

# Bilan des connaissances sur l'utilisation des composés organiques volatils microbiens comme biomarqueurs d'exposition aux moisissures en milieu de travail

Sami Haddad et Badr El Aroussi  
Dép. Santé environnementale et santé au travail  
École de santé publique  
Université de Montréal

**Utilisation des composés  
organiques volatils microbiens  
comme biomarqueurs de l'exposition  
aux moisissures en milieu de travail**  
Étude de faisabilité

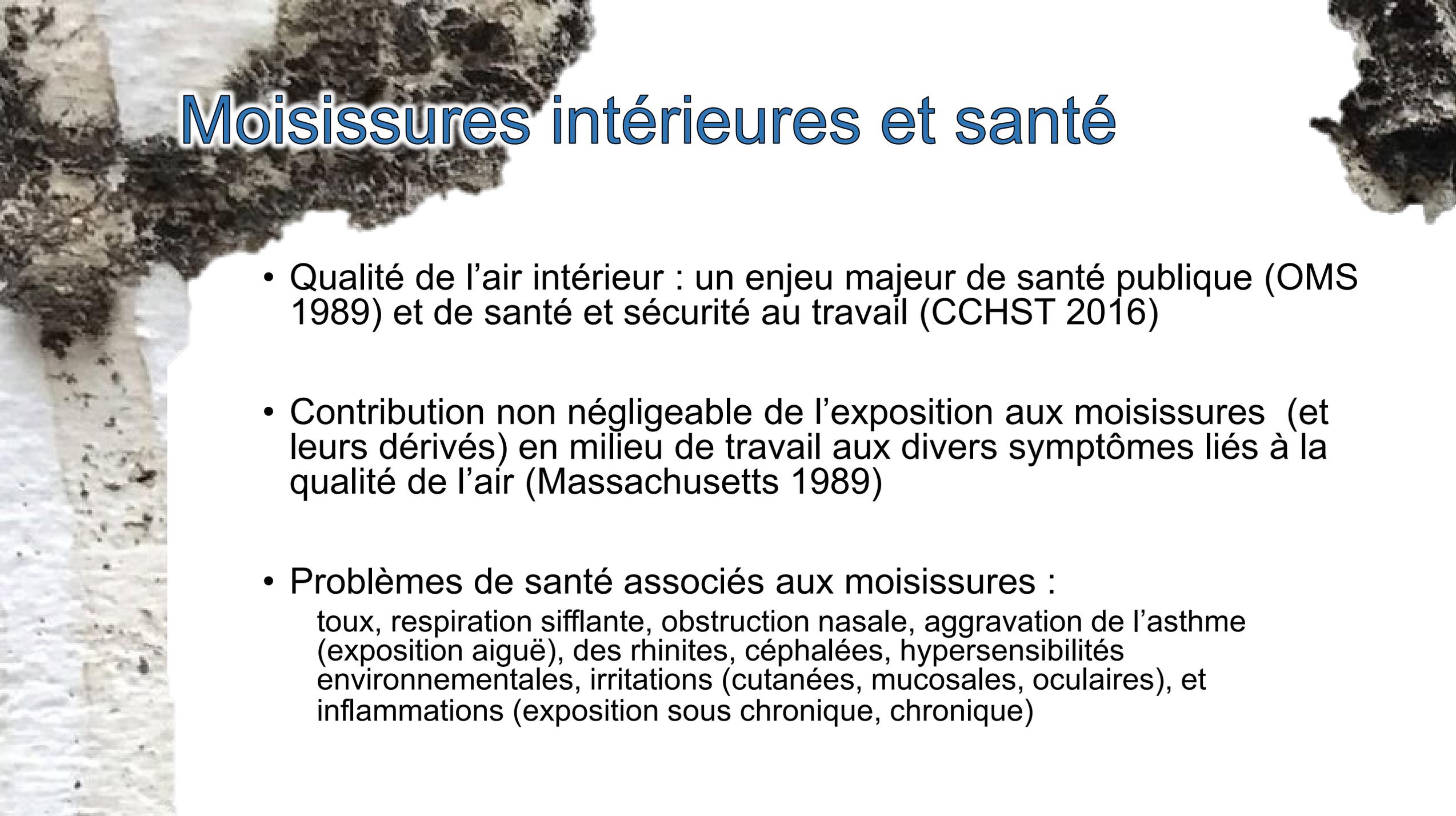
Badr El Aroussi  
Geneviève Marchand  
Simon Aubin  
Michèle Bouchard  
Sami Haddad

RAPPORTS  
SCIENTIFIQUES

R-1037

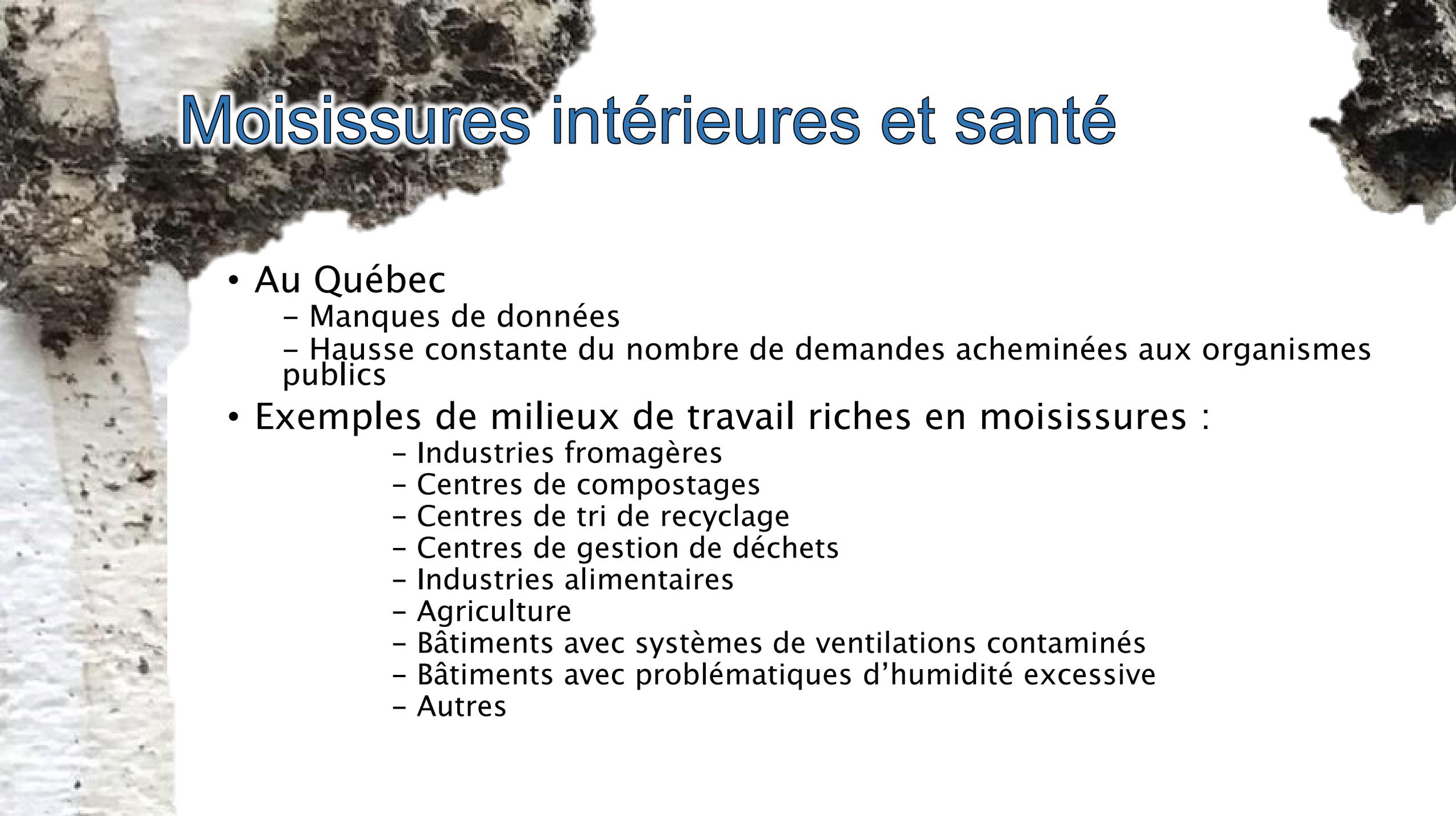


# Introduction



# Moisissures intérieures et santé

- Qualité de l'air intérieur : un enjeu majeur de santé publique (OMS 1989) et de santé et sécurité au travail (CCHST 2016)
- Contribution non négligeable de l'exposition aux moisissures (et leurs dérivés) en milieu de travail aux divers symptômes liés à la qualité de l'air (Massachusetts 1989)
- Problèmes de santé associés aux moisissures :
  - toux, respiration sifflante, obstruction nasale, aggravation de l'asthme (exposition aiguë), des rhinites, céphalées, hypersensibilités environnementales, irritations (cutanées, mucosales, oculaires), et inflammations (exposition sous chronique, chronique)

A photograph of a wall with significant black and grey mould growth, particularly in the upper left and right corners, serving as a background for the slide.

# Moisissures intérieures et santé

- Au Québec
  - Manques de données
  - Hausse constante du nombre de demandes acheminées aux organismes publics
- Exemples de milieux de travail riches en moisissures :
  - Industries fromagères
  - Centres de compostages
  - Centres de tri de recyclage
  - Centres de gestion de déchets
  - Industries alimentaires
  - Agriculture
  - Bâtiments avec systèmes de ventilations contaminés
  - Bâtiments avec problématiques d'humidité excessive
  - Autres

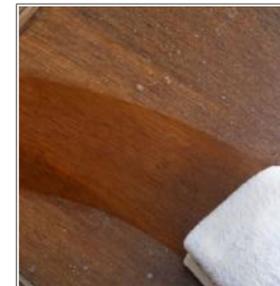
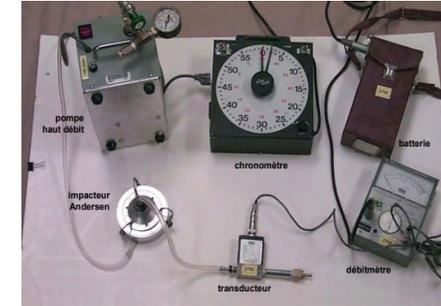
# Évaluation de l'exposition aux moisissures – Méthodes directes

- Échantillonnage des moisissures :

- Les prélèvements d'air : systèmes à impaction, échantillonnage Andersen, etc.

- Les prélèvements de surface : boîtes contact gélosées, écouvillons. L'application directe d'une surface adhésive : déterminer si une tache présente un développement fongique

- Les poussières prélevées sur des surfaces : représentatives d'une exposition fongique passée



# Évaluation de l'exposition aux moisissures - méthodes directes

- Quantification des moisissures :
  - Méthode culturale : approche traditionnelle
  - Dénombrement au microscope
  - Techniques moléculaires, immunologiques et biochimiques
  - Techniques basées sur la réaction de polymérisation en chaîne (PCR)



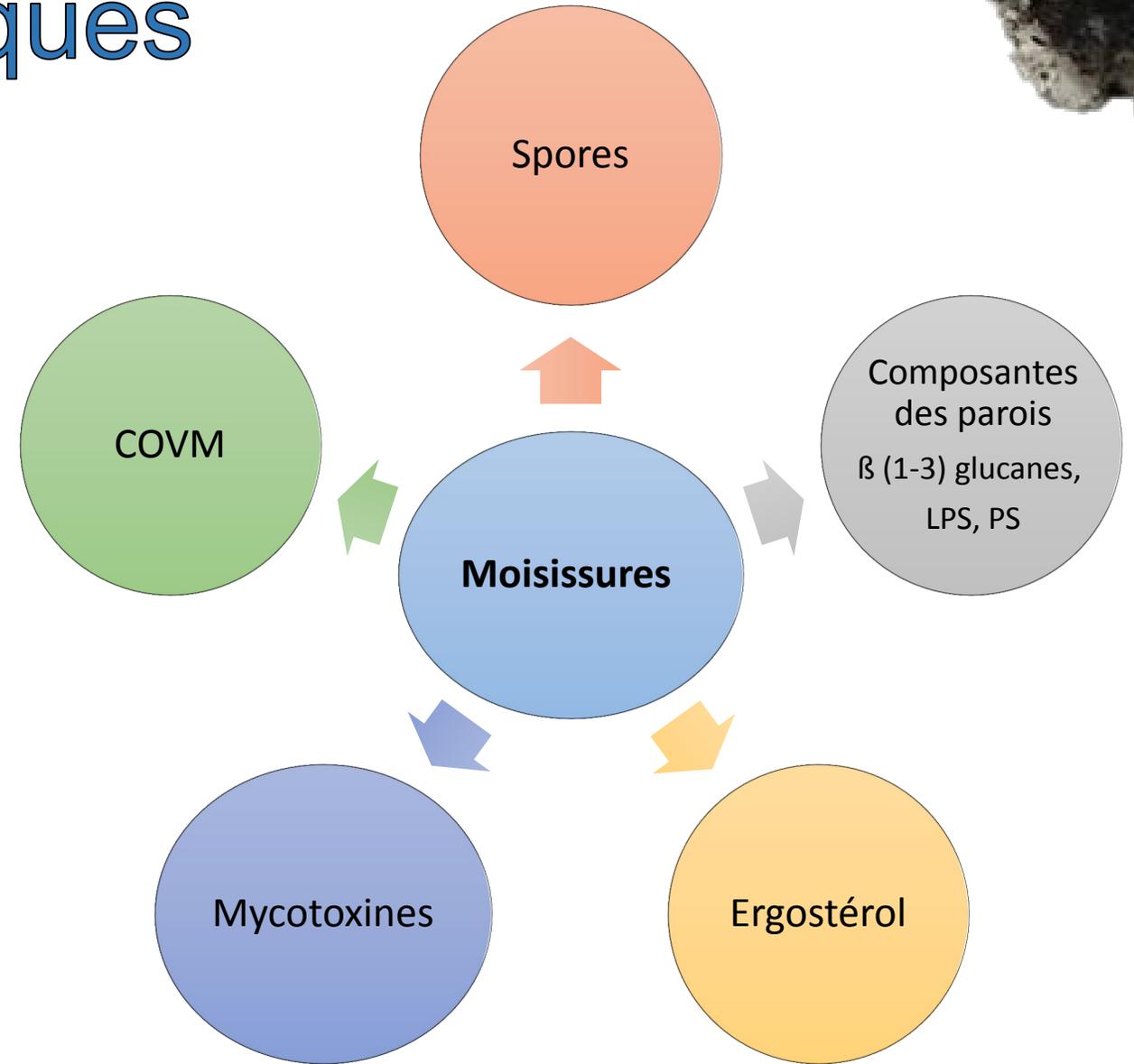
# Évaluation de l'exposition aux moisissures – Méthodes directes

- Inconvénients des méthodes directes :

- Complexité technique (échantillonnage, niveaux variables, accès aux lieux, personnel très qualifié)
- Moisissures cachées (décelabilité difficile)
- Résultats souvent difficiles à interpréter (niveaux de contamination, spéciation des espèces fongiques)
- Délais relativement élevés pour établir un diagnostic (ralentissement des procédures d'action)
- Coûts onéreux

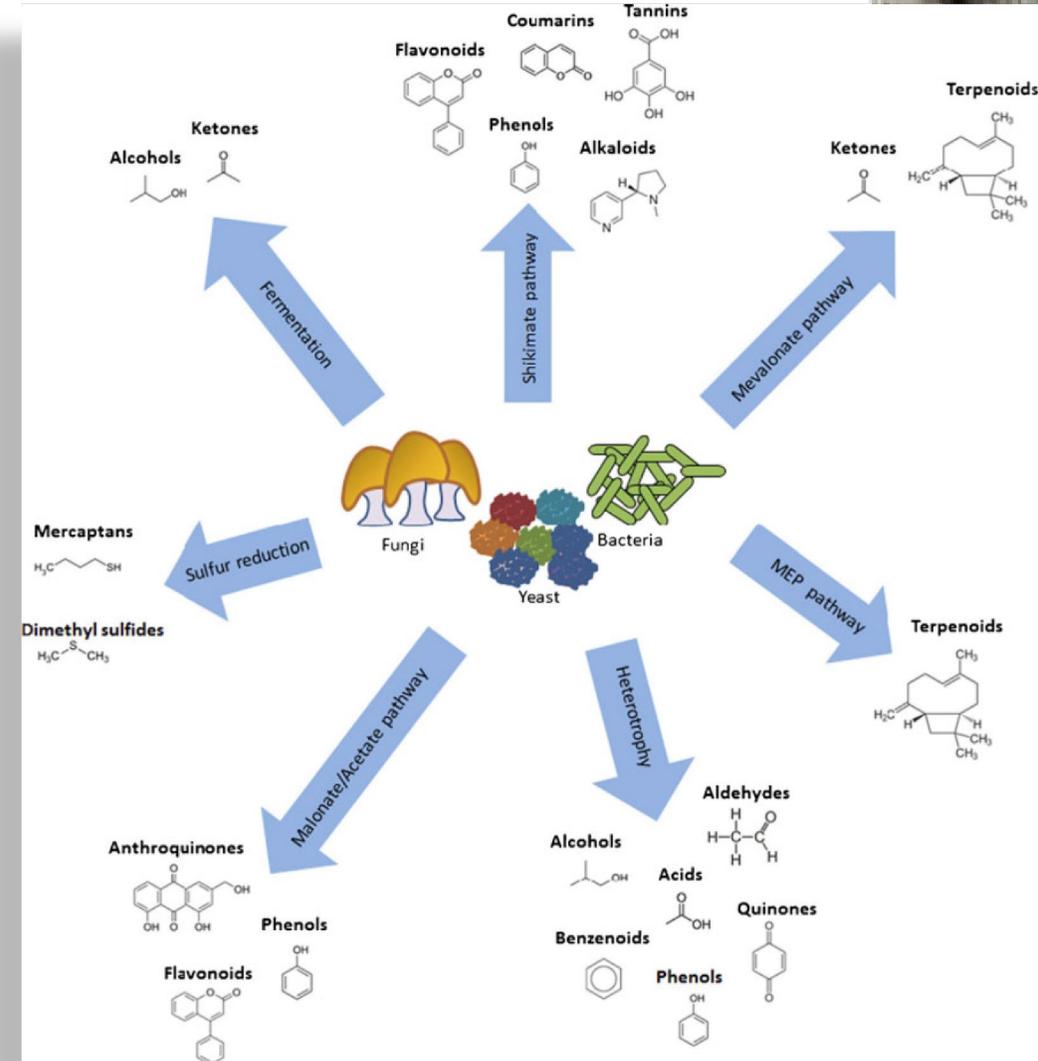
⇒ **Vers une autre approche ?**

# Particules et métabolites fongiques



# Composé organiques volatiles d'origine microbienne (COVM)

- Processus de dégradation des nutriments (matière organique ou autre)
- Plusieurs COVM émis dans l'air intérieur par les microorganismes (structure et volatilité variable)
- Signature fongique (spécificité)

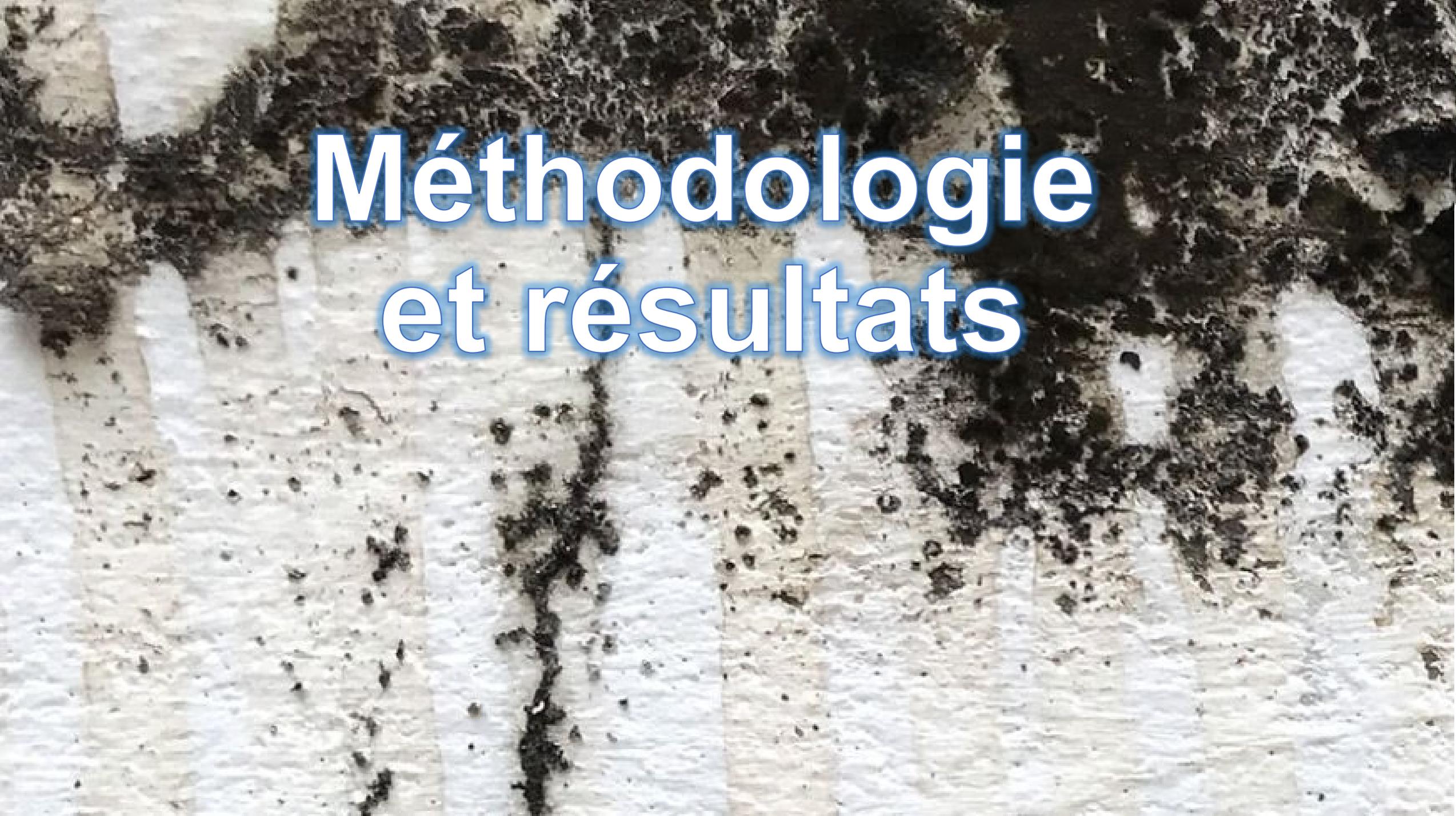


# COVM : biomarqueurs d'exposition aux moisissures?

- COVM volatiles donc nécessairement dans l'air (Dispersion plus facile des COVM)
- Les COVM se diffusent dans l'air du lieu de travail
- Travailleurs : inhalation et absorption
- Intégration de l'exposition durant la journée ou la semaine
- Tout comme les COV, on peut s'attendre à pouvoir les mesurer dans les matrices biologiques :
  - Sang
  - Urines
  - Air exhalé

# Objectif

- Déterminer si les COVM en tant que biomarqueurs peuvent être considérés pour la surveillance biologique pour l'exposition des travailleurs :
  - Identifier les COVM, leur spécificité et leurs propriétés physicochimiques/toxicocinétiques ainsi que les méthodes de détections
  - Cibler les COVM potentiels

The background of the slide is a photograph of a soil profile. It shows a distinct white layer, likely a mineral horizon, with dark, organic-rich soil above and below it. The texture of the soil is visible, showing some roots and small particles.

# Méthodologie et résultats

# Recherche d'information

## Recherche bibliographique

- Bases de données

*PubMed, SciFinder, mVOC database (Lemfack et al., 2014), Toxline, Google Scholar, etc.*

- Mots-clés

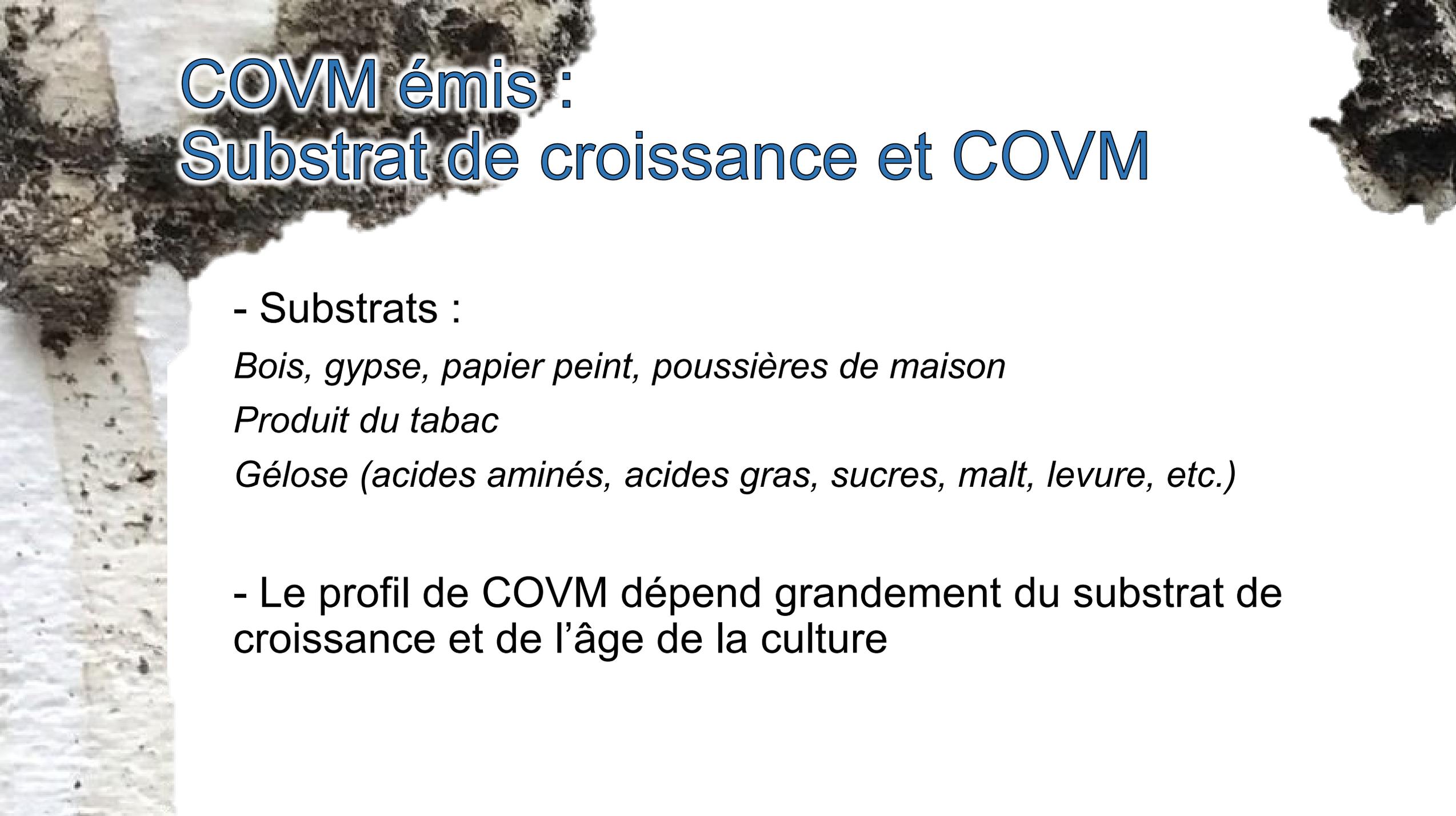
*exposure, mold\*/mould\*, microb\*, fung\*, volatile, organic, compound\*, VOC\*, indoor, building\*, environment, damp\*, detection, method, biomarker\*, human, biomonitoring, blood, urine, air, worker\*, etc.*

## Paramètres physicochimiques et pharmacocinétiques

- Estimations

*Logiciel EPIWEB 4.1 (US EPA) ou algorithmes publiés*





# COVM émis : Substrat de croissance et COVM

- Substrats :

*Bois, gypse, papier peint, poussières de maison*

*Produit du tabac*

*Gélose (acides aminés, acides gras, sucres, malt, levure, etc.)*

- Le profil de COVM dépend grandement du substrat de croissance et de l'âge de la culture

# COVM émis : Association COVM-moisissures

- Difficultés :

*Études dans des conditions  
contrôlées en laboratoire*

*Écarts de spécificité entre études*

*Sources non microbiennes*

Moisissure	COVMs spécifiques	Numéro CAS
<i>Aspergillus flavus</i>	Cis-2-octèn-1-ol	26001-58-1
<i>Aspergillus fumigatus</i>	2,4-Pentadione (Acétylacetone)	123-54-6
	3-M éthyl-1,3-pentandione	110-13-4
	Acétate de p-mentha-6,8-dièn-2-ol	97-42-7
<i>Aspergillus versicolor</i>	Triméthylnonanoate de méthyle	**
	1-(3-Méthylphényl)-éthanone	585-74-0
<i>Aspergillus candidus</i>	Isomère du 3-cyclohepten-1-one	1121-64-8*
<i>Emericella nidulans</i>	Beta-fenchol	470-08-6
	2-Méthyl-butanoate de méthyle	868-57-5
	4,4-Diméthyl-penténoate de méthyle	**
<i>Penicillium clavigerum</i>	Bicyclooctan-2-one	2716-23-6
<i>Penicillium crustosum</i>	2-Éthyl-5-méthylfurane	1703-52-2
	(S)-gamma-hexalactone	695-06-7
	Isopropylfurane	10599-59-4
<i>Penicillium cyclopium</i>	Isomère du 2-Méthyl-2-bornene	72540-93-3*
	Delta-2-dodécanol	10203-28-8
	4-Méthyl-2-(3-méthyl-2-butényl)-furane	**
<i>Penicillium roqueforti</i>	Isomère du beta-patchoulene	514-51-2*
	Isomère du beta-elemene	33880-83-0*
	(1,1-Diméthyléthyl)-2-méthylphenol	98-27-1
	Butanoate de 2-méthylpropyle	539-90-2
	Alpha-selinene	473-13-2
	1-Méthyl-4-(1-méthyléthyl) benzene (p-Cymene)	99-87-6
	Propanoate de 2-méthyl-2-méthylpropyle (ou isobutyrique)	**
	Propanoate de 2-méthyl-3-méthylbutyl	**
<i>Paecilomyces variotii</i>	Alpha-chamigrene	19912-83-5
	3,5,7-Triméthyl-2E,4E,8E-decatétraène	**
	2-Méthyl-2,4-hexadiène	28823-41-8
	Delta-4-carène	29050-33-7
<i>Trichoderma pseudokoningii</i>	2-Méthyl-pentane	107-83-5
<i>Muscodor crispans</i>	2,3-Diméthylhexane	584-94-1
	N-(1-méthylpropyl)-formamide	53798-89-3
	1,2-Diméthyl-3,5-bis(1-méthyléthényl)-cyclohexane	**
<i>Alternaria alternata</i>	6-Méthylheptanol	1653-40-3
<i>Rhizopus stolonifer</i>	1-Octène	111-66-0
	3-Méthyl-3-buten-1-ol	763-32-6

\*CAS donné pour la substance et non pas l'isomère; \*\*CAS introuvable.

Garcia-Alcega et al. Fingerprinting outdoor air environment using microbial volatile organic compounds (MVOCs) – A review. TrAC Trends in Analytical Chemistry. 2017;86:75-83

# COVM émis : Détection des COVM

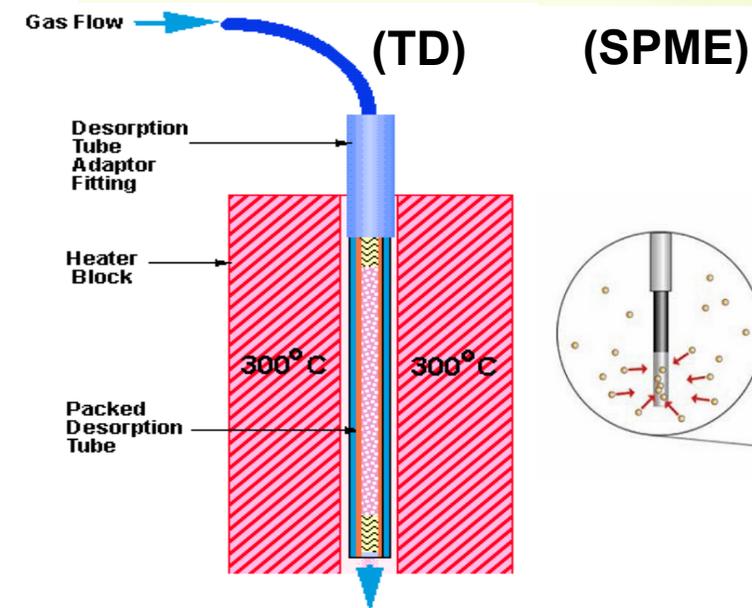
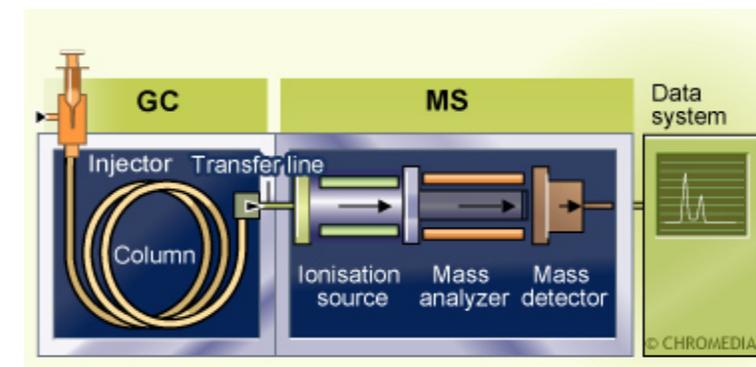
- Chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

Échantillons d'air ambiant : nez électroniques, tubes à charbon activé, tube à désorption thermique (TD), etc.  
(LOD ~ pg/m<sup>3</sup>)

Matrices biologiques : microextraction sur phase solide (SPME)  
(LOD ~ pg - ng/L)

- Combinent en une seule étape la collecte, la concentration et l'introduction des COVM

→ **réduit le temps** de préparation et **augmente la sensibilité** par rapport aux autres méthodes d'extraction.



# COVM dans l'air

- Gammes de concentration variables
- Concentrations élevées lorsqu'il y a des problèmes d'humidité

COVM	Intervalle de concentration (ng/m <sup>3</sup> )	Type d'environnement
<b>1-Octen-3-ol</b>	Nd-7000	Immeubles sans problèmes d'humidité
	5240-11800	Résidences
	Nd-904000	Immeubles avec problèmes d'humidité
	300-6000	Unités de production
<b>2-Octen-1-ol</b>	Nd-14000	Immeubles sans problèmes d'humidité
	12400-79600	Résidences
	1560-266000	Immeubles avec problèmes d'humidité
<b>2-Heptanone</b>	nd-1200	Immeubles sans problèmes d'humidité
	10000-26500	Résidences
<b>Carveol</b>	8000-15700	Résidences
<b>3-Octanol</b>	nd-40	Immeubles sans problèmes d'humidité
	4400-16300	Résidences
	<LOQ-92	Résidences
	nd-8860	Immeubles avec problèmes d'humidité
<b>Gamma Terpeneol</b>	4800-17600	Résidences
<b>Alpha Terpeneol</b>	4600-27400	Résidences
<b>2-Nonanone</b>	3800-11800	Résidences
<b>2-Methylfuran</b>	2600-10900	Résidences
<b>3-Methylfuran</b>	<1-160	Écoles
	nd-1800	Immeubles avec problèmes d'humidité
<b>Geosmin</b>	nd-50	Immeubles sans problèmes d'humidité
	2800-9500	Résidences
	nd-550	Immeubles avec problèmes d'humidité
<b>2-Pentanol</b>	3400-5900	Résidences
	<LOQ-3823	Résidences
	<1-320	Écoles
	nd-1400	Immeubles avec problèmes d'humidité
<b>Dimethylsulfide</b>	1700	Résidences
	nd-1700	Unités de production
<b>Dimethyldisulfide</b>	<10-710	Écoles
	16-90	Immeubles avec problèmes d'humidité
	nd-263000	Unités de production
<b>2-Heptanone</b>	<LOQ-1518	Habitations générales
	32-750	Écoles
	nd-97	Immeubles avec problèmes d'humidité
<b>2-Methyl-1-butanol</b>	<1-37	Écoles
<b>3-Methyl-2-butanol</b>	nd-160	Immeubles sans problèmes d'humidité
	3600	Résidences
	190-1190	Immeubles avec problèmes d'humidité

# Détection COVM biologiques

**Tableau 3** Différentes méthodes analytiques servant à détecter et à quantifier les COV dans les matrices biologiques

Matrice	Méthode	Référence
Sang	SPME-GC-MS	(Blount <i>et al.</i> , 2006; Janasik <i>et al.</i> , 2010; Maule <i>et al.</i> , 2016)
	PT-GC-MS	(Lemire <i>et al.</i> , 2004)
	GCxGC-TOFMS	(Dubois <i>et al.</i> , 2017)
	SPME-GC-MSxMS	(Aranda-Rodriguez <i>et al.</i> , 2015)
Air exhalé	GC-MS	(Cao et Duan, 2007; Giardina et Olesik, 2003; Kim, K.-H., Jahan et Kabir, 2012)
	SPME-GC-MS	(Bajtarevic <i>et al.</i> , 2009; Kim, K.-H. <i>et al.</i> , 2012)
	GC-FID	(Kim, K.-H. <i>et al.</i> , 2012; Sanchez et Sacks, 2003)
	GC-IMS	(Kim, K.-H. <i>et al.</i> , 2012; Lord, Yu, Segal et Pawliszyn, 2002)
	PTR-MS	(Bajtarevic <i>et al.</i> , 2009; Kim, K.-H. <i>et al.</i> , 2012)
	GC-PTR-MS	(KARL <i>et al.</i> , 2001; Kim, K.-H. <i>et al.</i> , 2012)
SIFT-MS	(Abbott, Elder, Špan et Smith, 2003; Kim, K.-H. <i>et al.</i> , 2012; Spanel, Davies et Smith, 1999; Storer <i>et al.</i> , 2015)	
Urine	SIFT-MS	(Abbott <i>et al.</i> , 2003)
	SPME-GC-MS	(Antonucci <i>et al.</i> , 2016; Janasik <i>et al.</i> , 2010; Vainiotalo <i>et al.</i> , 2006)
Salive	GC-MS	(Milanowski <i>et al.</i> , 2017)
	HS-Trap-GC-MS	(Amann <i>et al.</i> , 2014)

# Propriétés des COVM

- Propriétés physicochimiques

## Volatilité

Température d'ébullition

$T_{eb} > 250 \text{ °C.}$

## Hydrophilie/volatilité

Constante de Henry ( $H_{cc}$ )

## Lipophilie

Coefficient de partage (CP) n-octanol : eau ( $P_{ow}$ )

### Recherche bases de données

- CAS #
- Valeur expérimentale ou estimée

### Estimations

- SMILES
- Logiciel EPIWEB 4.1 (U.S. EPA 2017)



Propriété toxicocinétiques

# Propriétés des COVM

- Propriétés toxicocinétiques

## Absorption

CP sang : air  
( $P_{ba}$ )

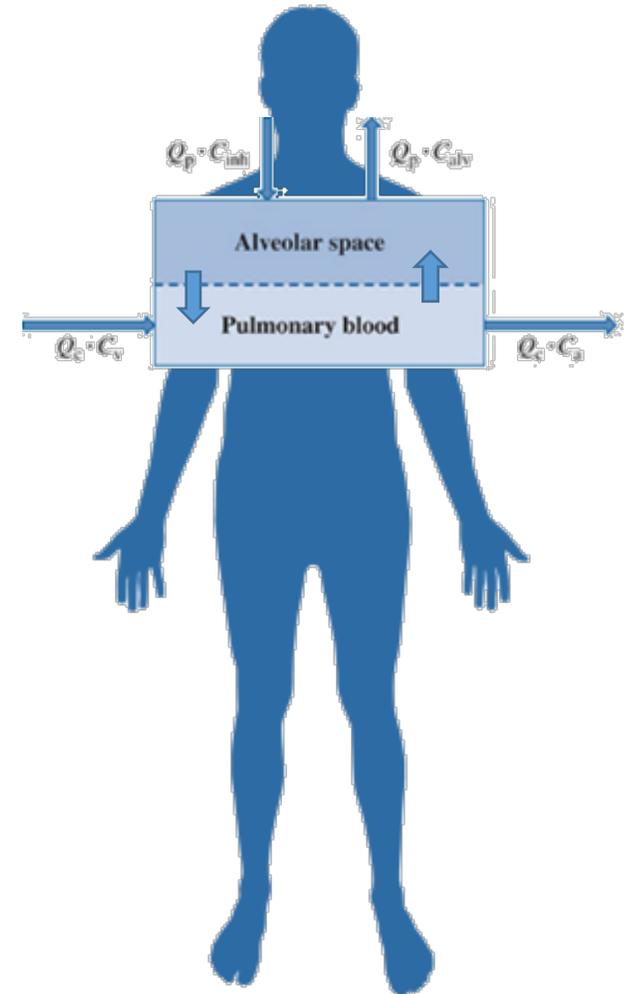
Eau      Lipides      Protéines

$$P_{pw} = F_{wp} + (P_{ow} \times F_{nlp}) + (P_{prw} \times F_{prp})$$

$$P_{ew} = F_{we} + (P_{ow} \times F_{nle}) + (P_{prw} \times F_{pre})$$

$$P_{bw} = (0.67 \times P_{pw}) + (0.33 \times P_{ew})$$

$$P_{ba} = P_{bw} / H_{cc}$$



# Propriétés des COVM

- Propriétés toxicocinétiques

## Distribution

Volume de distribution apparent (Vdss)

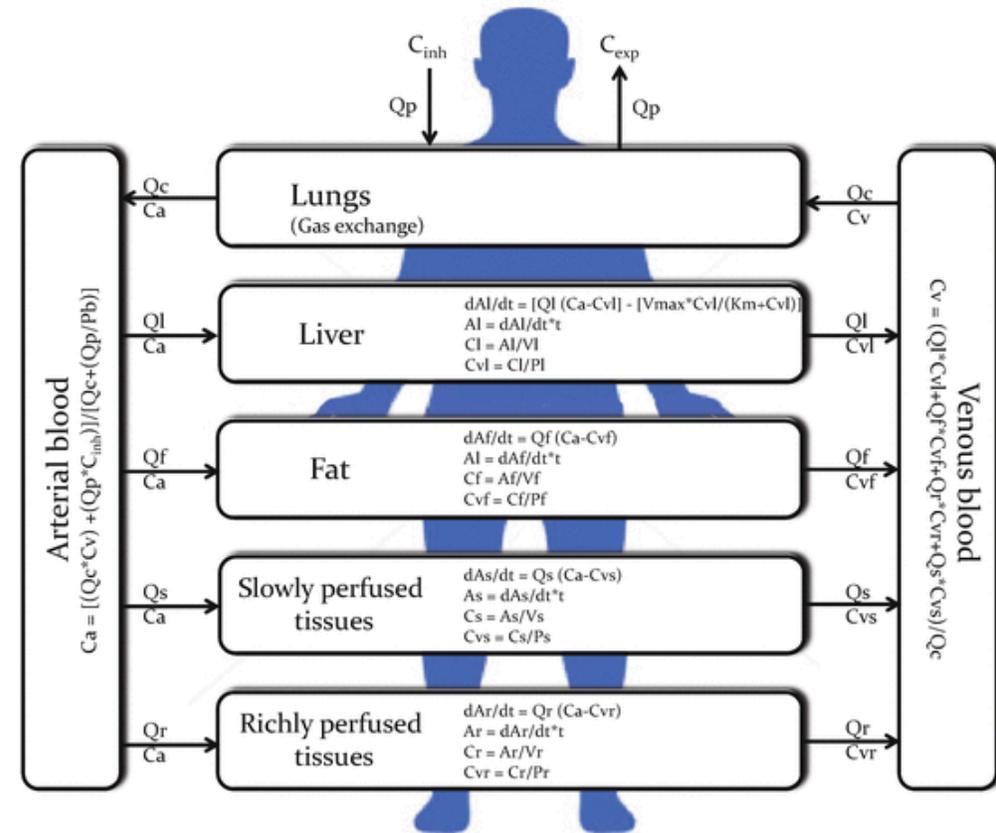
Eau

Lipides

Protéines

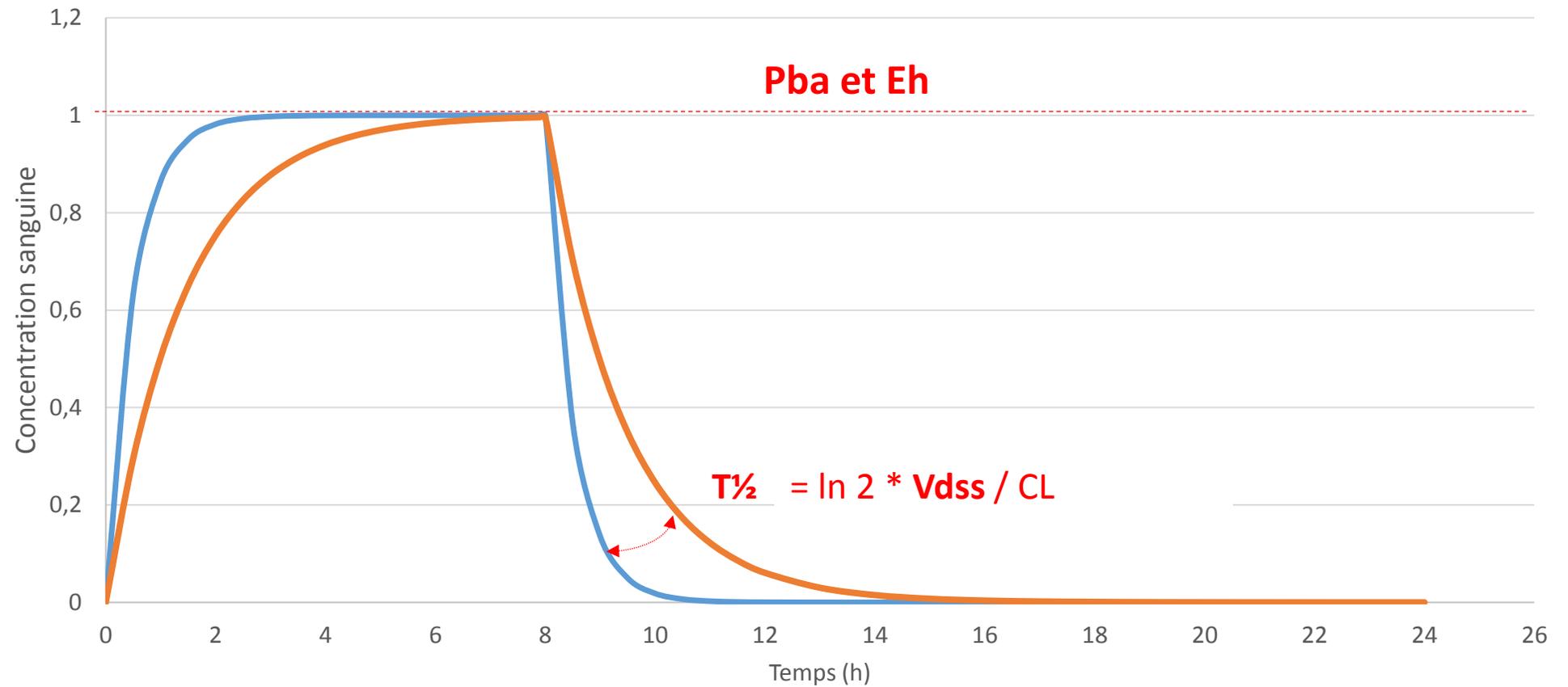
$$P_{tw} = F_{wt} + (P_{ow} \times F_{nlt}) + (P_{prw} \times F_{prt})$$

$$V_{dss} = V_p + \left( V_e \times \frac{P_{ew}}{P_{pw}} \right) + \left( \sum V_t \times \frac{P_{tw}}{P_{pw}} \right)$$

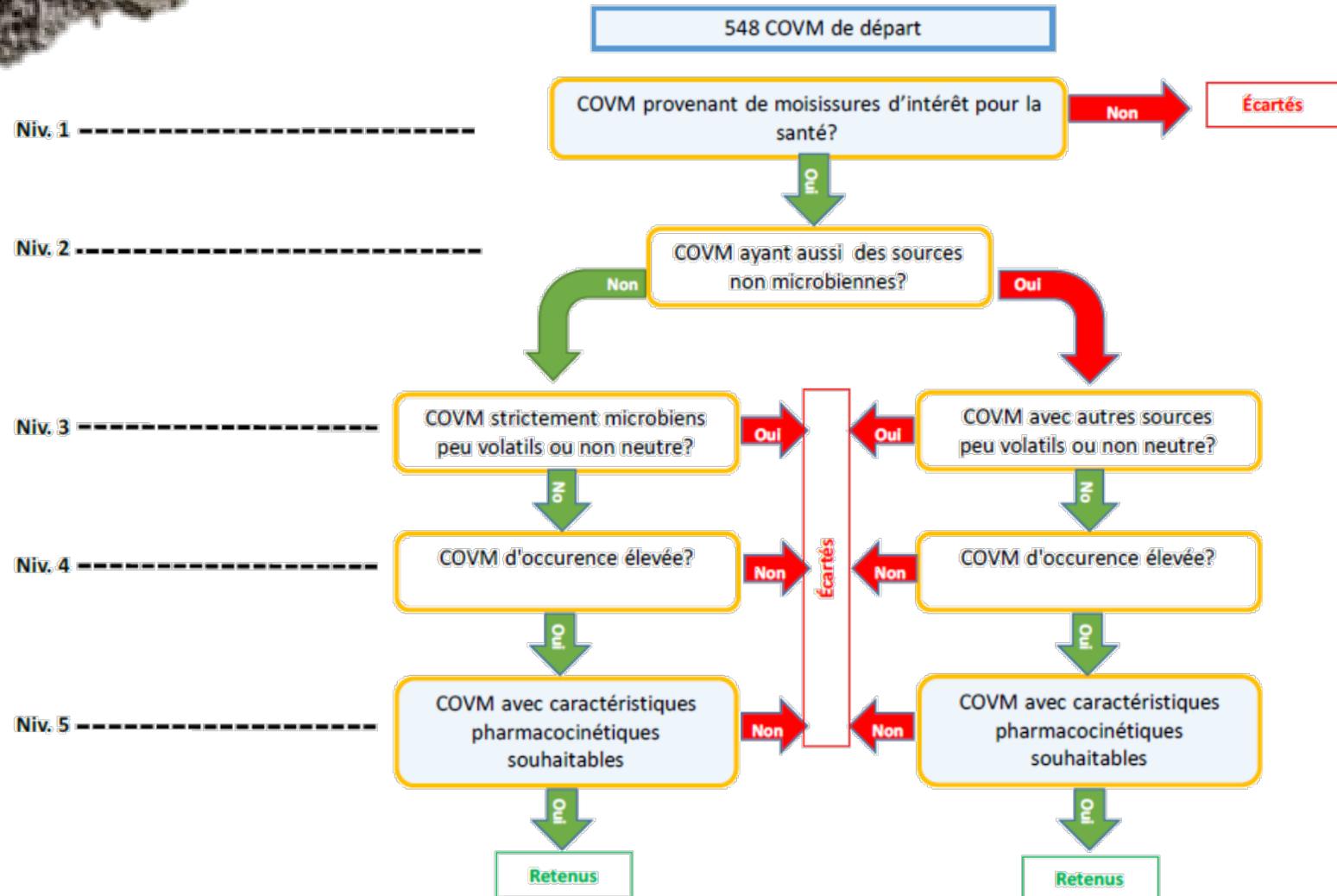


# Propriétés des COVM

Exposition journée de travail à un volatile



# Sélection des COVM



# Sélection des COVM

Niveau 1 - COVM de moisissures d'intérêts pour la santé

Niveau 2 - Identification de sources non microbiennes

Niveau 3 - Volatilité et neutralité

Niveau 4 - Occurrence

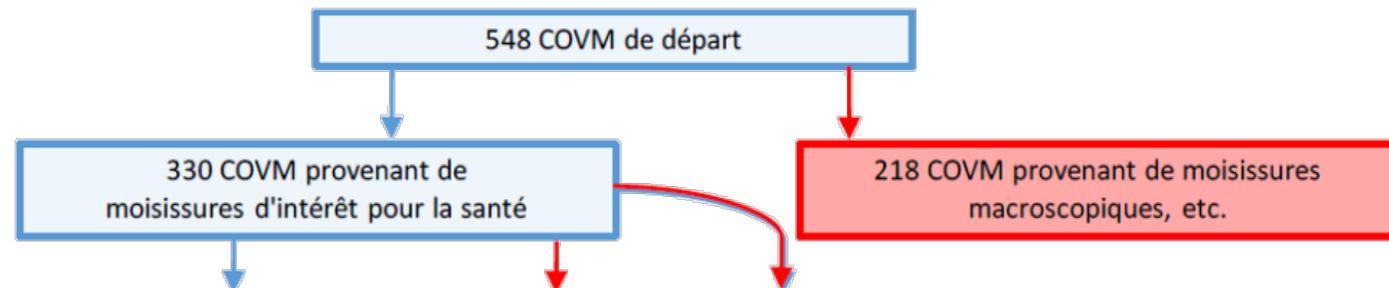
Niveau 5 - Propriétés pharmacocinétiques souhaitables

# Sélection des COVM : moisissures d'intérêts pour la santé

## Niveau 1 - Intérêt pour la santé

- Les espèces d'intérêt généralement rencontrées dans les milieux intérieurs :  
*Alternaria spp.*, *Aspergillus spp.*, *Acremonium spp.*, *Aureobasidium spp.*, *Chaetomium spp.*,  
*Cladosporium spp.*, *Fusarium spp.*, *Penicillium spp.*, *Stachybotrys spp.*, *Ulocladium spp.*,  
*Wallemia spp.*
- Réduction de 40 % des moisissures (330 COVM restants)

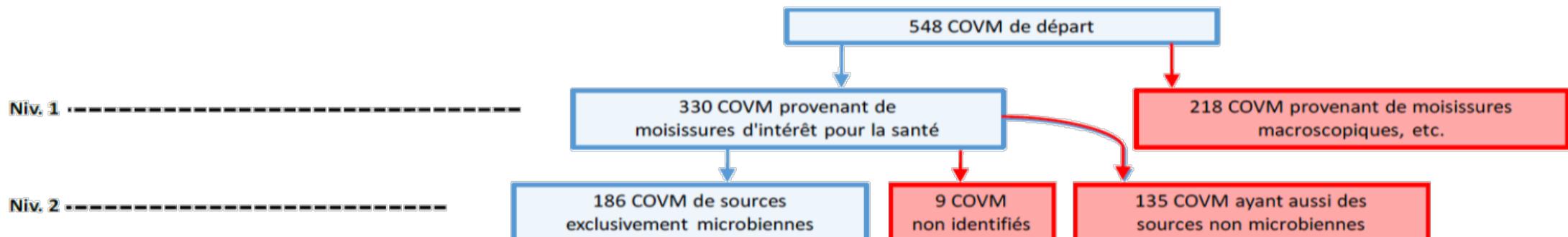
Niv. 1



# Sélection des COVM : Identification de sources non microbiennes

## Niveau 2 – Sources non microbiennes

- COVM provenant d'autres sources :  
*matériaux de construction, les meubles, les produits de beauté et d'entretien, les fragrances, etc.*
- Réduction de 330 à 186 COVM restants



# Sélection des COVM : Identification de sources non microbiennes

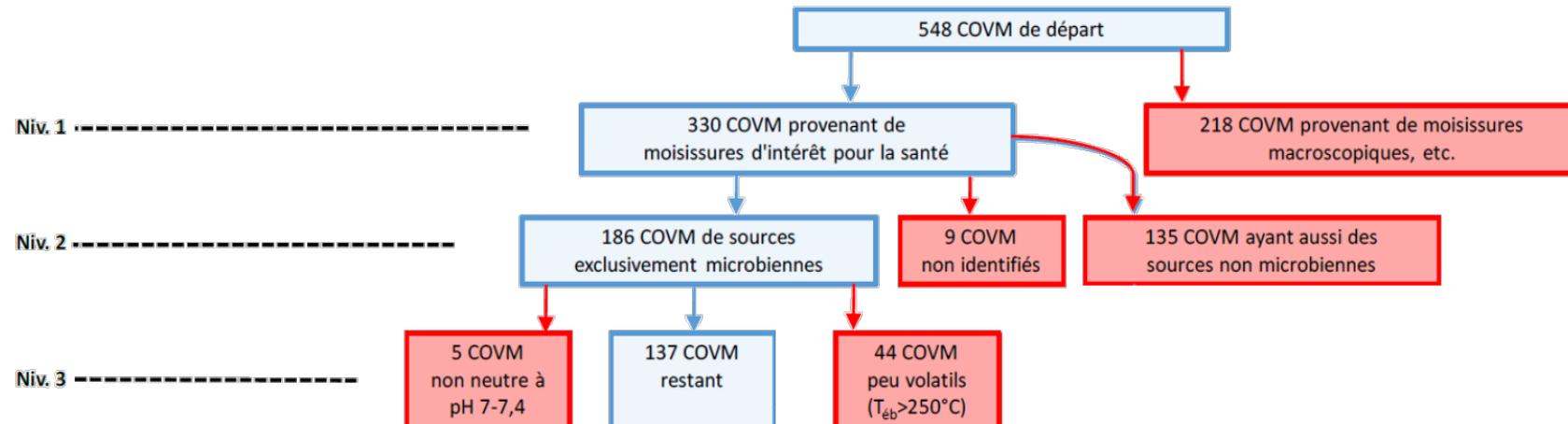
Tableau A 3 Sources non microbiennes pour les 34 COVM d'occurrence élevée (niv. 4).

COVM	Source non microbienne	Référence
1-Octèn-3-ol	Peintures, huiles essentielles, arômes artificiels	(Schleibinger, Hans, Keller et Rüden, 2004; Wieslander et Norback, 2010)
3-Méthyl-1-butanol	Vernis, solvants	(Matysik, S. <i>et al.</i> , 2009; Schleibinger, Hans <i>et al.</i> , 2004)
3-Octanone	Cires, produits de cirage, vernis, parfums et produits parfumés (pulvérisateurs, diffuseurs, bougies)	(Knöppel et Schauenburg, 1989; Schleibinger, Hans <i>et al.</i> , 2004; Uhde, Erik et Schulz, 2015; Wieslander et Norback, 2010)
2-Heptanone	Graisses, graisse de noix de coco, vernis, solvants	(Schleibinger, Hans <i>et al.</i> , 2004)
2-Méthyl-1-butanol	Vernis, solvants	(Schleibinger, Hans <i>et al.</i> , 2004)
Éthanol	Cires, produits de cirage, détergents, revêtements de surfaces (solvants), parfums et produits parfumés (pulvérisateurs, diffuseurs, bougies), revêtements de meubles, produits de lessive	(Knöppel et Schauenburg, 1989; Salthammer, 1997; Steinemann, 2015; Uhde, Erik et Schulz, 2015; Wieslander et Norback, 2010; Yu et Crump, 1998)
2-Méthyl-1-propanol	Arômes, peintures, cires, produits de cirage, détergents, vernis, solvants, assainisseurs d'air	(Schleibinger, Hans <i>et al.</i> , 2004; Wieslander et Norback, 2010)
2-Pentanone	Fumée de tabac	(Sampson <i>et al.</i> , 2014)
2-Hexanone	Colles, dissolvants de vernis à ongles, solvants, peintures	(Chin <i>et al.</i> , 2014)
Éthyl acétate	Peintures, tapis/moquettes, produits ménagers, déodorants, revêtements de surfaces (solvants), produits de lessive	(Bari, Kindzierski, Wheeler, Héroux et Wallace, 2015; Matysik, S. <i>et al.</i> , 2009; Steinemann, 2015; Yu et Crump, 1998)
Limonène ou alpha-limonène	Produits assouplisseurs, nettoyeurs pour vaisselle et pour vitres, plancher en vinyle, tapis/moquettes, déodorants, parfums et produits parfumés (pulvérisateurs, diffuseurs, bougies), bois, revêtements, photocopieuses, revêtements de meubles, produits de lessive, assainisseurs d'air	(Bari <i>et al.</i> , 2015; Destailats, Maddalena, Singer, Hodgson et McKone, 2008; Salthammer, 1997; Singer <i>et al.</i> , 2006; Steinemann, 2015; Uhde, E. et Salthammer, 2007; Uhde, Erik et Schulz, 2015; Yu et Crump, 1998)

# Sélection des COVM : Volatilité et neutralité

## Niveau 3 – Volatilité et neutralité

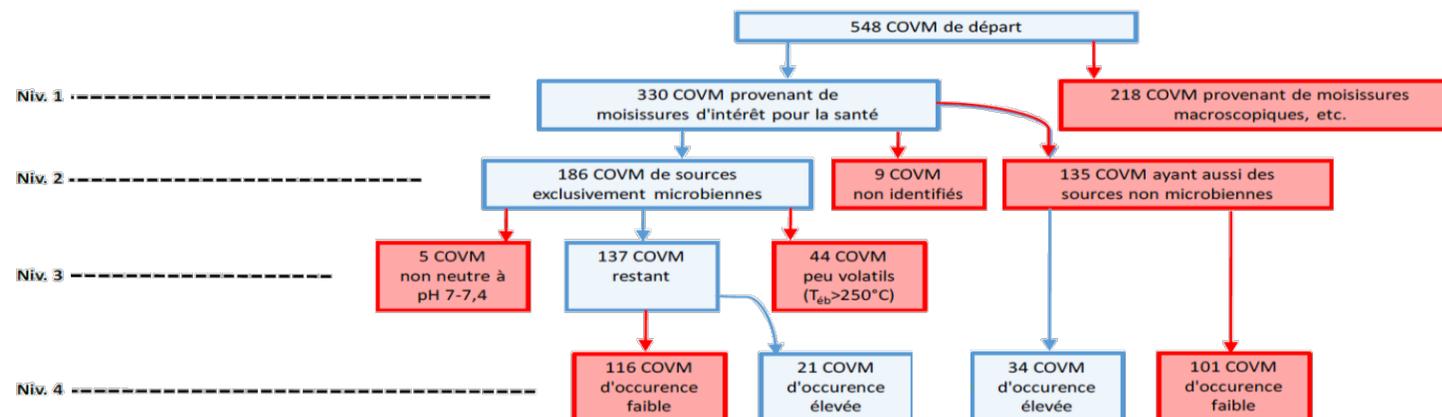
- COVM neutres dans un milieu physiologique pH 7-7.4 : *Sang, urine*
- Seuls les composés les plus volatils sont retenus :  $T_{éb} \leq 250\text{ °C}$  (US EPA)
- Réduction de 186 à 137 COVM restants



# Sélection des COVM : Occurrence élevée

## Niveau 4 - Occurrence élevée

- COVM émis par 5 espèces de moisissures ou plus
- COVM émis par moins de 5 espèces pourraient être utilisés ultérieurement lorsqu'un cas l'exige
- Réduction de 137 à 21 COVM restants
- Addition de 34 COVM repêchés au 2e niveau, qui satisfont aux niveaux 3 et 4



# Sélection des COVM : Propriétés pharmacocinétiques

## Niveau 5 – Propriétés pharmacocinétiques souhaitables

- COVM fortement absorbée :

$$P_{ba} \geq 100$$

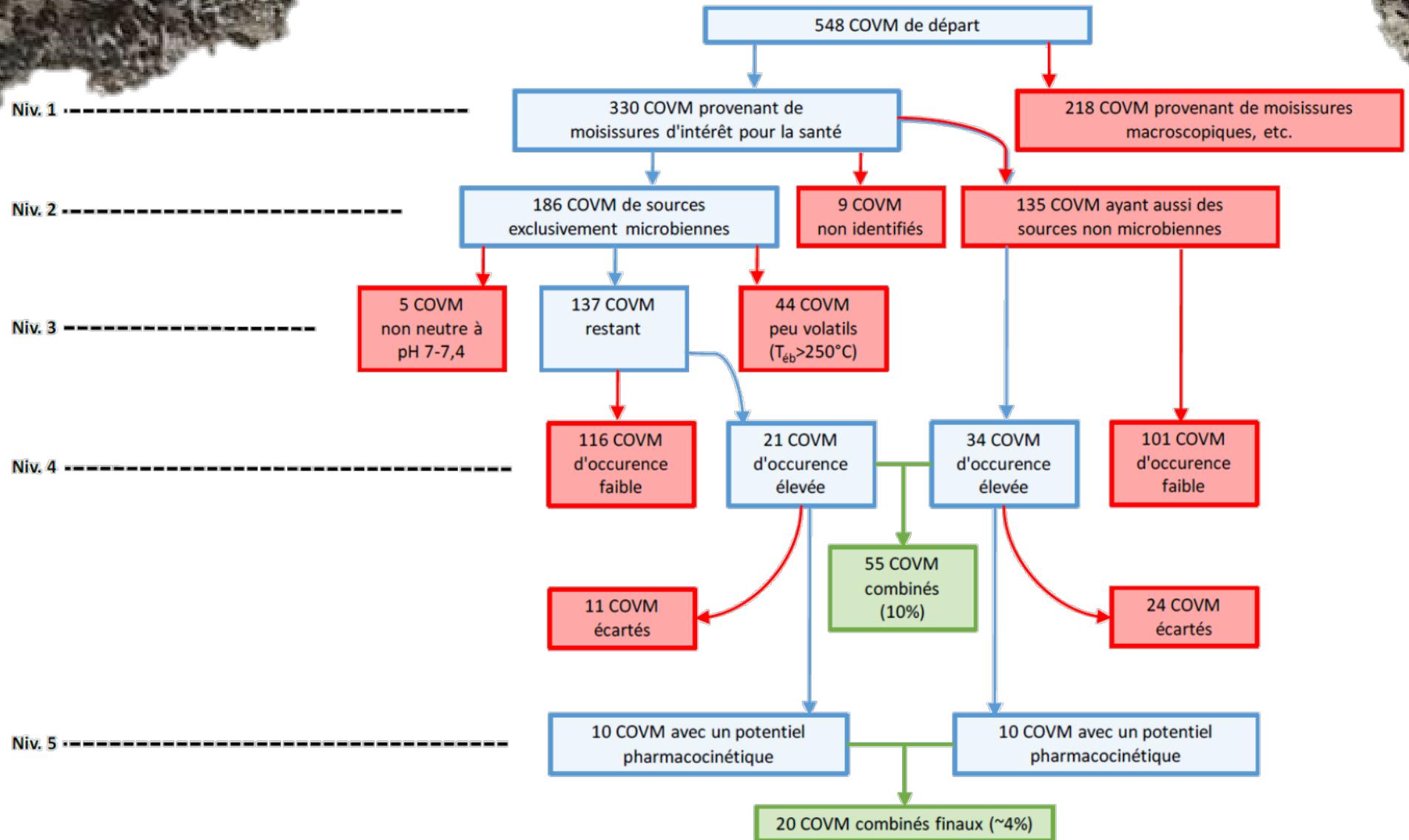
- COVM s'accumulant dans les tissus et ceux s'éliminant rapidement :

$$Vd_{ss} \geq 10 \text{ L/kg et } \leq 1 \text{ L/kg}$$

- Éthanol et acétone sont exclus, car endogènes
- Réduction de 96 %, soit 20 COVM retenus



# COVM sélectionnés



# COVM sélectionnés

Potentiel de bioaccumulation	Sans autre source connue	Autre source connue
Bioaccumulable	Chalcogran (Z) 2-octanol 3-nonèn-1-ol (Z) 2-nonanone 6-undécanone Hexanoate de pentyle	1-octanol Décane
Non bioaccumulable	3-pentanol 1-pentèn-3-ol 2-pentèn-1-ol (Z) Hexan-4-olide	Éthanol* 1-propanol** 2-pentanol 3-méthyl-1-butanol** Acétone* 2-butanone** Cyclopentanone 2-pentanone Cyclohexanone** Acétate d'éthyle**

\* Substances à exclure, car présentes de façon endogène chez l'humain;

\*\* Substances réglementées par le *Règlement sur la santé et la sécurité du travail* du Québec.



# Discussion / Recommmandations

# Discussion / Recommandations

- Exposition du travailleur aux moisissures
- Les COVM sont mesurables dans l'air et dans les matrices biologiques (TD-GC/MS ; SPME-GC/MS)
- Matrices biologiques : sang, urine, air exhalé
- COVM - Biomarqueurs :
  - Mesure indirecte de l'exposition du travailleur aux moisissures
  - Exposition journalière
  - Mesure du volatile indicateur d'une présence et du niveau de contamination aux moisissures
- 20 COVM retenus (4 % des 548 identifiés) : liste non restrictive
  - Coefficient de partage  $P_{ba}$  :  $> 100$ , mesure expérimentale
- Échantillonnage proposé
  - Prélèvement du sang avant et après le quart de travail (court et moyen terme)

# Discussion / Recommandations

- À faire
  - Développement de méthode analytique
  - Validation terrain de COVM comme biomarqueurs
  - Études pharmacocinétiques pour caractériser la demi-vie des produits retenus
  - Métabolites des COVM, etc.
- Problèmes potentiels
  - Sources non microbiennes : associations de plusieurs COVM
  - Niveaux d'expositions ?

Fin



Financé par:

