cumul des deux pièces a ensuite été comparée pour les trois groupes.

Une différence significative entre les logements contaminés et les logements contrôles a été mise en évidence pour différentes moisissures :

- la concentration *d'Aspergillus nidulans* était plus importante dans les logements contrôles que dans les logements contaminés ($p<0,0001$)
- la concentration d'*Aspergillus versicolor* était plus importante dans les logements contaminés que dans les logements contrôles ($p=0,001$)
- la concentration de *Beauveria* sp. était plus importante dans les logements contrôles que dans les logements contaminés ($p=0,0004$).

Une différence significative entre les logements de patients allergiques et les logements contrôles a été mise en évidence pour différentes moisissures :

- la concentration d'*Aspergillus nidulans* était plus importante dans les logements contrôles que dans les logements de patients allergiques ($p=0,001$)
- la concentration d'*Aspergillus versicolor* était plus importante dans les logements de patients allergiques que dans les logements contrôles ($p=0,0004$)
- la concentration de *Beauveria* sp. était plus importante dans les logements contrôles que dans les logements de patients allergiques ($p=0,02$).

Aucune différence significative entre les logements contaminés et les logements de patients allergiques n'a été mise en évidence.

Titre et légende du tableau de la page suivante :

Tableau 7. Moyenne de la concentration exprimée en UFC/m^3 d'air pour chaque moisissure identifiée à l'extérieur, dans les pièces saines, les pièces humides et les logements (cumul des deux pièces) pour les trois groupes.

m= moyenne [minimum-maximum], s= écart-type

Moisissure isolée	Moyennes des concentrations en UFC/m³ d'air dans les logements contaminés				Moyennes des concentrations en UFC/m³ d'air dans les logements de patients allergiques				Moyennes des concentrations en UFC/m³ d'air dans les logements contrôles			
	Extérieur	Pièces saines	Pièces humides	Logements	Extérieur	Pièces saines	Pièces humides	Logements	Extérieur	Pièces saines	Pièces humides	Logements
***Absidia* sp.**	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0,2 [0-7] s=1,2	m=0 [0-0] s=0	m=0,1 [0-7] s=0,9	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0,3 [0-7] s=1,4	m=0,1 [0-7] s=0,9
***Acremonium* sp.**	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0,2 [0-7] s=1,2	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0,3 [0-7] s=1,4	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0
***Alternaria* sp.**	m=0,26 [0-7] s=1,26	m=0,2 [0-7] s=1,2	m=0,8 [0-20] s=3,6	m=0,5 [0-20] s=2,7	m=9,7 [0-100] s=24,6	m=3,1 [0-53] s=9,7	m=1,2 [0-13] s=3,1	m=2,2 [0-53] s=7,1	m=12,7 [0-100] s=28,9	m=8,5 [0-120] s=25,6	m=8,6 [0-107] s=26	m=8,5 [0-120] s=25,6
***Arthrinium* sp.**	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0,21 [0-13] s=1,21	m=0,1 [0-7] s=0,9	m=0,3 [0-7] s=1,4	m=0,3 [0-7] s=1,4	m=0 [0-0] s=0	m=0,1 [0-7] s=0,9
Aspergillus flavus	m=0,22 [0-7] s=1,26	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0,2 [0-7] s=1,2	m=0,1 [0-7] s=0,9	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0
Aspergillus fumigatus	m=20,2 [0-233] s=53	m=6,1 [0-73] s=15,3	m=18 [0-267] s=56,6	m=12,1 [0-80] s=48,9	m=4,6 [0-53] s=10	m=3,2 [0-13] s=4,2	m=4,3 [0-33] s=7,4	m=3,7 [0-33] s=6	m=7,3 [0-73] s=15	m=13,9 [0-107] s=29,9	m=21,1[0-140] s=39,3	m=17,4 [0-140] s=34,6
Aspergillus glaucus	m=0,9 [0-7] s=2,38	m=11,6 [0-113] s=28,3	m=10,2 [0-147] s=28,2	m=10,9 [0-147] s=28,8	m=4,2 [0-27] s=7,3	m=2.9 [0-27] s=7	m=3,2 [0-20] s=6,2	m=3,1 [0-27] s=6,6	m=1,9 [0-20] s=5,3	m=1,5 [0-20] s=4,7	m=1,4 [0-13] s=3,3	m=1,4 [0-20] s=4,1
Aspergillus nidulans	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0,2 [0-7] s=1,2	m=0,1 [0-7] s=0,9	m=0,6 [0-13] s=2,5	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0,3 [0-7] s=1,4	m=1,3 [0-13] s=3,3	m=2,4 [0-13] s=8,2	m=1,9 [0-40] s=6,1
Aspergillus niger	m=0,2 [0-7] s=1,3	m=0,7 [0-7] s=2,1	m=0,4 [0-7] s=1,7	m=0,5 [0-7] s=1,9	m=0,6 [0-7] s=2,1	m=0 [0-0] s=0	m=0,8 [0-13] s=2,8	m=0,4 [0-13] s=2	m=2,8 [0-47] s=10,3	m=1,3 [0-13] s=3,3	m=0,6 [0-7] s=1,9	m=0,9 [0-20] s=2,7
Aspergillus ochraceus	m=0 [0-0] s=0	m=0,8 [0-27] s=4,8	m=8,1 [0-267] s=46,5	m=4,5 [0-267] s=33,2	m=0 [0-0] s=0	m=0,6 [0-13] s=2,6	m=0,8 [0-13] s=2,8	m=0,7 [0-13] s=2,6	m=0 [0-0] s=0	m=0,3 [0-7] s=1,4	m=1,6 [0-13] s=4,5	m=0,9 [0-20] s=3,3
Aspergillus terreus	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0,2 [0-7] s=1,2	m=0 [0-0] s=0	m=0,1 [0-7] s=0,9	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0
Aspergillus ustus	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0,2 [0-7] s=1,2	m=0 [0-0] s=0	m=0,1 [0-7] s=0,9	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0
Aspergillus versicolor	m=15,3 [0-233] s=63,2	m=151,8 [0-2667] s=474,5	m=350,1 [0-2667] s=770,9	m=252,5 [0-2667] s=645,1	m=3,7 [0-53] s=10,1	m=39.8 [0-333] s=76.7	m=49,3 [0-300] s=78,5	m=44,6 [0-333] s=77,2	m=3,1 [0-20] s=6,2	m=14,9 [0-267] s=51,9	m=18,1 [0-353] s=70,4	m=16,5 [0-353] s=61,1
***Aureobasidium* sp.**	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0,2 [0-7] s=1,2	m=0,1 [0-7] s=0,9	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0
***Beauveria* sp.**	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0,6 [0-20] s=3,5	m=0 [0-0] s=0	m=1 [0-33] s=5,7	m=0,5 [0-33] s=4,1	m=1,7 [0-20] s=4,5	m=1,5 [0-20] s=4,7	m=5,1 [0-107] s=21,4	m=3,3 [0-107] s=15,3
***Botrytis* sp.**	m=0,45 [0-7] s=1,75	m=0,2 [0-7] s=1,2	m=0,2 [0-7] s=1,2	m=0,2 [0-7] s=1,2	m=3,7 [0-33] s=8	m=1,5 [0-13] s=3,3	m=0,8 [0-13] s=2,7	m=1,1 [0-13] s=3	m=9,7 [0-47] s=12,9	m=4 [0-20] s=4,8	m=3,2 [0-20] s=6,1	m=3,6 [0-20] s=5,4
***Chaetomium* sp.**	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0
***Cladosporium* sp.**	m=32,6 [0-333] s=83,1	m=44,7 [0-267] s=78,1	m=229,3[0-1333] s=352,2	m=138,4 [0-1333] s=271,3	m=287,7 [0-1333] s=404,5	m=254 [0-1333] s=360,4	m=284,5 [0-1333] s=429,6	m=269,5 [0-1333] s=394,2	m=389,4 [0-1333] s=480,4	m=146,8 [0-800] s=196,1	m=156,8 [0-667] s=194,6	m=151,7 [0-800] s=193,5
***Chrysosporium* sp.**	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0,3 [0-7] s=1,4	m=0,1 [0-7] s=0,9
***Epicoccum* sp.**	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=2,2 [0-33] s=7,6	m=5,6 [0-180] s=31,8	m=3,6 [0-120] s=20,9	m=4,6 [0-180] s=26,6	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0
Exophiala dermatitidis	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0,1 [0-7] s=0,9	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0
***Fusarium* sp.**	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0,2 [0-7] s=1,2	m=0 [0-0] s=0	m=0,1 [0-7] s=0,9	m=0,8 [0-67,3] s=2,9	m=0,3 [0-7] s=1,4	m=0 [0-0] s=0	m=0,14 [0-7] s=0,98
***Hormographiella* sp.**	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=2,3 [0-27] s=5,6	m=1,1 [0-13] s=3	m=0,6 [0-7] s=2,5	m=0,8 [0-13] s=2,8	m=1,7 [0-13] s=3,6	m=0,5 [0-7] s=1,9	m=0 [0-0] s=0	m=0,3 [0-7] s=1,4
***Lecanicillium* sp.**	m=0,22 [0-7] s=1,26	m=0 [0-0] s=0	m=0,4 [0-7] s=1,7	m=0,2 [0-7] s=1,2	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0,3 [0-7] s=1,4	m=0,1 [0-7] s=0,9
***Mucor* sp.**	m=0 [0-0] s=0	m=2,3 [0-67] s=11,8	m=1,6 [0-47] s=8,2	m=1,9 [0-67] s=10,1	m=0 [0-0] s=0	m=0,6 [0-13] s=2,6	m=0,4 [0-7] s=1,7	m=0,5 [0-13] s=2,1	m=1,6 [0-40] s=8,1	m=0,3 [0-7] s=1,4	m=0,3 [0-7] s=1,4	m=0,3 [0-7] s=1,4
***Myriodontium* sp.**	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0,2 [0-7] s=1,2	m=0,1 [0-13] s=1	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0
***Penicillium* sp.**	m=11,3 [0-73] s=15,3	m=175,6 [0-2667] s=479,2	m=151,7 [0-800] s=241,6	m=163,5 [0-2667] s=374,9	m=20,2 [0-133] s=27	m=57,3 [0-333] s=90,7	m=180,2 [0-2667] s=502,9	m=119 [312-2667] s=366,4	m=46,2 [0-800] s=161,2	m=188,3 [0-2000] s=419,8	m=231,6 [0-2000] s=541,5	m=209,5 [0-2000] s=478,9
***Phoma* sp.**	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=2,3 [0-73] s=12,7	m=1,1 [0-73] s=9	m=0,7 [0-20] s=3,6	m=0,2 [0-7] s=1,2	m=0,2 [0-7] s=1,2	m=0,2 [0-7] s=1,2	m=0,3 [0-7] s=1,4	m=0,3 [0-7] s=1,4	m=0 [0-0] s=0	m=0,1 [0-7] s=0,9
***Rhizomucor* sp.**	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-] s=0	m=0 [0-] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0,2 [0-7] s=1,2	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0,5 [0-13] s=2,6	m=0,2 [0-13] s=1,8
***Rhizopus* sp.**	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0,3 [0-7] s=1,4	m=0,1 [0-7] s=0,9
***Scopulariopsis* sp.**	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0,2 [0-7] s=1,2	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0
***Stachybotrys* sp.**	m=0 [0-0] s=0	m=0,4 [0-13] s=2,3	m=0 [0-0] s=0	m=0,2 [0-13] s=1,6	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0
***Trichoderma* sp.**	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=80,8 [0-2667] s=464,2	m=41 [0-2667] s=330,8	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0,3 [0-7] s=1,4	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0
***Ulocladium* sp.**	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=2,6 [0-67] s=11,8	m=1,3 [0-13] s=8,5	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0,2 [0-7] s=1,2	m=0,1 [0-7] s=0,9	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0
***Verticillium* sp.**	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0,2 [0-7] s=1,2	m=0,1 [0-7] s=0,9	m=1,5 [0-47] s=8,3	m=2,1 [0-67] s=11,8	m=1,2 [0-20] s=7	m=1,6 [0-67] s=9,6	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0	m=0 [0-0] s=0
Wallemia sebi	m=2,61 [0-47] s=8,78	m=6,2 [0-200] s=35,3	m=2,2 [0-40] s=8,3	m=4,2 [0-200] s=25,4	m=12,7 [0-333] s=58,8	m=19,6 [0-333] s=74,2	m=17,2 [0-333] s=62,3	m=18,4 [0-333] s=67,9	m=0,3 [0-7] s=1,4	m=1 [0-20] s=4,1	m=0 [0-0] s=0	m=0,5 [0-20] s=2,9

4/ Détermination de la concentration fongique totale

Les concentrations fongiques totales mesurées à l'intérieur et rapportées aux concentrations fongiques totales mesurées à l'extérieur ont été calculées pour chaque pièce et pour chaque groupe de logements et sont présentées dans le tableau 8.

		Logements contaminés	**Logements de patients allergiques**	**Logements contrôles**
Pièces saines/Extérieur	**UFC/m^3**	m=48 [0-599] s=132	m=7,48 [0-147] s=26	m=2,1 [0,08-17,71] s=3,7
	Copies d'ADN/m^3	m=28,73 [0-411,7] s=83,6	m=4,41 [0,11-35,61] s=7,19	m=7,35 [0,02-134,71] s=28,37
	pg de glucane/m^3	m=0,92 [0,02-6,48] s=1,17	m=8,8 [0,05-61,93] s=13,11	m=1,66 [0-18,05] s=3,8
Pièces humides/Extérieur	**UFC/m^3**	m=214,8 [0-3808] s=715	m=41,82 [0-1199] s=211	m=4,9 [0,12-94,7] s=19,1
	Copies d'ADN/m^3	m=116,42 [0,03-1620,4] s=316,8	m=4,16 [0,09-69,7] s=12,74	m=0,6 [0,02-2,03] s=0,5
	pg de glucane/m^3	m=1,05 [0,04-5,53] s=1,04	m=5,35 [0,09-51,37] s=12,85	m=2,37 [0,02-47,30] s=9,57
Logement/Extérieur	**UFC/m^3**	m=132 [0-2203,5] s=419,8	m=24,34 [0-673] s=118,45	m=3,5 [0,19-48,55] s=9,82
	Copies d'ADN/m^3	m=72,07 [0,02-851] s=170	m=4,21 [0,13-46,3] s=9,07	m=3,67 [0,01-68,07] s=13,75
	pg de glucane/m^3	m=0,99 [0,03-3,64] s=0,84	m=5,49 [0,07-56,65] s=12,52	m=2,02 [0,01-27,2] s=5,69

Tableau 8. Moyenne des rapports des concentrations fongiques totales exprimées en Unité Formant Colonies par mètre cube d'air (UFC/m^3), en copies d'ADN/m^3 et en picogrammes (pg) de glucane/m^3 dans les trois groupes de logements.

m= moyenne [minimum-maximum], s= écart-type

4.1 Concentration fongique totale exprimée en UFC/m^3 d'air

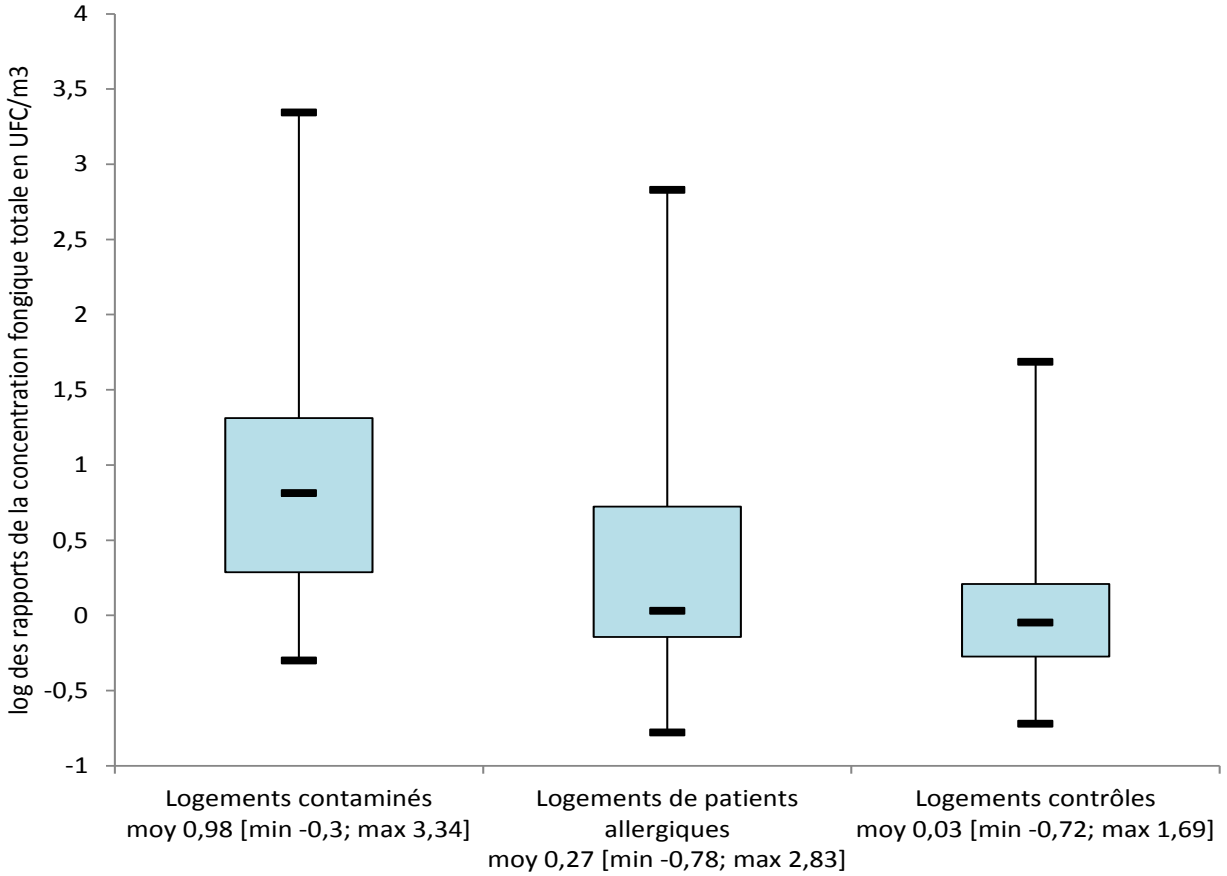


Figure 10. Box plot en log des rapports [intérieur/extérieur] de la concentration fongique totale exprimée en UFC/m^3 d'air dans les trois groupes.

Les moyennes des rapports des concentrations fongiques totales déterminées par culture dans les logements contaminés, de patients allergiques et contrôles étaient respectivement de 132 UFC/m^3, soit 0,98 log d'UFC/m^3 ; 24,34 UFC/m^3, soit 0,27 log d'UFC/m^3 et 3,5 UFC/m^3, soit 0,03 log d'UFC/m^3 (Figure 10).

Aucune différence significative n'a été mise en évidence que ce soit dans les pièces saines, les pièces humides ou le cumul des pièces saines et humides. Toutefois, les concentrations dans les logements contaminés ont tendance à être plus élevées que dans les logements contrôles (p=0,07).

4.2 Concentration fongique totale exprimée en copies d'ADN/m^3 d'air

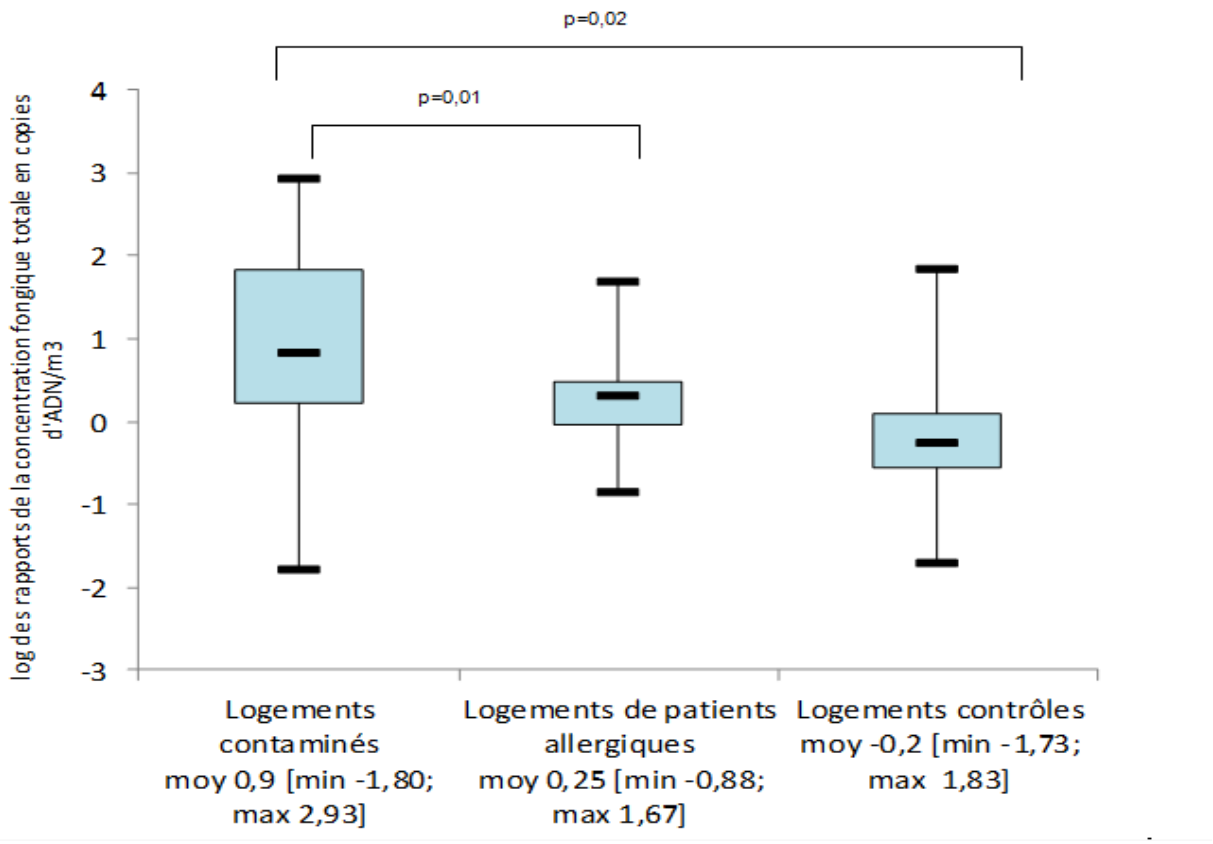


Figure 11. Box plot en log des rapports [intérieur/extérieur] de la concentration fongique totale exprimée en copies d'ADN/m^3 d'air dans les trois groupes.

Les moyennes des rapports des concentrations fongiques totales déterminées par qPCR dans les logements contaminés, les logements de patients allergiques et les logements contrôles étaient respectivement de 72,07 copies d'ADN/m^3, soit 0,9 log de copies d'ADN/m^3 ; 4,21 copies d'ADN/m^3, soit 0,25 log de copies d'ADN/m^3 et 3,67 copies d'ADN/m^3, soit -0,2 log de copies d'ADN/m^3 (Figure 11).

Les concentrations fongiques totales mesurées dans les pièces saines n'étaient pas significativement différentes entre les trois groupes de logements.

Les concentrations fongiques totales des pièces humides des logements contaminés étaient significativement plus élevées que celles des logements contrôles (p=0,03) et que celles des logements de patients allergiques (p=0,03).

De la même manière, les concentrations fongiques totales des logements contaminés étaient significativement plus élevées que celles des logements contrôles (p=0,02) et que celles des logements de patients allergiques (p=0,01).

4.3 Concentration fongique totale exprimée en picogrammes de glucane/m^3 d'air

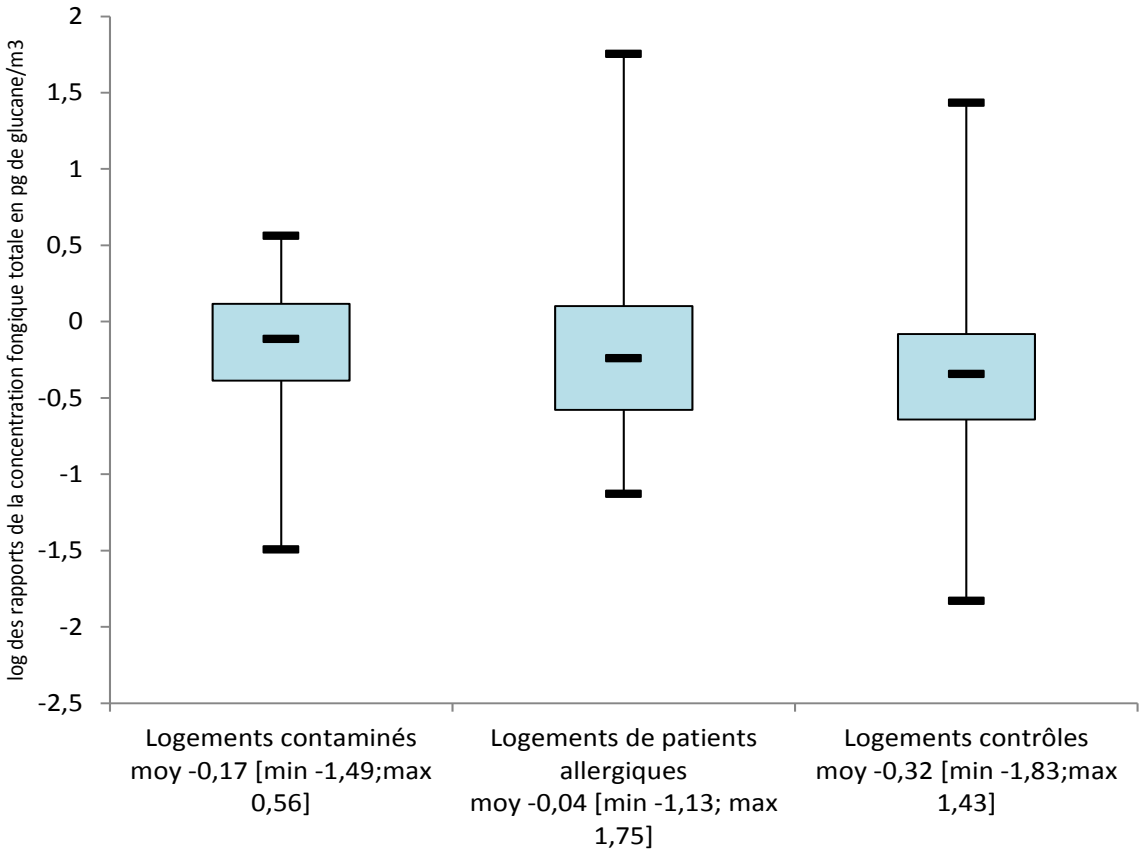


Figure 12. Box plot en log des rapports [intérieur/extérieur] de la concentration fongique totale exprimée en pg de ß-1,3-D glucane/m^3 d'air dans les trois groupes.

Les moyennes des rapports des concentrations fongiques totales exprimées en pg de BDG/m^3 d'air dans les logements contaminés, de patients allergiques et contrôles étaient respectivement de 0,99 pg de BDG/m^3, soit -0,17 log de pg de BDG/m^3 ; 5,49 pg de BDG/m^3 soit -0,04 log de pg de BDG/m^3 et 2,02 pg de BDG/m^3, soit -0,32 log de pg de BDG/m^3 (Figure 12).

Aucune différence significative n'a été mise en évidence que ce soit dans les pièces saines, les pièces humides ou le cumul des pièces saines et humides.

4.4. Corrélation des trois techniques de détermination de la concentration fongique

En considérant la culture comme le « gold-standard » pour la détermination de la concentration fongique totale, une corrélation a été mise en évidence entre cette technique et la technique de qPCR ($r^2 = 0,24$, $p<0,0001$) et celle du dosage de BDG ($r^2 = 0,13$, $p<0,0001$).

4.5. Analyse des caractéristiques des logements en fonction de la concentration fongique totale

L'analyse des caractéristiques des logements en fonction des résultats de la concentration fongique totale du logement exprimée en UFC/m^3 d'air a montré que celle-ci était significativement plus élevée dans les logements présentant des moisissures visibles ($p=0,003$), une odeur de moisi ($p=0,0006$) ou des signes d'humidité ($p=0,014$).

DISCUSSION

L'existence de méthodes normalisées pour l'échantillonnage, la détection et le dénombrement des moisissures est essentielle pour l'évaluation comparative des études de contamination fongique intérieure. La norme NF ISO 16000-18 recommande un échantillonnage par impaction sur milieu gélosé pour l'évaluation de cette contamination fongique [78]. Pour notre étude, nous avons toutefois privilégié une technique d'impaction sur milieu liquide à l'aide du Coriolis µ®, le recueil des particules sur milieu liquide permettant d'envisager d'autres techniques que la culture sur gélose pour l'évaluation de la contamination fongique, telles que la biologie moléculaire et le dosage de composés fongiques [79]. Cette technique permet en outre de diluer les échantillons fortement contaminés pour une meilleure interprétation des résultats des cultures. L'impaction sur milieu liquide est d'ailleurs de plus en plus utilisée pour l'étude de l'aérobiocontamination fongique dans divers domaines tels que l'hygiène hospitalière [80], l'étude des champignons phytopathogènes [81], de la contamination aspergillaire dans les élevages de volailles [82] et de l'écologie microbienne des sites préhistoriques [83-84]. D'autres études sont consacrées, comme la nôtre, à l'évaluation de la contamination fongique des environnements domestiques [80; 85-86]. De plus, il a été montré que le Coriolis µ® ne présentait pas de performance moindre que l'impacteur de référence utilisé pour le décompte des spores fongiques, basé sur un système d'impaction sur bande adhésive avec des prélèvements d'une durée d'une semaine [87].

L'échantillonnage à l'aide du Coriolis µ® est un prélèvement d'air sur de courtes durées. Les concentrations de spores dans l'air ne sont cependant pas constantes et dépendent de l'activité dans la pièce. Elles se détachent plus ou moins facilement de leurs supports en fonction des espèces. Pour cette raison, nous avons associé des prélèvements de surface qui permettent de recueillir les moisissures dont les spores visqueuses ne seraient pas aérosolisées telles que *Stachybotrys* sp. ou *Fusarium* sp. [47]. Nous avons choisi de réaliser ces prélèvements de surface par écouvillonnage. Le prélèvement de surface par adhésif est en effet difficile à analyser, même par des lecteurs expérimentés, dans la mesure où les spores sont mélangées et où il est difficile de les identifier. La gélose contact aurait quant à elle permis une standardisation de la méthode mais son analyse est rendue délicate par la superposition de plusieurs espèces sur la gélose. Bien que tous les genres fongiques détectés dans l'air n'aient pas été détectés dans les échantillons de surface, des genres non détectés dans l'air l'ont été dans les prélèvements de surface. Au total, l'association de prélèvements d'air à l'aide du

Coriolis µ® et de prélèvements de surface par écouvillonnage apparaît être une technique efficace pour l'évaluation de la contamination fongique.

La norme NF ISO 16000-17 recommande quant à elle les milieux gélosés qu'il convient d'utiliser, les températures et durées d'incubation à respecter ainsi que la méthode de calcul et d'expression des résultats à employer [88]. Nous avons respecté les exigences de la norme pour la partie de notre étude consacrée à la détermination de la concentration fongique totale exprimée en UFC/m^3. La gélose MAE est considérée comme la plus adaptée pour la croissance des moisissures de l'environnement [89-90]. Elle a cependant pour inconvénient de faciliter la croissance des espèces envahissantes ce qui risque de masquer d'autres espèces et ainsi de sous-estimer le nombre réel de colonies. L'ajout d'une gélose DG18 permet de dénombrer et d'identifier plus facilement les espèces en inhibant partiellement celles à croissance rapide [91].
Il n'existe par ailleurs aucune référence normative à ce jour consacrée à la détermination de la concentration fongique totale par les deux autres techniques que nous avons employées, la qPCR et la détermination de la concentration de BDG. Nous avons par conséquent appliqué pour ces techniques les protocoles décrits dans la littérature [73; 75-76].

La période d'inclusion s'est étendue de mai 2013 à juillet 2014. Cependant, 23/32, soit 71% des logements contaminés ont été inclus pendant l'hiver, alors que seulement 2/25, soit 8% des logements contrôles et 10/32, soit 21% des logements de patients allergiques l'ont été pendant cette saison. La contamination fongique extérieure étant minimale au cours de l'hiver [92-93], la différence de la période d'inclusion a induit un biais de sélection pour l'étude de la contamination fongique des logements. Pour y pallier, nous avons choisi de rapporter les concentrations et les diversités fongiques mesurées à l'intérieur des logements sur celles mesurées à l'extérieur [94].

Le score obtenu au questionnaire médical auto-administré était significativement plus bas pour les occupants des logements contrôles que pour les patients allergiques. Ce résultat est cohérent puisque le questionnaire était centré sur l'existence de manifestations allergiques respiratoires et que les occupants des logements contrôles étaient des volontaires sains ou des patients présentant des manifestations allergiques autres que respiratoires. Par ailleurs, aucune différence significative n'a été trouvée entre le score obtenu pour les patients allergiques et celui obtenu pour les occupants de logements contaminés. Cette absence de différence peut être liée à la présence de symptômes allergiques respiratoires chez les occupants de logements contaminés aussi fréquente et importante que celle chez les patients allergiques. Toutefois,

l'hypothèse d'une surestimation de la symptomatologie par les occupants de logements contaminés, liée à leur insatisfaction de l'état du logement duquel ils sont le plus souvent locataires, ne peut être exclue. Le lien entre symptomatologie allergique et contamination fongique est difficile à établir dans un tel contexte de plaintes pour insalubrité. Ces deux hypothèses peuvent également expliquer que le score au questionnaire ait été significativement plus élevé pour les occupants des logements contaminés que pour ceux des logements contrôles.

Les principaux résultats de l'analyse des questionnaires environnementaux ont montré que la densité d'occupation était significativement plus importante dans les logements contaminés, ce qui est concordant avec les résultats d'une étude antérieure menée en Île-de-France [95]. Par ailleurs, une différence significative entre les trois groupes de logements pour les types de chauffage, de revêtement au sol et au mur a été mise en évidence. Cependant, la diversité des réponses apportées par les occupants aux deux premiers items n'a pas permis de mettre en évidence un mode de chauffage ou une nature de revêtement au sol spécifiquement associés à l'un des groupes. En revanche, le papier peint était le type de revêtement mural rapporté de manière significativement plus fréquente dans les logements contaminés. Le papier peint est riche en cellulose, substrat de choix pour la croissance des moisissures [96]. Il est donc cohérent que les logements contaminés qui présentent le plus souvent des tâches de moisissures soient aussi ceux dans lesquels le papier peint est le plus fréquent. Les occupants de ces logements rapportaient en effet plus souvent la présence de signes d'humidité et de traces de moisissures que les patients allergiques et les occupants des logements contrôles. Cependant, les patients allergiques rapportaient la présence d'une odeur de moisi aussi fréquemment que les occupants des logements contaminés. Cette odeur caractéristique est liée à la libération de COVf dans l'air [20]. Ainsi, le ressenti d'une odeur de moisi par les occupants d'un logement, et par conséquent la quantité de COVf, ne semblent pas corrélés à la présence effective de moisissures visibles.

Un défaut d'aération constitue un facteur de risque de 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 [95]. Aucune différence significative dans les techniques d'aération des logements n'a pourtant été mise en évidence entre les trois groupes. Nous ne pouvons exclure le fait que cette absence de différence puisse être liée aux réponses subjectives apportées au questionnaire par les occupants. La mesure du taux de CO_2 représente en revanche un critère objectif pour évaluer le niveau de confinement et par

conséquent le manque d'aération d'un logement. Nous avons montré que le taux de CO_2 était significativement plus élevé dans les logements contaminés que dans les logements contrôles et que dans ceux de patients allergiques. Dans le même sens, la réduction de la température à l'intérieur d'un logement favorise la prolifération des moisissures [96]. Nous avons en effet montré que la température des logements contaminés était significativement plus basse que celle des logements contrôles et de patients allergiques. En revanche, aucune différence significative du taux d'humidité relative n'a été mise en évidence dans les trois groupes de logements. Il est important de noter que seul le taux d'humidité relative ambiante a été mesuré au cours de notre étude. Toutefois, il a été montré que l'humidité des matériaux est un facteur essentiel nécessaire à la prolifération fongique. Ainsi, la mesure seule de l'humidité relative ambiante, même à proximité de la surface contaminée, ne permet pas de statuer sur l'existence d'un risque de développement fongique [47; 97]. Au total nos résultats qui montrent que les logements contaminés présentent un niveau de confinement plus élevé et une température plus basse que les deux autres groupes sont concordants avec les données existantes et renforcent ainsi l'importance de leurs mesures au cours des enquêtes environnementales. En revanche, la mesure du taux d'humidité relative ambiante semble peu contributive.

Les moisissures les plus fréquemment rencontrées dans l'habitat en Picardie, *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. et *Cladosporium* sp. sont les mêmes que celles décrites dans la littérature que ce soit en France [3-6], en Europe [98] ou au niveau mondial [99]. Parmi les 16 moisissures publiées par le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France, nous en avons détecté 14.
Les principales différences significatives de fréquence d'isolement des moisissures ont concerné le genre *Aspergillus* et en particulier trois espèces. *Aspergillus nidulans* était significativement plus fréquent dans les logements contrôles que dans les logements contaminés et les logements de patients allergiques. Cette différence peut s'expliquer par le fait qu'*Aspergillus nidulans* est souvent retrouvé dans les textiles et tapis [47] qui sont souvent moins utilisés dans les logements de patients allergiques. A*spergillus versicolor* était plus fréquent dans les logements de patients allergiques que dans les logements contrôles. Ce résultat est lui aussi cohérent avec les données de la littérature qui mettent en avant le potentiel allergénique de cette espèce aspergillaire, lié à la présence de protéines allergéniques au niveau des spores [100]. Par ailleurs, les logements contaminés présentaient une plus grande diversité fongique que les deux autres groupes. A notre connaissance, il s'agit de la première donnée relative à la diversité fongique dans différents types d'habitat. Nous avons ensuite analysé la concentration de chaque moisissure identifiée dans chacun des trois groupes. Les principaux résultats concernaient *Aspergillus versicolor* qui était plus concentré

dans les logements de patients allergiques que dans les logements contrôles. Ces résultats sont cohérents avec les données sur les fréquences d'isolement et soulignent encore une fois l'importance du pouvoir allergisant de cette moisissure.

La mise en culture des échantillons d'air est encore considérée aujourd'hui comme le ''gold standard'' pour déterminer la concentration fongique totale dans l'environnement domestique. Cependant, cette approche qui repose sur la viabilité est limitée car seule une faible proportion des spores fongiques est revivifiable. De plus, les moisissures mortes sont également responsables d'effets sanitaires puisqu'elles sont encore aptes à libérer des molécules actives telles que les BDG. Un des objectifs de notre étude a ainsi été de comparer la culture à deux autres techniques plus novatrices.

La qPCR est utilisée dans de nombreuses études pour quantifier l'environnement fongique intérieur en utilisant des sondes spécifiques d'espèce [101-106]. Par ailleurs, Vesper *et al.* ont proposé d'évaluer la contamination fongique d'un logement en appliquant le score ''Environmental Relative Moldiness Index'' qui est calculé en quantifiant 36 espèces de moisissures dont 26 seraient spécifiquement présentes en cas d'humidité anormale du logement et dix seraient des moisissures domestiques communes [107]. Nous avons toutefois préféré une technique de qPCR panfongique, s'assurant ainsi d'amplifier un grand nombre d'ADNs fongiques présents dans les échantillons sans préjuger des genres et espèces fongiques présents dans l'environnement domestique. Outre l'équipe de Cai *et al.* dont nous avons utilisé le protocole [73], d'autres mentionnent l'utilisation d'une telle technique, avec la même cible d'amplification [108-109]. Toutefois, aucune d'entre elles n'a cherché à corréler les résultats de la qPCR à ceux de la culture.

Les données sur le dosage du BDG dans les environnements domestiques par échantillonnage d'air pour l'évaluation de la contamination fongique sont rares et l'analyse de la littérature à propos de la corrélation de ce dosage aux autres techniques montre des résultats contradictoires. L'étude réalisée dans 110 maisons canadiennes par Foto *et al.* en 2005 a permis de corréler la concentration de BDG et la présence de moisissures visibles [68]. Rao *et al.* ont quant à eux montré que la concentration de BDG était corrélée au décompte des spores fongiques sur adhésif mais pas à la concentration fongique totale déterminée par culture [110]. Reponen *et al.* ont mis en évidence cette même relation entre BDG et décompte des spores fongiques [111]. A l'inverse, d'autres auteurs ont montré que la concentration en BDG n'était corrélée ni au décompte des spores [112] ni à la concentration fongique totale déterminée par culture [113].

Nous avons montré que la concentration fongique totale était significativement plus élevée dans les logements contaminés lorsqu'elle était déterminée par qPCR et une tendance identique était observée lorsqu'elle était déterminée par le dénombrement des colonies en culture. Un seul travail français est comparable au nôtre dans le choix des logements étudiés [5]. Dans celui-ci, les auteurs ont déterminé la concentration fongique totale par la seule méthode de dénombrement des colonies. A l'aide de celle-ci, ils ont eux aussi montré que la concentration des logements contaminés était significativement plus élevée que celle des logements contrôles. En revanche, dans notre travail, aucune différence significative de la concentration fongique totale n'a pu être mise en évidence entre les trois groupes lorsqu'elle était déterminée par le dosage du BDG. Des résultats similaires ont déjà été rapportés dans la littérature [23 ; 98]. Ces observations sont cohérentes avec le faible coefficient de corrélation que nous avons calculé entre la culture et le dosage du BDG. Ces résultats pourraient s'expliquer par l'absence de spécificité du BDG vis-à-vis des moisissures et par conséquent par la présence de sources de BDG autres que les moisissures dans les logements.

CONCLUSION

Sur le plan épidémiologique, l'étude a permis d'obtenir pour la première fois la quantification et l'identification des moisissures dans différents logements de Picardie. Ces données ont permis de réaliser une « cartographie » de l'exposition aux moisissures domestiques dans notre région.

La contamination domestique a été caractérisée à la fois par la détermination de la concentration et par l'identification des moisissures. Nos données suggèrent que cette identification est un élément important. Le principal résultat concerne *Aspergillus versicolor* qui a été retrouvé plus fréquemment et en concentration plus importante dans les logements des patients allergiques. La détermination de la concentration fongique totale est elle aussi essentielle puisque nous avons montré qu'elle était significativement plus importante dans les logements contaminés.

Par ailleurs, deux méthodes pour déterminer cette concentration ont été évaluées, la qPCR et le dosage du BDG. Cette dernière technique, bien que corrélée à la culture, ne semble pas être optimale. En effet, les sources domestiques de BDG sont multiples et sa concentration ne différait pas de manière significative entre les trois groupes de logements. Au contraire, la qPCR pourrait être réalisée de manière systématique afin de quantifier les éléments fongiques à la fois cultivables et non cultivables.

Ainsi, l'association d'une méthode de qPCR panfongique, afin de déterminer la concentration de la manière la plus précise possible, et d'une mise en culture, afin d'assurer l'identification morphologique des moisissures, parait être pertinente pour l'évaluation de la contamination fongique domestique. Ce protocole, ainsi que celui d'échantillonnage développé au cours de la présente étude, pourront se pérenniser au niveau régional et apporter ainsi un outil fiable et reproductible pour la caractérisation de la contamination domestique par les moisissures. Toutefois, dans ce travail, seules les moisissures obtenues en culture ont été identifiées. Il pourrait maintenant être intéressant d'utiliser de nouvelles techniques d'identification qui s'affranchissent du caractère cultivable, telles que le séquençage haut débit.

ANNEXES

Annexe 1 : Questionnaire médical auto-administré

AUTO-QUESTIONNAIRE : SCORE

1) Avez-vous déjà eu des sifflements dans la poitrine à un moment quelconque de votre vie ?

Oui ❑ Non ❑ *Si vous avez répondu « non », passez directement à la question 6.*

2) Avez-vous eu des sifflements dans la poitrine à un moment quelconque durant les 12 derniers mois ?

Oui ❑ Non ❑ *Si vous avez répondu « non », passez directement à la question 6.*

3) Combien de fois avez-vous eu les crises de sifflements durant les 12 derniers mois ?

Aucune ❑ 1 à 3 fois ❑ 4 à 12 fois ❑ Plus de 12 fois ❑

4) Durant les 12 derniers mois, combien de fois, en moyenne, ces crises vous ont-elles réveillées ?

Jamais réveillé(e) avec des sifflements ❑ Moins d'une nuit par semaine ❑ Une ou plusieurs fois par semaine ❑

5) Durant les 12 derniers mois, est-il arrivé qu'une crise de sifflements ait été suffisamment grave pour vous empêcher de dire plus de 1 ou 2 mots à la suite ?

Oui ❑ Non ❑

6) Avez-vous déjà eu des crises d'asthme ?

Oui ❑ Non ❑

7) Durant les 12 derniers mois, avez-vous entendu des sifflements dans votre poitrine pendant ou après un effort ?

Oui ❑ Non ❑

8) Durant les 12 derniers mois, avez-vous eu une toux sèche la nuit alors que vous n'aviez ni rhume ni infection respiratoire ?

Oui ❑ Non ❑

Les questions suivantes portent sur des problèmes qui vous sont arrivés alors que vous n'aviez ni rhume, ni grippe

9) Avez-vous déjà eu des éternuements, le nez qui coule ou le nez bouché, alors que vous n'aviez ni rhume ni grippe ?

Oui ❑ Non ❑ *Si vous avez répondu « non », passez directement à la question 14.*

10) Durant les 12 derniers mois, avez-vous eu des éternuements, le nez qui coule ou le nez bouché, alors que vous n'aviez ni rhume ni grippe ?

Oui ❑ Non ❑ *Si vous avez répondu « non », passez directement à la question 14.*

11) Durant les 12 derniers mois, ces problèmes de nez étaient ils accompagnés de larmoiements et de démangeaisons des yeux ?

Oui ❑ Non ❑

12) Durant les 12 derniers mois, ces problèmes de nez ont-ils gêné vos activités quotidiennes ?

Oui ❑ Non ❑

13) Avez-vous déjà eu un rhume des foins ?

Oui ❑ Non ❑

14) D'une manière générale, vos gênes respiratoires ou problèmes de nez surviennent le plus souvent à votre domicile ?

Oui ❑ Non ❑

Annexe 2 : Questionnaire environnemental

LOGEMENT :

Type : maison ❑ appartement ❑ autre❑

Propriétaire ❑ Locataire ❑

Surface approximative (en m^2) :……

Nombre de personnes occupant le logement : ……

Type de chauffage : ……..

Revêtement(s) au sol : ……..

Revêtement(s) des murs : ……..

	OUI	NON	
Présence d'une VMC	❑	❑	Si oui, emplacements : ……
Aération quotidienne	❑	❑	
Entrées d'air aux fenêtres	❑	❑	
Signes d'humidité	❑	❑	
Présence de moisissures	❑	❑	
Odeur de moisi	❑	❑	

BIBLIOGRAPHIE

[1] OMS – Organisation Mondiale de la Santé [en ligne]. WHO Guidelines for indoor air quality, dampness and mould publications, WHO Regional Office for Europe. WHO Regional office for Europe, 2009 [consulté le 26 mai 2015]. Disponible sur: http://www.who.int/indoorair/publications/7989289041683/en/

[2] Hyvärinen A, Meklin T, Vepsäläinen A, Nevalainen A. Fungi and actinobacteria in moisture-damaged building materials – concentrations and diversity. Int Biodeterior Biodegrad 2002; 49: 27-37.

[3] Mallea M, Renard M, Charpin J. Fungal flora in houses. Rev Fr Mal Respir 1982 ; 10 : 121-130.

[4] Santucci R, Meunier O, Ott M, Herrmann F, Freyd A, de Blay F. Contamination fongique des habitations : bilan de 10 années d'analyses. Rev Fr Allerg Immunol Clin 2007 ; 47 : 402-408.

[5] Reboux G, Bellanger AP, Roussel S, Grenouillet F, Sornin S, Piarroux R, Dalphin JC, Millon L. Indoor mol concentration in Eastern France. Indoor air 2009 : 19 ; 446-453.

[6] Rivier A, Guillaso M, Flabbée JA. Contamination fongique de l'habitat Lorrain : enquête préliminaire au domicile des patients. Rev Fr Allerg 2014 ; 54 : 44-50.

[7] Kendrick B. Fungi and the history of mycology [en ligne]. eLS, John Wiley & Sons, Ltd, 2001 [consulté le 26 mai 2015]. Disponible sur : http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1038/npg.els.0002320/abstract.

[8] Hibbett DS, Binder M, Bischoff JF, Blackwell M, Cannon PF, Eriksson OE *et al*. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. Mycological research 2007; 111: 509-547.

[9] James TY, Kauff F, Schoch CL, Matheny PB, Hofstetter V, Cox Celio G *et al*. Reconstructing the early evolution of the Fungi using a six-gene phylogeny. Nature 2006; 443:818-822.

[10] Chabasse D, Contet-Audonneau N, Bouchara JP, Basile AM. Moisissures, dermatophytes, levures : Du prélèvement au diagnostic. BioMérieux 2008.

[11] Atherton G, Bartholomew J. Aspergillus and aspergillosis website [en ligne, consulté le 03 juin 2015]. Disponible sur : http://www.aspergillus.org.uk

[12] Méheust D. Exposition aux moisissures en environnement intérieur : méthodes de mesure et impacts sur la santé. Thèse de l'Université de Rennes 1 ; 2012.

[13] Nielsen FK. Mycotoxin production by indoor molds. Fungal Genet Biol 2003; 39: 103-107.

[14] Hendry KM, Cole EC. A review of mycotoxins in indoor air. J Toxicol Environ Health 2003; 38 : 183-198.

[15] Reboux G. Mycotoxines : effets sur la santé et interactions avec d'autres composants organiques. J Allerg 2006; 46: 208-212.

[16] Hodgson MJ, Dearborn DG. Literature on mycotoxins and human health at the time of the ACOEM report. J Occup Environ Med 2009; 15: 115-117.

[17] Li DW, Yang CS. Fungal contamination as a major contributor to Sick Building Syndrome. Advances in applied Microbiology 2004; 55: 31-112.

[18] Belanger K, Beckett WM, Triche E, Bracken MB, Holford T, Ren P *et al.* Symptoms of wheeze and persistent cough in the first year of life: association with indoor allergens air contaminants and maternal history of asthma. Am J Epidemiol 2003; 158: 195-202.

[19] Gravesen S. Fungi as a cause of allergic disease. Allergy 1979; 34: 135-154.

[20] Boutin-Forzano S, Charpin-Kadouch C, Gouitaa M, Dumon H, Charpin D. Audit environnemental des logements : interêt d'identifier la (ou les) moisissures(s) en cause. Rev Fr Allerg Immunol Clin 2006 ; 46 : 197-203.

[21] Strom G, Palmgren U, Wessen B, Hellstrom B, Kumlin A. The sick building syndrome. An effect of microbial growth in building construction? 1990

[22] Klis FM. Review: cell wall assembly in yeast. Yeast 1994; 10: 851-869.

[23] Bex V, Squinazi F. Indoor moulds detection by the measurement of BDG. Rev Fr Allerg Immunol Clin 2006; 46: 184-187.

[24] Douwes J. (1→3)-β-d-glucans and respiratory health: a review of a scientific evidence. Indoor air 2005; 15: 160-169.

[25] Douwes J, Wouters I, Dubbeld H, Zwieten L, Steerenberg P, Doekes G, *et al.* Upper airway inflammation assessed by nasal lavage in compost workers: a relation with bio-aerosol exposure. Am J Ind Med 2000; 37: 459-468.

[26] Wouters IM, Hilhorst SKM, Kleppe P, Doekes G, Douwes J, Preretz C. Upper airway inflammation and respiratory symptoms in domestic waste collectors. Occup Environ Med 2002; 59: 106-112.

[27] Eduard W, Douwes J, Mehl R, Heederik D, Melbostad E. Short term exposure to airborne microbial agents during farm work: exposure-response relations with eye and respiratory symptoms. Occup Environ Med 2001; 59: 113-118.

[28] Thorn J, Rylander R. Airways inflammation and glucan exposure among household waste collectors. Am J Ind Med 1998; 33:463-470.

[29] Mandryk J, Alwis KU, Hocking AD. Effects of personal exposures on pulmonary function and work-related symptoms among sawmill workers. Ann Occup Hyg 2000; 44: 281-289.

[30] Gergen PJ, Turkeltaub PC. The association of individual allergen reactivity with respiratory disease in a national sample: data from the second national health and nutrition examination survey, 1976-1980. J Allergy Clin Immunol Pract 1992; 90: 579-588.

[31] Heldal KK, Halstensen AS, Thorn J, Djupesland P, Wouters I, Eduard W *et al.* Upper airway inflammation in waste handlers exposed to bioaerosols. Occup Environ Med 2003; 60: 444-450.

[32] Gladding T, Thorn J, Stott D. Organic dust exposure and work-related effects among recycling workers. American Journal Ind Med 2003: 43; 584-591.

[33] Rylander R, Lin RH. (1→3)-β-d-glucan – Relationship to indoor air-related symptoms, allergy and asthma. Toxicology 2000; 125, 1: 47-52.

[34] Rylander R. Airborne (1→3)-β-d-glucan and airwayeffects in a day care center before and after renovation. Arch Environ Health 1997; 52: 281-285.

[35] Green BJ, Tovey ER, Sercombe JK, Blachere FM, Beezhold DH, Schmechel D. Airborne fungal fragments and allergenicity. Med Mycol 2006; 44: 245-255.

[36] Boutin-Forzano S, Hammou Y, Gouitaa M, Charpin D. Air pollution and atopy. Europeen ann allergy clin immunol 2005; 37: 11-16.

[37] Andersson M, Downs S, Mitakakis T, Leuppi J, Marks G. Natural exposure to Alternaria spores induces allergic rhinitis symptoms in sensitized children. Pediatr Allergy Immunol 2003; 14: 100-105.

[38] Mendell MJ, Mirer AG, Cheung K, Tong M, Douwes J. Respiratory and allergic health effects of dampness, mold, and dampness-related agents: a review of the epidemiologic evidence. Environ Health Perspec 2011 ; 119 : 748-756.

[39] Hasnain SM, Al-Frayh AS, Al-Suwaine A, Gad-el-Rab MO, Fatima K, Al-Sedairy S. Cladosporium and respiratory allergy: diagnostic implications in Saudi Arabia. Mycopathologia 2004; 157: 171-179.

[40] Horner WE, Helbing A, Salvaggio JE, Lehrer SB. Fungal allergens. Clin Microbiol Rev 1995; 8: 161-179.

[41] Bush RK, Prochnau JJ. Alternaria-induced asthma. J Allergy Clin Immunol Pract 2004; 113: 227-234.

[42] Delfino RJ, Coate BD, Zeiger RS, Seltzer JM, Street DH, Koutrakis P. Daily asthma severity in relation to personal ozone exposure and outdoor fungal spores. Am J Respir Crit Care Med 1996 ; 154: 633-641.

[43] Helbling A, Gayer F, Pichler WJ, Brander KA. Mushroom (Basidiomycete) allergy diagnosis established by skin test and nasal challenge. J Allergy Clin Immunol Pract 1998; 102: 853-858.

[44] Montealegre F, Meyer B, Chardon D, Vargas W, Zavala D, Hart B *et al.* Comparative prevalence of sensitization of common animal, plant and mould allergens in subjects with asthma, or atopic dermatitis and/or allergic rhinitis living in a tropical environment. Clin Exp Allergy 2004; 34: 51-58.

[45] Reijula K, Leino M, Mussalo-Rauhamaa H, Nikulin M, Alenius H, Mikkola J *et al*. IgE mediated allergy to fungal allergens in Finland with special reference to *Alternaria alternata* and *Cladosporium herbarum*. Ann Allergy, Asthma and Immunol 2003; 91: 280-287.

[46] Scalabrin DMF, Bavbek S, Perzanowski MS, Wilson BB, Platts-Mills TAE, Wheatley LM. Use of specific IgE in assessing the relevance of fungal and dust mites allergens to atopic dermatitis : A comparison with asthmatic and nonasthmatic control subjects. J Allergy Clin Immunol Pract 1999; 104: 1273-1279.

[47] CSHPF – Conseil supérieur d'hygiène publique en France [en ligne]. Contaminations fongiques en milieux intérieurs : Diagnostic, Effets sur la santé respiratoire, Conduite à tenir [consulté le 26 mai 2015]. Disponible sur: http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/Contaminations_fongiques_en_milieux_interieurs.pdf

[48] Institut National de Santé Publique du Québec. Les risques à la santé associés à la présence de moisissures en milieu intérieur. Novembre 2002.

[49] Singh J. Building Mycology – Management of decay and health in buildings. E & FN SPON 1994.

[50] OMS – Organisation Mondiale de la Santé [en ligne]. Environmental health inequalities in Europe. WHO Regional Office for Europe, 2012 [consulté le 26 mai 2015]. Disponible sur : http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0010/157969/e96194.pdf

[51] Castéran B, Ricroch L. Les logements en 2006 : le confort s'améliore mais pas pour tous. Insee Première 2008; 1202.

[52] Nolard N. Les liens entre les risques d'aspergillose et la contamination de l'environnement : revue de la littérature. Pathologie et biologie 1994; 42: 706-710.

[53] Mazur LJ, Kim J. Spectrum of noninfectious health effects from molds. Pediatrics 2006; 118: 1909-1926.

[54] Barnes C, Tuck J, Simon S, Pacheco F, Hu F, Portnoy J. Allergenic materials in the house dust of allergic clinic patients. Ann Allergy Asthma immunol 2001; 86: 517-523.

[55] Kilpeläinen M, Terho EO, Helenius H, Koskenvuo M. Home dampness, current allergic diseases, and respiratory infectious among young adults. Thorax 2001; 56: 462-467.

[56] Jaakkola JJK, Hwang BF, Jaakkola MS. Home dampness and molds as determinants of allergic rhinitis in childhood : a 6-year, population-based cohort study. Am J Epidemiol 2010; 15: 451-459.

[57] Fisk WJ, Lei-Gomez Q, Mendell MJ. Meta-analyses of the associations of respiratory health effects with dampness and molds in home. Indoor air 2007; 17: 284-296.

[58] Reponen T, Vesper S, Levin L, Johansson E, Ryan P, Burkle J *et al.* High environmental relative moldiness index during infancy as a predictor of asthma at 7 years of age. Ann Allergy Asthma immunol 2011; 107: 120-126.

[59] Jaakkola JJK, Hwang BF, Jaakkola N. Home dampness and molds, parental atopy, and asthma in childhood: a six year population-based cohort study. Environ Health Perspec 2005; 113: 357-361.

[60] Pekkanen J, Remes S, Kajosaari M, Husman T, Soininen L. Infections in early childhood and risk of atopic disease. Acta Paediatrica 2007; 88: 710-714.

[61] Bush RK, Portnoy JM, Saxon A, Terr AI, Wood RA. The medical effects of mold exposure. J Allergy Clin Immunol 2006; 117: 326-333.

[62] Douwes J, Strien RV, Doekes G, Smit J, Kerkhof M, Gerritsen J *et al.* Does early indoor microbial exposure reduce the risk of asthma? The prevention and incidence of asthma and mite allergy birth cohort study. J Allergy Clin Immunol 2006; 117: 1067-1073.

[63] Braun-Fahrländer C, Riedler J, Herz U, Eder W, Waser M, Grize L *et al.* Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children. N England J Med 2002; 347: 869-877.

[64] Gehring U, Bischof W, Fahlbusch B, Wichmann HE, Heinrich J. House dust endotoxin and allergic sensitization in children. Am J Respir Crit Care Med 2002; 166: 939-944.

[65] Böttcher M, Björkstén B, Gustafson S, Voor T, Jenmalm MC. Endotoxin levels in Estonian and Swedish house dust and atopy in children. Clin Exp Allergy 2003; 33: 295-300.

[66] Osborne M, Reponen T, Adhikari A, Cho SH, Grinshpun SA, Levin L *et al.* Specific fungal exposures, allergic sensitization, and rhinitis in infants. Pediatr Allerg Immunol 2006 ; 17 : 450-457.

[67] Moularat S, Robine E, Ramalho O, Oturan MA. Detection of fungal development in closed spaces through the determination of specific chemical targets. Chemosphere 2008; 78: 224-232.

[68] Foto M, Vrijmoed LL, Miller JD, Ruest K, Lawton M, Dales RE. A comparison of airborne ergosterol, glucan and Air-O-Cell data in relation to physical assessments of mold damage and some other parameters. Indoor Air 2005; 15: 257-266.

[69] St Germain, Summerbell. Identifying fungi, a clinical laboratory handbook. 2nd edition, Star Publishing, 2011.

[70] Kurtzman CP, Robnett CJ. Identification of clinically important ascomycetous yeasts based on nucleotide divergence in the 5' end of the large-subnit (26S) ribosomal DNA gene. J Clin Microbiol 1997; 35: 1216-1223.

[71] BLAST – Basic Local Alignment Search Tool [en ligne, consulté le 26 mai 2015]. Disponible sur www.ncbi.nhl.gov/blast

[72] CBS-KNAW Fungal biodiversity Center [en ligne, consulté le 26 mai 2015]. Disponible sur : http://www.cbs.knaw.nl/databases/

[73] Cai GH, Bröms K, Mälarstig, Zhao ZH, Kim JL, Svärdsudd K, *et al.* Quantitative PCR analysis of fungal DNA in Swedish day care centers and comparison with building characteristics and allergen levels. Indoor Air 2009 ; 19 : 392-400.

[74] Ameziane N, Bogard M, Lamoril J. Principes de biologie moléculaire en biologie clinique. Edition Elsevier, 2006.

[75] Foto M, Plett J, Berghout J, Miller JD. Modification of the *Limulus* amebocyte lysate assay for the analysis of glucan in indoor environments. Anal Bioanal Chem 2004; 379: 156-162.

[76] Iossifova Y, Reponen T, Bernstein DI, Levin L, Kalra H, Campo P, *et al.* House dust (1-3)-beta-D-glucan and wheezing in infants. Allergy 2007; 62: 504-513.

[77] BiostaTGV [en ligne, consultél e 26 mai 2015]. Disponible sur : http://marne.u707.jussieu.fr/biostatgv/

[78] Norme ISO 16000-18 :2011 Air intérieur, Partie 18 : Détection et dénombrement des moisissures : Échantillonnage par impaction. Edition 1, 2011 ; 21 pages.

[79] Bellanger AP, Reboux G, Scherer E, Vacheyrou M, Millon L. Contribution of a cyclonic-based liquid air collector for detecting Aspergillus fumigatus by QPCR in air samples. J Occup Environ Hygiene 2012; 9: 7-11.

[80] Méheust D, Le Cann P, Reponen T, Wakefield J, Vesper S, Gangneux JP. Possible application of the Environmental Relative Moldiness Index in France: A pilot study in Brittany. Int J Hyg Environ Health 2013; 216: 333-340.

[81] West JS, Kimber RBE. Innovations in air sampling to detect plant pathogens. Ann Appl Biol 2015; 166: 4–17.

[82] Viegas C, Malta-Vacas J, Sabino R, Viegas S, Verissimo C. Accessing indoor fungal contamination using conventional and molecular methods in Portuguese poultries. Environ Monit Assess 2014; 186: 1951–1959.

[83] Host S, Grange D, Chatignoux E, Sommen C, Grémy I, Dusséaux M, *et al.* Effets sanitaires des moisissures dans l'habitat : L'enquête Esmha, pilote d'une étude épidémiologique. Air intérieur 2010.

[84] Reboux G, Bellanger AP, Roussel S, Grenouillet F, Million L. Moisissures et habitat : risques pour la santé et espèces impliquées. Rev Fr Allerg 2010 ; 50 : 611-620.

[85] Méheust D, Gangneux JP, Reponen T, Wymer L, Vesper S, Le Cann P. Correlation between Environmental Relative Moldiness Index (ERMI) values in French dwellings and other measures of fungal contamination. Sci Total Environ 2012; 438: 319–324.

[86] Pottier D, Andre V, Rioult JP, Bourreau A, Duhamel C, Kientz Bouchart V, *et al.* Airborne molds and mycotoxins in Serpula lacrymans–damaged homes. Atmos Pol Res 2014; 5: 325-334.

[87] Carvalho E, Sindt C, Verdier A, galan C, O'Donoghue L, Parks S and al. Performance of the Coriolis air sampler, a high-volume aerosol-collection system for quantification of airborne spores and pollen grains. Aerobiologia 2008 ; 24 : 191-201.

[88] Norme Francaise ISO 16000-17 : Air intérieur, Partie 17 : Détection et dénombrement des moisissures : Méthode par culture. Edition 1, 2009.

[89] Eggleston PA, Rosenstreich D, Lynn H, Gergen P, Baker D, Kattan M *et al.* Relationship of indoor allergen exposure to skin test sensitivity in inner-city children with asthma. J Allergy Clin Immunol 1998; 102: 563-570.

[90] Cormier Y, Belanger J. Long-term physiologic outcome after acute farmer's lung. Chest 1985; 87: 796-800.

[91] Beguin H, Nolard N. Mould biodiversity in homes. Air and surface analysis of 130 dwellings. Aerobiologia 1994; 10: 157-166.

[92] Lee T, Grinshpun SA, Martuzevicius D, Adhikari A, Crawford CM, Luo J, *et al.* Relationship between indoor and outdoor bioaerosols collected with a button inhalable aerosol sampler in urban homes. Indoor Air 2006; 16: 37-47.

[93] Takahashi T. Airborne fungal colony-forming units in outdoor and indoor environments in Yokohama, Japan. Mycopathologia 1997 ; 139 : 23-33.

[94] Lee T, Grinshpun SA, Martuzevicius D, Adhikari A, Crawford CM, Luo J *et al.* Relationship between indoor and outdoor bioaerosols collected with a button inhalable aerosol sampler in urban homes. Indoor Air 2006; 16 : 37-47.

[95] Martin-Sanchez PM, Saiz-Jimenez C. Contribution of culture-independent methods to cave aerobiology: The case of Lascaux Cave. The Conservation of Subterranean Cultural Heritage – Saiz-Jimenez. Edition Instituto de Recursos Naturales 2014.

[96] Martin Sanchez PM, Bastian F, Alabouvette C, Saiz-Jimenez C. Real-time PCR detection of Ochroconis lascauxensis involved in the formation of black stains in the Lascaux Cave, France. Sci Total Environ 2013; 443: 478–484.

[97] Flannigan B, Morey P, Broadbent C, Brown SK, Follin T, Kelly KM, *et al.* ISIAQ Guideline, Taskforce I: Control of moisture problems affecting biological indoor air quality. International Society of Indoor Air Quality and Climate, Espoo, Finland 1996.

[98] Jovanovic S, felder-Kennel A, Gabrio T, Kouros B, Link B, Maisner V, *et al.* Indoor fungi levels in homes of children with and without allergy history. Int J Hyg environ Health 2004; 207: 369-378.

[99] Gent JF, Ren P, Belanger K, Triche E, Bracken MB, Holford TR. Levels of household mold asssociated with respiratory symptoms in the first year of life in a cohort at risk for asthma. Environ Health Perspect 2002; 110: 781-786.

[100] Benndorf D, Müller A, Bock K, Manuwald O, Herbarth O, Von Bergen M. Identification of spore allergens from the indoor mould aspergillus versicolor. Allergy 2008; 63: 454-460.

[101] Meklin T, Haugland RA, Reponen T, Varma M, Lummus Z, Bernstein D, *et al.* Quantitative PCR analysis of house dust can reveal abnormal mold conditions. J Environ Monitor 2004; 6: 615–620.

[102] Vesper SJ, Wymer LJ, Meklin T, Varma M, Stott R, Richardson M, *et al.* Comparison of populations of mould species in homes in the UK and USA using mould-specific quantitative PCR. Lett Appl Microbiol 2005*;* 41: 367–373.

[103] Rintala H, Nevalainen A. Quantitative measurement of streptomycetes using real-time PCR. J Environ Monitor 2006*;* 8: 1–5.

[104] Lignell U, Meklin T, Rintala H, Hyvärinen A, Vepsäläinen A, Pekkanen J, Nevalainen A. Evaluation of quantitative PCR and culture methods for detection of house dust fungi and streptomycetes in relation to moisture damage of the house. Lett Appl Microbiol 2008 ; 47 : 303-308.

[105] Veillette M, Knibbs LD, Pelletier A, Charlebois R, Blais Lecours P, He C *et al.* Microbial Contents of Vacuum Cleaner Bag Dust and Emitted Bioaerosols and Their Implications for Human Exposure Indoors. Appl Environ Microbiol 2013; 79: 6331–6336.

[106] Haugland RA, Varma M, Wymer LJ, Vesper S. Quantitative PCR Analysis of Selected *Aspergillus, Penicillium* and *Paecilomyces* Species. System Appl Microbiol 2004; 27: 198–210.

[107] Vesper S, McKinstry C, Haugland R, Wymer L, Bradham K, Ashley P, *et al*. Development of an Environmental Relative Moldiness index for US homes. J Occup Environ Med 2007; 49: 829-33.

[108] Emerson JB, Keady PB, Brewer TE, Clements N, Morgan EE, Awerbuch J, *et al*. Impacts of Flood Damage on Airborne Bacteria and Fungi in Homes after the 2013 Colorado Front Range Flood. Environ Sci Technol 2015; 49: 2675−2684.

[109] Lee SH, Lee HJ, Kim SJ, Lee HM, Kang H, Kim YP. Identification of airborne bacterial and fungal community structures in an urban area by T-RFLP analysis and quantitative real-time PCR. Sci Total Environ 2010; 408: 1349–1357.

[110] Rao CY, Riggs MA, Chew GL, Muilenberg ML, Thorne PS, Sickle DV *et al.* Characterization of airborne molds, endotoxins, and glucans in homes in New Orleans after hurricanes Katrina and Rita. Appl Environ Microbiol 2007; 73: 1630-1634.

[111] Reponen T, Singh U, Schaffer C, Vesper S, Johansson E, Adhikari A *et al.* Visually observed mold and moldy odor versus quantitatively measured microbial exposure in homes. Sci Total Environ 2010; 408: 5565-5574.

[112] Adhikari A, Lewis JS, Reponen T, DeGrasse EC, Grimsley LF, Chew GL *et al*. Exposure matrices of endotoxin, (1->3)-B-D-glucan, fungi, and dust mite allergens in flood-affected homes of New Orleans. Sci Total Environ 2010; 408: 5489-5498.

[113] Lawniczek-Walczyk A, Gorny RL, Golofit-Szymczak M, Niesler A, Wlazlo A. Occupational exposure to airborne microorganisms, endotoxins and B-glucans in poultry houses at different stages of the production cycle. Ann agricultural environ med 2013; 20: 259-268.

CARACTERISATION ET ANALYSE DE LA CONTAMINATION FONGIQUE DE L'HABITAT EN PICARDIE.

Introduction. L'impact sanitaire de l'exposition aux moisissures domestiques est un problème émergent. L'objectif de cette étude prospective a été de caractériser la contamination fongique dans l'habitat Picard. **Méthodes.** Une enquête environnementale a été réalisée dans trois groupes de logements: avec moisissures, occupés par des patients allergiques et contrôles. Elle comportait la mesure des températures, des taux de CO_2 et d'humidité relative ainsi que l'identification et la quantification des moisissures sur échantillons d'air. L'identification a reposé sur l'analyse morphologique ou un séquençage des colonies obtenues en culture. La quantification a reposé sur le décompte des colonies en culture, une PCR quantitative (qPCR) et le dosage du glucane. Les résultats des trois groupes ont été comparés par le logiciel R. **Résultats.** Trente-deux logements ont été inclus dans chaque groupe d'intérêt, 25 dans le groupe contrôle. Dans les logements avec moisissures, le taux de CO_2 était plus élevé ($p<10^{-4}$), la température était plus basse (p=0,03), la quantification fongique déterminée par qPCR et la diversité fongique étaient plus importantes (p=0,02 et $9x10^{-4}$ respectivement). *A. versicolor* était plus fréquent (p=0,008) et plus concentré ($p=4x10^{-4}$) dans les logements de patients allergiques. Les techniques de quantification étaient corrélées ($p<10^{-4}$). **Discussion.** Les différences mises en évidence soulignent l'importance de l'identification et de la quantification fongique lors des enquêtes environnementales. La qPCR serait la méthode la plus adaptée pour cette quantification. Cette étude a de plus apporté les premières données de contamination fongique domestique en Picardie.

MOTS CLES : Moisissures, Effets sur la santé, Contamination fongique aérienne, Logements, PCR quantitative, Dosage du β-1,3-D glucane.

CARACTERISATION AND ANALYSIS OF MOLD CONTAMINATION IN DWELLINGS OF PICARDY.

Objective. The health impact of indoor mold exposure is an emerging issue. The aim of this prospective study was to characterize fungal contamination in dwellings of Picardy (France). **Methods.** Investigations were conducted in three groups: dwellings with visible mold contamination, dwellings occupied by allergic patients and control dwellings. They included measurements of temperature, CO_2 concentration and relative humidity, as well as identification and quantification of molds in air samples. Identification was based on morphological criteria or sequencing analysis. Quantification was assessed on culture-based methods, a quantitative PCR (qPCR) assay and glucan level detection. Results of the three dwelling groups were compared using R software. **Results.** Thirty-two dwellings with visible molds, 32 dwellings occupied by allergic patients and 25 control dwellings were included**.** In dwellings with visible molds, CO_2 level, mold quantification determined by qPCR and fungal diversity were higher than in the control group whereas temperature was lower (p<.0001, p=.02, p=.0009 and p=.03 respectively). In dwellings of allergic patients, *A. versicolor* was more frequent (p=.008) and detected in higher concentration (p=.0004) than in the control group. Quantification methods were correlated (p<.0001). **Discussion.** Results highlight the importance of identification and quantification of indoor molds. qPCR appears to be the most suitable method for quantification. This study also provided original data on indoor mold contamination in Picardy.

KEYWORDS : Molds, Health effect, Fungal airborne contamination, Dwellings, Quantitative PCR, Glucan detection.