

Compte-rendu de séminaire

La mycologie prévisionnelle et son application dans le domaine culturel

Bibliothèque nationale de France, 24 avril 2007

Résumé

Ce séminaire est le fruit d'une collaboration entre le laboratoire de microbiologie de la Bibliothèque nationale de France (BnF) et la section microbiologie du Centre de Recherche sur la Conservation des Documents Graphiques (CRCDG). Il s'est tenu à la Bibliothèque François Mitterrand, à Paris, l'après-midi du 24 avril. Le succès de cette manifestation a dépassé les espérances des organisateurs qui ont dû refuser des participants (59 inscrits dont 11 en provenance des archives : DAF, CHAN, Archives départementales Haute-Saône, Meurthe et Moselle, Orne, Pas de Calais, Pyrénées-Atlantiques, Seine Maritime, AM de Garches, Paris).

Ce succès démontre s'il en était encore besoin que la lutte contre les moisissures constitue un défi permanent pour tous les responsables de biens culturels qu'il s'agisse d'archives, de bibliothèques, de musées ou de monuments historiques. Les microbiologistes de la culture se sont rassemblés pour la première fois pour faire le point. Ces premières rencontres ont pris pour thème la mycologie prévisionnelle utilisée dans l'industrie alimentaire et ses applications possibles dans le domaine culturel : comment prévoir le développement des spores par rapport à un environnement donné à partir de modèles établis et sélectionnés pour leur implication majeure dans les processus de prolifération :

- paramètres constants : supports constitutifs des biens culturels et microorganismes
- facteurs variables : humidité relative (activité de l'eau), température, poussière, éventuellement le pH car son incidence est moindre.

La ventilation pourtant essentielle dans le processus de lutte a été peu évoquée.

Les différentes interventions ont démontré que les conclusions sont identiques bien que les approches puissent être différentes. Pour juguler la prolifération des moisissures, il faut contrôler de manière permanente la température et l'humidité relative, repérer et empêcher les microclimats et les zones non ventilées, ne pas introduire de collections contaminées ce qui veut dire instituer des constats d'état, des quarantaines, le dépoussiérage des collections et l'analyse des souches présentes et traiter si nécessaire. Les périodes à risque sont celles où les écarts de température et d'hygrométrie sont importants d'autant plus qu'un décalage se produit entre l'extérieur et l'intérieur d'un bâtiment ce qui peut entraîner une baisse de la vigilance. L'équipe de biologistes à la BnF a mis au point un protocole qui permet en permanence de surveiller le climat et les facteurs de risques. Elle collabore étroitement avec les responsables de collections, les magasiniers, les climaticiens, les restaurateurs, forme et informe l'ensemble du personnel. Pour les monuments historiques, prévenir est plus compliqué, des études de cas permettent de comprendre la complexité et la diversité des situations.

Je remercie Malala Rakotonirainy pour sa relecture attentive.

Introduction : présentation des institutions organisatrices

Malala Rakotonirainy, responsable de la section microbiologie du CRCDG (CNRS, Ministère de la culture et Museum d'Histoire naturelle : 20 permanents) a présenté les activités de conseils, d'analyses et de recherches du centre : identification des matériaux, compréhension des phénomènes de dégradation, mise au point de traitements. Pour mieux

représenter l'évolution des champs qui se sont étendus, le CRCDG change de nom et devient le Centre de Recherches sur la Conservation des Collections, CRCC. Il s'intéresse en effet à des supports multiples en dehors des documents graphiques : photographies, supports audiovisuels mais aussi aux collections d'Histoire naturelle.

Tony Basset, biologiste, a présenté les activités de la Bibliothèque nationale de France : collecter, enrichir, diffuser, conserver sur les quatre sites de stockage et les deux annexes. Les 7 personnes des laboratoires scientifiques et techniques sont réparties en sections : chimie organique, chimie inorganique, microbiologie. Les activités de la section microbiologie portent sur l'expertise, les analyses du climat, les prescriptions, les traitements curatifs dont ceux à l'oxyde d'éthylène facilités par la présence d'une enceinte installée au centre de Bussy-Saint-Georges, Centre technique de la BnF.

I. Contamination des documents graphiques,

Brigitte Leclerc, Caroline Laffont, BNF.

I.1 Gestion du risque de contamination fongique, la prévention et ses limites

La Bibliothèque nationale a mis en place une gestion globale du risque de contamination biologique basée sur son évaluation et sa maîtrise. Les documents graphiques de part leur origine organique et leur hygroscopicité sont des matériaux très sensibles. La contamination a pour conséquence la perte de leur valeur patrimoniale, leur dégradation physique et esthétique voire leur disparition complète. Dans les années 80, devant l'augmentation des contaminations, les bibliothèques avaient recours massivement aux traitements chimiques. Les risques pour les collections et l'environnement, la résistance des microorganismes ont conduit à une orientation plus préventive que curative sur le principe d'une démarche qualité. Pour que les spores se développent, il faut que l'ensemble des conditions suivantes soit réuni: un support nutritif constitué par les documents mais aussi par la poussière et une quantité suffisante d'eau.

L'évaluation du risque porte sur les collections, le bâtiment, le climat et les microorganismes. Des prescriptions permettent d'éviter l'utilisation de matériaux créant ou accumulant de la poussière : moquette, béton non peint. Les rayonnages en épis fixes génèrent moins de microclimat que le mobilier compact (moins bonne ventilation). La position des rayonnages par rapport aux bouches d'aération est capitale.

Les mouvements des collections mais aussi des personnes sont considérés dans leur rapport au risque de contamination (prêts, expositions, salle de lecture). La conservation préventive est un travail d'équipe, les responsables de collections, les restaurateurs, les magasiniers, les techniciens et les scientifiques collaborent mais aussi le public. Des actions de formation et de sensibilisation sont assurées... Toute tache suspecte sur les collections est signalée, un prélèvement par écouvillon sec et stérile est effectué puis une mise en culture sur trois milieux différents : MEA, DG 18 et gélose nutritive plus des milieux spécifiques aux moisissures. Des procédures sont mises en place lors du mouvement des collections : constat d'état, quarantaine, expositions (contrôle climatique des vitrines par l'emploi de matériaux tampon), gestion après sinistre telle l'inondation : tri, congélation, séchage (naturel ou par lyophilisation selon les cas)...

Une surveillance climatique quotidienne permet de corriger rapidement les dysfonctionnements pour éviter leurs conséquences : défaillances techniques, impact de la météo extérieure surtout lors de très gros écarts. Une analyse des relevés climatiques permet d'améliorer les prescriptions (étude statistique). Les outils sont plus ou moins sophistiqués : thermohygrographes, capteurs électroniques à mémoire (il est nécessaire de les décharger

régulièrement sur les ordinateurs : contrôle en différé), capteurs à transmission radio (analyse en temps réel), gestion technique centralisée. Les sondes placées par les climaticiens ne correspondent pas aux besoins des conservateurs qui veulent savoir ce qui se passe au milieu des collections ce pourquoi des appareils supplémentaires sont nécessaires.

Filtration de l'air et maintenances sont contrôlées. Les gaines sont entretenues.

Pour évaluer le niveau général de contamination, une analyse des surfaces complète le dispositif : niveau d'empoussièrement (boîtes de contact avec les trois milieux cités, analyse quantitative et qualitative ainsi qu'une surveillance de l'air (aspiration avec un bio collecteur muni de boîte de Pétri) par des prélèvements et une mise en culture.

Régulièrement est effectuée une inspection régulière des locaux et particulièrement des zones à risque: canalisations, chéneaux, remontées capillaires, équipements techniques (installations climatiques), zones de travaux (poussière).

Un protocole permet d'assurer la reproductibilité et la comparaison des données : identités des lieux, des époques et des durées (une journée) de prélèvements dans des conditions normales d'activités des services.

Des seuils d'alerte ont été définis. En cas de dépassement, la recherche des causes est entreprise ainsi que des actions correctives : dépoussiérage, désinfection si nécessaire, nettoyage approfondi des locaux, maintenance renforcée, actions correctives sur installations techniques, filtration de l'air...

I.2 Les moisissures rencontrées

La flore rencontrée dépend des saisons, des caractéristiques des locaux et de leur utilisation. On trouve globalement les espèces banales de l'environnement. Les plus dangereuses pour les collections sont les cellulolytiques et les protéolytiques : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Eurotium*, *Chaetium*, *Aureobasidium*, etc. La prolifération très rapide de *Trichoderma* et *Penicillium Chrysogenum*, impose des mesures spéciales.

Les dos toilés et les toiles des reliures sont particulièrement sensibles au développement des moisissures.

La difficulté vient du fait que la poussière est toujours présente, elle sert de véhicule aux moisissures, au moindre désordre climatique, la prolifération peut être très rapide (48 heures). Des indicateurs précis seraient une aide nécessaire ce pourquoi les modèles créés par l'agro alimentaire, les hôpitaux qui luttent contre les mêmes maux sont à explorer avec intérêt.

II. La contamination fongique dans les monuments historiques

Geneviève Oriol, Laboratoire de Recherche des Monuments Historiques

La lutte contre les infestations est plus problématique au sein des monuments historiques : la conservation préventive est plus difficile à appliquer, les matériaux rencontrés et les microorganismes (algues, bactéries et champignons) sont très divers. L'étude des odeurs émises par les composés volatils d'origine microbienne (COVM) pourrait être une technique intéressante de détection de lieux contaminés notamment dans les lieux confinés tels les caves, les sacristies, les placards.

Les moisissures sont classées en rapport avec les températures de développement :

- 20° C : mésophiles
- $\geq 50^{\circ}$ C : psychrotolérantes
- $\leq 20^{\circ}$ C : thermotolérantes

Si l'humidité relative est basse, aucun développement ne peut se produire. Le pH légèrement acide peut contribuer au développement mais il ne constitue pas un paramètre fondamental tout comme l'absence de lumière. Il faut par contre la présence d'un support organique ou

d'un empoussièrement. La contamination est généralement liée à la germination des spores transportées par l'air et qui se sont déposées sur les supports. La colonisation s'effectue par extension ou ramification des hyphes. Le développement du mycélium se réalise par les parties terminales où s'effectue la majeure partie des synthèses. Les champignons dégradent les supports par émission d'enzymes ou d'acides.

On distingue deux types de prolifération :

- brutale et accidentelle : incendie suivi de l'inondation provoquée par l'extinction, inondation...
- latente et masquée : un édifice confiné, l'intérieur d'une réserve, d'une boîte, d'un placard...

La connaissance de tous les facteurs est difficile dans un monument historique mais souvent les modifications apportées par l'homme (chauffage provoquant de la condensation, aménagements, etc...) sont à l'origine des proliférations. Quand on ne peut prédire ni prévenir, il ne reste plus qu'à intervenir :

- élimination mécanique (dépoussiérage, nettoyage) la plus rapide possible des moisissures pour arrêter des proliférations très rapides.
- traitement de surface
- traitement de masse
- traitement de l'atmosphère

Des études de cas illustrent ces difficultés :

- Le **Parlement de Rennes** (1994) : le feu s'est propagé par les toitures d'autant plus rapidement que le matin les alarmes qui sonnaient sans raisons apparentes ont été désactivées. Ce sont des passants qui ont signalé le feu. Les tonnes d'eau sale de la Vilaine déversées par les pompiers, la difficulté de gérer et coordonner l'après sinistre, le manque de connaissance, les mouvements d'œuvres (1,8 km de panneaux peints déposés) et d'hommes, la déshumidification provoquant un climat tropical... ont entraîné une prolifération générale et très importante de moisissures en huit jours. Il a fallu une année pour arriver à l'éradiquer. Bien que la concentration fut très importante 4000 spores/m³, il n'y eut pas de problème sur les personnes (ce taux correspond à la concentration dans un hall de gare à 18H un jour de départ en vacances, par comparaison, à la BnF : 25/m³). Des cas d'allergies sont signalés dans des archives. Différents traitements ont été appliqués que ce soit sur les œuvres, en surface ou d'atmosphère par thermonébulisation ou à la vapeur sèche pour ne pas augmenter le taux d'humidité relative.
- Au **musée des Beaux-arts de la dentelle de Calais**, le départ à la retraite du responsable a entraîné un arrêt de la maintenance des déshumidificateurs. En quelques semaines, le mycélium a envahi les costumes à l'intérieur des boîtes de conservation.
- Le même phénomène s'est produit à la mort d'un curé qui, pendant 40ans, avait changé régulièrement le silica gel dans les vitrines de son église. En 3mois, les champignons ont envahi l'espace.
- La **grotte de Lascaux** est découverte en 1940, ouverte au public de 1947 à 1963. Les 1800 visiteurs/jour, la condensation, la présence de gaz carbonique, de lumière, les flashes photographiques, la formation de calcite ont provoqué des dégradations, les maladies blanche et verte (algues). En 1966, la priorité est mise à la conservation : la grotte est fermée au public. Les moisissures sont éradiquées grâce à la régulation de l'atmosphère et aux traitements. Le formaldéhyde dont l'accoutumance a entraîné une résistance des microorganismes est remplacé à partir de 1988 par l'ammonium quaternaire. Mais de 1999 à 2001, après quarante années de calme, on décide de changer les appareils de traitement d'air qui évitent les phénomènes de condensation. Ils sont

oxydés par une humidité de 100% et une température de 12°C. De fortes pluies, la circulation des hommes, le déséquilibre du milieu, des travaux longs ont entraîné une prolifération impressionnante de moisissures (*Fusarium solani* sur les sols et les parois). L'éradication n'est toujours pas obtenue. Depuis 6 ans, divers traitements ont été tentés sans succès : sel d'ammonium quaternaire puis chaux vive sur les cheminements, emballage des parois par des compresses, etc. On constate même une extension à d'autres champignons et bactéries provoquant des taches noires sur les voûtes.

A méditer : températures et humidité relative élevées (30°C et 85 %) n'entraînent pas dans les Tropiques le développement de moisissures grâce à une bonne circulation de l'air.

III La mycologie prévisionnelle, un outil pour comprendre et prédire le développement fongique.

Philippe Dantigny. Laboratoire de Génie des Procédés Microbiologique et Alimentaire.

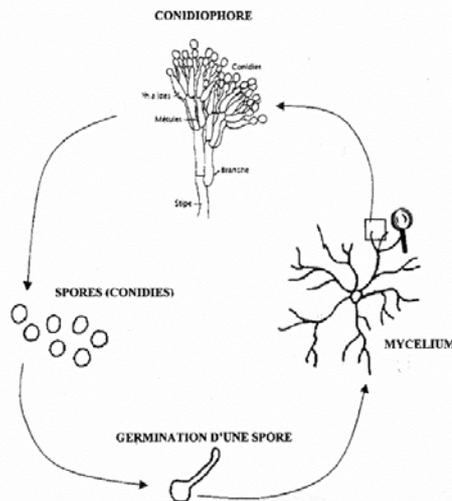
La présentation de Philippe Dantigny est adressée plus à des scientifiques (modèles mathématiques) qu'à des responsables de collections. Je la simplifierai donc à l'intention des archivistes. Mais qu'il s'agisse de biens culturels ou d'aliments, la problématique est la même : conserver sans dégradation, prévoir pour prévenir la prolifération des microorganismes. Les domaines scientifiques progressent grâce à l'enrichissement d'autres domaines. L'intérêt est mutuel, l'avenir permettra de mieux gérer les risques biologiques.

Le principe retenu est basé sur la réflexion de Monod en 1949 sur les lois simples : 3 à 4 facteurs expliquent 95% de la variabilité des phénomènes observés. En partant des connaissances acquises qui sont très légères en microbiologie, on établit des modèles sur les aspects prédictifs de la germination : une spore vit sans germer, quand va-t-elle germer ? Quels sont les facteurs qui vont influencer sur sa germination ? Il faut donc rechercher les 3 ou 4 facteurs : activité de l'eau (hygrométrie), température, pH à partir des paramètres qui eux sont constants : supports, matériaux (encres, etc). On voit ainsi que nos biologistes du Ministère de la Culture sont sur le même terrain avec des approches plus pragmatiques non basées sur des modèles mathématiques. La mycologie prévisionnelle est une science toute nouvelle née en 2000.

III. 1 Les facteurs clés du développement des moisissures

L'activité en eau des spores est très basse, très sèche (environ 0,35) et mal connue. Si les conditions environnementales sont favorables (HR élevée) la spore gonfle 2 à 5 fois faisant apparaître un tube germinatif dont la longueur est égale au diamètre de la spore gonflée. Sans germination, il n'y a pas de croissance. Quand elle démarre, on ne peut plus l'arrêter : les spores ou conidies germent et donnent naissance au mycélium, puis aux conidiophores qui à leur tour donnent des spores, la boucle est bouclée. Les spores sont véhiculées par l'air mais aussi par l'eau. Une spore dans l'air est toujours accrochée à une poussière. Si on réduit l'empoussièrement on réduit donc le nombre de spores.

Développement des moisissures filamenteuses



21/04/2007

Figure 1: Cycle de vie de *P. chrysogenum*

Dantigny et al. (2005) Int. J. Food. Microbiol 100: 187-196

Les différents facteurs sont étudiés indépendamment les uns des autres afin de vérifier leur impact sur le développement des moisissures.

Le facteur clé de la germination ne réside pas dans la température mais dans l'activité en eau a_w , elle doit être au moins de 0,85, elle est optimale entre 0,95 et 0,99 (eau pure $a_w = 1$).

La température n'est pas déterminante. Les réactions des moisissures à la température sont très diverses. La température optimale est de 25°C sauf pour *Aspergillus* (31°C).

Le pH optimal est d'environ 5,5 mais elles peuvent se développer entre 2 et 9 : le pH a donc une influence faible.

Aux facteurs variables, il faut ajouter l'étude des paramètres constants (supports et microorganismes). La connaissance des microorganismes porte sur plusieurs points :

- Influence du microorganisme (inventaire des souches contaminantes)
- L'état physiologique des spores (conditions de production, âge, etc...) influe sur les résultats mais il est malheureusement la plupart du temps méconnu.
- Il y a un effet de synergie ou de compétition entre souches.

III.2 Influence de l'éthanol sur la viabilité des spores

L'éthanol est utilisé couramment pour nettoyer les surfaces contaminées (étagères) et les matériaux qui peuvent supporter ses effets (risques d'assèchement notamment du parchemin et du cuir, de solubilité des pigments ou encres, etc...). On a constaté que l'éthanol dilué (entre 60 et 70% dans l'eau) est plus actif que l'éthanol pur. En effet, pour qu'un produit agisse sur les spores, il faut que ces dernières soient humidifiées.

Selon les pourcentages d'éthanol et le type de moisissures, les effets seront différents :

- effet fongistatique : pas de germination mais les spores ne sont pas tuées (effet des vapeurs d'alcool par exemple) à 4%- 5% d'éthanol selon les moisissures
- effet fongicide : les spores sont tuées, elles ne germeront plus à partir de 10%.

Avantages de l'utilisation de l'éthanol dans le domaine alimentaire :

- pas de pouvoir rémanent
- ne tache pas
- la plupart des produits sont à base d'éthanol
- la vapeur pénètre partout
- l'alcool s'évapore suffisamment lentement pour avoir le temps d'agir

Il est important de déterminer le type de moisissures sachant cependant que les prélèvements sur milieux de culture ne se développent pas de la même manière que dans la réalité.

Questions

- Les traitements par **anoxie**, c'est à dire privation d'oxygène en utilisant de l'azote par exemple, ne détruisent pas les moisissures. Sur certaines espèces, on constate une initiation des phénomènes de fermentation.
- La présence de **lumière** n'a pas d'impact sur le ralentissement du développement des moisissures. La BnF avait mis en place un éclairage de veille pour diminuer l'activité des insectes et non celle des moisissures. L'étude réalisée par Thi Phuong NGuyen a démontré que le coût est important (320 km de rayonnage), qu'il y a des effets sur la dégradation physico-chimique des matériaux. La BnF a donc interrompu l'éclairage de veille.
- L'étude menée sur les propriétés fongistatiques et fongicides **des huiles essentielles** comme la citronnelle ne permet pas leur utilisation actuelle car aucune recherche n'a encore été réalisée sur leur impact sur les biens culturels. Les Archives départementales des Pyrénées ont constaté l'encrassement des diffuseurs. Sur les conseils d'une restauratrice, des huiles essentielles étaient diffusées dans les gaines de climatisation. La micro-encapsulation permet une libération lente en principe sans contact avec les documents. Mais aucune étude n'a validé cette hypothèse.
- Lors de la **congélation et de la lyophilisation**, les spores ne sont pas tuées. Il ne peut donc s'agir d'une méthode de traitement des moisissures.
- Produits utilisés pour éradiquer les moisissures déposées sur les biens culturels : ils sont utilisés de manière curative et non préventive en fonction des matériaux (pigments, dorures, colles, etc) et de l'environnement à traiter (meublé, l'air, les gaines de climatisation...). Les restaurateurs font des tests pour vérifier l'innocuité des produits.
 - o Les ammoniums quaternaires : Vitalub QC 50
 - o Nitrate d'éconazole
 - o L'oxyde d'éthylène : traitement curatif et non préventif des documents contaminés par gazage.

Les documents doivent être replacés dans des lieux sains, au climat contrôlé.