

# Avancées sur la source, la taille et la nature des particules microbiennes aéroportées présentes dans l'environnement intérieur

Période : septembre 2014 à novembre 2014

Hélène NICULITA-HIRZEL | Helene.Hirzel@hosvvd.ch

Institut universitaire romand de santé au travail, Universités de Lausanne et Genève – Lausanne – Suisse

Mots-clés : *Aspergillus*, bactéries, bio aérosols, environnement intérieur, particules fongiques, particules submicroniques, *Penicillium*

L'exposition à certaines particules fongiques et bactéries présentes dans les aérosols de l'environnement intérieur a été associée au développement ou à l'exacerbation d'affections respiratoires telles que l'asthme, la rhinite allergique ou encore l'aspergillose (1-4). Le réservoir principal identifié dans cet environnement pour les bactéries aéroportées est constitué par les habitants eux-mêmes, alors que celui des particules fongiques est l'environnement extérieur, ou, lorsque les conditions sont réunies, l'environnement intérieur (5-7). Néanmoins, la nature et la taille de ces particules fongiques, ainsi que l'impact de l'occupation humaine sur ces paramètres n'ont été que peu explorés. Les articles de cette note s'intéressent justement à ces aspects et illustrent l'importance de leur prise en compte dans l'évaluation du risque d'exposition aux microorganismes dans l'environnement intérieur. L'étude de Hospodsky *et coll.* (2014) apporte une information quantitative sur le niveau d'émission de bactéries et particules fongiques résultant d'une occupation humaine dans des environnements intérieurs sains. Alors que l'étude de Afanou *et coll.* (2014) montre la complexité des particules fongiques qui peuvent être générées dans l'environnement intérieur, différentes espèces de moisissures pouvant participer en proportions différentes au nombre de particules submicroniques<sup>1</sup> grâce à leurs fragments de spores ou hyphes.

## Détermination des concentrations et des niveaux d'émission dans l'air de particules fongiques et de bactéries dans six salles de classes occupées par des enfants

Hospodsky D, Yamamoto N, Nazaroff WW, Miller D, Gorthala S, Peccia J. Characterizing airborne fungal and bacterial concentrations and emission rates in six occupied children's classrooms. *Indoor Air* 2014 Dec 6. doi: 10.1111/ina.12172.

### Résumé

L'impact de l'occupation humaine sur la nature et la taille des particules fongiques et bactéries aéroportées dans des environnements intérieurs sains n'est pas connu. Les auteurs de cette étude proposent de combler cette lacune en ce qui concerne les salles de classes. Pour ce faire, des prélèvements comparatifs ont été effectués dans six salles de classes situées dans cinq villes, quatre pays et sur trois continents différents (une aux États Unis, une en Allemagne, deux au Danemark, deux en Chine) pendant qu'elles étaient vides ou occupées. Cinq d'entre elles étaient pourvues d'une ventilation naturelle et une de ventilation mécanique, mais toutes comportaient un sol en carrelage. La température, l'humidité relative, la concentration en CO<sub>2</sub> et le taux d'occupation ont été relevés. Les particules inhalables ont été collectées en six fractions de taille avec un impacteur Andersen à six niveaux à 28 litres par minute. Les échantillonnages d'aérosol ont été faits pendant 25 heures,

réparties sur trois à quatre jours, lorsque les salles de classes étaient occupées et pendant 60 heures lorsqu'elles étaient inoccupées. La fraction inhalable globale a été déterminée à partir du comptage des particules dans chacune des fractions de taille. La concentration des bactéries et des particules fongiques dans chacune de ces fractions a été estimée par l'amplification des séquences bactériennes ADN<sub>r</sub> 16S<sup>2</sup> ou champignon ADN<sub>r</sub> 18S<sup>3</sup> par PCR quantitative<sup>4</sup>. La relation entre la quantité totale de poussière inhalable et les concentrations des particules microbiennes dans l'air a été estimée. L'occupation humaine a été systématiquement identifiée comme étant associée à des concentrations significativement plus importante de bactéries aéroportées (81 fois de plus en moyenne), de particules fongiques (15 fois de plus) et de poussière inhalable (9 fois de plus). En ce qui concerne la taille des particules, elle était en moyenne plus grande lorsque les classes étaient occupées que lorsqu'elles ne les étaient pas, de l'ordre de 5,5 µm pour les bactéries et de 5,9 µm pour les particules fongiques. Les niveaux d'émission de particules dues à la présence humaine étaient en moyenne de 14 millions de bactéries par personne et par heure, 14 million d'équivalents noyaux fongiques par personne et par heure et de 22 mg de particules inhalables par personne et par heure. Ainsi, la présence humaine dans les salles de classes était responsable de la mise en suspension dans l'air de 83±27 % de bactéries, 66±19 % de particules fongiques et 83±24 % mg de poussière inhalable.

### Commentaire

L'importance de l'occupation humaine dans la mise en suspension des particules microbiennes dans l'air à partir des poussières sédimentées a déjà été décrite. Néanmoins, l'impact de l'occupation humaine sur la taille de ces particules n'était pas connu. En combinant la concentration des particules dans les différentes fractions de tailles avec les variables du bâtiment et des matériaux, les résultats de cette étude fournissent une information importante à prendre en compte lors des investigations par approches quantitatives des sources des bactéries et moisissures dans l'air inhalable. Néanmoins, cette étude comporte plusieurs limites. Premièrement, le nombre de sites échantillonnés est faible et les caractéristiques de ces sites sont très différentes. Deuxièmement, l'estimation du niveau d'émission est certainement surestimée et le calcul de la fraction de particules microbiennes biaisé. En effet, ces paramètres ont été déduits des résultats de qPCR en partant du principe qu'une particule fongique comportait le nombre de copies d'ARN ribosomiques et le diamètre aérodynamique d'une spore d'*Aspergillus fumigatus*. Néanmoins, le nombre de copies d'ARN ribosomique est variable entre les espèces de moisissures et n'est connu que pour une partie de ces espèces. Finalement, la composition en espèces fongiques des différentes fractions de taille n'a pas été explorée en fonction de l'occupation humaine, information qui aurait pu expliquer la différence en taille des particules inhalables en fonction de l'occupation humaine. En effet, le diamètre aérodynamique des spores est très différent entre les différentes espèces dominantes dans l'air intérieur tel qu'entre *Cladosporium*, *Alternaria*, *Epicoccum* et *Penicillium*.

### Particules fongiques submicroniques inhalables : caractérisation microscopique à haute résolution et quantification

Afanou KA, Straumfors A, Skogstad A, Nilsen T, Synnes O, Skaar I, Hjeljord L, Tronsmo A, Green BJ, Eduard W. Submicronic fungal bioaerosols: high-resolution microscopic characterization and quantification. *Appl Environ Microbiol* 2014 Nov;80(22):7122-30.

### Résumé

La colonisation de matériaux humides par des moisissures dans l'environnement intérieur a été associée à une mauvaise qualité de l'air intérieur et une augmentation de symptômes respiratoires chez les personnes exposées. Néanmoins, la faible concentration en spores dans les bioaérosols reportée dans la littérature pour l'environnement intérieur ne permet pas d'expliquer l'apparition de ces symptômes. C'est pourquoi la présence de particules fongiques inférieures à 1 µm dans l'air inhalable a été proposée pour expliquer ces syndromes. Néanmoins, la génération de cette taille de particules par les moisissures sous l'effet des courants d'air n'avait pas encore été montrée. Cette étude explore *in vitro* les différents facteurs qui peuvent influencer l'aérosolisation de particules submicroniques<sup>(1)</sup> : le type d'espèce de moisissure, son âge, le substrat, l'intensité du flux d'air, le type de générateur d'aérosols. En ce qui concerne le choix d'espèces de moisissures il s'agit de deux espèces se développant fréquemment sur

les surfaces dans l'environnement intérieur - *Aspergillus versicolor* et *Penicillium chrysogenum* - et d'une espèce causant l'aspergillose - *Aspergillus fumigatus*. Pour tester l'effet de l'âge de la colonie, les trois espèces de moisissures ont été cultivées pendant deux temps – deux ou huit semaines, alors que pour tester l'importance du substrat, les auteurs ont choisis du plâtre de 80 mm de diamètre et de la gélose de malt agar 2 % (MEA), couverte ou pas d'une membrane de cellophane. En ce qui concerne l'intensité du flux d'air, les auteurs ont fait varier le débit d'air sur les cultures fongiques entre de 12 ou 20 litres min<sup>-1</sup> pendant 120 secondes avec deux instruments générateurs de bioaérosols : le FSSST (testeur de résistance des spores de source fongique) développé par l'Université de Cincinnati et le SPG (générateur de particules Stami) développé par les auteurs. La nature des particules fongiques, tout comme leur nombre et taille (inférieur ou supérieur à 1 µm) a été déterminée *in vitro* par microscopie électronique à balayage à émission de champ (FESEM). Le nombre médian de particules submicroniques<sup>(1)</sup> dégagées par ces dispositifs était de 2 10<sup>5</sup> cm<sup>-2</sup>, 2,6 10<sup>3</sup> cm<sup>-2</sup>, et 0,9 10<sup>3</sup> cm<sup>-2</sup> pour *A. fumigatus*, *A. versicolor* et *P. chrysogenum*, respectivement. Les ratios de particules submicroniques/particules plus grosses étaient de 1:3, 5:1 et 1:2 pour *A. fumigatus*, *A. versicolor*, et *P. chrysogenum*, respectivement, indépendamment du type de substrat utilisé pour leur culture. Des fragments de spores représentaient 13 %, 2 % et 0 % des particules submicroniques libérés par *A. fumigatus*, *A. versicolor* et *P. chrysogenum*, respectivement.

### Commentaire

Cette étude illustre la capacité des moisissures à libérer des particules inférieures à 1 µm lorsqu'elles sont soumises à un flux d'air *in vitro*. Elle montre également à quel point le nombre, la taille et la nature de particules fongiques générées sont dépendants de l'espèce de moisissure, du support colonisé par la moisissure et de l'âge de cette moisissure. Cependant, l'existence d'un tel processus de fragmentation des moisissures se produisant naturellement dans l'environnement intérieur reste à prouver. Pour se faire, des méthodes moléculaires associées à un échantillonnage des particules fines devraient être développées pour estimer le risque d'exposition par inhalation des habitants de l'environnement intérieur aux particules submicroniques des différentes espèces de moisissures. En effet, la méthode d'identification des particules fongiques dans les aérosols par microscopie à haute résolution ne permet pas de discriminer les particules fongiques des autres types de particules de taille similaire, présentes dans des aérosols de l'environnement intérieur.

**CONCLUSION GÉNÉRALE**

Afin de développer des stratégies de prévention du risque d'exposition, par inhalation, aux particules microbiennes de l'environnement intérieur, il est indispensable d'identifier les facteurs influençant leur génération dans l'air, ainsi que de la nature et de la taille de ces particules. Les articles de cette note rappellent que ces facteurs de risques tiennent à la présence humaine dans l'environnement intérieur, ainsi que, potentiellement, à l'espèce de moisissure colonisant cet environnement. Hospodsky *et coll.* (2014) confirment l'importance de la présence humaine dans l'émission des bactéries et la remise en suspension dans l'air des particules fongiques. Cette étude estime également les niveaux de contamination en bactéries et particules fongiques de différentes tailles dans des environnements « sains ». Néanmoins les auteurs ne se penchent pas sur l'apport en particules d'espèces fongiques distinctes à ces différentes fractions. L'importance de cet aspect dans l'évaluation du risque d'exposition aux moisissures dans l'environnement intérieur est montrée par l'article d'Afanou *et coll.* (2014). Les auteurs de ce deuxième article démontrent *in vitro* que des particules submicroniques peuvent être générées aussi bien à partir d'hyphes que de spores. Ils illustrent également les différences en nombre et taille des particules submicroniques émises entre différentes espèces de moisissures.

Les résultats de ces publications révèlent l'importance d'une amélioration de la stratégie de prélèvement des particules microbiennes dans l'environnement intérieur. Des prélèvements d'air devraient être effectués lors d'une fréquentation « normale » afin d'estimer au plus juste le niveau d'exposition. Ils devraient également tenir compte des espèces de moisissures colonisant les surfaces afin d'estimer la taille et la nature des particules fongiques qui pourraient se dégager de ces moisissures.

**GENERAL CONCLUSION**

*To develop strategies to prevent the risk of exposure by inhalation to microbial particles in the indoor environment, it is essential to identify factors that affect the generation of microbial particles in the air, as well as their nature and size. The papers discussed here show that these risk factors are related to the human presence in the indoor environment, but also to, potentially, the mold species that colonize this environment. Hospodsky et al. (2014) confirm the importance of human occupancy on airborne bacterial and fungal concentrations. They also estimate the baseline concentration of bacterial and fungal particles in different sizes fractions of indoor air, however they do not describe the contribution of distinct fungal species to these different fractions. The importance of this aspect is emphasized by Afanou et al. (2014) who demonstrates in vitro that submicronic particles can be generated both from hyphae and spores and that the number, size and origin of these particles differ between fungal species.*

*The results illustrated here give clues for assessing the risk of human exposure to fungi in the indoor environment. Air sampling should be carried out during a regular human occupancy in order to estimate the real level of exposure of the occupants. In the sampling strategy, the mold species colonizing surfaces has to be identified and the size and nature of the fungal particles generated by these species has to be specifically quantified.*

**Lexique**

- (1) Particule submicronique : Particule d'un diamètre compris entre 0,2 et 1 µm
- (2) ADNr 16S : L'ARN ribosomique constituant la petite sous-unité des ribosomes des procaryotes dont les bactéries
- (3) ADNr 18S : L'ARN ribosomique constituant la petite sous-unité 40S des ribosomes d'eucaryotes dont les champignons
- (4) PCR quantitative : Une méthode particulière de réaction en chaîne par polymérase permettant de dénombrer le nombre d'amplicons (portion d'ADN définie par un couple d'amorces) présents dans un échantillon

**Publications de référence**

- (1) Ege MJ, Mayer M, Normand AC, *et al.* Exposure to environmental microorganisms and childhood asthma. *N Engl J Med* 2011;**364**(8):701–9.
- (4) Rocchi S, Reboux G, Larosa F, *et al.* Evaluation of invasive aspergillosis risk of immunocompromised patients alternatively hospitalized in hematology intensive care unit and at home. *Indoor Air* 2014;**24**(6):652-61.

- (5) **Hospodsky D, Qian J, Nazaroff, WW, et al.** Human occupancy as a source of indoor airborne bacteria. *PLoS ONE* 2012;7:e34867.
- (6) **Qian J, Hospodsky D, Yamamoto N, et al.** Size-resolved emission rates of airborne bacteria and fungi in an occupied classroom. *Indoor Air* 2012; 22(4):339-51.

## Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :

- n'avoir aucun conflit d'intérêts ;  
 avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.

## Revue de la littérature

- (2) **Mendell MJ, Mirer AG, Cheung K, et al.** Respiratory and allergic health effects of dampness, mold, and dampness-related agents: a review of the epidemiologic evidence. *Environ Health Perspect* 2011; 119 (6): 748-56.
- (3) **Vacher G, Niculita-Hirzel H, Roger T.** Immune responses to airborne fungi and non-invasive airway diseases. *Semin Immunopathol.* In press; DOI 10.1007/s00281-014-0471-3.
- (7) **Qian J, Peccia J, Ferro AR.** Walking-induced particle resuspension in indoor environments. *Atmos Environ* 2014; 89: 464-81.

## Autres publications identifiées

**Bhangar S1, Huffman JA, Nazaroff WW.** Size-resolved fluorescent biological aerosol particle concentrations and occupant emissions in a university classroom. *Indoor Air* 2014; 24(6):604-17.

*Cette étude est parmi les premières à appliquer la fluorescence induite par laser pour caractériser les bioaérosols en temps réel dans l'environnement intérieur en présence de ses occupants avec une haute résolution de la taille des particules.*

**Saari S, Mensah-Attipoe J, Reponen T, et al.** Effects of fungal species, cultivation time, growth substrate, and air exposure velocity on the fluorescence properties of airborne fungal spores. *Indoor Air* 2014; Oct 8. doi: 10.1111/ina.12166

*Cette étude fournit des informations sur les principaux facteurs qui peuvent affecter les propriétés de fluorescence des spores émises par les moisissures dans l'air intérieur.*

**Moore G, Hewitt M, Stevenson D, et al.** Aerosolisation of respirable droplets from a domestic spa pool: the use of MS-2 coliphage and *Pseudomonas aeruginosa* as markers for *Legionella pneumophila*. *Appl Environ Microbiol.* 2014; Nov 7. pii: AEM.02912-14.

*Le risque d'infection à domicile par l'inhalation d'aérosols contaminés avec du P. aeruginosa ou L. pneumophila qui pourraient être dégagés par un jacuzzi dont le système d'injection d'air est activé ou pas, a été estimé.*

**Lee JH, Lee HS, Park MR, et al.** Relationship between indoor air pollutant levels and residential environment in children with atopic dermatitis. *Allergy Asthma Immunol Res* 2014; Nov;6(6):517-24. doi: 10.4168/aaair.2014.6.6.517.

*Les auteurs montrent une corrélation directe entre la présence de moisissures visibles, l'utilisation d'assainisseur d'air et le niveau de polluants chimiques associés dans l'air intérieur, polluants préalablement associés au développement de la dermatite atopique chez l'enfant.*