



ELSEVIER
MASSON

Disponible en ligne sur
 ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
EM|consulte
www.em-consulte.com

Revue française d'allergologie xxx (2011) xxx-xxx

REVUE FRANÇAISE
D'
Allergologie

Contre : les composés organiques volatils d'origine fongique ont un impact sur la santé

Against: Volatil organic compounds of fungal origin have an impact on health

G. Reboux^{a,*,b,c}, A.-P. Bellanger^{a,b,c}, J.-C. Dalphin^{b,c,d}

^a Laboratoire de parasitologie-mycologie, CHU Jean-Minjoz, 2, boulevard Fleming, 25030 Besançon cedex, France

^b Université Franche-Comté, 25000 Besançon, France

^c Unité mixte de recherche « chrono-environnement » CNRS 6249, 25000 Besançon, France

^d Service de pneumologie, CHU, 25030 Besançon, France

Résumé

Le développement de champignons dans les environnements intérieurs, en particulier ceux présentant une humidité chronique, est un problème largement reconnu. En revanche, l'impact sanitaire des composés organiques volatils émis par ces moisissures (FCOV) reste mal connu et sujet à controverse. Que ce soit en simulation in vitro ou à partir de logement, il apparaît que la concentration des FCOV, par la faible sensibilité des méthodes analytiques, ne permet pas la détection efficace des sources cachées de moisissures intérieures. En effet, la plupart des moisissures se développent sur des substrats pauvres et émettent des taux très faibles de FCOV ($\approx 0,1 \mu\text{g}/\text{m}^3$) et de manière intermittente. Selon le substrat, la nature et les concentrations des FCOV produits varient grandement. De plus, les émissions de COV non fongiques (100 à 1000 fois la concentration en FCOV) provenant du milieu intérieur viennent fausser les analyses. Les constructions en bois émettent des COV en telle quantité qu'il est vain de déterminer des FCOV. Seules les concentrations élevées de FCOV peuvent être déterminées compte tenu des limites techniques. La complexité du milieu intérieur rend difficile d'isoler le rôle propre des FCOV, qui au mieux semble interagir dans le développement des maladies allergiques, avec les mycotoxines, les antigènes d'acariens et des moisissures et les nombreuses substances chimiques. Il nous semble plus probable que leur rôle soit secondaire.

© 2011 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Mots clés : Composés organiques volatils ; Environnement intérieur ; Moisissures

Abstract

Fungal growth in dwellings, particularly when dampness is recurrent, is a recognized problem. In contrast, the impact of volatile organic compounds released by molds remains poorly known and suscite debate. Whatever the technique used to detect these components, it seems that volatile organic compounds released by molds are not a reliable tool to detect hidden mold sources. Most of molds grow on substrates which are too poor in nutrients to favor the mold's development and consequently barely detectable levels of the emitted compounds are generally detected ($\approx 0.1 \mu\text{g}/\text{mL}$). Moreover, mold does not produce volatile organic compounds continuously but according to their stage of development and the nature and quantity released are depending on the nature of substrate. Another point is that volatile organic compounds emitted by other sources than mold (up to 100–1000 higher concentrations) are detected in the indoor environment (furniture's, paints, wall paper. . .) and alter the analysis.

© 2011 Elsevier Masson SAS. All rights reserved.

Keywords: Volatile organic compound; Indoor air; Airborne fungi

1. Introduction

Le développement de moisissures dans les environnements intérieurs, en particulier ceux présentant une humidité chronique, est un problème largement reconnu. Ces moisissures

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : gabriel.reboux@univ-fcomte.fr (G. Reboux).

produisent des substances allergéniques, des mycotoxines et des composés organiques volatils d'origine fongique (FCOV) [1]. Certains FCOV sont capables à certaines doses d'induire des irritations et de déclencher des inflammations sans que des valeurs limites de concentration, concernant leur inhalation, aient pu être établies [2]. Le risque sanitaire représenté par ces FCOV reste donc mal connu et sujet à controverse. La preuve des effets des FCOV relève d'expérimentations physiopathologiques in vitro ou animales ou de l'observation d'un grand nombre de cas humains documentés sans ambiguïté.

Par ailleurs, ces FCOV ont été proposés comme indicateur de contamination fongique globale sans que l'intérêt d'une telle mesure n'ait été confirmé [3].

Deux questions indissociables se posent : dans quelles limites et avec quelle fiabilité a-t-il été possible de doser les FCOV et a-t-on pu relier les concentrations de certains FCOV à des symptômes ou des pathologies ?

2. Quels sont les FCOV produits par les moisissures ?

Les FCOV proviennent du métabolisme fongique et de la dégradation de matériaux sous l'action d'enzymes et d'acides produits par les moisissures lors de leur croissance [3]. Les principales moisissures sources de FCOV sont celles à croissance rapide [4]. La nature et la quantité de FCOV produits dépendent du substrat sur lequel la moisissure se développe, de l'humidité et de l'espèce en cause [5]. Plusieurs centaines de FCOV peuvent être produits par les moisissures. Pour la seule espèce *Trichoderma atroviride*, 25 FCOV ont été déterminés. Des variations importantes de concentration de FCOV peuvent avoir lieu lorsque le champignon est cultivé en présence de mycotoxines. La présence simultanée de nombreuses espèces capable de produire des mycotoxines est une situation habituelle dans l'environnement intérieur [6].

Parmi les FCOV généralement émis, on retrouve des alcools (hexanol, 2-éthyl-1-hexanol, 1-butanol, 3-méthyl-1-butanol, 2-méthyl-1-propanol, 2 terpénol), des terpènes (limonène), des sesquiterpènes (thujopsène, cedrene, farnesène), des cétones (acétone, butanone, pentanone, 2-hexanone, 3-octanone), des furanes (pentylfurane), du diméthyl disulfide, des aldéhydes, des composés aromatiques (1,3-diméthoxybenzène), de l'ammoniac et différents composés amines [7-9]. L'étude de Schuchardt et Kruse a montré que lors de leur phase primaire de croissance, les moisissures émettent des FCOV de bas poids moléculaire (alcools, aldéhydes, cétones), peu spécifiques, alors qu'elles produisent des FCOV de haut poids moléculaire au plateau de croissance (sesquiterpènes, hydrocarbures aromatiques), de spécificité supérieure [4].

3. Dosages des FCOV : limites et fiabilité

Les techniques d'analyses mises en jeu sont généralement la chromatographie gazeuse (GC) couplée à de la détection par ionisation de flamme (FID) et/ou à de la spectrométrie de masse (MS) [3,4,10]. Inévitablement ces techniques de chromatographie ou de spectrométrie de masse demandent, d'une part, de se référer à des substances standard ou à une base de données

et, d'autre part, d'accepter une marge d'interprétation entre les profils obtenus et les références. Ce référencement implique une marge d'incertitude et rend les comparaisons inter-études, pour les composés les moins fréquents, plus difficiles [6]. Plusieurs équipes, dont Fiedler et al. (2001) et Moularat et al. (2008), ont proposé d'établir des « empreintes » de contamination fongique globale de logements à partir des chromatogrammes obtenus lors de la recherche de FCOV [3,11]. Cependant, ces essais ne permettent pas d'identification de l'espèce fongique en cause et n'ont, à ce jour, été réalisés que pour un nombre limité d'espèces fongiques (trois pour l'équipe de Moularat et al., 12 pour l'équipe de Fiedler et al.). Aussi, plus de données restent nécessaires avant que ce système d'empreinte soit suffisamment robuste pour être utilisé en routine dans l'évaluation de la contamination fongique des logements [12].

D'autres équipes, dont Schuchardt et al. (2009), Matysik et al. (2008) et Schleibinger et al. (2008), soutiennent au contraire que les FCOV ne constituent pas un bon indicateur de pollution fongique [4,13]. En effet, dans la plupart des cas, les moisissures se développent sur des substrats pauvres en éléments nutritifs et émettent des taux très faibles de FCOV ($\approx 0,1 \mu\text{g}/\text{m}^3$), correspondant à la limite de sensibilité des techniques de détection [4,13,14]. Les profils obtenus pour chaque moisissure sont très dépendants de facteurs externes, dont, en particulier la nature du substrat sur lequel a poussé le champignon. Selon le substrat, la nature et les concentrations des FCOV produits varient grandement et font donc varier les résultats des dosages pour une même contamination fongique [4]. Par ailleurs, les moisissures produisent les FCOV de manière intermittente et non de manière continue, ce qui obère leur utilisation comme marqueur de contamination fongique [4]. De plus, l'émission de COV non fongiques par de nombreuses autres sources du milieu intérieur (meubles, produits de nettoyage, parfums, peintures...) vient fausser les analyses [4,13]. Les constructions en bois émettent des COV en telle quantité qu'il est vain de déterminer des FCOV [15]. Seules les concentrations élevées peuvent être déterminées compte tenu des limites techniques [13].

Enfin l'efficacité d'un échantillonneur permettant l'étude de large cohorte est un point primordial pour évaluer l'impact d'une substance. Dans l'étude Araki et al. [16], il apparaît néanmoins que le seuil de détection de l'analyse par GC-MS varie de $0,044$ à $0,178 \mu\text{g}/\text{m}^3$ et que comparativement aux valeurs mesurées dans les 41 logements investigués, la sensibilité de la méthode analytique pose le problème de l'interprétabilité des résultats. Hormis les nombreuses valeurs basses ou non détectables, le COV le plus détecté, l'hexane-2-one (97,6 %), a pour moyenne géométrique $0,470 \mu\text{g}/\text{m}^3$, alors que l'octan-3-ol n'est retrouvé que dans 12,2 % des logements à une concentration moyenne de $0,025 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Cette hétérogénéité des résultats pose le problème de l'insuffisance de la sensibilité du couple « échantillonneur/méthode analytique ».

4. FCOV : marqueurs de pollution fongiques de l'environnement intérieur ?

Plusieurs études se sont intéressées au FCOV comme marqueur d'une contamination fongique masquée du milieu

intérieur. Généralement, ce sont les FCOV de bas poids moléculaire (alcools, cétones) qui sont proposés comme marqueurs. Parmi ceux-ci, le 3-méthyl-1-butanol, le 2-hexanone, le 2-heptanone et le 3-octanol ont été suggérés comme des marqueurs fiables de la présence de moisissures (*Aspergillus* spp. en particulier) en 1999 [10]. Mais cela a ultérieurement été remis en cause par l'étude de Schleibinger et al. (2008) qui n'a retrouvé qu'une association faible entre la détection du 2-méthyl-1-butanol et du 1-octen-3-ol et la présence de moisissures [13]. Bien que Araki et al. aient établi une corrélation entre la présence de 1-octen-3-ol et du 2-pentanol (tendance) et des symptômes d'irritation (yeux, nez, toux) pour 4,8 % de la population étudiée ($n = 30/620$) ; ils doutent que ces composés soient actifs seuls et ont formulé l'hypothèse d'une interaction avec d'autres composants, d'autant que les concentrations déterminées ($0,60 \mu\text{g}/\text{m}^3$ pour le 2-pentanol – le plus fréquemment identifié –) sont inférieures de 100 à 1000 fois aux doses actives chez l'animal ($100 \mu\text{g}/\text{m}^3$) [15]. Par ailleurs la plus forte corrélation avec les symptômes a été établie dans cette même étude vis-à-vis de l'antigène d'acarien *Der p1* ($> 10 \mu\text{g}/\text{g}$ de poussière fine). Après ajustement sur cette variable aucun effet n'est alors imputable au 1-octen-3-ol [17].

5. FCOV et effets sur la santé ?

Chacun de nous inhale dans son milieu intérieur des COV non fongiques, dont les concentrations en moyenne équivalent à $200\text{--}300 \mu\text{g}/\text{m}^3$ [18]. Les FCOV ne représentent qu'une petite fraction de l'ensemble des COV. Ils sont généralement émis en quantité très faibles parce que les moisissures se développent sur des substrats pauvres en éléments nutritifs (ex., papier peint) [4]. Ainsi, plusieurs études rapportent des taux de FCOV de $0,1$ à $0,6 \mu\text{g}/\text{m}^3$ [4,10,13,17], soit de l'ordre du millième de la concentration total de COV.

Cependant, l'activité d'une molécule n'est pas exclusivement liée à sa concentration dans le milieu, elle dépend pour autant de son impact physiologique comme c'est le cas pour les mycotoxines (très actives à de faibles concentrations). Ainsi, on trouve dans la littérature plusieurs études suggérant un effet possible sur la santé des FCOV :

- l'étude de Elke et al. (1999) a décrit une plus forte prévalence d'asthme, de rhume des foins, de rhinite et irritations des yeux chez des enfants exposés à des taux élevés de FCOV. Cependant, cette association n'était pas statistiquement significative et ne prenait pas en compte les facteurs confondants comme le sexe, l'âge, le poids, le tabagisme passif, le statut social, le type de ventilation et le type de chauffage [10] ;
- l'étude de Wälinder et al. (2001) a mis en évidence la présence de 2-éthyl-1hexanol dans un bâtiment contaminé par du *Stachybotrys* sp. dont certains ouvriers se plaignaient d'une réponse inflammatoire nasale [19] ;
- deux autres études de cet auteur, Wälinder et al. (2005 et 2008) ont mis en évidence des effets irritants des yeux, du nez et des voies respiratoires après exposition de sujets pendant

deux heures à $1 \text{ mg}/\text{m}^3$ à du 3-méthyl-furane [20] puis pendant deux heures à $10 \text{ mg}/\text{m}^3$ à de 1-octen-3-ol [21]. Ces taux d'exposition étaient cependant bien supérieurs aux concentrations de FCOV généralement retrouvés dans le milieu intérieur ($0,1$ à $0,6 \mu\text{g}/\text{m}^3$). Par ailleurs, le 3-méthyl-furane est un COV nettement plus lié aux environnements tabagiques qu'à la présence de moisissures [13] ;

- l'étude de Kim et al. a été dans l'incapacité de déterminer indépendamment l'influence des plastiques de celles des COV d'origine microbienne, a fortiori des FCOV, sur l'asthme et les symptômes respiratoires de 1014 écoliers de 23 écoles à Uppsala en Suède [22] ;
- l'étude de Araki et al. (2010) a mis en évidence une corrélation entre la détection de 1-octen-3-ol et des symptômes d'irritation des muqueuses [17]. Cependant les taux de 1-octen-3-ol mesuré dans l'environnement intérieur était de l'ordre de $0,1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ alors que la concentration de $100 \mu\text{g}/\text{m}^3$ est requise pour observer des symptômes irritatifs chez la souris [15]. Par ailleurs, dans cette étude, la détection de 1-octen-3-ol n'était pas corrélée à la présence de moisissure (ni visible, ni odeur de moisi) mais à la présence de matériaux en bois et de condensation sur les murs et le bord des fenêtres.

6. Conclusion

Les données sur les FCOV restent à ce jour limitées pour pouvoir statuer sur leurs effets sur la santé observés lors notamment de cas relevant du syndrome des bâtiments malsains (sick building syndrome). Les composés recherchés (alcools, cétones) sont en effet des composés peu spécifiques qui peuvent être le fait d'autres sources d'émission que celle fongique. Par ailleurs, les effets sur la santé détectés sont peu spécifiques et pourraient résulter d'autres composés que les FCOV (mycotoxines, antigènes fongiques). Le fait que l'inhalation de FCOV soit effectivement responsable de réponses inflammatoires ou allergiques mériterait d'être prouvé par des modèles *in vitro* et *in vivo*, ce qui permettrait également de préciser les concentrations à partir desquelles ces composés représenteraient un risque réel. Ces modèles pourraient également permettre de tester l'effet de l'exposition à de faibles doses de mélanges de ces composés sur des périodes longues.

Conflit d'intérêt

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêt.

Références

- [1] Kuhn DM, Ghannoum MA. Indoor mold, toxigenic fungi, and *Stachybotrys chartarum*: infectious disease perspective. Clin Microbiol Rev 2003;16:144–72.
- [2] Goyer N, Lavoie J, Lazure L, Marchand G. Les bioaérosols en milieu de travail. Études et recherches. Guide technique T-23 IRSST Montréal 2001. Available from: URL: <http://www.irsst.qc.ca/html>.
- [3] Moularat S, Robine E, Ramalho O, Oturan MA. Detection of fungal development in closed spaces through the determination of specific chemical targets. Chemosphere 2008;72:224–32.

- [4] Schuchardt S, Kruse H. Quantitative volatile metabolite profiling of common indoor fungi: relevancy for indoor air analysis. *J Basic Microbiol* 2009;49:350–62.
- [5] Thrasher JD, Crawley S. The biocontaminants and complexity of damp indoor spaces: more than what meets the eyes. *Toxicol Ind Health* 2009;25:583–615.
- [6] Stoppacher N, Kluger B, Zeilinger S, Krska R, Schuhmacher R. Identification and profiling of volatile metabolites of the biocontrol fungus *Trichoderma atroviride* by HS-SPME-GC-MS. *J Microbiol Methods* 2010;81:187–93.
- [7] Claeson AS, Sunesson AL. Identification using versatile sampling and analytical methods of volatile compounds from *Streptomyces albidoflavus* grown on four humid building materials and one synthetic medium. *Indoor Air* 2005;9:41–7.
- [8] Gao P, Martin J. Volatile metabolites produced by three strains of *Stachybotrys chartarum* cultivated on rice and gypsum board. *Appl Occup Environ Hyg* 2002;17:430–6.
- [9] Nilsson A, Kihlstrom E, Lagesson V, Wessen B, Szponar B, Larsson L, et al. Microorganisms and volatile organic compounds in airborne dust from damp residences. *Indoor Air* 2004;14:74–82.
- [10] Elke K, Begerow J, Oppermann H, Kramer U, Jermann E, Dunemann L. Determination of selected microbial volatile organic compounds by diffusive sampling and dual-column capillary GC-FID: a new feasible approach for the detection of an exposure to indoor mould fungi? *J Environ Monit* 1999;1:445–52.
- [11] Fiedler K, Schutz E, Geh S. Detection of microbial volatile organic compounds (MVOCs) produced by moulds on various materials. *Int J Hyg Environ Health* 2001;204:111–21.
- [12] Cabral JP. Can we use indoor fungi as bioindicators of indoor air quality? Historical perspectives and open questions. *Sci Total Environ* 2010;408:4285–95.
- [13] Schleibinger H, Laussmann D, Brattig C, Mangler M, Eis D, Ruden H. Emission patterns and emission rates of MVOC and the possibility for predicting hidden mold damage? *Indoor Air* 2005;9:98–104.
- [14] Matysik S, Herbarth O, Mueller A. Determination of volatile metabolites originating from mould growth on wall paper and synthetic media. *J Microbiol Methods* 2008;75:182–7.
- [15] Korpi A, Kasanen JP, Alarie Y, Kosma VM, Pasanen AL. Sensory irritating potency of some microbial volatile organic compounds (MVOCs) and a mixture of five MVOCs. *Arch Environ Health* 1999;54:347–52.
- [16] Araki A, Eitaki Y, Kawai T, Kanazawa A, Takeda M, Kishi R. Diffusive sampling and measurement of microbial volatile organic compounds in indoor air. *Indoor Air* 2009;19:421–32.
- [17] Araki A, Kawai T, Eitaki Y, Kanazawa A, Morimoto K, Nakayama K, et al. Relationship between selected indoor volatile organic compounds, so-called microbial VOC, and the prevalence of mucous membrane symptoms in single family homes. *Sci Total Environ* 2010;408:2208–15.
- [18] Rehwagen M, Schlink U, Herbarth O. Seasonal cycle of VOCs in apartments. *Indoor Air* 2003;13:283–91.
- [19] Wälinder R, Norback D, Wessen B, Venge P. Nasal lavage biomarkers: effects of water damage and microbial growth in an office building. *Arch Environ Health* 2001;56:30–6.
- [20] Walinder R, Ernstgard L, Johanson G, Norback D, Venge P, Wieslander G. Acute effects of a fungal volatile compound. *Environ Health Perspect* 2005;113:1775–8.
- [21] Walinder R, Ernstgard L, Norback D, Wieslander G, Johanson G. Acute effects of 1-octen-3-ol, a microbial volatile organic compound (MVOC)-an experimental study. *Toxicol Lett* 2008;181:141–7.
- [22] Kim JL, Elfman L, Mi Y, Wieslander G, Smedje G, Norback D. Indoor molds, bacteria, microbial volatile organic compounds and plasticizers in schools-associations with asthma and respiratory symptoms in pupils. *Indoor Air* 2007;17:153–63.