

DECAGRAPH : détection précoce des contaminants des collections graphiques

DECAGRAPH: Early detection of biological and chemical contaminants of paper based cultural heritage

Thi-Phuong Nguyen¹, Stéphane Moularat², Romain Berardo², Tony Basset³, Faisal Bousta⁴, Caroline Laffont¹, Anne Lama⁵, Geneviève Oriol⁴, Patricia Ramond⁵, Enric Robine²

1. Bibliothèque nationale de France (BnF), Parc G.-Eiffel, 14 avenue Gutenberg, 77600 Bussy-Saint-Georges
2. Centre scientifique et technique du bâtiment (CSTB), 84 avenue Jean-Jaurès, Champs-sur-Marne, 77447 Marne-la-Vallée Cedex 2
3. Musée du Centre national des arts et métiers (CNAM), Paris
4. Laboratoire de recherche des monuments historiques (LRMH), 29 rue de Paris, 77420 Champs-sur-Marne
5. Archives nationales, 60 rue des Francs-Bourgeois, 75141 Paris Cedex 03

Responsable du projet : Thi-Phuong Nguyen, Thi-Phuong.Nguyen@cnc.fr
Projet sélectionné par le PNRCC en 2009

Résumé

Le programme de recherche DECAGRAPH a pour principal objectif de développer, pour les institutions conservant des collections patrimoniales sur support papier, une méthodologie mise au point par le CSTB et le LRMH permettant une détection précoce des contaminants biologiques dans l'habitat et les monuments historiques. Basés sur la détection des composés organiques émis par les moisissures dès les premiers stades de développement (COVm), les résultats de ce projet serviront à paramétrer un capteur chimique autonome, aujourd'hui en cours de développement. Cet appareil assurera la surveillance en continu de la qualité biologique de l'air des bibliothèques et des services d'archives, et pourra donner l'alerte en cas d'atteinte des seuils nuisibles pour les collections sur support papier.

Mots clés : COVm, qualité biologique de l'air, collections papier, indice de contamination fongique

Abstract

The main aim of DECAGRAPH project is to apply a methodology already developed by the CSTB and the LRMH for dwelling houses and historical buildings, to an early detection of biological contaminants specifically found on paper based collections. Based on the detection of organic volatiles emitted by fungi in their early stage of development (VOCm), the results of this project will be used to parameterize a sensor for continuous monitoring of biological indoor air quality in paper based collections storage facilities. This sensor, which is now in development, will be equipped with a warning device. Thanks to it, the collection keepers could be warned about a contamination from its very beginning and take rapidly the actions necessary to prevent the contamination from being invasive and harmful to the documents.

Keywords: VOCm, biological air quality, paper collections, fungi contamination indicator

Problématique

La contamination fongique dans les réserves conservant des documents sur support cellulosique est un problème majeur et récurrent qui ne touche pas seulement les bibliothèques et les services d'archives mais bien tous les établissements patrimoniaux en charge de la conservation des collections graphiques ou photographiques.

À ce jour, le contrôle des conditions climatiques, combiné avec celui de l'état sanitaire des locaux et des collections, reste sans doute l'une des armes les plus efficaces pour éviter la prolifération des moisissures. Malheureusement, ce contrôle n'est pas toujours possible, il peut être défaillant ou parfois insuffisant. En cas de sinistre ou de dérive des conditions climatiques, les moisissures se développent ; et parce qu'il n'existe aucun outil fiable permettant la détection précoce d'une telle contamination, on ne la découvre généralement que tardivement, lorsqu'elle se manifeste de manière évidente sur les collections et les matériaux du bâtiment. À ce stade, il est souvent déjà trop tard et les moyens nécessaires à son éradication et à la sauvegarde des collections deviennent prohibitifs.

Depuis quelques années, le Centre scientifique et technique du bâtiment (CSTB) s'est engagé dans un programme de recherche ambitieux sur la surveillance de la qualité micro-biologique de l'air des environnements intérieurs. L'objectif de ce programme est de développer un outil permettant la détection précoce des moisissures dans l'habitat, les bureaux, les écoles, les crèches [1, 2, 3]...

La méthodologie développée par le CSTB est basée sur la recherche dans l'air de composés organiques volatils d'origine microbienne (COVm) émis par les moisissures dès leurs premiers stades de développement. L'objectivation d'une croissance fongique dans un environnement s'appuie sur des prélèvements par adsorption, une analyse chromatographique au laboratoire (GC/MS) et le calcul d'un indice de contamination fongique (ICF), qui fait depuis 2007 l'objet d'un brevet [3].

Le Laboratoire de recherche des monuments historiques (LRMH) fut la première institution patrimoniale à faire appel au CSTB pour appliquer cette méthodologie aux environnements intérieurs des monuments historiques [4]. Également concernés par les problèmes de contaminations biologiques, certaines bibliothèques et certains services d'archives ont décidé de poursuivre cette recherche et de l'appliquer aux collections dont elles ont la charge, en particulier celles sur support papier.

Matériels et méthodes

Un programme en trois phases

L'étude menée dans le cadre de DECAGRAPH s'est déroulée en trois phases.

▼ La première phase avait essentiellement un but prospectif. Il s'agissait, après sélection des papiers, des moisissures et des sites à retenir pour l'étude, de mener des campagnes d'analyse de l'air dans deux sites récemment contaminés.

L'objectif était d'affiner les protocoles de prélèvements biologiques, d'étudier la diffusion spatiale des COVm et de préciser la nature des contaminants biologiques et chimiques.

▼ Une étude en laboratoire a ensuite été menée dans le but d'identifier les COVm émis par les couples moisissures/substrat retenus, de caractériser ceux qui sont spécifiques d'une croissance fongique et de calculer un indice de contamination fongique (ICF) adapté aux collections sur support papier.

▼ Enfin, et sur la base des protocoles définis lors de la première phase, d'autres campagnes de prélèvement de COV et de spores ont été réalisées dans trois catégories de magasins de conservation : contaminés, non contaminés et anciennement contaminés. Par le croisement des données obtenues par les deux méthodes de prélèvement, l'ICF calculé en laboratoire a pu être validé et affiné.

Matériel biologique et supports de croissance

Trois moisissures cellulolytiques fréquemment rencontrées dans l'environnement des collections de bibliothèques et des archives ont été retenues pour l'étude : *Aspergillus restrictus*, *Penicillium chrysogenum* et *Aspergillus versicolor*. Les matériaux employés pour servir de support de croissance étaient les suivants :

- un support référence peu émissif : fibre de verre compressée, filtre en fibre de verre GF/B, Whatman ;
- un papier chiffon encollé à la gélatine ;
- un papier bois acide sans lignine encollé à la colophane ;
- un papier bois acide avec lignine encollé à la colophane ;
- un papier bois alcalin sans lignine encollé à l'AKD¹.

Dispositif expérimental dédié au prélèvement des COVm

Le dispositif comporte trois pièces maîtresses (figure 1) :

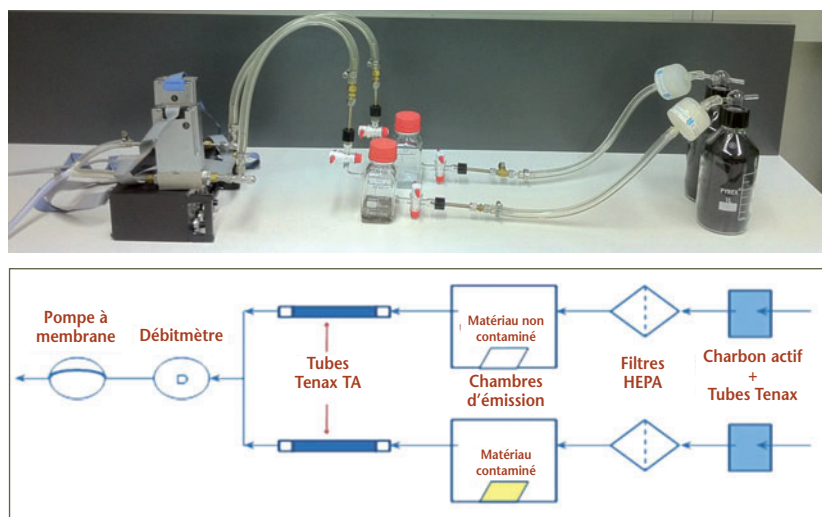
- une chaîne de filtration composée de charbon actif, d'un filtre anti-particulaire (HEPA) et d'un adsorbant Tenax TA ; cette chaîne est située en amont de la chambre d'émission et assure un renouvellement d'air « propre » ;
- une chambre d'émission en verre de 300 mL, inerte vis-à-vis des COV, dans laquelle est placé le support contaminé ou non ;
- un adsorbant (Tenax TA) situé en sortie de chambre, qui assure le piégeage des COV ; il est raccordé à une pompe FLEC qui permet le prélèvement d'air à un débit constant. L'ensemble des connexions (tubes, raccords) sont en PTFE non émissif. L'humidité de la chambre est maintenue à saturation durant l'essai.

Prélèvements et analyses des COV

Prélèvements

Les COV sont piégés dans des tubes en acier inoxydable de 9 cm de long, 5 mm de diamètre interne, remplis de

1. AKD : *alkyl ketene dimer*, dimère de cétène d'alkyle.



▲ **Figure 1.** Dispositif expérimental utilisé pour le prélèvement des composés organiques volatils d'origine microbienne (COVm).

Tenax TA (15 g). Les échantillonnages sont effectués en dynamique avec un débit de 150 mL/min durant 30 min. Ces paramètres permettent d'obtenir un taux de renouvellement de 30 volumes par heure pour les chambres d'émission. On s'assure ainsi que l'air des chambres est entièrement renouvelé durant l'essai (volume renouvelé 15 fois).

Pour les prélèvements réalisés *in situ*, le protocole d'échantillonnage est le même.

Analyse des COV

Les caractéristiques de la chaîne analytique sont précisées dans le tableau 1.

Après l'analyse des chromatogrammes et spectres associés, les résultats sont comparés à une bibliothèque de spectres de masse (NIST, 1998). Chaque analyse est répétée 3 fois et les mesures de matériaux contaminés sont systématiquement reproduites avec le même support non contaminé (témoin).

▼ **Tableau 1.** Analyses CG-SM des composés organiques volatils (COV) : conditions analytiques.

Paramètres	Conditions analytiques
Thermo-désorbeur	Perkin Elmer ATD 400
Débit d'azote	50 mL/min
Température du piège secondaire	de - 30 à 280 °C
Chromatographe gaz / Spectromètre de masse	VARIAN GC 3800 / MS Saturn 2000
Colonne capillaire	DB-5ms longueur : 60 m diamètre interne : 0,25 mm épaisseur de la phase : 1 µm

Prélèvements et analyses des moisissures par les méthodes « classiques »

Prélèvements d'air

Les prélèvements microbiologiques ont été réalisés à l'aide d'un préleveur d'air MAS-100 (Merck). Pour les magasins très contaminés, le volume prélevé pour déterminer le nombre de germes en suspension dans l'air est de 60 L, il est de 120 L pour les magasins faiblement contaminés. Afin que la plus grande diversité des moisissures se développe, les milieux utilisés ont été le DG18, le MEA et le Sabouraud. Les milieux ont été incubés à 24 °C, deux comptages ont été réalisés à 3 et 7 jours d'incubation. Après repiquage pour isoler les souches, celles-ci ont été identifiées au microscope optique.

Prélèvements de surface

Des écouvillons stériles ont été utilisés pour les prélèvements de surface, boîtes et reliures. Ces prélèvements ont été ensemencés sur quatre milieux différents : DG18, MEA, DOX et Sabouraud, ce dernier étant utilisé pour détecter les levures et moisissures, notamment pathogènes et dermatophytes.

Résultats

Test de croissance fongique

Afin de vérifier la croissance des trois moisissures sur les quatre papiers, des observations macroscopiques ont été réalisées après 7, 14, 23 et 35 jours (figure 2).

Comme attendu, toutes les souches étudiées présentent un développement fort dès la première semaine sur le matériau référence (fibre de verre + solution nutritive). En comparant les observations macroscopiques réalisées sur fibre de verre avec celles réalisées sur les différents papiers testés, il est possible d'associer des espèces à chaque papier. Ainsi, dans ces conditions d'essai, *Aspergillus versicolor* ne se développe que sur les papiers alcalins, *A. restrictus* se déve-



◀ **Figure 2.** Une chambre contaminée après 35 jours d'incubation.

loppe préférentiellement sur du papier contenant de la lignine, contrairement à *A. versicolor* et *P. chrysogenum*, et les croissances de *A. restrictus* et *P. chrysogenum* sont anti-corrélées.

Ces conclusions doivent néanmoins être confirmées par d'autres essais faisant intervenir plus de souches fongiques.

Recherche en laboratoire des COVm et traceurs spécifiques, détermination de l'ICF

Les émissions des trois souches se développant sur les quatre papiers retenus et le matériau référence ont été étudiées. Les seize essais ont tous été réalisés en triplicata, chaque souche a été testée indépendamment. Les chromatogrammes des matériaux présentant un développement fongique ont été comparés systématiquement à ceux du même matériau hors contamination.

Cette étude a permis de dégager 51 COVm d'intérêt, susceptibles d'être des traceurs d'une contamination fongique. Ils appartiennent à de nombreuses familles chimiques, alcènes, alcools, cétones, esters, terpènes, composés sulfurés et aromatiques. Ces COVm ont été classés en trois catégories :

- **Type 1** : COVm issus du métabolisme fongique indépendants de l'espèce et du substrat : leur présence rend probable l'existence d'un développement fongique alors que leur absence la rend peu probable.

- **Type 2** : COVm issus du métabolisme fongique dépendants de l'espèce et/ou du matériau : leur présence implique l'existence d'un développement fongique alors que leur absence ne permet pas de conclure.

- **Type 3** : COVm issus du métabolisme fongique indépendants de l'espèce et du substrat mais dont d'autres sources sont connues (matériaux du bâtiment, contaminant commun de l'air) : leur présence n'implique pas l'existence d'un développement fongique alors que leur absence l'exclut.

La liste des traceurs retenue et leur origine identifiée, l'ICF est calculé pour chaque papier. Cet indice est construit sur la base de celui défini pour les habitats. Sous brevet, la méthodologie permettant son calcul n'est pas développée dans cet article.

Vérification de la validité de l'ICF en conditions réelles

Démarche

Pour statuer sur l'existence ou non d'une contamination fongique dans un magasin de conservation, une analyse de la composition en COV de l'air est réalisée. Les données obtenues sont confrontées aux indices de contamination définis en laboratoire pour les 4 types de papier. Ceux-ci s'incrémentent de 1, 0 ou - 1 en fonction de la présence ou de l'absence de traceurs et de la nature de ces derniers (type 1, 2 ou 3). Un résultat final positif rend probable la présence d'un développement fongique actif tandis qu'un indice négatif ou nul l'exclut. Retenons qu'il s'agit uniquement d'une réponse binaire (absence ou présence de marqueurs d'activité fongique) non quantitative.

En outre, cette étude en laboratoire permet de déterminer des indices provisoires qui doivent être vérifiés et ajustés en fonction des résultats obtenus par les différentes campagnes de détection *in situ*. Les prélèvements « classiques » de spores de moisissures dans l'air et sur les surfaces ont contribué à cet ajustement, les résultats obtenus par ces analyses ont permis notamment de valider ou d'invalider la contamination biologique des magasins de conservation.

À l'issue des campagnes de détection *in situ*, un indice général spécifique aux réserves conservant des documents sur support papier a été construit à partir des quatre indices définis en laboratoire.

Description des sites investigués

■ Archives nationales, site de Paris

Les magasins sont localisés en sous-sol, ils sont ouverts sur l'extérieur par des soupiroux. Les collections conservées sont diverses : documents contemporains conservés dans des boîtes d'archives, registres anciens à couverture parcheminée. La présence manifeste de moisissures actives sur les boîtes d'archives retient l'attention.

■ Bibliothèque Jean-Macé, Château-Thierry

Les deux magasins choisis ont été contaminés en septembre 2009 suite à un problème de dérèglement du système de climatisation qui, depuis lors, a été réparé. Au jour du prélèvement, le magasin 1 était encore manifestement contaminé tandis que le magasin 2 semblait plutôt sain. Les documents conservés sont essentiellement des monographies du XVIII^e au XX^e siècle.

■ Archives nationales, site de Fontainebleau

Le magasin, localisé au 5^e sous-sol, n'était au jour de la campagne ni climatisé, ni ventilé. La poussière y est importante et la présence humaine, rare. Les conditions climatiques relevées le jour de la campagne de prélèvement étaient de 19 °C et 33 % d'humidité relative (HR).

■ Bibliothèque nationale de France, site Richelieu, Paris

Le magasin est situé en 3^e sous-sol d'un bâtiment historique ancien. L'air y est climatisé, filtré et ventilé. Une ancienne contamination causée par une fuite d'eau le long d'un mur, très localisée, a touché un certain nombre de documents qui

ont fait l'objet d'un séchage et d'un dépoussiérage complets au moins un an avant la campagne. Les documents conservés sont essentiellement des livres anciens.

■ Bibliothèque nationale de France, site Tolbiac, Paris

Le magasin retenu comme témoin non contaminé a été choisi dans le nouveau bâtiment de la BnF. L'air y est climatisé, filtré et ventilé. Les collections conservées consistent pour l'essentiel en des monographies du XX^e siècle.

Résultats des prélèvements

En multipliant les points d'analyse dans le magasin de la médiathèque de Château-Thierry (figure 3), il s'avère que l'ensemble des traceurs fongiques présents dans cet environnement a été retrouvé quel que soit le point de prélèvement. Les COVm semblent donc diffuser dans l'ensemble de l'espace du magasin, ce qui permet de conclure qu'un seul point de prélèvement est suffisant pour statuer de la présence ou non d'une contamination fongique. Ce point peut être localisé n'importe où et à n'importe quelle hauteur du magasin.

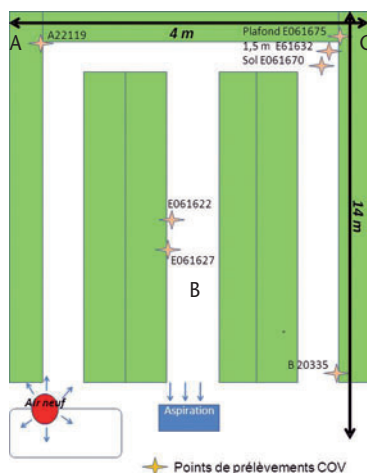
Parmi les 51 cibles identifiées en laboratoire, 19 ont été retrouvées lors des prélèvements *in situ*, dont 5 ont été détectées dans l'environnement non contaminé (BnF, Tolbiac). Ces 5 dernières cibles, bien qu'issues du métabo-

lisme fongique, ne sont donc pas spécifiques et ne peuvent être retenues comme cibles d'un développement fongique. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 2.

Conclusions et perspectives

À l'issue du programme de recherche DECAGRAPH, une liste de COVm cibles spécifiques d'une contamination fongique des collections papier a pu être établie, et un indice de contamination spécifique, calculé. La présence effective d'une partie de ces COVm cibles a été confirmée dans tous les magasins de conservation contaminés retenus pour ce projet. Combinée à l'utilisation de l'ICF, la détection de ces COVm cibles pourra dorénavant être utilisée pour mettre en place une stratégie de surveillance de l'état sanitaire des collections de bibliothèques et d'archives en particulier. Dans cette optique, un prototype de capteur autonome adapté aux lieux d'habitation a d'ores et déjà été développé pendant toute la durée du projet DECAGRAPH dans le cadre d'une thèse, soutenue par Y. Joblin en septembre 2011 [5]. Une amélioration et une miniaturisation du prototype sont à l'étude et nous espérons une commercialisation pour les années à venir. On retiendra que parmi les COVm émis par les moisissures cellulolytiques sélectionnées

▼ Figure 3. Magasin 1 de la médiathèque de Château-Thierry, et schéma des points de prélèvement à 1,5 m (A, B, C), au plafond (B, C) et au sol (C) dans le magasin.



▼ Tableau 2. Résultats des campagnes d'analyse de l'air des sites investigués.

Site	État	Nombre de cibles	Conclusion
BnF, Tolbiac	Sain	0	5 COV issus du métabolisme fongique ont été retrouvés mais ne sont pas spécifiques => ce ne sont pas des cibles
Château-Thierry	Contaminé	10	Contamination détectée
Archives nationales, Fontainebleau	Contaminé	7	Contamination détectée
Archives nationales, Paris	Contaminé	5	Contamination détectée
BnF, Richelieu	Anciennement contaminé	4	Bien que le nombre de cibles spécifiques soit plus faible, l'analyse des cibles ne permet pas de formellement distinguer cet environnement des autres contaminés. L'absence de persistance des COV du métabolisme ayant été démontrée dans une étude de Joblin <i>et al.</i> , il est probable que cet environnement comporte toujours une contamination active de moisissures [4]

pour ce projet, certains sont communs aux COVm rencontrés dans les lieux d'habitation, les hôpitaux et les monuments historiques. Outre celui déterminé spécifiquement pour les collections de bibliothèques et d'archives, un indice de contamination plus général peut donc être défini, qui pourra s'appliquer à tous les types de bâtiment et réserve. Il

ne permettra pas de discriminer les infestations d'ordre commun de celles spécifiquement dangereuses pour les collections papier, mais le capteur chimique autonome développé à partir de cet indice de contamination général pourra être utilisé partout. Les avantages : un moindre coût et une grande souplesse d'utilisation. ▼

Bibliographie

1. **Moulat S., Robine E., Ramalho O., Oturan M.**, 2008, Detection of fungal development in closed spaces through the determination of specific chemical targets, *Chemosphere*, 72, 2, p. 224-232.

2. **Moulat S., Robine E., Ramalho O., Oturan M.**, 2008, Detection of fungal development in a closed environment through the identification of specific VOC: Demonstration of a specific VOC fingerprint for fungal development, *Science of the Total Environment*, 407, p. 139-146.

3. **Moulat S.**, 2005, Étude de la contamination fongique des environnements intérieurs par la détermination et la mesure de traceurs

chimiques spécifiques : application à l'hygiène de l'habitat, Thèse de l'université de Marne-la-Vallée, Champs-sur-Marne, 158 p.

4. **Joblin Y., Moulat S., Anton R., Bousta F., Oriol G., Robine E., Picon O., Bourouina S.**, 2010, Detection of moulds by volatile organic compounds: Application to heritage conservation, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 64, 3, p. 210-217.

5. **Joblin Y.**, 2011, Élaboration d'un microsystème d'analyse de l'air destiné à la détection rapide d'un développement fongique dans les espaces clos, Thèse de l'ESIEE.