

3^{ème} Ecole d'automne du GDR
Durabilité des matériaux de construction biosourcés



GdR MBS
MATÉRIAUX de CONSTRUCTION BIOSOURCÉS



Contamination microbienne des matériaux à l'intérieur des bâtiments

Thomas Verdier (LMDC), thomas.verdier@insa-toulouse.fr

17-20 octobre 2023, Bagnères-de-Bigorre



Généralités

Différents environnements...

... différents micro-organismes et différentes problématiques

Extérieurs

Algues, champignons, lichen



https://www.notre-planete.info/actualites/3507-cryptogames_carbone_azote



<https://www.ventanasierra.org/champignon-facade-maison/>

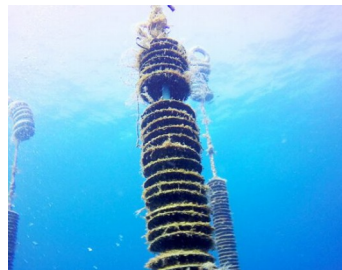


https://www.notre-planete.info/actualites/3507-cryptogames_carbone_azote

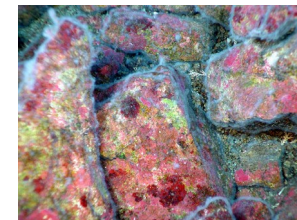
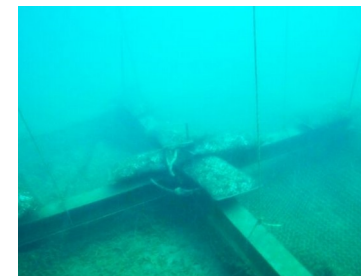
Subaquatiques

Algues, bactéries...

https://bybeton.fr/grand_format/beton-biometrique-sauver-poissons



Récifs artificiels d'Ajaccio



https://oceanexplorer.noaa.gov/explorations/O4fire/logs/april08/media/bacteria_algae.html

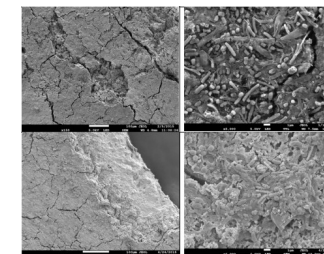
Assainissements

Bactéries...

https://www.merusonline.com/biofouling_biofilm/



Voegel, 2017



Différents environnements...

... différents micro-organismes et différentes problématiques

Intérieurs

Fungi et filamentus fungi
(champignons filamenteux
≈ moisissures), bactéries,
algues, protozoaires, virus

- Bâtiments anciens (mauvais systèmes de ventilation),
- caves,
- bâtiments avec dégâts des eaux,
- bâtiments de pays au climat tropical (climatisation + condensation),
- bâtiments neufs (pendant la phase de travaux)...
- **matériaux biosourcés**, etc.



Photo © DR - AQC



Photo © DR - AQC

<https://www.abctravaux.org/g/remedier-probleme-humidite-maison/>

- Durabilité des matériaux bio-sourcés
- Qualité de l'air

Environnement intérieur

Risque pour la santé



[IoM04]

[No103, Gut02]

Des centaines d'espèces identifiées

Micro-organismes

%HR, T°C

Mtx de construction

Aérosolisation
de particules microbiennes

Humidité et micro-organismes

Correlation

Trouble de la santé spécifique

Peu clair

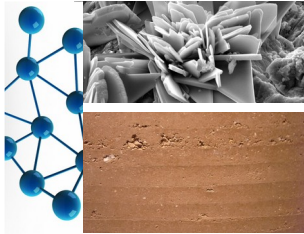
Peu clair

Trouble de la santé chez les occupant-es

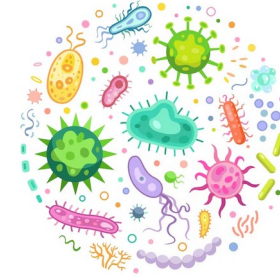
Mtx de construction = sites majeurs de croissance microbienne +
Sources de bio-aérosols

%HR, T°C

Domaine à l'interface



Science des
matériaux

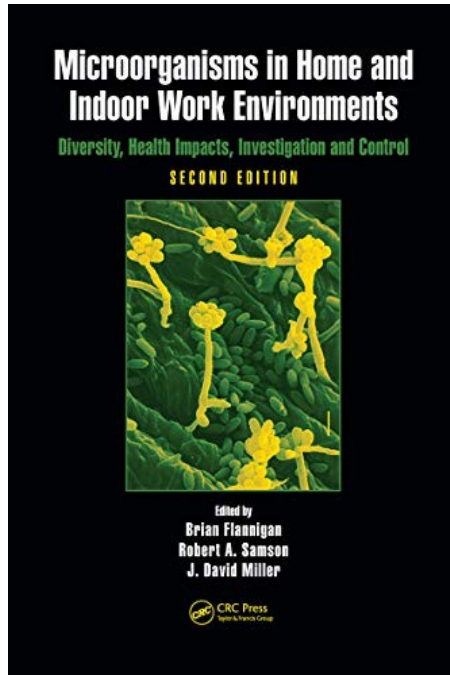


Microbiologie

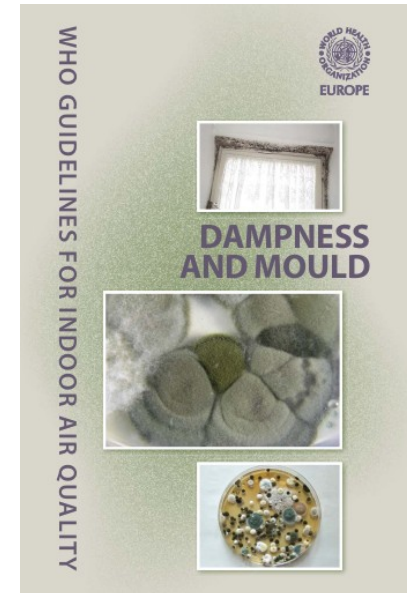


Sciences **Médicales / Santé**

Deux ouvrages de référence



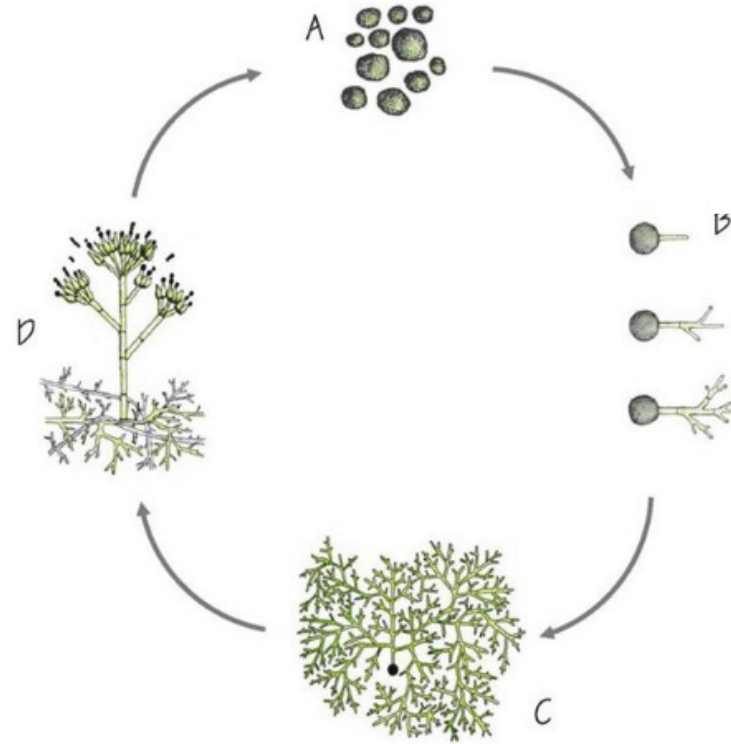
B. Flannigan, R.A. Samson, J.D. Miller,
**Microorganisms in Home and Indoor
Work Environments: Diversity, Health
Impacts, Investigation and Control,**
Second Edition, CRC Press, 2011



WHO Guidelines for indoor
air quality : Dampness and
mould, 2009.

Contamination des matériaux et développement microbien

D → A
Aérosolisation



A → B
Contamination

B-C-D
**Développement /
Croissance**

Figure 1 Schematic overview of a typical mould fungus. When suitable conditions are present, spores (A) at the material surface germinate into a germ tube that grows into a hypha (B), which then extends and branches into a mycelium (C). From some of the hyphae, conidiophores are developed (D) and from them masses of spores are released into the air. Illustration: Agneta Olsson-Jonsson

01 **Apport initial** du matériau ??
(bio-sourcé ??)

02 **Contamination** pendant la vie
du matériau

- Air extérieur
- Activité humaine (et animale)

Saisonnalité



- Croissance végétative
 - Sporulation
- Maximales en début d'été** et en **automne**

Air extérieur = source de contamination de spores vivantes et d'hyphes fongiques

[Sneller and Roby 1979]

Impact significatif sur la charge microbienne à l'intérieur

Ventilation



- (naturelle, mécanique, ouverture des fenêtres...)
- Influence l'apport extérieur

[Johansson, 2012]

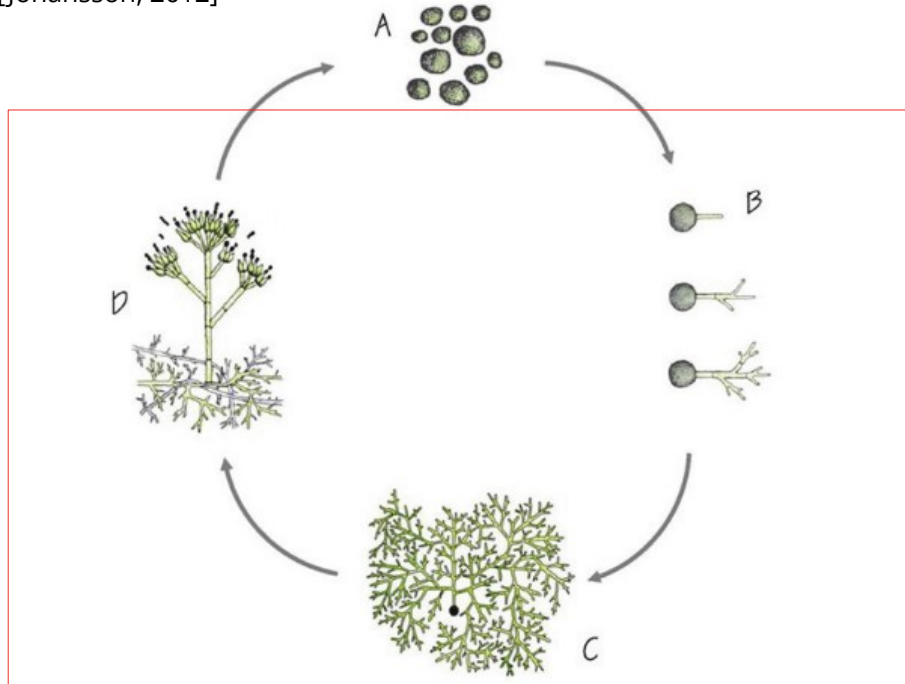


Figure 1 Schematic overview of a typical mould fungus. When suitable conditions are present, spores (A) at the material surface germinate into a germ tube that grows into a hypha (B), which then extends and branches into a mycelium (C). From some of the hyphae, conidiophores are developed (D) and from them masses of spores are released into the air. Illustration: Agneta Olsson-Jonsson

- Facteurs d'impact de la **croissance** :
 - **Humidité/eau**
 - Température
 - Nutriments
 - pH
 - Etc.

Teneur en eau



Disponibilité en eau
(activité de l'eau : a_w
= HRE)

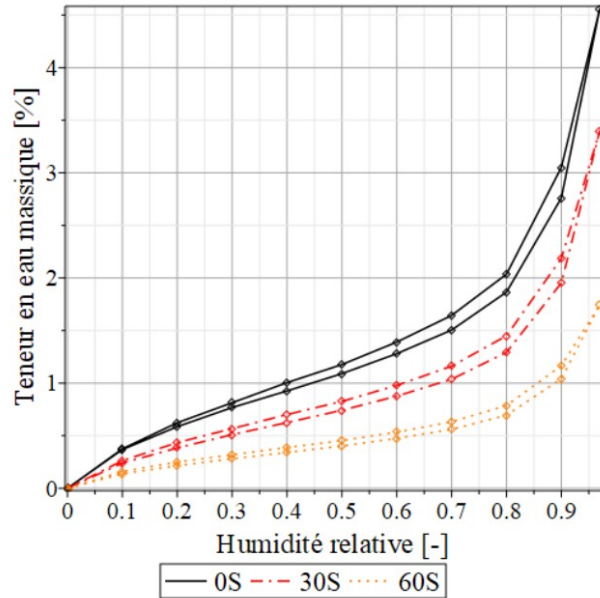
Teneurs en eau de matériaux à 80%HR à l'équilibre ($a_w=0,8$):

[Flannigan, 1996]

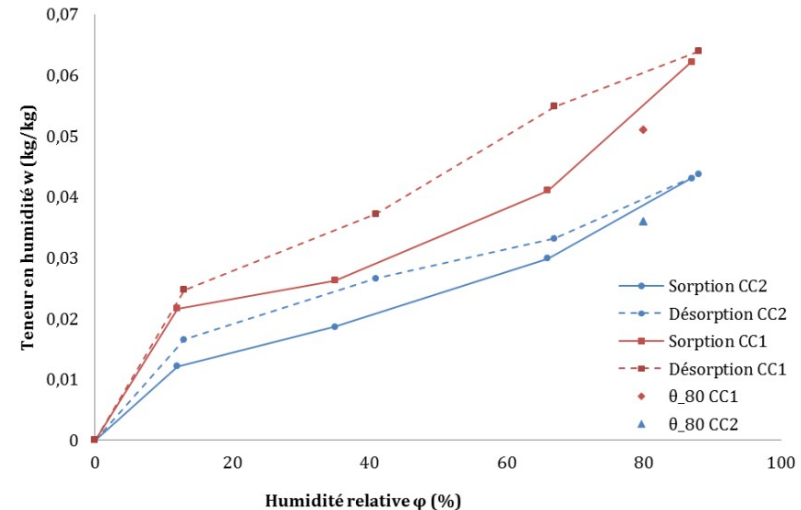
- Bois tendre : 17%
- Papier peint : 11,3%
- Mat. cimentaires : 1%
- Briques : 0,1-0,9%
- Plaque de gypse : 0,7%

Isothermes sorption/désorption

Isothermes de sorption/désorption de mélanges à base de terre compactée [Anglade, 2022]



Isothermes de sorption de mélanges chaux-chanvre [Claude, 2018]



Connaissance des **isothermes** → permet de corréliser des teneurs en eau à des HR % pour l'évaluation des risques de croissance microbienne.

! **Hystérésis** → Pour une même quantité d'eau → **susceptibilité** à la croissance fongique est + **forte en adsorption**.

Humidité et température



Chaque organisme :
HR % et **T°C** optimums



Relations **HR %-T°C-croissance** :
étudiées sur milieux gélosés depuis
de nombreuses années.

[Ayerst, 1969; Magan and Lacey, 1984; Smith and Hill, 1982]

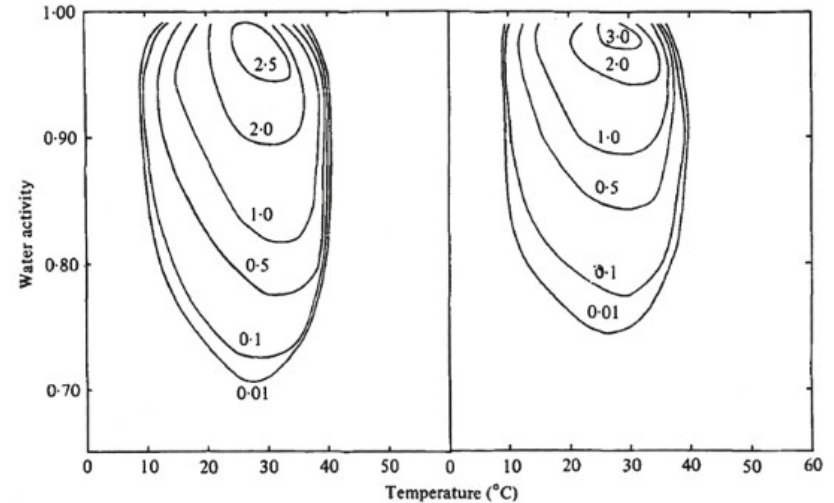


Figure 2 Effect of temperature and water activity on growth rate of two microfungi; *Aspergillus restrictus* (left) and *Aspergillus versicolor* (right). The numbers on the isoplethes are growth rates in mm^{-1} (Magan and Lacey 1994)

Humidité et température - modélisation

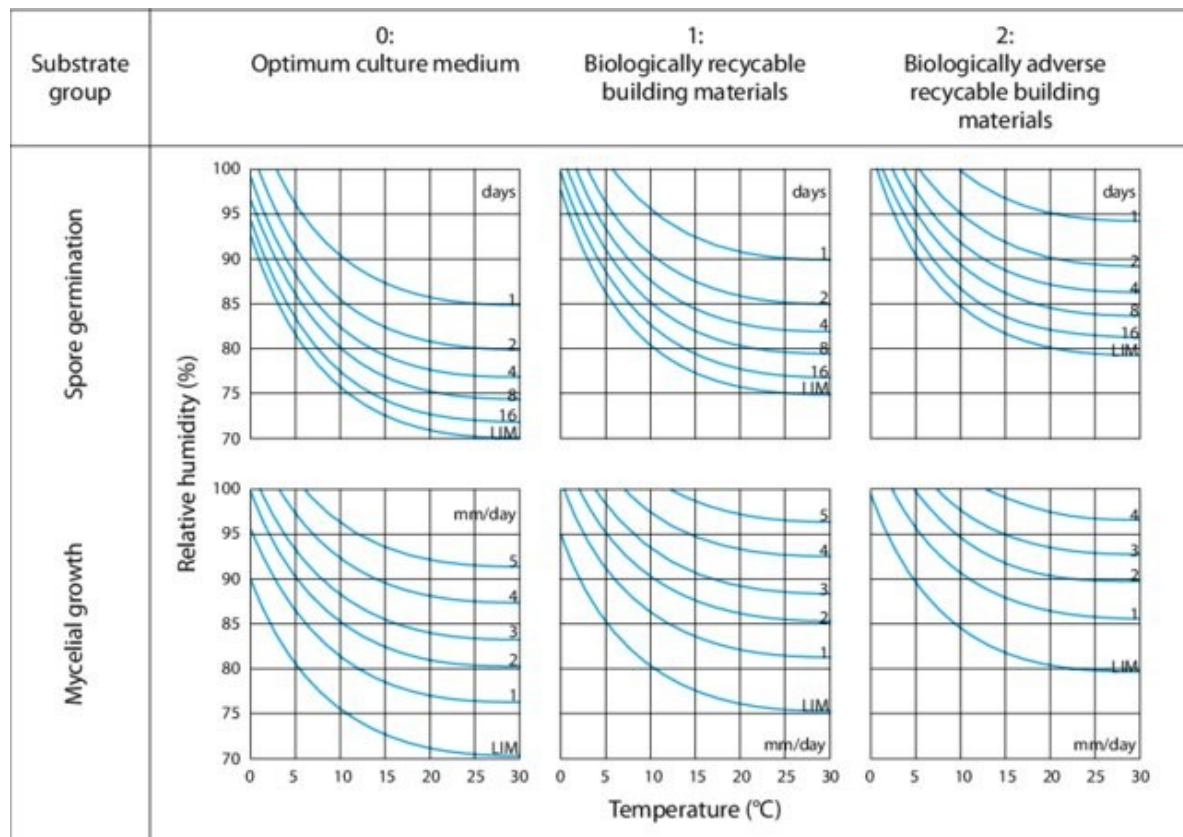


Table 2. Critical relative humidity for various groups of materials

Material group	Relative humidity (%)
Wood and wood-based materials	75–80
Paper on plasterboard	80–85
Mineral insulation materials	90–95
Extruded and expanded polystyrene	90–95
Concrete	90–95

Source: Johansson et al. (2005).

Limites :

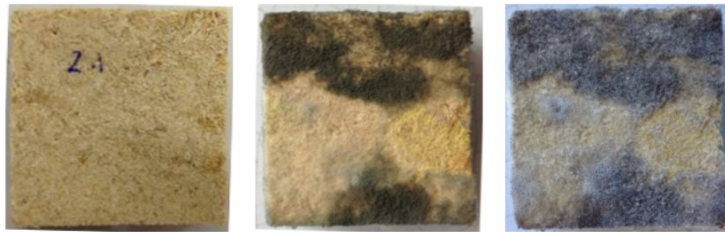
- basée sur la croissance cumulée à %HR maintenue.
- Pas d'information sur les effets cycliques ou décroissance après séchage
- Mise en oeuvre.

[WHO 2009] Guideline for IAQ - Dampness and mould, adapted from Sedlbauer, 2001.

Modèle VTT :

- modèle mathématique de croissance fongique
dvpé à partir de d'observations surfaciques +
suivi HR % et T°C sur bois

Hukka and H.A. Viitanen. A mathematical model of mould growth on wooden material. *Wood Science and Technology*, 33(6):475–485, 1999. 3, 4, 8, 23
H. Viitanen. Moisture and biodeterioration risk of building materials and structure. *Journal of Building Physics*, 33(3):201–224, 2010. 3, 4, 8, 15, 23



(a) $t = 0$ days, $M = 0$ (b) $t = 8$ days, $M = 4$ (c) $t = 15$ days, $M = 6$

Figure 2: Illustration of mold growth on the fiberboard for $\phi = 0.97$ at different times.

Montre des limites

[Berger et al., 2018]



Étude sur bambou.

VTT échoue à prédire correctement la prolifération. (Berger et al. Adaptent le modèle mathématiquement) → donne de bons résultats pour un matériau différent.

[Menner et al. 2022]

Adapte le modèle VTT → prédiction avec étude *in situ* (mesure de T°C/HR + contamination visuelle + olfactive déclarative, i.e. par les occupant-es.

Donne de bons résultats
(constante de “sensibilité” pour
tenir compte du matériau →
nécessite des essais...)

**Doivent svt être calibrés
pour chaque nouveau
matériau**

Table 2. Critical relative humidity for various groups of materials

Material group	Relative humidity (%)
Wood and wood-based materials	75–80
Paper on plasterboard	80–85
Mineral insulation materials	90–95
Extruded and expanded polystyrene	90–95
Concrete	90–95

Source: Johansson et al. (2005).

Calibrage (en labo) :

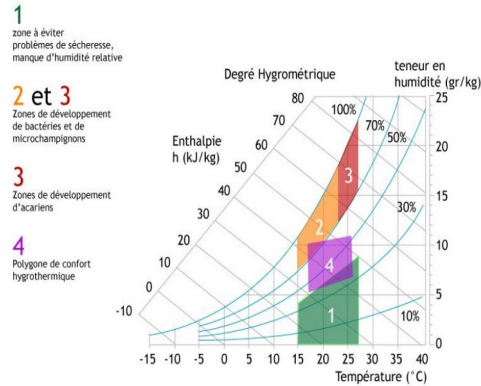
- Mesures pour matériaux stérilisés (matériaux en conditions réelles : ↓ HR_{crit} (75-80%))
- Incertitudes de mesure sur %HR...

[Johansson, 2005]

Sources d'eau dans les bâtiments

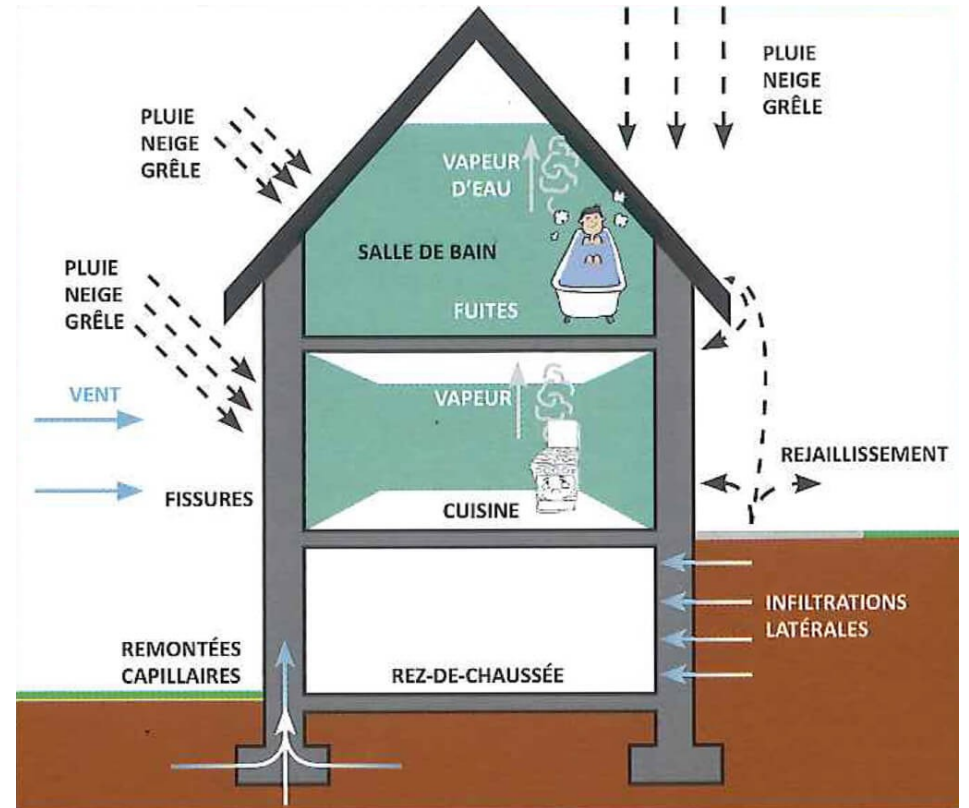
Condensation

- Sur paroi
- Dans la masse



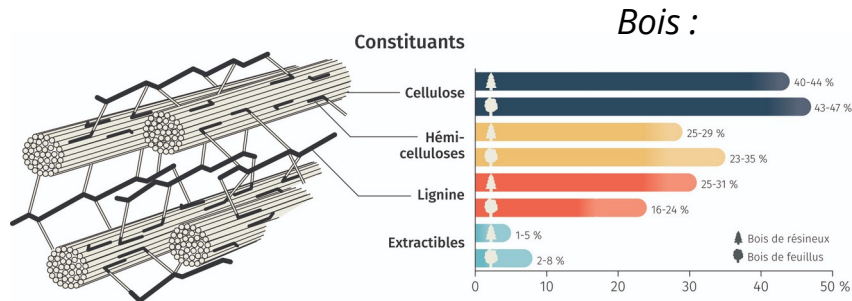
- Surtout en hiver, logements mal isolés, présences de ponts thermiques...
- Dans les caves, sous-sols...
- Mauvaise rénovation sur bâti ancien
- Présence d'un hydrofuge/pare vapeur sur parois perspirantes
- Climats tropicaux (infiltration d'air ext. Dans locaux climatisés) : ex. Singapour

Autres sources



Matériaux cellulosiques

Matériaux + sensibles à la prolifération
= contiennent des polymères organiques naturels



Nb de MO capables de dégrader ces éléments :

+++++

**Amidon,
hémicellulose,
pectine**

+++

Cellulose

+

Lignine

[Flannigan, 2011]

Matériaux bio-sourcés, plaque de plâtre,
papier-peints...

Influence du matériau support

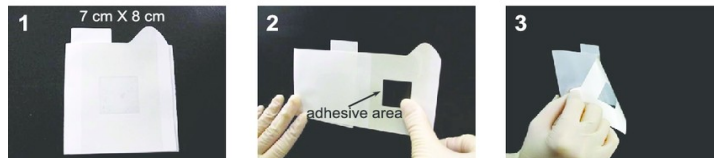
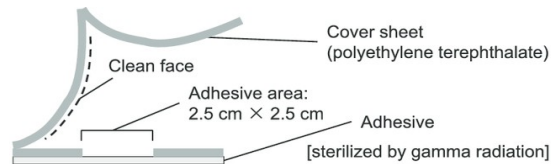
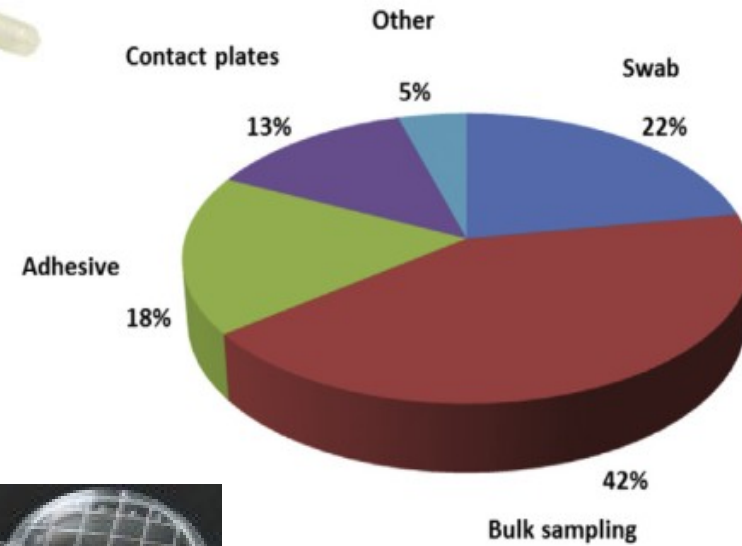
Cellulosiques	Minéraux	Autres types
Biosourcés, Plaque de plâtre, papier peint, bois...	Briques, mortier, béton, etc.	Isolations synthétiques, plastiques, colles, etc.
<i>Penicillium, Aspergillus</i>		
Plus sensibles De nombreux micro-organismes	Relativement peu d'espèces (les plus ubiquitaires) <i>Penicillium, Aspergillus, Eurotium</i>	Dépend de la source de carbone

Méthodologies d'investigation

Prélèvements

Méthodes de prélèvement

- En « masse » (bulk sampling)
- Écouvillons
- Adhésifs
- Géloses contacts
- Etc.



[Yamaguchi et al., 2014]



Pourcentages d'utilisation sur 33 études in situ sur matériaux de construction [Verdier et al. 2014]



[Simons, 2018]

- Méthode **destructive**
- Récupération d'une petite quantité de matériau par grattage (scalpel)
- Technique utilisée de manière récurrente sur matériaux de construction
- Permet de récupérer une « grande » quantité d'organismes

Écouvillonnage



- Facile d'utilisation, à transporter
- bon marché,
- surfaces difficilement accessibles (joints de fenêtre, angles de murs...)

Semble moins efficace sur matériaux poreux/rugueux mais **peu d'études comparatives**

Mais efficacité du prélèvement impacté par :

[Verdier et al. 2014]

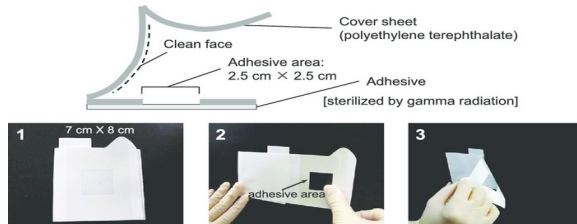
- L'opérateur-rice
- Type d'écouvillon (coton, mousse, vinyle, polymère, nylon...)
- Si imprégné d'un milieu nutritif ou non
- Type de matériau / surface :

Matériaux / Surfaces	Efficacité*
Verre	52%
Bois laminé	29%
Béton	0,8%

[Buttner et al. 2007]

Adhésifs

- Application d'un adhésif sur une surface contaminée
- Simples d'utilisation, peu coûteux, rapides à mettre en place,
- Utilisés sur surface sèche et plane



[Yamaguchi et al., 2014]

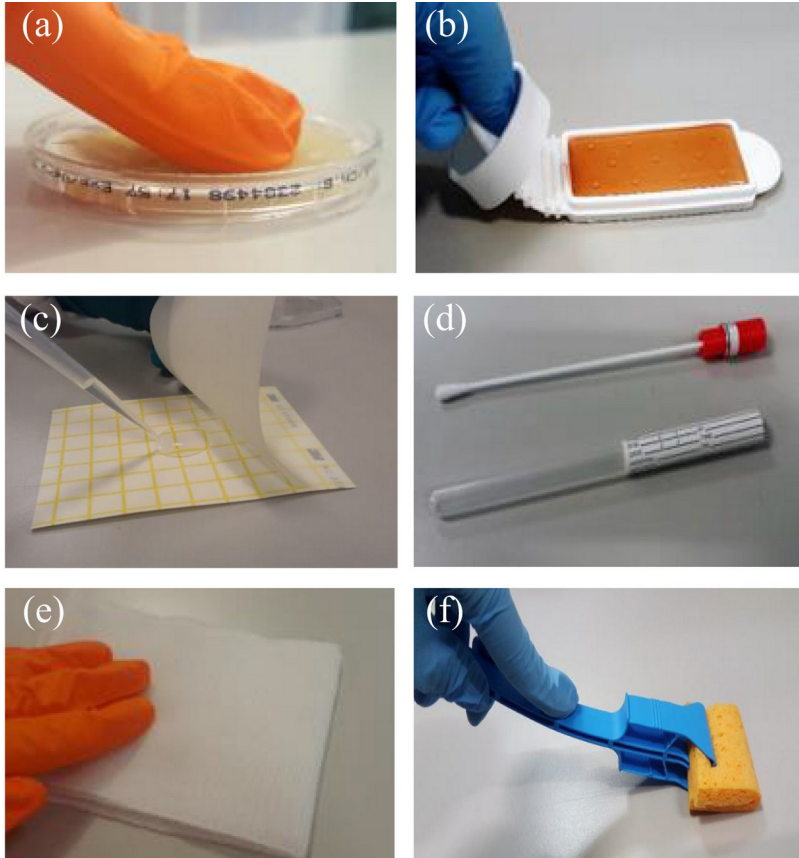
Géloses contact

- Application d'un milieu gélosé sur une surface contaminée
- **Variabilité** : pression et temps d'application
- Kits commerciaux spécifiques



Globalement **peu d'études comparatives** et sur l'efficacité des prélèvements sur **matériaux de construction** (toutes méthodes confondues)

Recommandations



- Prélèvements à différentes échéances
- Enregistrement des paramètres impactant la croissance (%HR, T°C...)
- Poursuivre les études sur l'efficacité des prélèvements sur les surfaces
- **Représentativité des isolats**



Méthodologies d'investigation

Analyses

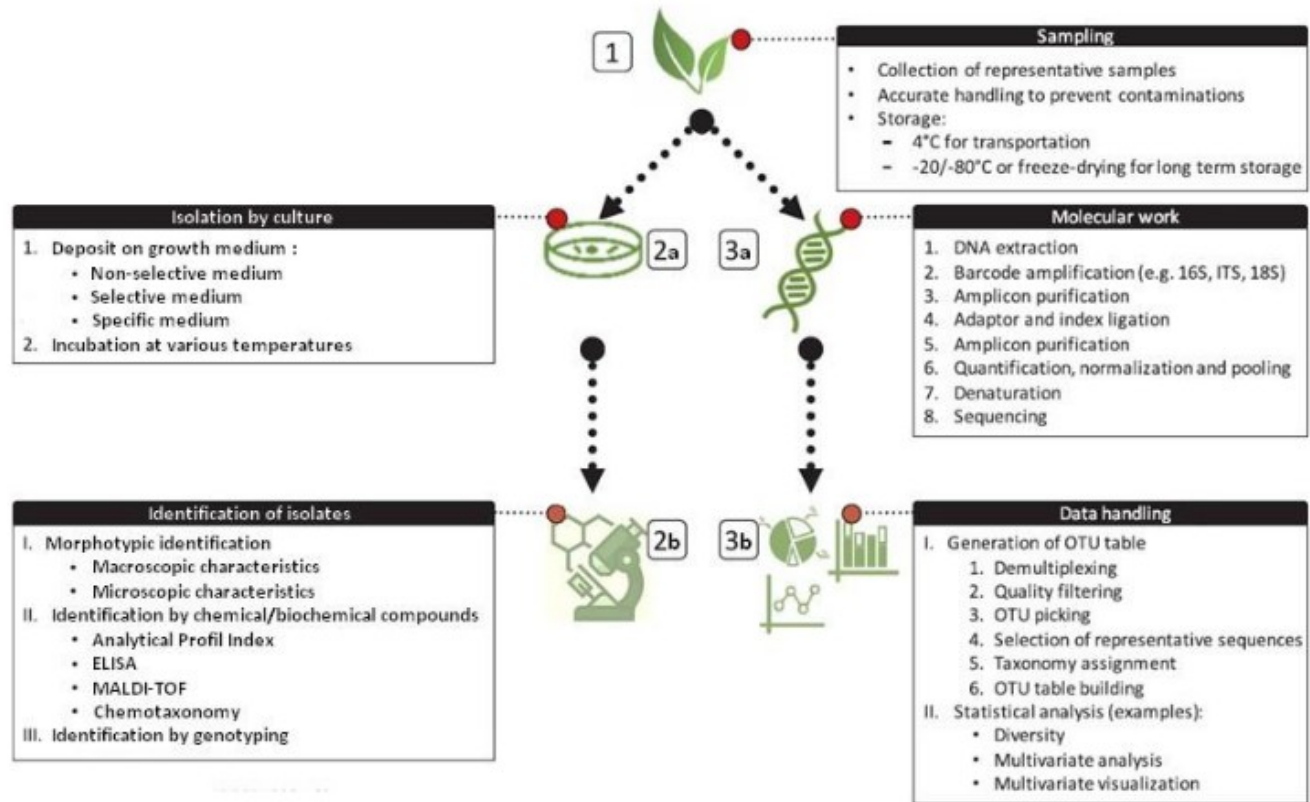
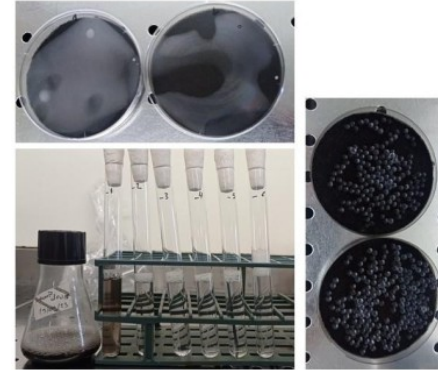


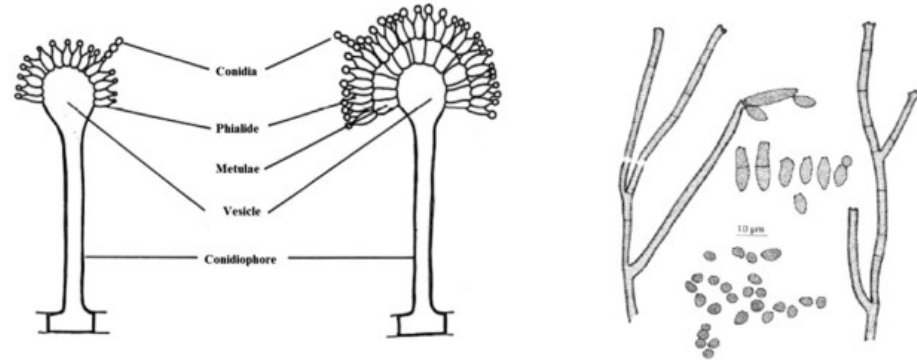
Figure 2.8 : Schéma des approches culturelles et moléculaires pour l'identification des microorganismes environnementaux.

Les différentes étapes présentées sont regroupées en 3 catégories : (1) le prélèvement, (2) les approches culturelles (2a : isolement par culture ; 2b : identification des isolats), (3) les approches de métabarcoding (3a : séquençage haut-débit ; 3b : bio-informatique et bio-statistiques). Adapté de (Abdelfattah et al., 2017).

- Une des principales méthodes d'identification : **isolement sur milieu nutritif**
 - Milieux non sélectifs
 - Milieux sélectifs
 - Milieux spécifiques
- Reconnaissance phénotypique
- Qualitatif / quantitatif



[Al Hallack, en cours]



(a)

(b)

[Samson et al., 2004]

Fig. 3. Illustration of the typical morphology of the genera *Aspergillus* (a) and *Cladosporium* (b) [83].

Méthodes utilisant la culture en milieux nutritifs

Évaluation quantitative : le dénombrement des **Unités Formant Colonie**

(UFC)

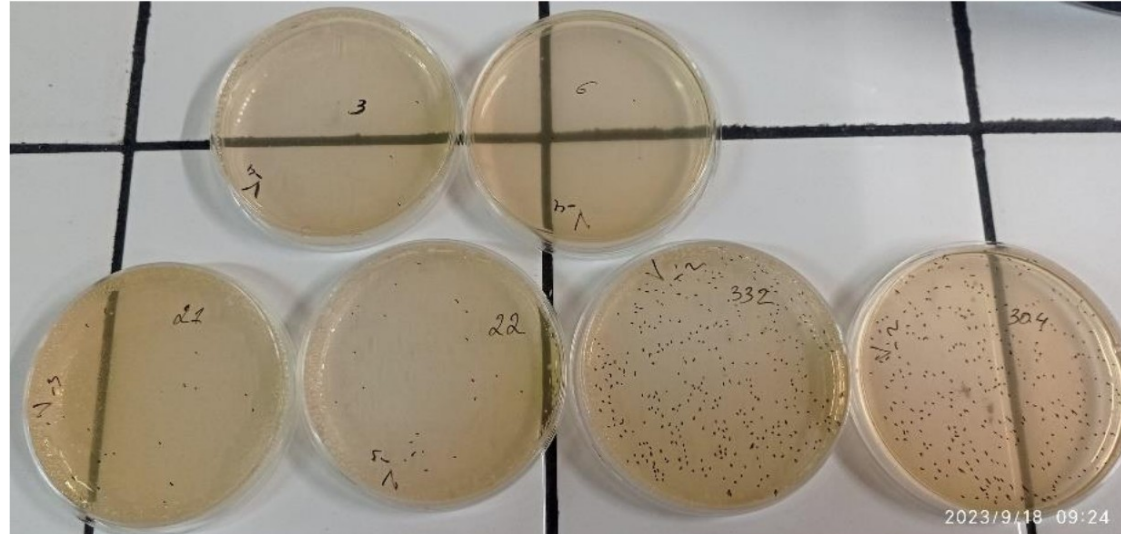
01 Prélèvement

02 Mise en suspension

03 Ensemencement

04 Incubation

05
Dénombrement



Méthodes utilisant la culture en milieux nutritifs

Principaux milieux utilisés dans les études sur matériaux de construction [Simons, 2018].

Champignons		
Type de milieu	Utilisation	Références
MEA	Milieu pour l'isolement des champignons mésophiles	(Andersson et al., 1997; Beguin and Nolard, 1994; Chao et al., 2002; Gutarowska, 2010; Hyvärinen et al., 2001; Pastuszka et al., 2000; Pitkäranta et al., 2008; Reboux et al., 2009; Reenen-Hoekstra et al., 1991; Samson et al., 2010; Shelton et al., 2002; Toivola et al., 2002)
DG18	Milieu pour l'isolement des champignons xérophiles	(Andersson et al., 1997; Chao et al., 2002; Hyvärinen et al., 2001; Pitkäranta et al., 2008; Reboux et al., 2009; Reenen-Hoekstra et al., 1991; Takahashi, 1997; Toivola et al., 2002)
de Sabouraud	Milieu d'isolement non sélectif	(Cooley et al., 1998; Santucci et al., 2007)
V8	Milieu favorisant la sporulation. Ne permet pas la croissance de champignons xérophiles	(Andersen et al., 2011; Gravesen et al., 1999; Samson et al., 2010)
PDA	Milieu pour l'isolement de levures et moisissures. Favorise les champignons phytopathogènes et la sporulation	(Takahashi, 1997)
Bactéries		
TSA	Milieu non sélectif	(Andersson et al., 1997; Bouillard et al., 2005; Pastuszka et al., 2000)

Les limites :

- Grande majorité des organismes : viables non-cultivables...
- Diversité biaisée par le milieu de culture (cycles de croissance différents, quantité de nutriments...)
- Pas d'information sur les éléments non viables (organismes morts, fragments fongiques...)
- Sur-représentation de certains organismes ?

Méthodes "chimiques"

- Discrimination/identification possible de certains organismes par :
 - Mesures de **composés de la membrane** fongique (glucanes, ergostérol, polysaccharides...)
 - Mesure de **composés produits** (mycotoxines, COVm, allergènes...)
 - Essais **immunologiques** (ELISA, LAL...) → réactions antigènes/anticorps
- Miniaturisation des tests (galeries API)
- Quantification indirecte (état métaboliques)

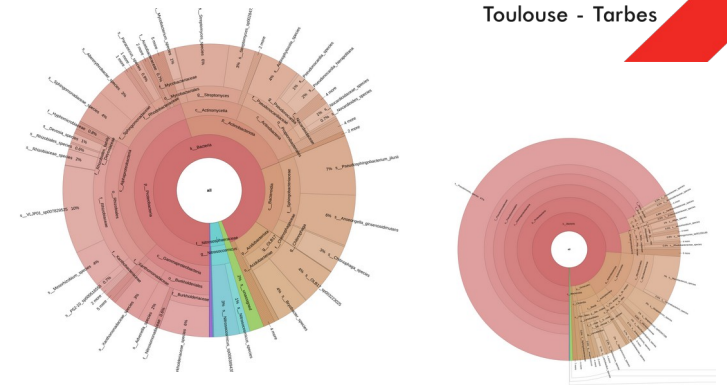


Mais → pas de corrélation absolue entre type et concentration des métabolites. Ex. :
Plusieurs métabolites produits par une même espèce et inversement

[Tuomi et al. 2000,
Andersen, 2002]

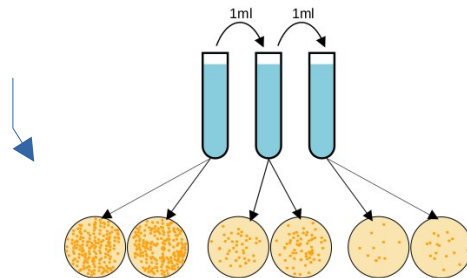
Méthodes de biologie moléculaire

- De nombreuses méthodes existent
- **Diversité microbienne environnementale** plus exhaustive
 - Ciblent tous les organismes (viable non cultivables, non viable...)
- Possibilité de quantifier
- Certaines méthodes → **limites de détection élevée** (source ADN doit être suffisante) → pb sur prélèvements aériens
- Moins chronophages que culture mais plus cher
- Nécessitent de connaître les amorces donc d'avoir une idée des organismes présents...



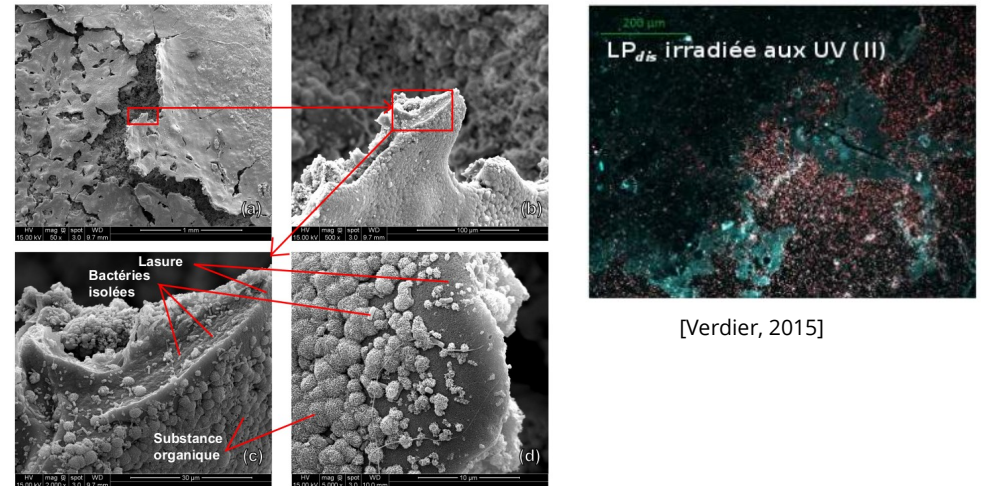
- Binoculaire
- MEB
- MET
- Epifluorescence, Confocal

- Comptage des UFC →
évaluation quantitative de
populations



Observation directe sur support

Évaluation **qualitative** (ou **quantitative**) de la prolifération en surface – analyse d'images)



[Verdier, 2015]

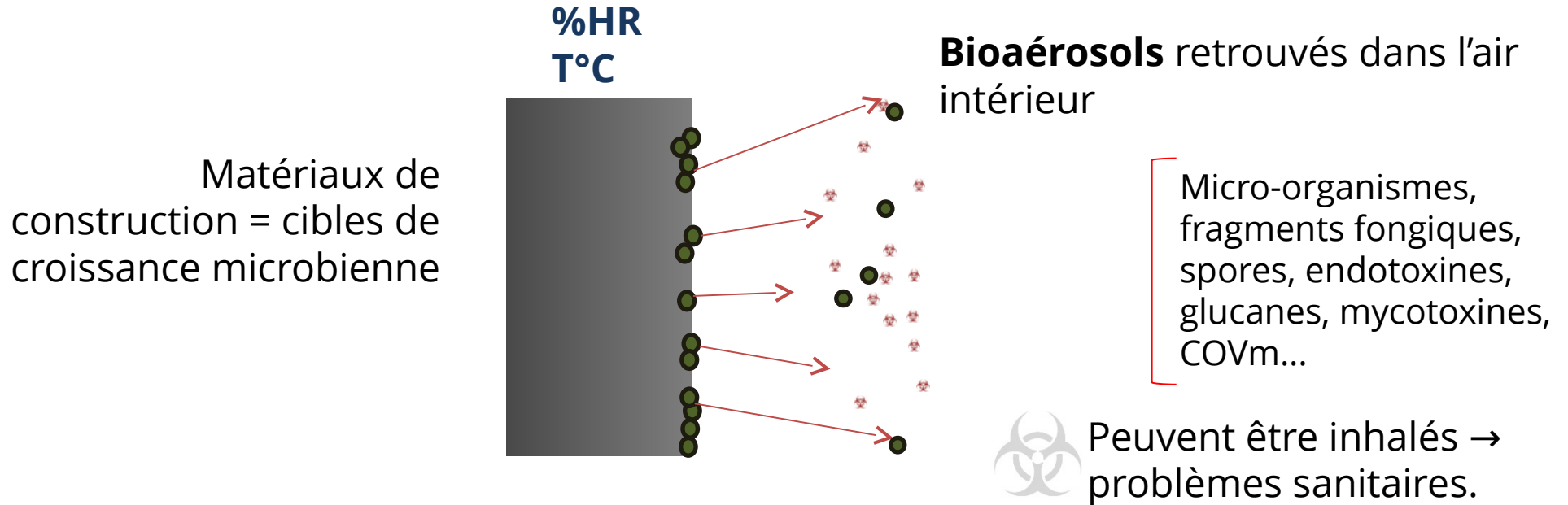
Figure 4.19 – Clichés MEB (mode SE) d'un échantillon recouvert de LP_{d6} , et exposé aux UV pendant 24h d'essai. Les agrandissements, $\times 50$ (a), $\times 500$ (b), $\times 2000$ (c) et $\times 5000$ (d), permettent d'observer une substance bactérienne colonisant la lasure.

2014: **(ISO 16000-21)** - Detection and quantification from materials



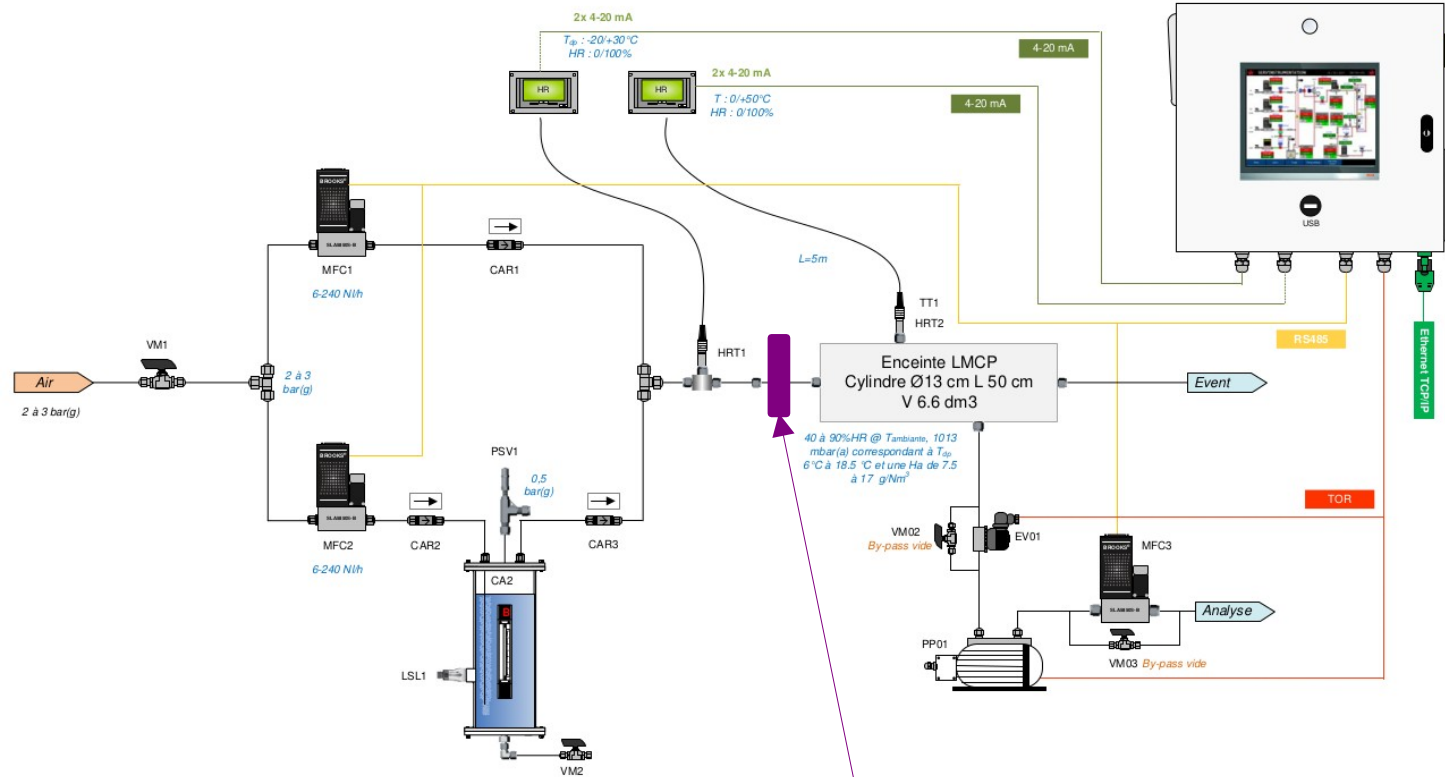
- Définir l'approche (objectif)
- **Croiser les méthodes** (prélèvements et analyses)

Aérosolisation des micro-organismes



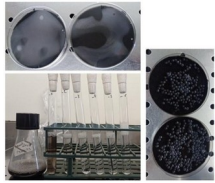
- Peu d'études sur les **processus d'aérosolisation** en environnement intérieur depuis les matériaux de construction
- Quid de l'impact de la **prolifération** en **surface** des matériaux sur les concentrations microbiennes dans l'air intérieur ?

Développement d'un banc expérimental



Développement d'un banc expérimental

Préparation d'une suspension de spores fongiques



Conditionnement des échantillons (%HR/T°C)

Inoculation et Incubation

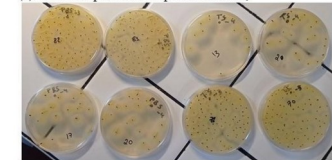
Croissance jusqu'à sporulation

Mise en place dans le banc + prélèvement

Analyse (dénombrement UFC)

- ✓ Validation du temps de croissance avant sporulation
- ✓ Validation du liquide de récupération
- ✓ Validation des conditions de stérilité
- ✗ Validation de la quantité d'air prélevée

(a): Counted spore cells on petridishes at T_0



(b): Counted spore cells on petridishes at T_{24}

