

3<sup>ème</sup> 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](mailto: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.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](https://www.notre-planete.info/actualites/3507-cryptogames_carbone_azote)

## Subaquatiques

*Algues, bactéries...*

[https://bybeton.fr/grand\\_format/beton-biometrique-sauver-poissons](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](https://oceanexplorer.noaa.gov/explorations/O4fire/logs/april08/media/bacteria_algae.html)

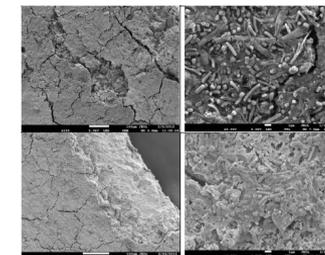
## Assainissements

*Bactéries...*

[https://www.merusonline.com/biofouling\\_biofilm/](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

LMDC

Toulouse - Tarbes

Risque  
pour la  
santé



[IoM04]

[No103, Gut02]

Des centaines  
d'espèces  
identifiées

Micro-organismes

%HR,  
T°C

Mtx de construction

**Aérosolisation**  
de particules  
microbiennes

Peu clair

Peu clair

**Trouble de la  
santé** chez les  
occupant-es

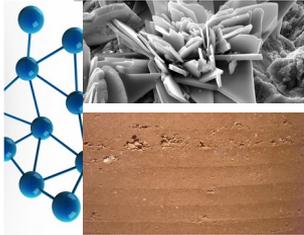
Humidité et  
micro-  
organismes

**Correlation**

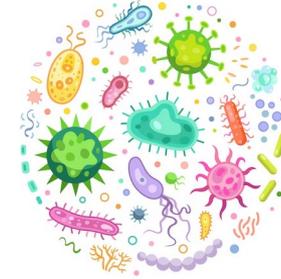
Trouble de  
la santé  
spécifique

**Mtx de construction** = sites majeurs de croissance microbienne +  
Sources de bio-aérosols  
%HR, T°C

# Domaine à l'interface



Science des  
**matériaux**

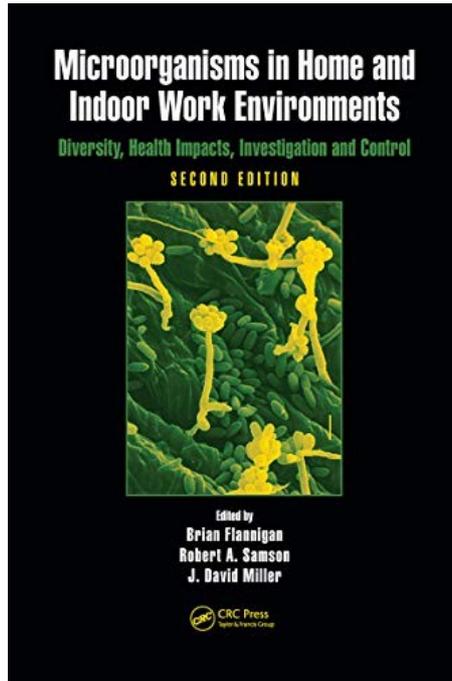


**Microbiologie**

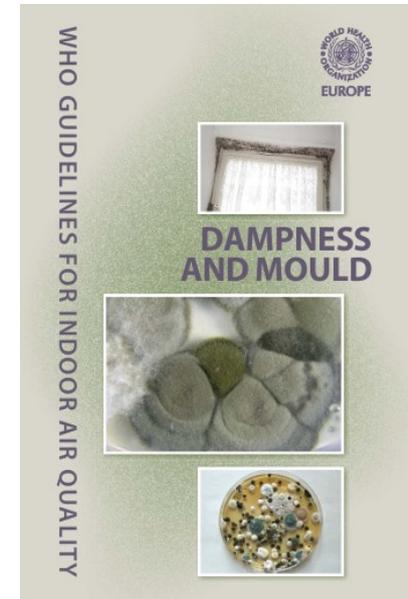


Sciences **Médicales / Santé**

# 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

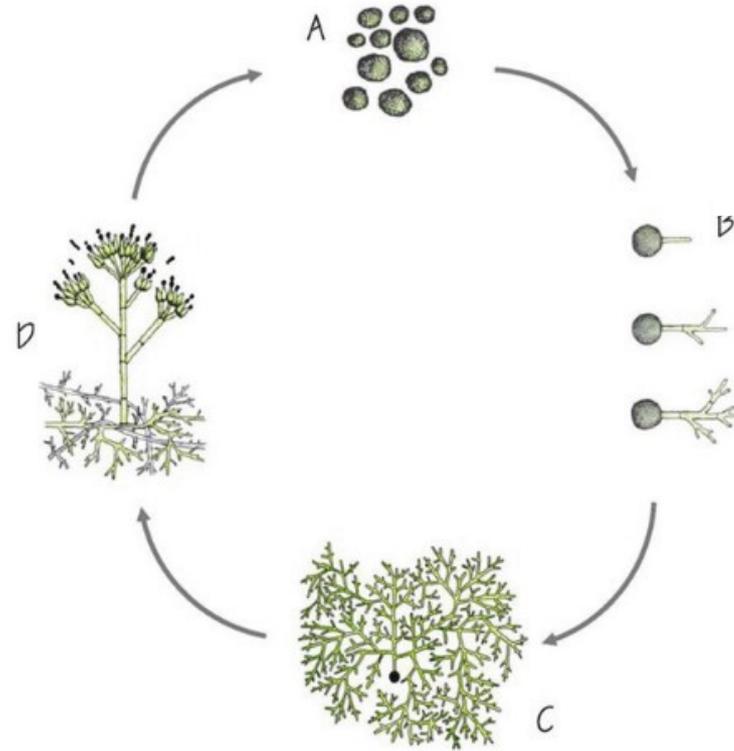


WHO Guidelines for indoor  
air quality : Dampness and  
mould, 2009.

# 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]

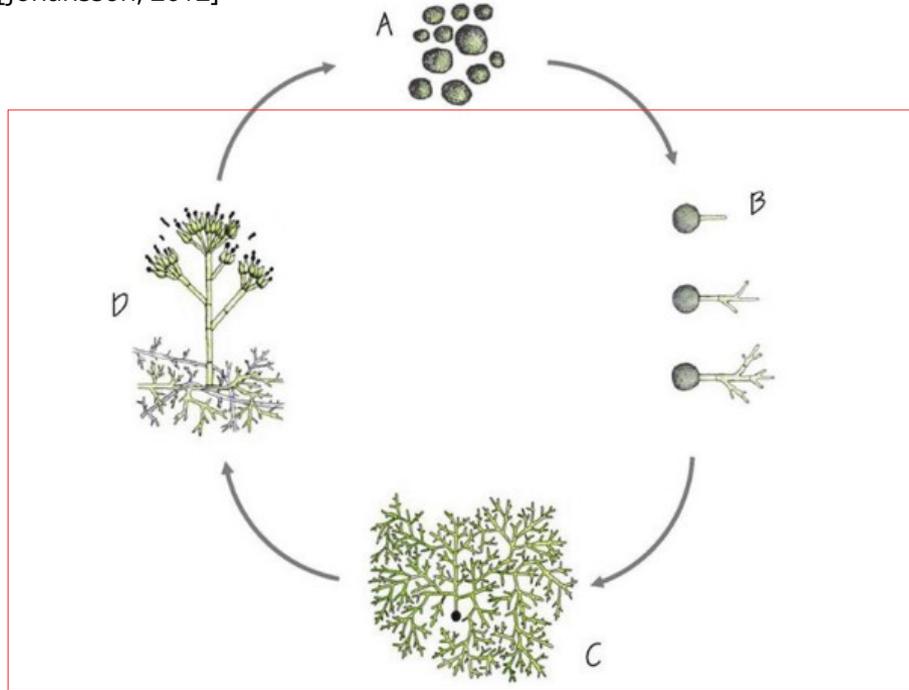
**Impact significatif sur la charge microbienne à l'intérieur**

## 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)

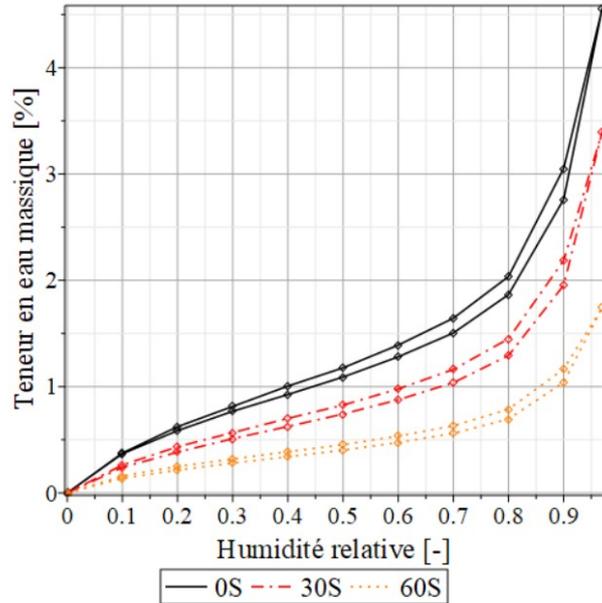
Teneurs en eau de matériaux à 80%HR à l'équilibre ( $a_w=0,8$ ):

[Flannigan, 1996]

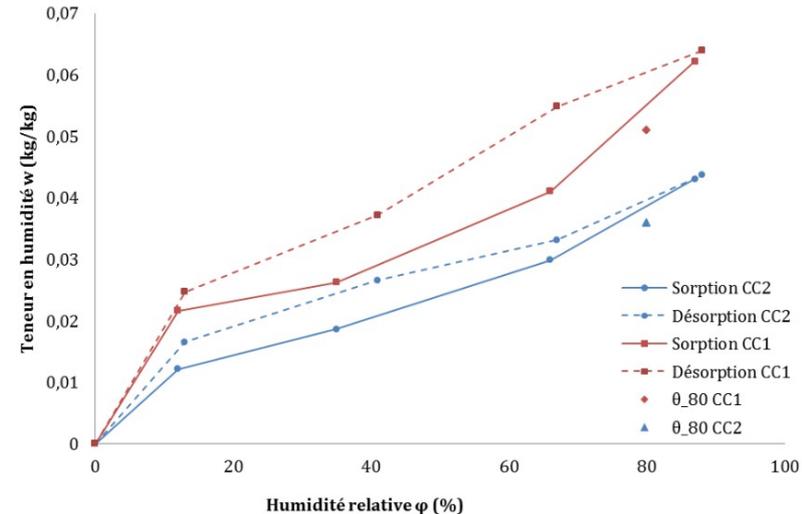
- Bois tendre : 17%
- Papier peint : 11,3%
- Mat. cimentaires : 1%
- Briques : 0,1-0,9%
- Plaque de gypse : 0,7%

# 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]

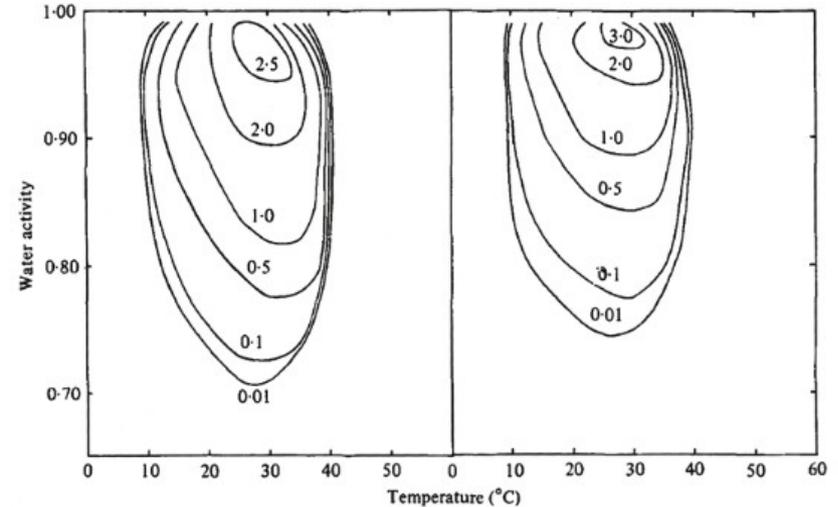


Figure 2 Effect of temperature and water activity on growth rate of two microfungi; *Aspergillus restrictus* (left) and *Aspergillus versicolor* (right). The numbers on the isoplethes are growth rates in  $\text{mm}^{-1}$  (Magan and Lacey 1994)

# Humidité et température - modélisation

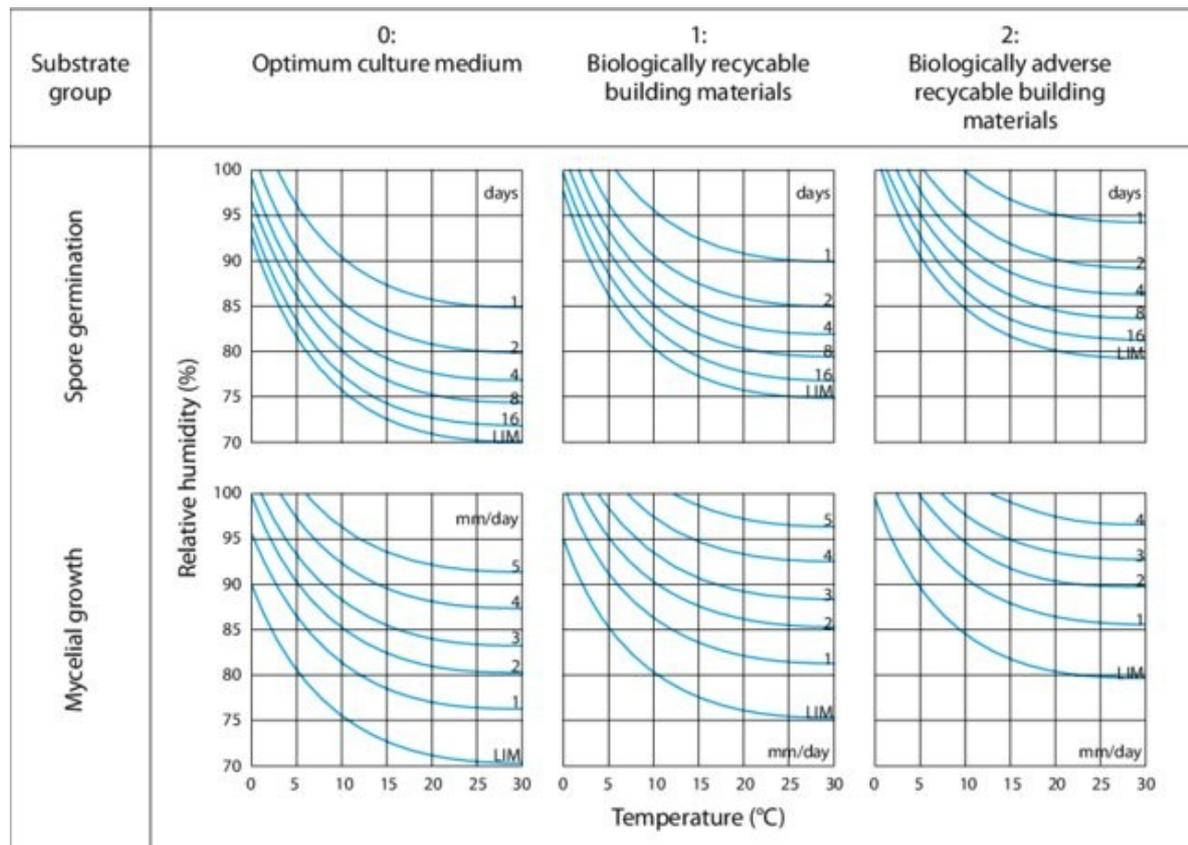


Table 2. Critical relative humidity for various groups of materials

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) :

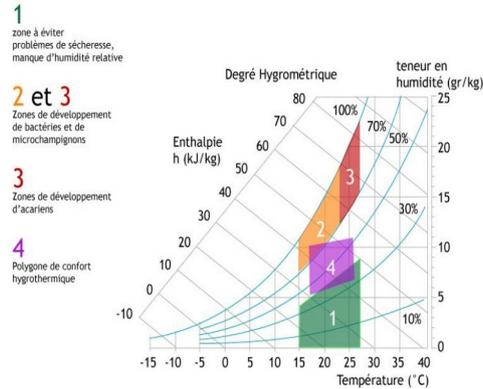
- Mesures pour matériaux stérilisés (matériaux en conditions réelles : ↓ HR<sub>crit</sub> (75-80%))
- Incertitudes de mesure sur %HR...

[Johansson, 2005]

# Sources d'eau dans les bâtiments

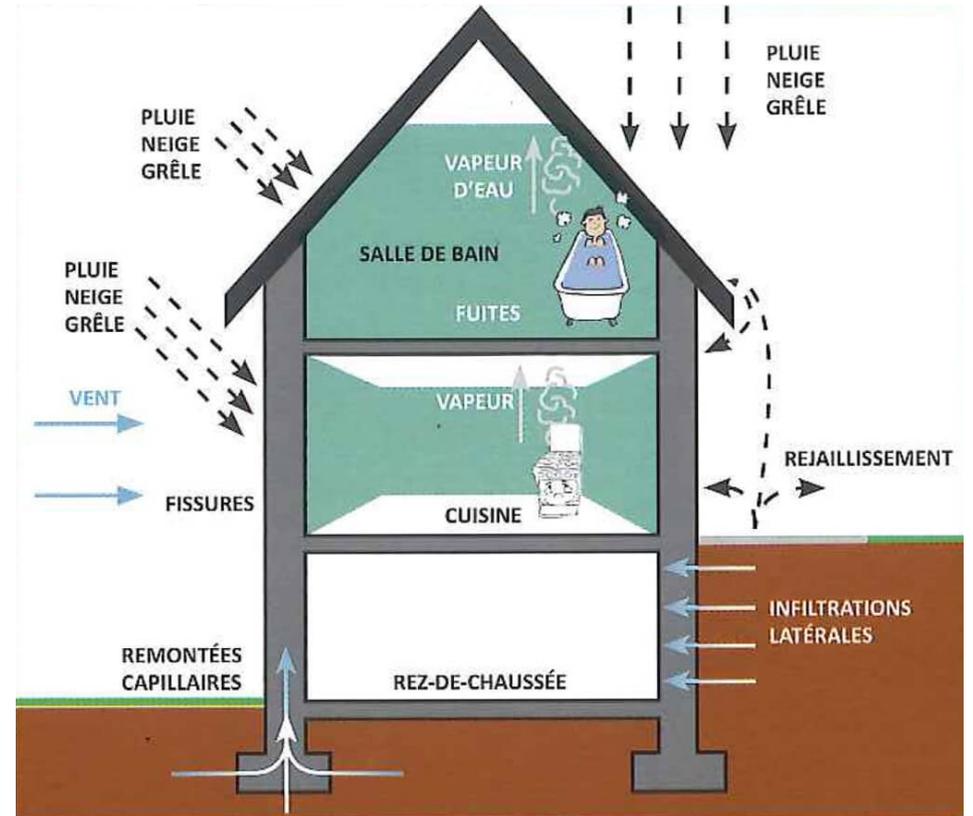
## Condensation

- Sur paroi
- Dans la masse



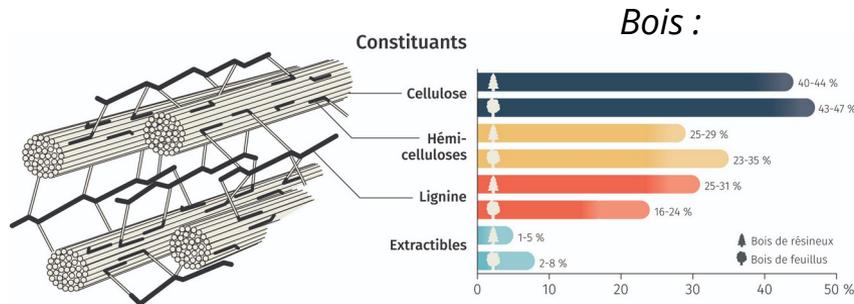
- Surtout en hiver, logements mal isolés, présences de ponts thermiques...
- Dans les caves, sous-sols...
- Mauvaise rénovation sur bâti ancien
- Présence d'un hydrofuge/pare vapeur sur parois perspirantes
- Climats tropicaux (infiltration d'air ext. Dans locaux climatisés) : ex. Singapour

## 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>		
<b>Plus sensibles</b>  De nombreux micro-organismes	Relativement peu d'espèces (les plus ubiquitaires)  <i>Penicillium, Aspergillus, Eurotium</i>	Dépend de la source de carbone

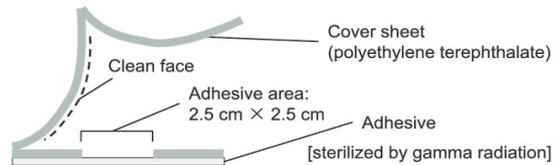
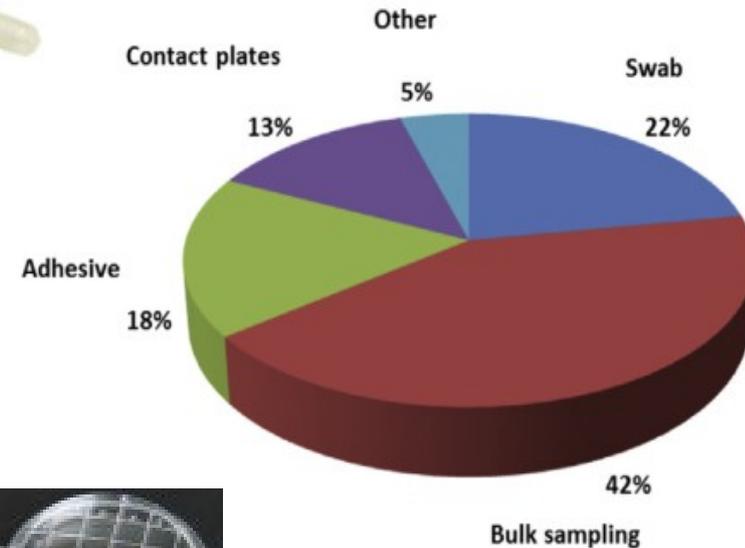
# Méthodologies d'investigation

---

*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]

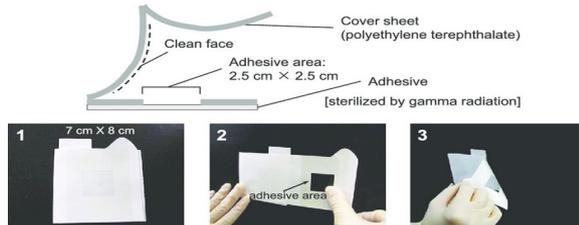
- L'opérateur-rice
- Type d'écouvillon (coton, mousse, vinyle, polymère, nylon...)
- Si imprégné d'un milieu nutritif ou non
- Type de matériau / surface :

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]

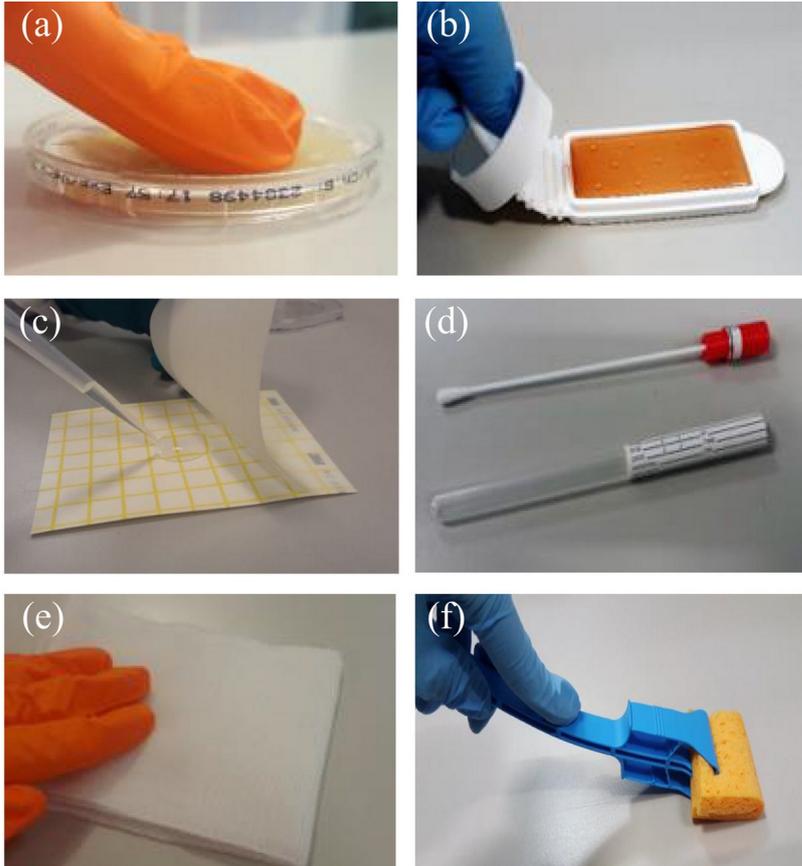
## Géloses contact

- 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*

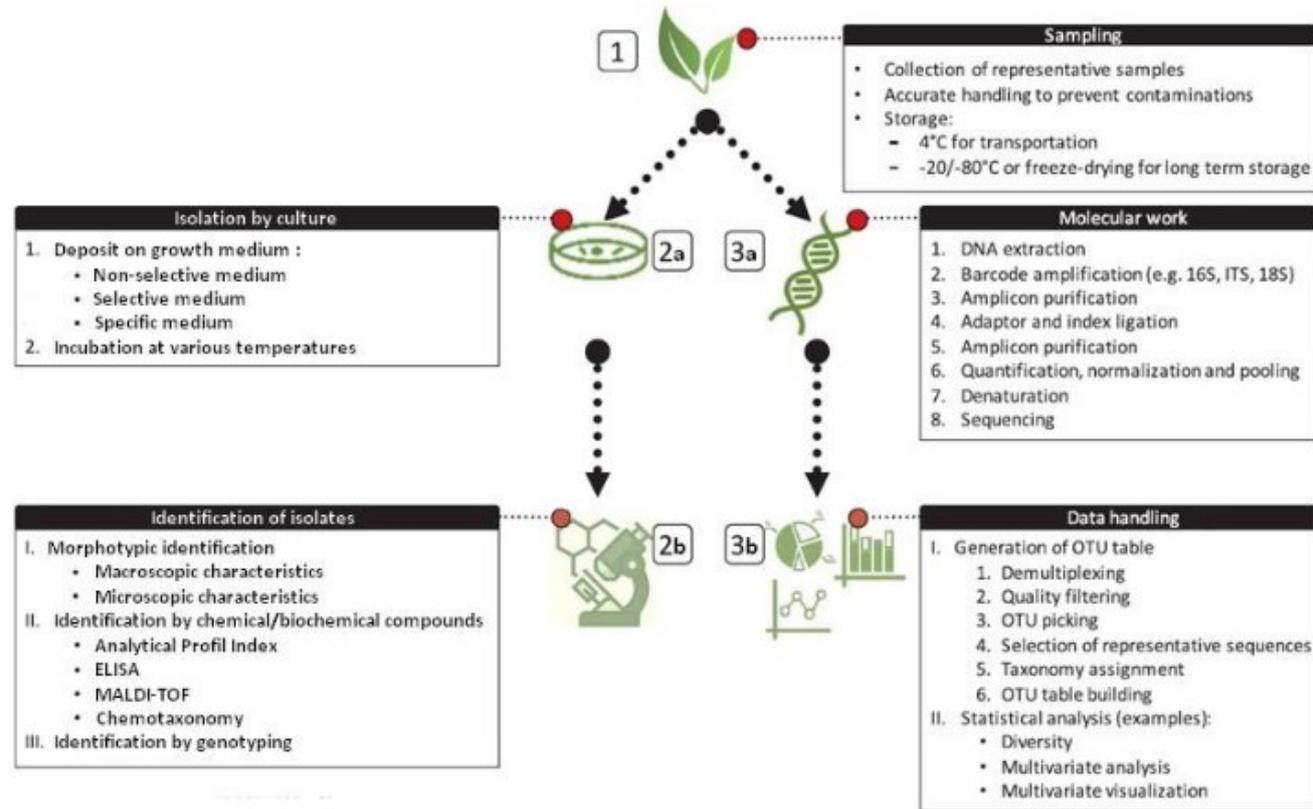
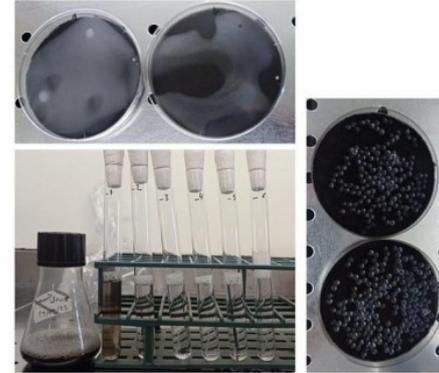


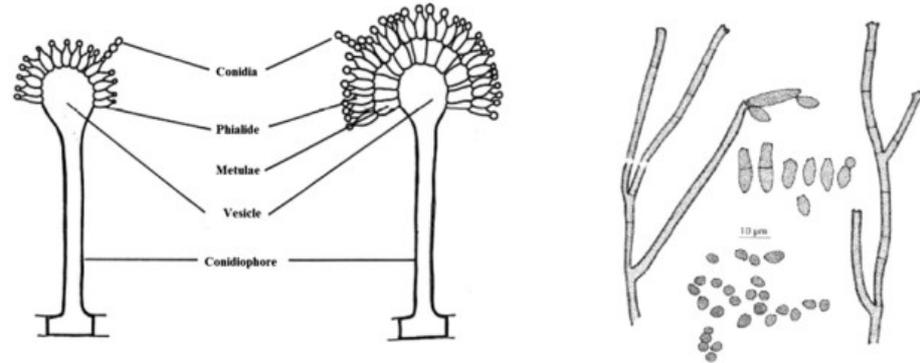
Figure 2.8 : Schéma des approches culturelles et moléculaires pour l'identification des microorganismes environnementaux.

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]



[Samson et al., 2004]

(a)

(b)

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)

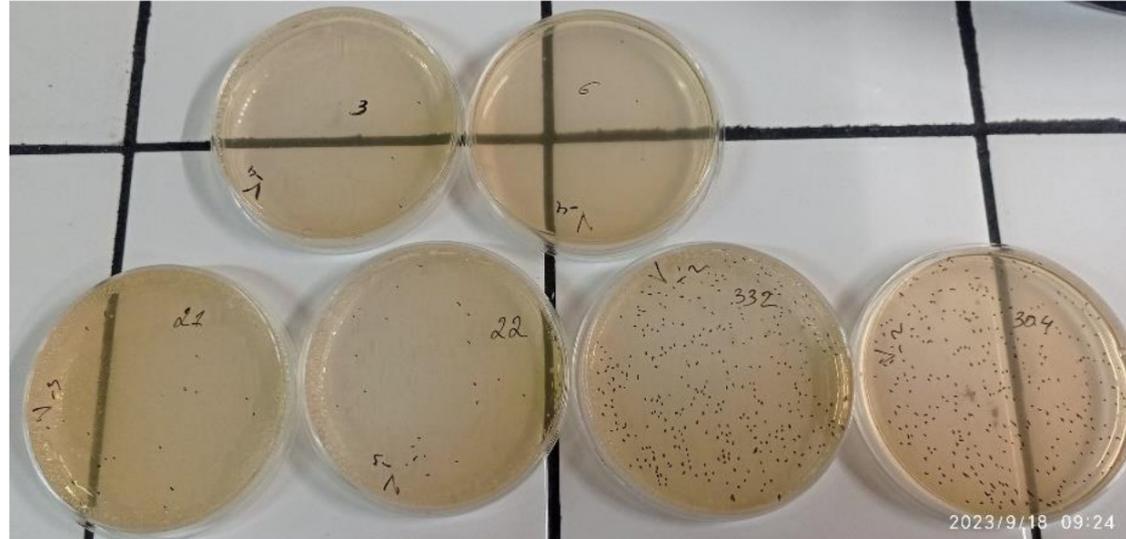
01 Prélèvement

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 :

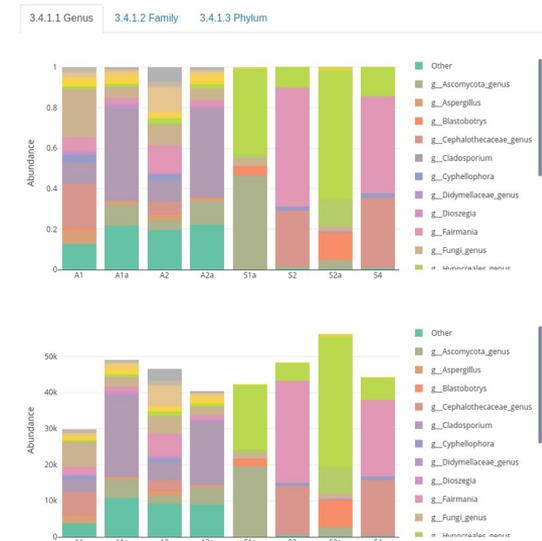
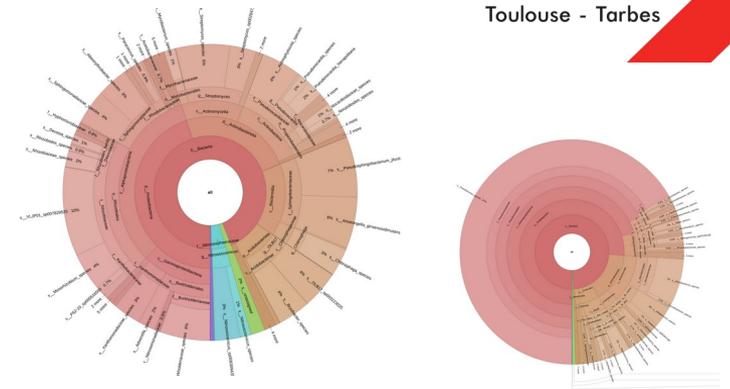
- Grande majorité des organismes : viables non-cultivables...
- Diversité biaisée par le milieu de culture (cycles de croissance différents, quantité de nutriments...)
- Pas d'information sur les éléments non viables (organismes morts, fragments fongiques...)
- Sur-représentation de certains organismes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



# Autres méthodes d'identification

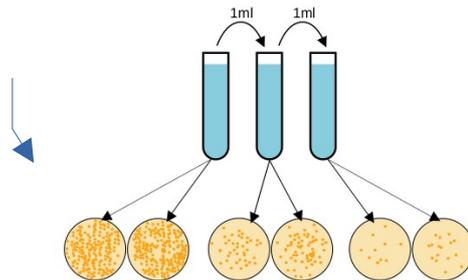
## Méthodes de biologie moléculaire

- 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)

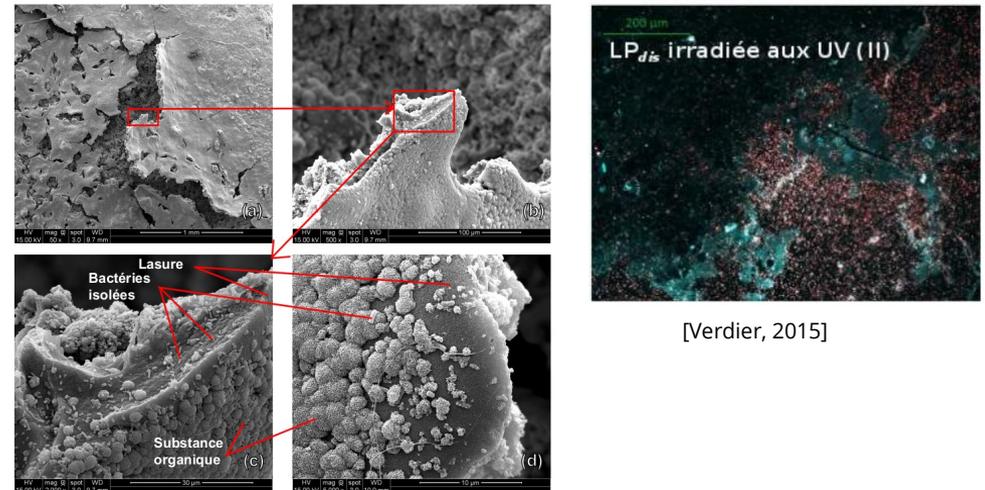


Figure 4.19 – Clichés MEB (mode SE) d'un échantillon recouvert de LP<sub>ds</sub>, et exposé aux UV pendant 24h d'essai. Les agrandissements, x50 (a), x500 (b), x2000 (c) et x5000 (d), permettent d'observer une substance bactérienne colonisant la lasure.

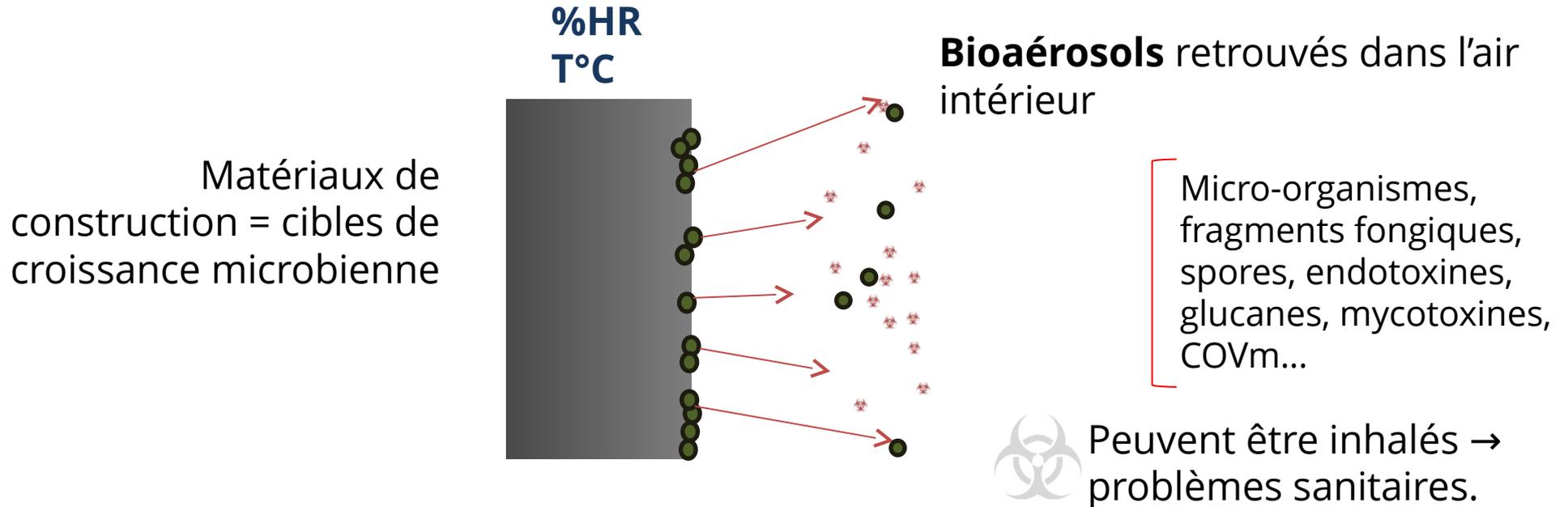
2014: **(ISO 16000-21)** - Detection and quantification from materials



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

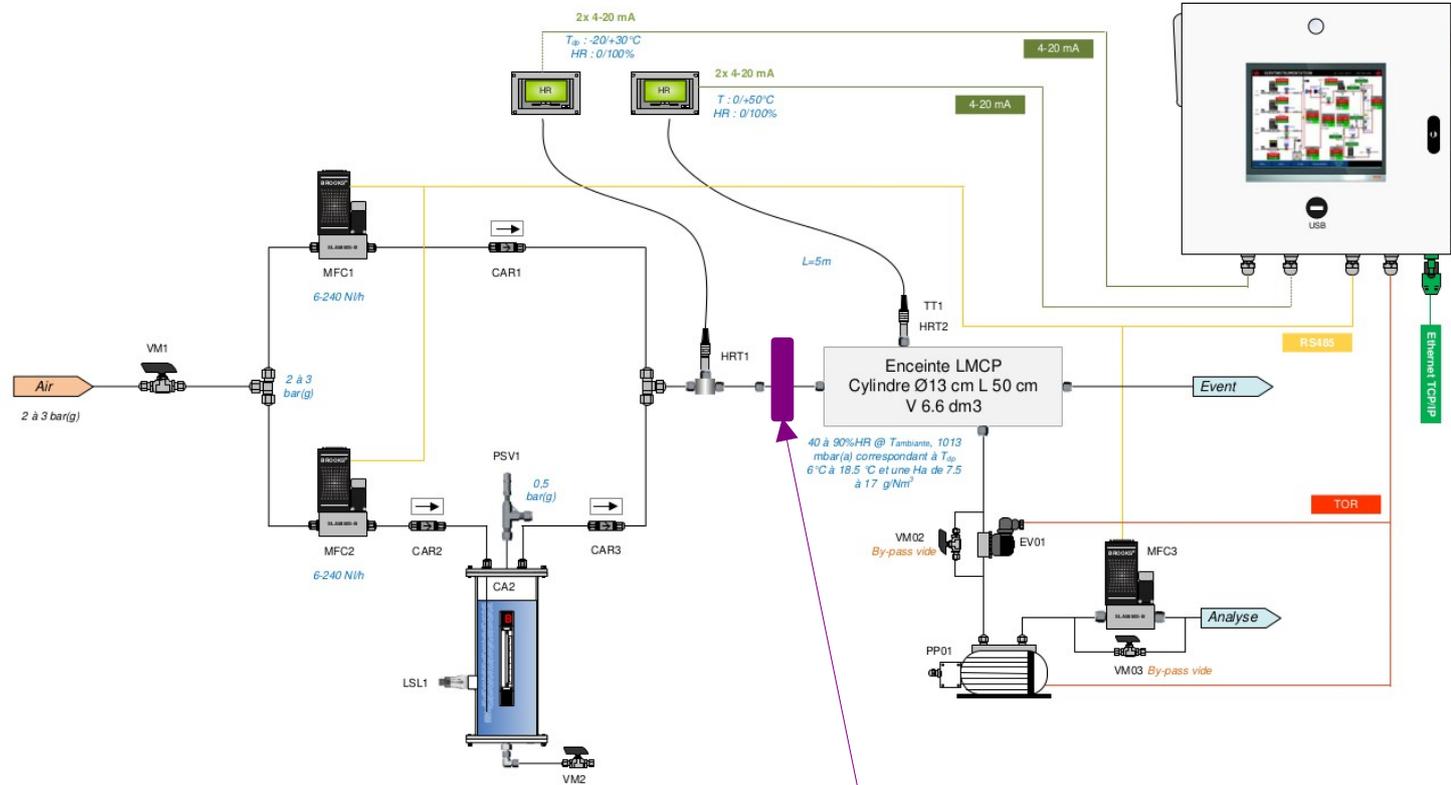
# Aérosolisation des micro-organismes

---



- 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 ?

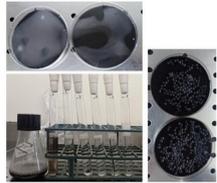
# Développement d'un banc expérimental



Filtre HEPA

# Développement d'un banc expérimental

Préparation d'une suspension de spores fongiques



Conditionnement des échantillons (%HR/T°C)

Inoculation et Incubation

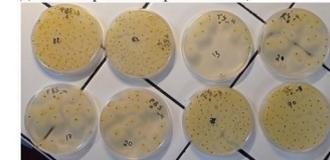
Croissance jusqu'à sporulation

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  $T_{24}$

