

Université de Montréal

Détermination des coefficients de partage sang:air, urine:air et plasma:air de composés
organiques volatils d'origine microbienne

Par

Wissam Berkane

Département de santé environnementale et santé au travail

Faculté de médecine

Mémoire présenté en vue de l'obtention du grade de Maîtrise ès Sciences (M.Sc.)
en santé environnementale et santé au travail

Décembre 2022

© Wissam Berkane, 2022

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé

Détermination des coefficients de partage sang:air, urine:air et plasma:air de composés
organiques volatils d'origine microbienne

Présenté par

Wissam Berkane

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes

Ludwig Vinches
Président-rapporteur

Sami Haddad
Directeur de recherche

Claude Emond
Membre du jury

Résumé

De nombreuses études ont établi que l'exposition aux moisissures intérieures peut être nuisible à la santé. Dans une récente étude, 21 composés organiques volatils microbiens (COVM) ont été sélectionnés comme biomarqueurs potentiels de l'exposition aux moisissures intérieures. L'objectif du projet était de déterminer les coefficients de partage (CP) sang:air, urine:air, plasma:air et eau:air pour ces composés, paramètres utilisés dans la prédiction de la toxicocinétique des xénobiotiques. Pour y parvenir, la méthode de flacons à l'équilibre a été utilisée. Les COVM (1.57-2.01 µg) injectés dans des flacons (20 ml) hermétiquement scellés contenant soit 0.5 ml de matrice (flacons test) ou simplement de l'air (flacons références) ont été incubés 60 min à 37° C sous agitation continue. La quantification des COVM dans l'espace de tête des flacons (test et références) a été ensuite faite par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS/MS). Les CP de 19 COVM variaient entre 78 et 4721 pour sang:air, 14 et 3586 pour urine:air, 64 et 5604 pour plasma:air et 16 et 2210 pour eau:air. Les CP eau:air étaient étroitement liés aux CP urine:air pour 17 COVM ($R^2 = 0,97$, pente =1,001) suggérant que la valeur de CP eau:air (lorsqu'inférieur à 10^3) peut être un substitut au CP urine:air. L'étude des ratios sang:urine indique que six COVM seraient nettement plus concentrés dans le sang, matrice de choix pour ces composés. Les données générées par cette étude faciliteront le développement de modèles pharmacocinétiques de COVM et le paramétrage de leurs prélèvements en tant que biomarqueurs de l'exposition aux moisissures intérieures.

Mots-clés : moisissures, composés organiques volatils microbiens, coefficients de partage, toxicocinétique, modèles PBPK

Abstract

Numerous studies have established that exposure to indoor molds can be harmful to health. In a recent study, 21 microbial volatile organic compounds (mVOCs) were selected as potential biomarkers of indoor mold exposure. The objective of the project was to determine the blood:air, urine:air, plasma:air, and water:air partition coefficients (PCs) for these compounds, parameters used in predicting the toxicokinetics of xenobiotics. To achieve this, the vial-equilibration method was used. mVOCs (1.57-2.01 μg) were injected into hermetically sealed vials (20 ml) containing either 0.5 ml of matrix (test vials) or simply air (reference vials) and were incubated for 60 min at 37 °C under continuous agitation. Quantification of mVOCs in the headspace of the vials (test and reference) was then performed by gas chromatography mass spectrometry (GC-MS/MS). The PCs of 19 mVOCs ranged from 78 and 4721 for blood:air, 14 and 3586 for urine:air, 64 and 5604 for plasma:air, and 16 and 2210 for water:air. Water:air PCs were closely related to urine:air PCs for 17 mVOCs ($R^2 = 0.97$, slope =1.001) suggesting that the water:air PC value (when less than 10^3) may be a surrogate for the urine:air PC. The blood:urine ratio study indicates that six mVOCs would be significantly more concentrated in blood, the matrix of choice for these compounds. The data generated from this study will facilitate the development of pharmacokinetic models of mVOCs and the parameterization of their sampling as biomarkers of indoor mold exposure.

Keywords: molds, microbial volatile organic compounds, partition coefficients, toxicokinetics, PBPK models

Table des matières

Résumé	iii
Abstract	iv
Table des matières	v
Liste des tableaux	vii
Liste des figures	viii
Liste des sigles et abréviations.....	ix
Dédicaces	xi
Remerciements	xii
Chapitre 1 – Introduction générale	1
1.1. Moisissures intérieures et santé.....	2
1.1.1. Rappel de Mycologie	2
1.1.2. Prolifération dans l’environnement intérieur	3
1.1.3. Composante fongique et risques pour la santé	4
1.2. Composés organiques volatils microbiens COVM	5
1.2.1. Identification et propriétés physicochimiques.....	5
1.2.2. Sources d’émission.....	7
1.2.3. Toxicocinétique.....	8
1.2.4. Effets sur la santé	11
1.2.5. Intérêts comme biomarqueurs de l’exposition aux moisissures.....	11
1.3. COVM à l’étude	13
1.4. Biomarqueurs d’exposition	18
1.4.1. Définition	18
1.4.2. Utilité en Toxicologie.....	18

1.4.3. Considérations toxicocinétiques.....	19
1.5. Toxicocinétique et modélisation	20
1.6. Coefficients de partage.....	22
1.6.1. Méthodes de détermination pour les COV	22
1.7. Problématique et objectifs.....	26
1.7.1. Problématique.....	26
1.7.2. Objectifs	27
Chapitre 2- Article	28
Determination of blood:air, urine:air and plasma:air partition coefficients of selected microbial volatile organic compounds	29
Contribution personnelle et des co-auteurs	30
Abstract	31
Introduction	32
Material and method	35
Results and discussion	38
Conclusion	46
Declaration of competing interest	47
Acknowledgements	47
Bibliography	47
Chapitre 3- Discussion et conclusion générale.....	54
Références bibliographiques	61

Liste des tableaux

Chapitre 1

Tableau 1. Propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques expérimentales ou estimées des 21 COVM à l'Étude	17
---	----

Chapitre 2

Table 1. Measured PCs of studied mVOCs at 37°C	39
Table 2. Estimated PCs, physicochemical properties used for their calculation and estimated blood:air and measured blood:air ratios	43

liste des figures

Chapitre 1

Figure 1. Exemples de composés organiques volatils microbiens (COVM) et leurs structures chimiques.....	7
Figure 2. Organigramme décisionnel utilisé pour la sélection des COVM	14

Chapitre 2

Figure 1. Correlation between urine:air and water:air PCs of mVOCs	41
Figure 2. Relationship between measured and predicted blood:air PCs of mVOCs.....	44
Figure 3. Relationship between plasma:air and blood:air PCs of mVOCs.....	45

Liste des sigles et abréviations

CAS	Numéro d'enregistrement dans la banque de données du Chemical Abstracts Service
COV	Composé organique volatil
COVM	Composés organiques volatils microbiens
CP	Coefficient de partage
CP eau:air	Coefficient de partage eau:air
CP huile:eau	Coefficient de partage huile:eau
CP _{m:a}	Coefficient de partage matrice:air
CP octanol:eau	Coefficient de partage octanol:eau
CP _{oil:air}	Coefficient de partage huile végétale:air
CP plasma:air	Coefficient de partage plasma:air
CP sang:urine	Coefficient de partage sang:urine
CP _{t:a}	Coefficient de partage tissu:air
CP urine:air	Coefficient de partage urine:air
CP _{w:a}	Coefficient de partage eau:air
C _{ref}	Concentration du COV dans la phase gazeuse du flacon de référence
C _t	Concentration du COV dans la phase gazeuse du flacon test
H _{cc}	Constante de Henry
S _{nl}	Solubilité dans les lipides neutres
S _w	Solubilité dans l'eau
V _{dss}	Volume de distribution apparent

V_{nl}	Volume de la fraction des lipides neutres dans le tissu
V_{pl}	Volume de la fraction des phospholipides dans le tissu
V_t	Volume de la matrice
V_v	Volume du flacon vide
V_w	Volume de la fraction d'eau dans le tissu

Dédicaces

Je dédie ce travail

A mes chers parents

A mon cher époux

A mon fils adoré Ilyes

A mes chères sœurs et mon cher frère

A mes chers beaux-parents

A mes chères professeures de Toxicologie à l'université d'Alger

Dr Ettaieb Errahmani et Dr Zamoum

A toute ma famille, ma belle-famille, mes amies et tous ceux que j'aime

Que ce travail soit la plus sincère gratitude que je puisse vous exprimer

Remerciements

En ce moment très précieux, je souhaite adresser mes remerciements aux personnes qui m'ont aidée à l'accomplissement de ce travail.

Tout d'abord, je tiens à remercier tout particulièrement le Professeur Sami Haddad, qui m'a donné l'opportunité d'explorer le monde de la recherche et m'a apporté toute l'aide et le soutien durant mes deux ans de maîtrise. J'en profite pour saluer sa gentillesse, sa profonde sympathie et son esprit humanitaire.

Je tiens à remercier très sincèrement notre coordinateur de recherche Dr Badr El Aroussi pour son soutien permanent, sa disponibilité et pour tous ses conseils pertinents qui n'a cessé un jour de me prodiguer pour la réussite de ce travail.

Je voudrais exprimer ma gratitude et reconnaissance envers ma collègue de laboratoire Sarah Tabbal pour avoir toujours répondu à mes questions. Mes remerciements vont également à Noémie Plattard pour ses conseils pertinents et à Samira Rofiatou pour les merveilleux moments que nous avons passés ensemble. Je vous souhaite une bonne continuation et surtout une très belle carrière professionnelle.

Je tiens également à remercier sincèrement les membres du jury, Dr Ludwig Vinches et Dr Claude Emond pour la lecture attentive de mon mémoire.

Finalement, qu'il me soit permis de remercier mon cher époux pour son aide précieuse, ses encouragements et son soutien inestimable tout au long de ce parcours.

Chapitre 1 – Introduction générale

1.1. Moisissures intérieures et santé

La qualité de l'air intérieur est une préoccupation croissante en matière de santé publique, notamment dans les pays industrialisés où les gens passent la plupart de leur temps à l'intérieur (US-EPA. 2021). De nombreux polluants aériens provenant de sources intérieures et extérieures sont susceptibles d'affecter le bien-être et la santé des occupants. Depuis les années 1980, les politiques d'économie d'énergie ont rendu les bâtiments plus hermétiques et étanches. La ventilation est considérablement réduite, ce qui contribue grandement à la détérioration de la qualité de l'air intérieur. En effet, réduire la fréquence de ventilation d'une pièce favorise l'accumulation de contaminants dans l'environnement intérieur. Il favorise également, la croissance de certaines espèces microbiennes nuisibles telles que les moisissures; des bio-contaminants qui ont un impact multiforme sur la santé humaine. Bien qu'il existe peu de données sur l'étendue réelle de la contamination fongique intérieure au Canada, la problématique demeure grave et récurrente. Des études antérieures ont montré que plus de 30 % des bâtiments étaient infestés par des moisissures ou souffraient d'humidité chronique (D'Halewyn, 2002). Aux États-Unis, les données disponibles montrent que 24 % des maisons étaient aux prises par un problème de contamination fongique (Salo et al., 2008).

1.1.1. Rappel de Mycologie

Les moisissures forment un sous-ensemble de champignons filamenteux microscopiques largement répandus dans l'environnement. Ces derniers sont des saprophytes dépourvus de chlorophylle qui survivent en dégradant la matière organique et se reproduisent selon trois modes : par sporulation sexuée, par sporulation asexuée ou par fragmentation mycélienne (Park et Cox-Ganser, 2011). Dans l'environnement extérieur; le réservoir naturel, les moisissures sont

présentes partout. Elles se trouvent sur les plantes et végétaux vivants, mais aussi sur les matières organiques en décomposition (Méheust, 2012). Ces microorganismes jouent un rôle très important dans le développement de la biodiversité, car ils fournissent des éléments essentiels comme l'azote pour la survie d'autres organismes vivants (Borchers et al., 2017). Leur reproduction et développement dépendent fondamentalement de la présence d'eau, mais aussi d'autres facteurs tels que la disponibilité du substrat et la température appropriée.

1.1.2. Prolifération dans l'environnement intérieur

Les spores ou unités de reproduction, sont de minuscules structures microscopiques situées à la surface du mycélium. Elles se caractérisent par une grande capacité à résister aux conditions climatiques difficiles (ex. : grandes variations de température). Ces dernières peuvent être aérotransportées et peuvent survivre dans des environnements intérieurs (D'halewyn, 2002). Des facteurs tels que le vent, le mouvement des occupants (ex. : portées sur les chaussures) ou l'aspiration par les appareils de conditionnement d'air peuvent facilement transporter les spores à l'intérieur des bâtiments. Dans des conditions optimales d'humidité (minimum 65 %), de température (10-40 °C) et de substrat ces spores germent et donnent naissance à des hyphes mycéliens (Seguel et al., 2017). Pour croître et se développer, les moisissures se servent de différents types de substrats naturels ou synthétiques. Les matériaux de construction tels que la peinture, le papier peint, les meubles et les articles de maisons (ex. : moquettes, textiles), etc., sont propices à la prolifération des moisissures. Toutefois, une humidité durable est la raison principale d'une croissance fongique en intérieur. C'est pourquoi les bâtiments souffrant de problèmes de fuites, de condensation d'eau et/ou de ventilation défectueuse sont plus susceptibles d'être contaminés. Les espèces de moisissures les plus fréquemment rencontrées dans les milieux intérieurs sont *Fusarium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Alternaria*,

Geotrichum, Rhodotorula, Chaetomium, Stachybotrys, Ulocladium, Wallemia, Aureobasidium, etc. (Bush et al., 2006; Korpi et al., 2009; Schuchardt et Strube, 2013; Seguel et al., 2017).

1.1.3. Composante fongique et risques pour la santé

1.1.3.1. Composante fongique

La croissance et la reproduction des champignons requièrent la dégradation de la matière organique complexe en substances plus simples. Au cours de cette activité vitale, de nombreux fragments et métabolites sont parallèlement produits et émis (ex. : spores, β -Glucanes, mycotoxines, composés organiques volatils microbiens COVM, etc.). Certains d'entre eux sont essentiels à la survie et à la reproduction des moisissures (ex. : spores). D'autres sont plutôt des produits secondaires issus du métabolisme primaire et/ou secondaire (ex. : COVM) et assurent de nombreuses autres fonctions de régulation et de communication avec l'environnement naturel (Guo et al., 2021). Ces fragments et métabolites notamment ; les β -D-glucanes, les mycotoxines et les COVM, peuvent être toxiques pour l'humain (D'halewyn et al, 2002). La toxicité de certains d'entre eux peut persister longtemps après leur émission; même si la moisissure n'est plus viable (Straus, 2009).

1.1.3.2. Risques pour la santé

Par l'intermédiaire de leurs fragments et métabolites émis dans l'air intérieur, les moisissures peuvent nuire à la santé des occupants. L'exposition se fait principalement par inhalation. Cependant, les voies orale et cutanée sont également possibles (Palaty et Shum, 2012). L'ampleur de la symptomatologie dépend des caractéristiques de l'exposition (mode et durée d'exposition, espèce fongique impliquée), de la composante fongique incriminée (concentration, présence

simultanée) et de la vulnérabilité des personnes exposées (âge, état de santé, etc.) (D'Halewyn, 2002). Les mécanismes physiopathologiques par lesquels l'exposition aux moisissures affecte la santé humaine sont encore mal compris. Des mécanismes irritatifs (ex. : COVM), immunologiques (ex. : β 1-3 glucanes), toxiques et infectieux (ex : mycotoxines) sont le plus souvent impliqués (Boutin-Forzano et al., 2006). Les effets fréquemment documentés dans la littérature comprennent l'irritation du nez, de la gorge et des yeux, les rhinites allergiques, les bronchites, la dyspnée et la difficulté respiratoire, la toux, la pneumopathie d'hypersensibilité, les infections des voies respiratoires, l'exacerbation de l'asthme, etc. (Who, 2009; Mendel et al., 2011; Palaty et Shum., 2012). Des effets dépressifs liés à l'exposition à l'humidité et aux moisissures ont également été rapportés (Shenassa et al., 2007). Néanmoins, la causalité est toujours difficile à établir car de nombreux autres contaminants intérieurs chimiques et/ou biologiques peuvent avoir des effets similaires à ceux des moisissures.

1.2. Composés organiques volatils microbiens

1.2.1. Identification et propriétés physicochimiques

Les composés organiques volatils microbiens (COVM) sont des composés produits au cours des métabolismes primaires et secondaires des moisissures (Polizzi et al., 2012). Ils sont émis durant toutes les étapes de croissance de ces microorganismes (Sawoszczuk et al., 2015) et semblent jouer un rôle dans la régulation des interactions fongiques dans l'environnement naturel (Guo et al., 2021). Plus de 200 COVM répertoriés dans la littérature sont connus pour être produits et émis par des moisissures (Hung et al., 2015). Les COVM sont responsables de l'odeur caractéristique de « moisi » et ont pour la plupart des seuils de détection olfactives très faibles

(D'halewyn et al., 2002). À la différence des spores, les COVM sont librement dispersés dans l'air et ne sont pas retenus par des substrats (Moularat et al., 2008).

D'un point de vue chimique, les COVM sont des molécules qui contiennent au moins un atome de carbone en plus d'autres éléments possibles tels que l'hydrogène, l'oxygène, les halogènes, etc. Ils peuvent facilement passer de l'état liquide à l'état gazeux et inversement dans les conditions naturelles de température et de pression.

Les COVM appartiennent à différentes familles chimiques telles que les cétones, les alcools, les aldéhydes, les acides carboxyliques, les esters, les hydrocarbures aromatiques, les terpènes, les composés soufrés et autres (Hung et al., 2015). Ils varient considérablement en structure chimique, polarité, poids moléculaire et volatilité. La figure 1 montre des exemples de COVM et leurs structures chimiques. Les émissions des COVM se présentent généralement sous forme de mélange dont la composition et la quantité changent selon l'espèce productrice, l'âge de la culture, le cycle végétatif, la nature de substrat et les conditions environnementales (humidité, d'oxygène, de pH, etc.) (Korpi et al., 2009). La littérature montre que, les COVM de faible poids moléculaire, qui comprennent des alcools ou des cétones sont plus susceptibles de se former dans la phase de croissance primaire. Ils sont peu spécifiques du genre et de l'espèce. Tandis que les plus spécifiques et de poids moléculaire élevé, tels que les sesquiterpènes, sont principalement produits à des stades de croissance avancés, chez des cultures plus âgées (Schuchardt et Kruse, 2009).

La volatilité d'un COVM est principalement déterminée par trois facteurs; une température d'ébullition et poids moléculaire faibles ainsi qu'une pression de vapeur élevée (Garcia Alcega et al., 2017). Cette propriété de volatilité leur confère la possibilité d'être transportés sur de longues distances dans l'environnement naturel (Minerdi et al., 2009). Elle leur attribue également, la

capacité de franchir et de diffuser à travers des matériaux poreux et objets solides (Schleibinger et al., 2008).

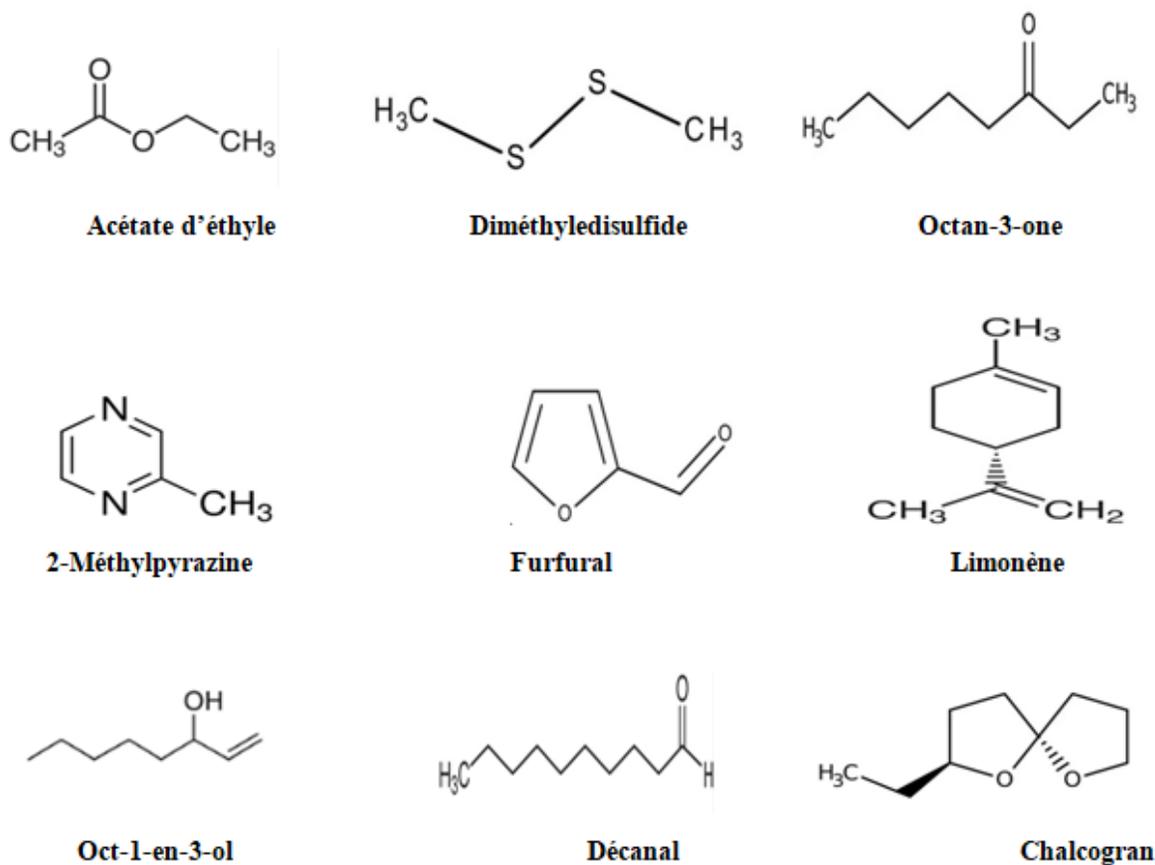


Figure 1. – Exemples de composés organiques volatils microbiens (COVM) et leurs structures chimiques

1.2.2. Sources d'émission

Les COVM peuvent être d'origine strictement microbienne (ex. : moisissures, bactéries), comme ils peuvent avoir d'autres sources non-microbienne. Dans le cas des COVM provenant des moisissures, le profil d'émission est typique de l'espèce et de son stade de développement

(Fiedler et al., 2001; Lemfack et al., 2014; Lemfack et al., 2018). Il est également reproductible sous des conditions environnantes spécifiques (Bruce et al., 2000). La nature et la concentration des COVM émis varient selon l'espèce émettrice et le substrat fourni. Ils peuvent être spécifiques à une seule espèce (ex.: Triméthyl naphthalène produit par *Aspergillus versicolor*), comme ils peuvent être produits par plusieurs espèces (ex.: Octan-3-one, oct-1-en-3-ol et méthyl-3-butan-1-ol) (Fiedler et al., 2001). Chez certaines espèces de moisissures, la production des COVM peut se croiser avec celle des mycotoxines, comme c'est le cas des sesquiterpènes et des aflatoxines. Ceci est particulièrement courant aux stades avancés de la croissance (Korpi et al., 2009). Une relation peut également exister entre la production de spores et celle des COVM. Une production importante de COVM peut précéder les fortes périodes de sporulation (Polizzi et al., 2012).

D'autres COVM peuvent par contre provenir de sources non microbiennes telles que les matériaux de construction, les gaz d'échappement de moteurs, les meubles, les vernis, les solvants, les produits cosmétiques, les produits d'entretien ménagers, etc. (Nalli et al 2006; Kim et al., 2007; Matysik et al., 2008; Dinh et al., 2015; Choi et al., 2016).

1.2.3. Toxicocinétique

Étant donné que les COVM sont essentiellement des composés organiques volatils (COV), leur toxicocinétique devrait être similaire.

- **Absorption**

La principale voie de pénétration des COVM est la voie respiratoire. Leur faible poids moléculaire et leur charge neutre leur permettent de franchir rapidement et librement les membranes cellulaires, facilitant ainsi leur distribution dans le sang et les tissus (Korpi et al.,

2009). L'absorption des COV est rapide et perceptible au début de l'exposition. Puis un état d'équilibre s'établit entre les poumons et le sang veineux, ce qui ralentit l'absorption (Heinrich-Ramm et al., 2000). Cette absorption dépend de plusieurs facteurs. Certains sont liés aux caractéristiques physiologiques de l'organisme exposé telles que le débit cardiaque et la ventilation pulmonaire, d'autres aux propriétés physicochimiques du composé telles que le coefficient de partage (CP) sang:air défini comme le ratio des concentrations entre l'air et le sang à l'équilibre. La ventilation pulmonaire et le débit cardiaque régissent respectivement le taux d'absorption et la vitesse de distribution sanguine (Nong, 2007). En effet, l'absorption des COV hautement solubles dans le sang (CP sang:air élevé) n'est affectée que par la ventilation pulmonaire. D'autre part, les COV moins solubles (CP sang:air faible) sont particulièrement sensibles au débit cardiaque qui régule le transport des poumons vers la circulation générale (Imbriani et Ghittori, 2005).

- **Distribution**

Après absorption, les COV sont distribués dans les différents tissus et organes. La distribution varie en fonction des caractéristiques de volatilité, de lipophilie, d'hydrophilie, de taille, de charge et de polarité, selon la composition, la perfusion et le volume de chaque tissu. La lipophilie/hydrophilie détermine en grande partie le mode de transport des COV dans le sang. Les composés hydrophiles sont généralement transportés librement dans la phase aqueuse du sang. Les composés lipophiles, quant à eux, se localisent préférentiellement dans la fraction lipidique du sang (ex. : les phospholipides des membranes cellulaires, les lipides sanguins) et sont plus susceptibles de se lier à l'hémoglobine des érythrocytes et aux protéines plasmatiques (Beliveau et al., 2001 ; Payne et Kenny, 2002).

La distribution des COV dans les tissus est modulée par deux éléments: la perfusion sanguine aux tissus et les CP tissu:sang. Ces derniers tendent à être plus importants pour les composés liposolubles en raison de l'affinité qu'ils présentent pour les lipides tissulaires (Heinrich-Ramm et al., 2000; Korpi et al, 2009).

- **Métabolisme et excrétion**

Les COV peuvent être éliminés dans l'air exhalé, ou sous forme de métabolites principalement dans les urines (Heinrich-Ramm et al., 2000). Ces métabolites sont formés suite à des réactions de biotransformations classées en phase I et phase II qui ont pour objectif de faciliter l'élimination des xénobiotiques. Le type de réaction métabolique dépend fortement de la structure chimique du COV. La phase I, également connue sous le nom de fonctionnalisation, conduit généralement à des métabolites polaires qui peuvent être éliminés directement dans les urines ou poursuivre le métabolisme de phase II. L'oxydoréduction est la principale réaction de fonctionnalisation que subissent les alcools, les aldéhydes et les cétones. La biotransformation de phase II se déroule principalement dans le foie et elle aboutit à des métabolites conjugués, hydrosolubles et facilement éliminés dans l'urine. Les réactions les plus courantes sont la glucuroconjugaison (ex.: acides carboxyliques, alcools aromatiques, alcools aliphatiques) et la sulfoconjugaison (ex.: alcools aliphatiques) (Korpi et al., 2009).

La forme inchangée éliminée dans l'urine est minime et ne représente généralement qu'une très faible proportion (généralement moins de 2%) de la dose de COV inhalée (Erb et al., 2021). Les niveaux des COV excrétés dans l'urine sous forme inchangée sont toutefois très bien corrélés avec les concentrations dans le sang et l'air ambiant, ceci a été démontré pour le butan-2-one (Méthyl éthyl cétone), un solvant utilisé en industrie mais aussi libéré par les moisissures (Kawai

et al., 2003). Cette excrétion urinaire des COV inchangés se fait par filtration glomérulaire et diffusion passive au niveau tubulaire et est déterminée par trois principaux facteurs; la concentration dans le sang, le débit urinaire et le CP sang:urine. Finalement, tout comme l'exercice physique peut augmenter l'absorption pulmonaire des COV, il en va de même pour l'excrétion urinaire sous forme inchangée (Imbriani et Ghittori, 2005).

1.2.4. Effets sur la santé

Les COVM peuvent entraîner une odeur désagréable, causer de l'inconfort ou nuire à la santé des occupants. Ils provoquent des effets irritants affectant notamment les voies respiratoires (Araki et al., 2010). Des irritations du nez, de la gorge, des yeux et une sécrétion accrue des biomarqueurs de l'inflammation des muqueuses ont été observés chez des volontaires exposés à 10 mg/m³ d'oct-1-en-3-ol pendant 2 h (Walinder et al., 2008). Cependant, les concentrations des COVM réellement présentes dans l'environnement intérieur sont beaucoup plus faibles que celles utilisées dans les expérimentations. Par conséquent, de tels niveaux de concentrations ne devraient pas causer d'irritations chez les résidents (Korpi et al., 2009).

D'autres part, l'oct-1-en-3-ol et le pentan-2-ol sont associés à la rhinite allergique (Araki et al., 2012), à l'exacerbation de l'asthme et à la dyspnée nocturne chez les enfants (Kim et al., 2007). Les COVM sont également impliqués dans le syndrome des bâtiments malsains (Molhave, 2009) et le syndrome de fatigue chronique (Flannigan, 2001). Des maux de tête, des nausées et une petite baisse de la capacité vitale ont été également notés (Walinder et al., 2008).

1.2.5. Intérêts comme biomarqueurs de l'exposition aux moisissures

L'évaluation classique de la contamination fongique des espaces intérieurs est principalement basée sur une inspection visuelle sur site. Ce processus consiste à détecter une contamination

fongique visible à l'œil nu ou identifier des sources possibles d'humidité. Des étapes d'échantillonnage et d'analyse (ex. : comptage de spores, cultures microbiologiques, PCR, etc.) peuvent être effectuées après inspection visuelle. Cette méthode d'évaluation présente évidemment de nombreuses limites. L'incapacité de déceler une croissance fongique cachée qui nécessite parfois des procédures invasives/et ou destructives, l'incapacité à compter les spores en dehors de la période de sporulation et les coûts prohibitifs des analyses sont autant d'inconvénients associés à cette méthode (Palaty, 2011).

Pour pallier ces inconvénients, il est souhaitable de trouver une méthode alternative plus pratique, plus efficace et capable de déceler une croissance fongique cachée. Les COVM peuvent facilement traverser les matériaux et les objets solides et sont libérés à toutes les étapes de croissance des moisissures. Par conséquent, ils permettent de détecter une contamination fongique cachée et naissante. Leur utilisation comme traceurs de la contamination fongique remonte aux années 70, lorsque les stocks de céréales mal entreposés dégageaient une odeur de moisi due à la détérioration de la qualité des grains. Plusieurs études de laboratoires ont identifié des COVM tels que l'oct-1-en-3-ol, le méthyl-3-butan-1-ol et l'octan-3-one à partir de cultures d'*Aspergillus* spp et de *Penicillium* spp sur le blé (Kaminski et al., 1974) ou les grains de maïs (Richard-Molard et al., 1976). L'isobutanol, le 3-méthyl-furane et l'isopentanol ont également été considérés comme appropriés pour surveiller la croissance des moisissures dans les stocks de céréales (Börjesson et al., 1989; Börjesson et al., 1992).

Plus tard dans le temps et encore aujourd'hui, la problématique de la qualité de l'air dans les immeubles humides et l'apparition du syndrome de bâtiment malsain a accentué l'intérêt aux COVM en qualité d'indicateurs de présence fongique (Wilkins et al., 2000; Kuske et al., 2005; Ryan et Beaucham, 2013; Shinohara et al., 2018). D'autant que des études soutiennent la

spécificité de certaines associations moisissures-COVM (Fiedler et al., 2001; Hussein et al., 2010; Konuma et al., 2015 Gerritsen et al., 2018; Neerincx et al., 2016 Garcia-Alcega et al., 2017). Cependant, à l'instar des méthodes de surveillance classiques, la mesure des COVM dans l'air peut présenter un certain nombre d'inconvénients, notamment en ce qui concerne les difficultés d'échantillonnage. Partant du principe que les COVM ont une cinétique similaire aux COV, une nouvelle approche de biosurveillance a été proposée. Cette dernière est principalement basée sur la mesure des COVM dans les matrices biologiques des personnes exposées (El Aroussi et al., 2018). Contrairement à la surveillance environnementale qui ne surveille que les concentrations chimiques dans l'air ambiant, ce type de biosurveillance permet d'évaluer le degré d'imprégnation des personnes exposées et de prévoir les risques associés. De plus, une évaluation efficace de la concentration des COVM dans les fluides corporels des travailleurs avant et après un quart de travail évaluera l'étendue de la contamination fongique du site et facilitera la mise en place des mesures préventives.

1.3. COVM à l'étude

Une analyse méticuleuse de plus de 500 COVM appartenant à différentes espèces fongiques (87 espèces) a été précédemment réalisée. La sélection des COVM a été effectuée selon un organigramme décisionnel (figure 1) composé de cinq niveaux de discrimination, à savoir ; l'intérêt pour la santé, la source d'émission, les propriétés physicochimiques, l'occurrence et les propriétés pharmacocinétiques (El Aroussi et al., 2018).

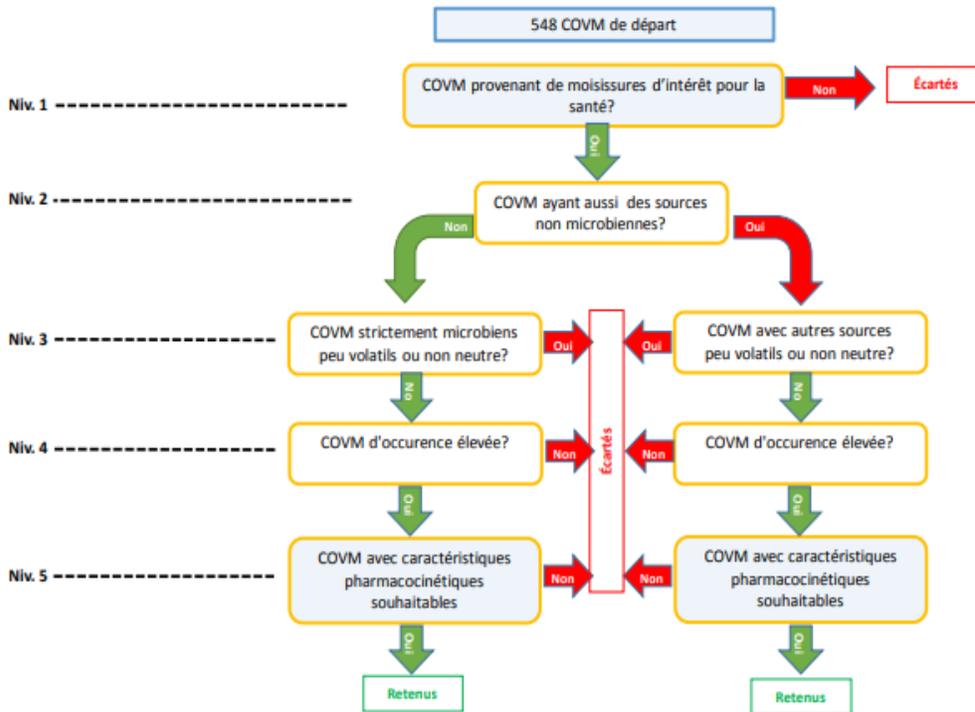


Figure 2. – Organigramme décisionnel utilisé pour la sélection des COVM (tiré de El Aroussi et al., 2018)

- **Intérêt pour la santé**

Le premier niveau de discrimination avait pour but d'écarter les COVM issus de moisissures non fréquemment rencontrées en milieu intérieur.

- **Source d'émission**

Le principe de cette étape était d'exclure les COVM pouvant avoir des origines autres que microbiennes. Enfin, il est primordial de préciser que certains de ces COVM ont dû être retenus en raison d'autres caractéristiques qualifiantes (neutralité, volatilité, occurrence d'émission).

- **Propriétés physicochimiques**

Dans cette étape de discrimination, deux propriétés physicochimiques ont été étudiées : la volatilité et l'ionisation des COVM. Pour la volatilité, seuls les composés très volatils ont été retenus. En effet, la volatilité d'un composé est déterminée par sa température d'ébullition et sa pression de vapeur saturante. Un composé volatil a tendance à se vaporiser plus facilement et plus rapidement. Il a généralement une température d'ébullition faible et une pression de vapeur relativement élevée par rapport à la pression atmosphérique. En vue d'écarter les COVM peu volatils, un point d'ébullition de 250 °C a été fixé.

La deuxième propriété physicochimique d'intérêt était le degré d'ionisation des COVM. Ils n'ont été retenus que les COVM neutres dans un pH physiologique (7-7.4). Ces composés ne sont donc pas supposés réagir avec certaines composantes du sang telles que les phospholipides acides.

- **Occurrence**

Bien que certaines associations COVM-moisissures soient hautement spécifiques, l'occurrence de ces émissions est faible. Cela signifie que certains COVM peuvent être émis par une ou deux espèces fongiques uniquement. Dans le but de cibler les émissions les plus fréquentes en milieu intérieur, seuls les COVM qui sont émis par plusieurs espèces de moisissure sont retenus. Pour cela, un seuil minimal de 5 espèces a été choisi, ce qui veut dire qu'un COVM devrait être émis minimalement par 5 espèces de moisissure pour qu'il soit retenu dans la liste.

- **Propriétés pharmacocinétiques**

Le dernier niveau de discrimination concerne les propriétés pharmacocinétiques des COVM. Deux propriétés ont été analysées : le CP sang:air et le volume de distribution apparent ($V_{d_{ss}}$).

Le CP sang:air prédit la capacité d'absorption pulmonaire des COVM. En effet, plus ce paramètre est élevé, plus la concentration attendue dans le sang sera élevée par rapport à celle dans l'air ambiant. En l'absence de valeurs expérimentales des CP sang:air, un algorithme prédictif basé sur les propriétés physicochimiques (constante de Henry H_{cc} , CP octanol:eau) et la composition corporelle des fluides et des tissus (ex. : teneur en eau, en lipides, etc.) a été suivie (Peyret et al., 2010). Une fois les calculs établis, les COVM avec des CP sang:air supérieurs à 100, ont été retenus (**Tableau 1**).

La deuxième propriété pharmacocinétique est la capacité des COVM à s'accumuler dans les tissus définis, entre autres, par le volume de distribution apparent ($V_{d_{ss}}$). Pareillement aux CP sang:air, une approche de prédiction (Poulin et al., 2001) a été suivie à fin d'estimer le $V_{d_{ss}}$ des COVM. Deux groupes de COVM sont retenus : COVM avec $V_{d_{ss}} \geq 10$ l/kg prédisant une grande capacité d'accumulation et COVM avec $V_{d_{ss}} \leq 1$ l/kg prédisant une élimination rapide.

Ces cinq niveaux de discrimination ont conduit à la sélection de 21 COVM jugés comme pouvant avoir un potentiel élevé comme biomarqueurs de l'exposition aux moisissures en milieu intérieur. Le tableau 1 répertorie les 21 COVM sélectionnés et rapporte leurs principales propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques expérimentales ou estimées.

Tableau 1. – Propriétés physicochimiques et pharmacocinétiques expérimentales ou estimées des 21 COVM à l'étude (Adapté de El Aroussi et al, 2018).

COVM	#CAS isomères multiples	Formule chimique	H _{cc} à 25 °C	CP octanol:eau	CP sang:air	Vd _{ss} (L/kg)
Acétate d'éthyle	141-78-6	C ₄ H ₈ O ₂	0,00548	5,37	157	0,69
Butan-2-one	78-93-3	C ₄ H ₈ O	0,00228	1,95	374	0,60
Pentan-2-one	107-87-9	C ₅ H ₁₀ O	0,00342	8,13	252	0,76
Pentan-3-ol	584-02-1	C ₅ H ₁₂ O	0,000809	16,2	1080	0,96
Pentan-2-ol	6032-29-7	C ₅ H ₁₂ O	0,000605	15,5	1440	0,95
Pent-1-en 3-ol	616-25-1	C ₅ H ₁₀ O	0,000404	13,2	2150	0,89
Cyclopentanone	120-92-3	C ₅ H ₈ O	0,000409	2,40	2090	0,61
Méthyl-3-butan-1-ol	123-51-3	C ₅ H ₁₂ O	0,000576	14,5	1510	0,92
Octan-3-one	106-68-3	C ₈ H ₁₆ O	0,00531	166	204	3,80
Cyclohexanone	108-94-1	C ₆ H ₁₀ O	0,000368	6,46	2340	0,72
Pent-2-en 1-ol	1576-95-0	C ₅ H ₁₀ O	0,000477	13,2	1820	0,89
2-éthyle-1,6-dioxaspiro[4.4]nonane	38401-84-2	C ₉ H ₁₆ O ₂	0,000277	1120	8750	11,97
Nonan-2-one	821-55-6	C ₉ H ₁₈ O	0,015	1380	186	13,30
Octan-2-ol	123-96-6	C ₈ H ₁₈ O	0,00503	794	391	9,93
Oct-1-en 3-ol	3391-86-4	C ₈ H ₁₆ O	0,000945	398	1490	6,61
Décanal	112-31-2	C ₁₀ H ₂₀ O	0,7736	5750	121	22,15
Pentyle hexanoate	540-07-8	C ₁₁ H ₂₂ O ₂	0,0692	20 000	416	26,13
Undecan-6-one	927-49-1	C ₁₁ H ₂₂ O	0,00916	4900	842	21,33
Octan-1-ol	111-87-5	C ₈ H ₁₈ O	0,001	1000	2025	11,26
Non-3-en-1-ol	10340-23-5	C ₉ H ₁₈ O	0,00148	1200	1710	12,41
5-éthylloxolan-2-one	695-06-7	C ₆ H ₁₀ O ₂	0,00739	3,98	116	0,65

CAS : Numéro d'enregistrement auprès de la banque de données de Chemical Abstracts Service

1.4. Biomarqueurs d'exposition

1.4.1. Définition

Les biomarqueurs peuvent être des molécules mères, leurs métabolites ou des paramètres de changement mesurés à l'échelle physiologique, moléculaire, biochimique ou cellulaire d'un système biologique, qui reflètent l'exposition à un contaminant chimique (Metcalf et Orloff, 2004; Gagné et Valcke, 2014). Il existe trois catégories de biomarqueurs: les biomarqueurs d'exposition, les biomarqueurs d'effet et les biomarqueurs de susceptibilité.

Alors que les biomarqueurs d'effet et de susceptibilité réfèrent à un changement à l'échelle moléculaire, biochimique, cellulaire ou physiologique, un biomarqueur d'exposition fait plutôt référence à la présence d'une entité toxique, soit la molécule mère elle-même, ses métabolites ou la résultante d'une interaction biochimique de celle-ci avec une entité biologique du corps (ex. : adduits D'ADN, liaison aux protéines, etc.). Pour qu'il soit un biomarqueur de choix, ce paramètre doit être spécifique à l'agent de l'exposition, mesuré dans des matrices facilement accessibles et peu invasives à l'aide de méthodes analytiques simples, peu onéreuses et sensibles (Silins et Högberg, 2011).

1.4.2. Utilité en Toxicologie

L'évaluation du risque toxicologique implique d'abord une évaluation qualitative et quantitative de l'exposition. Dans cette optique, les biomarqueurs d'exposition sont des outils très utiles pour confirmer l'exposition. En effet, la présence d'un biomarqueurs d'exposition (molécule mère, métabolites ou adduit à une macromolécule) dans les matrices biologiques corporelles reflète

directement l'absorption et la distribution du composé chimique dans l'organisme, et ce, quelle que soit la voie d'exposition (Metcalf et Orloff, 2004). Ils permettent également de mesurer les doses biologiques internes et renseignent parfois sur les mécanismes d'action conduisant à des effets toxiques (Silins et Högberg, 2011). L'établissement des corrélations entre les concentrations internes de biomarqueurs et les concentrations dans l'air ambiant permet dans certain cas d'établir des valeurs biologiques de références (Viau, 2005).

L'exposition à un contaminant chimique ne se traduit pas forcément par des signes cliniques immédiats. Elle peut nécessiter une dose seuil pour que l'impact sur la santé puisse être décelé (Metcalf et Orloff, 2004). Même s'ils ne sont pas en mesure d'indiquer directement les effets lésionnels sur la santé, les biomarqueurs d'exposition peuvent prédire leur apparition en confirmant l'exposition et en fournissant des informations sur l'ampleur de celle-ci. Ils assurent un rôle important en tant que facteurs préventifs capables de refléter les premiers troubles de santé. Cela facilite la mise en œuvre de mesures et de recommandations visant à protéger la santé des personnes exposées comme le retrait des travailleurs contaminés des zones d'exposition.

1.4.3. Considérations toxicocinétiques

L'efficacité des mesures de biomarqueurs d'exposition repose principalement sur la pertinence de la matrice biologique et du moment de prélèvement utilisés (Heinrich-Ramm, 2000; Viau, 2008; Gagné et Valcke, 2014). La sélection de ces deux critères est solidement basée sur la compréhension de la toxicocinétique des biomarqueurs *in vivo*. Les données cinétiques obtenues en simulant les processus d'absorption, de distribution et d'élimination renseignent sur la concentration interne des biomarqueurs à tout moment après le début de l'exposition. Cela permet, entre autres, de déterminer les demi-vies d'élimination, éléments critiques dans le choix du moment d'échantillonnage (Viau, 2008).

Les matrices biologiques facilement accessibles telles que le sang et l'urine sont le plus souvent utilisés dans la biosurveillance de l'exposition aux COV notamment en milieu de travail. Là, le composé parent ou ses métabolites sont mesurés. Malgré son caractère quelque peu invasif, le sang représente une matrice de choix pour la plupart des COV, en particulier les liposolubles. Leur dosage sanguin sous forme inchangée est généralement spécifique de l'exposition et reflète la charge corporelle. Néanmoins, il est souvent difficile de déterminer le moment de l'échantillonnage en raison de la courte demi-vie d'élimination des COV. Il est le plus souvent effectué à la fin d'un quart de travail ou après une durée d'exposition spécifique. L'urine en revanche, est une matrice particulièrement pertinente pour les biomarqueurs hydrosolubles comme les alcools et les cétones. Les échantillons sont souvent prélevés à la fin de l'exposition (Heinrich-Ramm, 2000).

1.5. Toxicocinétique et modélisation

Les phénomènes complexes impliqués dans le devenir des composés chimiques dans l'organisme peuvent être simulés et leur toxicocinétique prédite grâce à la modélisation. En intégrant des équations mathématiques différentielles, les modèles pharmacocinétiques (ou toxicocinétique) à base physiologique (PBPK), permettent de prédire l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'élimination (ADME) des contaminants chimiques chez l'humain ou l'animal. Ce sont des outils de choix dans l'évaluation du risque toxicologique des composés chimiques car ils permettent de relier les concentrations tissulaires internes aux doses d'exposition (Lin et Fisher, 2020). Sur la base des propriétés physicochimiques des composés à l'étude (ex. : CP sang:air) et des propriétés physiologiques et/ou anatomiques des organes et tissus concernés (ex.: flux sanguin, volume tissulaire), les modèles PBPK permettent de dresser les profils temporels de l'exposition

(Robinson et al., 2007),. Ils donnent des informations, en continu, sur la concentration de la substance d'intérêt dans les différents organes et tissus parcourus depuis le début de l'exposition. Ces résultats de simulation peuvent être extrapolés d'une espèce à une autre, d'une dose d'exposition à une autre et d'une voie d'exposition à une autre (Fisher et al., 2020). Contrairement aux modèles compartimentaux classiques, les modèles PBPK permettent de relier la physiologie et la biochimie du corps aux propriétés physicochimiques des substances. Grâce à leur capacité à simuler différents scénarios d'exposition, ces modèles réduisent le nombre d'expériences *in vivo* sur l'humain et l'animal.

Les modèles PBPK sont essentiellement une représentation mathématique des flux des contaminants dans l'organisme qui repose sur la représentation des organes et des tissus sous forme de compartiments interconnectés par la circulation sanguine. Chaque compartiment est caractérisé par des paramètres physiologiques et biochimiques définis. Un compartiment peut représenter un seul organe ou tissu ou un regroupement de tissus ou d'organes ayant une physiologie/anatomie et une biochimie similaire (ex. : tissus richement perfusés ou pauvrement perfusés) (Robinson et al., 2007 ; Fisher et al., 2020). Ces modèles sont paramétrés de telle sorte qu'ils soient aussi réalistes que possible. Trois types de paramètres soigneusement définis sont alors intégrés à leur conception : les paramètres physiologiques et/ou anatomiques, les paramètres biochimiques, et les paramètres physicochimiques. Les paramètres physiologiques et/ou anatomiques sont assez similaires pour une espèce donnée et sont souvent disponibles dans la littérature. Le poids corporel, le volume tissulaire, le flux sanguin, la ventilation pulmonaire, la circulation cardiaque, etc., sont les paramètres les plus communément utilisés dans la conception de modèles PBPK. En revanche, les paramètres biochimiques (constantes métaboliques et taux

d'excrétion) ainsi que les paramètres physicochimiques (CP) sont propres à chaque composé et sont déterminés expérimentalement ou par des méthodes prédictives (Robinson et al., 2007).

1.6. Coefficients de partage

Comme mentionné précédemment, le CP d'un composé chimique est un paramètre physicochimique défini comme le rapport des concentrations du composé entre deux phases différentes, à l'équilibre, à une température donnée. Si les phases impliquent des milieux biologiques (ex. : sang, tissu, urine, air, plasma, etc.), ces paramètres sont alors appelés coefficients de partage biologiques. Ils sont extrêmement utiles pour le développement des modèles PBPK utilisés dans la prédiction de la cinétique des composés *in vivo*. Ils peuvent caractériser quantitativement les différentes étapes toxicocinétique d'absorption, de distribution et d'élimination d'une substance.

Dans le contexte des COV et des COVM, le CP sang:air revêt une importance particulière car il prédit l'absorption pulmonaire et l'excrétion par exhalation (Fisher et al., 2020). Ce paramètre est primordial dans les modèles avec expositions respiratoires car il établit la relation entre les concentrations sanguines et celles dans l'air ambiant (Jia et al, 2012).

1.6.1. Méthodes de détermination pour les COV

La détermination des CP des COV se fait par des méthodes expérimentales ou prédictives.

1.6.1.1. Méthodes expérimentales (*in vitro*)

Trois méthodes fréquemment utilisées dans la détermination expérimentale des CP sont la dialyse à l'équilibre (Huang et al., 2015), l'ultrafiltration (Jepson et al., 1994) et la méthode de flacons à l'équilibre (Sato et Nakajima., 1979). Le choix de la technique dépend de la volatilité et du poids moléculaire du composé (Rurak, 2020).

La méthode de flacons à l'équilibre est la méthode de choix pour les composés volatiles de faible poids moléculaire. Elle a été largement utilisée pour déterminer les CP matrice:air de plusieurs COV (Perbellini et al., 1985; Fiserova Bergerova et Diaz, 1986; Gargas et al., 1989; Kaneko et al, 1994; Batterman et al, 2002). Cette méthode est basée sur l'analyse chromatographique du composé volatil dans l'espace de tête des flacons après équilibre et distribution entre les deux phases (sang et air, par exemple). Deux séries de flacons dont l'une contient la matrice biologique à l'étude (flacons tests) et l'autre contient simplement de l'air (flacons références) sont d'abord préparées. Une quantité connue des COV est ensuite injectée dans les flacons préalablement scellés. Ensuite, les deux séries de flacons sont portées à l'équilibre sous des conditions spécifiques de température (souvent température corporelle, 37 °C) et d'agitation. Finalement, lorsque l'équilibre est atteint, une quantité de l'air présent dans l'espace de tête des flacons tests et références, est prélevée et analysée par chromatographie en phase gazeuse. L'équation de Gargas et al., 1989 est souvent utilisée pour les calculs des coefficients de partage.

$$CP_{m:a} = \frac{C_{ref} (V_v) - C_t (V_v - V_t)}{C_t (V_t)} \quad (1)$$

Où $CP_{m:a}$ désigne le coefficient de partage matrice:air, C_{ref} désigne la concentration du COV dans la phase gazeuse du flacon de référence, C_t désigne la concentration du COV dans la phase gazeuse du flacon test, V_v désigne le volume de flacon vide et V_t désigne le volume de la matrice

Cette méthode présente de nombreux avantages. Aucun prétraitement des échantillons n'est nécessaire. De plus, les COV sont mesurés uniquement dans la phase gazeuse des flacons. Néanmoins, certaines précisions liées au choix de la concentration et au temps d'équilibre optimum doivent être mentionnées. Partant du principe que les CP sang:air humains des COV

soient indépendants de la concentration, les mesures sont généralement effectuées en utilisant une concentration unique. Toutefois, une concentration-dépendance qui peut influencer la mesure du CP a été décrite pour certains COV chez le rat. Par exemple, une saturation des sites de liaison occasionnée par une forte exposition, peut entraîner une diminution des CP sang:air (Beliveau et Krishnan, 2000). Le temps d'équilibre, quant à lui, dépend fortement de la vitesse d'agitation et devrait être optimisé pour chaque analyte.

1.6.1.2.Méthodes prédictives (*in silico*)

En l'absence de valeurs expérimentales suffisantes, il a été nécessaire de développer des modèles mathématiques capables de prédire les CP des xénobiotiques. Au fil des ans, plusieurs modèles ont été conçus (Poulin et Krishnan, 1995 a,b ; Balaz et Lukacova, 1999 ; Meulenberg et Vijverberg, 2000, Schmit 2008, Peyret et al, 2010). Les CP sont prédits à l'aide d'équations mathématiques qui incorporent des paramètres souvent disponibles dans la littérature (ex. : CP octanol:eau, H_{cc} , la composition des tissus, etc.). Les modèles initialement conçus étaient principalement basés sur la composition des tissus et la solubilité des composés chimiques dans les lipides tissulaires. Poulin et Krishnan (1995 a,b), ont développé une approche qui a été largement utilisée pour prédire la solubilité des COV dans de nombreux tissus, y compris le sang. Dans leurs modèles, la solubilité (S_i) d'un composé dans un tissu correspond à la somme de ses solubilités dans l'eau, les lipides neutres et les phospholipides contenus dans ce tissu. La solubilité dans les phospholipides (estimés composés de 70% d'eau et de 30% de lipides) est exprimée comme la somme des solubilités dans l'eau et les lipides neutres. La solubilité dans les lipides neutres est le plus souvent exprimée par celle dans l'huile végétale (S_{oil}). L'équation peut s'écrire alors comme suit:

$$S_t = S_w \cdot V_w + S_{oil} \cdot V_{nl} + (0.7 \cdot S_w + 0.3 \cdot S_{oil}) \cdot V_{pl} \quad (2)$$

Où S_w et S_{nl} réfèrent à la solubilité dans l'eau et les lipides neutres respectivement. V_w , V_{nl} et V_{pl} correspondent respectivement aux fractions volumiques d'eau, de lipides neutres et de phospholipides contenus dans le tissu.

Puisque le CP tissu:air (ou sang:air) d'une substance correspond au rapport de sa solubilité dans le tissu sur sa solubilité dans l'air. L'équation (2) peut s'écrire comme suit :

$$CP_{t:a} = CP_{w:a} \cdot V_w + CP_{oil:a} \cdot V_{nl} + (0.7 \cdot CP_{w:a} + 0.3 \cdot CP_{oil:a}) \quad (3)$$

où $CP_{t:a}$, $CP_{w:a}$ et $CP_{oil:a}$ correspondent respectivement aux CP tissu:air, eau:air et huile:air

De bonnes corrélations entre les CP sang:air et CP tissu:air humains prédits à l'aide du modèle de Poulin et Krishnan (1995 a et b) et ceux expérimentalement déterminés ont été généralement rapportées, en particulier pour les COV de faible poids moléculaire hydrosolubles. En revanche, des CP sang:air sous-estimés ont été observés pour les COV liposolubles chez le rat (Payne et Kenny, 2000). Cela pourrait s'expliquer par le fait que ces composés sont plus susceptibles de se lier aux protéines plasmatiques, alors que l'équation ne fournit aucune information sur une telle liaison. Ces modèles sont donc nettement plus efficaces pour les COV hydrosolubles que pour les COV liposolubles.

Pour comprendre les interactions biochimiques possibles entre les xénobiotiques et le système biologique, de nombreux autres modèles plus complexes et plus précis ont été développés (Poulin et Krishnan, 1996 a;b ; Schmitt, 2008; Peyret et al, 2010). Dans ces modèles, la liaison à l'hémoglobine érythrocytaire, aux phospholipides acides et aux protéines plasmatiques peut être mieux estimée. Contrairement aux autres modèles, le modèle de Peyret et al (2010) s'applique à

la fois aux produits pharmaceutiques et aux contaminants chimiques tels que les COV. Sur la base des équations de prédictions établies dans les modèles précédemment publiés, ce modèle unifié peut prédire non seulement la liaison aux macromolécules biologiques, mais également la distribution des xénobiotiques au niveau subcellulaire (ex. : mitochondrie, golgi, cytosol, etc.) (Ruark, 2020). Ceci, offre l'avantage de déterminer la concentration intracellulaire, un paramètre utile dans le développement de modèles PBPK (Peyret et al., 2010).

Enfin, bien que les modèles prédictifs soient très utiles et largement utilisés, ils restent moins précis que les déterminations expérimentales (Mochalski et al., 2012). L'utilisation de tout modèle doit toujours être basée sur une analyse critique. Cela nécessite de tenir compte des propriétés chimiques du composé étudié et de la précision des constantes incorporés dans les équations.

1.7. Problématique et objectifs

1.7.1. Problématique

L'utilisation des COVM en tant que biomarqueurs de l'exposition aux moisissures est une approche proposée comme alternative ou complément aux méthodes d'évaluation classiques. La mesure efficace de ces biomarqueurs permettrait d'évaluer l'ampleur de l'exposition et l'étendue de la contamination fongique du lieu. Le potentiel d'absorption et d'excrétion urinaire de ces composés est une information importante dans le choix de la matrice d'échantillonnage, et la valeur de CP sang:air et urine:air permettrait de mieux évaluer ceci. De plus, ces valeurs sont essentielles au développement de modèles PBPK qui permettraient de prédire la toxicocinétique de ces potentiels biomarqueurs et ainsi mieux interpréter les données de biosurveillance. Les CP sang:air, plasma:air et urine:air sont des paramètres de base dans la description quantitative de

l'absorption pulmonaire et de l'excrétion urinaire des COVM. Cependant les données expérimentales pour ces coefficients de partage sont très limitées pour les 21 COVM faisant l'objet de cette étude. Seules quelques rares valeurs expérimentales, parfois très variables d'une étude à une autre, existent. Des estimations des CP sang:air ont déjà été effectués lors du ciblage des COVM, mais elles manquent de précision par rapport aux déterminations expérimentales. Dans ce contexte, il a été nécessaire de déterminer expérimentalement les CP sang:air, plasma:air et urine:air des 21 COVM de l'étude. Cette étape facilitera le développement de modèles PBPK et aidera au développement des biomarqueurs de la contamination fongique intérieure.

1.7.2. Objectifs

Le présent travail a comme objectif principal de déterminer les CP urine:air, sang:air et plasma:air des COVM initialement sélectionnés pour leur potentiel élevé comme biomarqueurs de l'exposition aux moisissures. À ceci, deux objectifs secondaires ont été ajoutés, soit de i) comparer les CP sang:air expérimentaux avec ceux antérieurement estimés, et ii) vérifier si les CP eau:air peuvent être utilisés comme substituts aux CP urine:air pour ce type de molécules. Pour ce deuxième objectif secondaire, les CP eau:air ont d'ailleurs été déterminés aussi.

Chapitre 2- Article

Manuscript prepared for submission in a journal such as “Chemosphere” or “Xenobiotica”.

Determination of blood:air, urine:air and plasma:air partition coefficients of selected microbial volatile organic compounds

W. Berkane^{1,2}, B. El Aroussi^{1,2}, M. Bouchard^{1,2}, G. Marchand³ and S. Haddad^{1,2}.

¹ Department of Environmental and Occupational Health (DSEST), Université de Montréal, Montréal, QC H3N 1X9, Canada

² Centre de Recherche en Santé Publique (CRéSP), Montréal, QC H3N 1X9, Canada

³ Institut de Recherche Robert-Sauvé en Santé et en Sécurité du Travail (IRSST), Montréal, QC H3A 3C2, Canada

Corresponding authors:

Sami Haddad

Email: sami.haddad@umontreal.ca

Contribution personnelle et des co-auteurs

Contribution personnelle: J'ai contribué à la conception de cette étude, ainsi qu'à l'établissement des méthodologies. J'ai réalisé toutes les expériences en laboratoire ainsi que l'analyse des résultats. J'ai rédigé l'article et les corrections subséquentes.

Badr El Aroussi : Dr. El Aroussi est coordinateur du projet de recherche. Il a contribué dans l'élaboration du projet de recherche et a aussi contribué à sa rédaction. Il a aussi contribué dans la mise au point de la méthode et dans la rédaction de cet article.

Michèle Bouchard: Dr Bouchard est co-chercheure au projet financé par l'IRSST qui a financé la recherche présentée dans cet article. Elle a contribué à l'élaboration du projet de recherche et a aussi contribué à sa rédaction.

Geneviève Marchand : Dre. Marchand est co-chercheure du projet de recherche financé par l'IRSST qui a financé la recherche présentée dans cet article. Elle a également contribué à l'élaboration du projet de recherche et a aussi contribué à sa rédaction.

Sami Haddad : Dr. Haddad est chercheur principal du projet de recherche financé par Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST) qui a financé la recherche présentée dans cet article. Il a contribué à l'élaboration du projet de recherche et a aussi contribué à sa rédaction. Il a également contribué dans l'analyse des données et la rédaction de cet article.

Abstract

Partition coefficients (PCs) are essential parameters for understanding the toxicokinetics of chemicals in the human body since they are used in the description of different processes of absorption, distribution, and excretion in PBPK models used in chemical exposure and risk assessment. The goal of this study was to determine urine:air, blood:air and plasma:air PCs of microbial volatile organic compounds (mVOCs) previously selected as having high potential as biomarkers of indoor mold exposure. To achieve this goal, the vial-equilibration technique was used, and quantification was performed using headspace gas chromatography tandem mass spectrometry (HS-GC-MS/MS) analysis. Matrix:air PCs of 19 different mVOCs have been successfully determined and their values ranged between 14 and 3586 for urine:air, 78 and 4721 for blood:air and 64 and 5604 for plasma:air PCs. Water:air PCs were also determined and their values varied between 16 and 2210, showing a good correlation with urine:air PCs for 17 compounds of the selected mVOCs ($R^2 = 0.97$, slope close to unity) confirming that water:air PCs below 10^3 are a good surrogate for urine:air PCs. All studied mVOCs have high blood:air PCs (greater than 78) indicating strong pulmonary uptake. Due to their high blood:urine PCs, some mVOCs may be more easily measured in blood than in urine. This work is an important preliminary step to the use of mVOCs as potential biomarkers of indoor mold exposure. The data obtained in this study will help to determine the most appropriate matrix to use in this biomonitoring approach and will eventually facilitate the development of PBPK models for these chemicals.

Keywords: Microbial volatile organic compounds (mVOCs), mold exposure, partition coefficients, vial equilibration technique, toxicokinetics.

Introduction

Indoor air quality in homes and workplaces is a major public health issue. Good indoor air quality is required to protect the health and ensure the comfort of the occupants (WHO, 2010). Molds and their secondary products such as microbial volatile organic compounds (mVOCs) are indoor air contaminants that are attracting increasing scientific interest, since they can cause many health effects (immunological, irritative, infectious and toxic) especially in vulnerable people (D'Halewyn, 2002).

In the last decades and in order to protect indoor environments against fungal contamination, mVOCs have gained an increasing interest. These substances emitted during the primary and secondary metabolism of molds (Korpi et al., 2009; Polizzi et al., 2012) are highly variable in number, nature, and produced quantities (Hung et al., 2015). Due to their volatility, they can be transported over long distances in the natural environment (Minerdi et al., 2009) and easily diffuse through materials (Schleibinger et al., 2008). These properties, in addition to the specificity of some of the mold-mVOCs associations (Fiedler et al., 2001; Lemfack et al., 2014; Lemfack et al., 2018) make these substances to be more and more studied as tracers of masked fungal contamination (Wilkins et al., 2000; Schleibinger, H. 2002; Schleibinger et al., 2005; Kuske et al., 2005; Matysik et al., 2008; Moularat et al., 2011; Polizzi et al., 2012).

Recently, a meticulous examination of more than 500 mVOCs led to the selection of the following 21 compounds that may have high potential as biomarkers of mold exposure in workplaces (El Aroussi et al, 2018): Ethyl acetate, butan-2-one, pentan-2-one, pentan-3-ol, pentan-2-ol, pent-1-en-3-ol, cyclopentanone, 3-methylbutan-1-ol, octan-3-one, cyclohexanone, pent-2-en-1-ol, 2-ethyl-1,6-dioxaspiro[4.4]nonane, nonan-2-one, octan-2-ol, oct-1-en-3-ol, decanal, pentyl hexanoate, undecan-6-one, octan-1-ol, non-3-en-1-ol and 5-ethyloxolan-2-one.

Methods to analyze these latter mVOCs have newly been developed in ambient air and in certain biological matrices (blood, urine and exhaled air) (Tabbal et al., 2022 a,b) which would be very useful for biological monitoring of mold exposure in indoor environments.

Knowledge of the toxicokinetics of chemicals (e.g., VOCs) is required to adequately interpret biological monitoring data. In particular, this allows selecting the appropriate biological matrix and sampling time (Heinrich-Ramm et al., 2000). Blood:air, plasma:air and urine:air partition coefficients (PCs) are amongst the most informative pharmacokinetic parameters, since they can provide information on the absorption, distribution and elimination of chemicals in the body. They are also integral elements in the development of PBPK models used in the prediction of toxicokinetic in risk assessment (Ruark, c. 2020). Blood:air PC which is defined as the concentration ratio of a compound between blood and air at equilibrium (Jia et al., 2012) is a key element for the prediction of pulmonary absorption of exogenous compounds (Kramer et al., 2016). It is also established that in addition to cardiac output and pulmonary ventilation, this parameter modulates the pulmonary clearance of VOCs (Haddad et Nong, 2020). Being volatile compounds for which the main route of exposure is by inhalation, mVOCs are expected to have a considerable pulmonary absorption rate. Their relatively low molecular weight and their neutral character can facilitate exchanges between the blood and the alveolar air (Korpi et al., 2009). Estimates of blood:air PC made using a prediction algorithm (Peyret et al., 2010) showed that all of the 21 selected mVOCs would have blood concentrations minimally 100-fold higher than in the inhaled air (El Aroussi et al., 2018) at steady-state. They therefore may show a very strong absorption by inhalation. Assuming the complexity of blood composition, the distribution of VOCs can be very variable between the different components (e.g., erythrocytes, lipids, proteins) (Wilson et al., 2003). On the other hand, plasma:blood PC could be very helpful in understanding the blood transport and interaction of xenobiotics with blood cells (Mochalsky et al., 2012).

Blood:urine PC, obtained by dividing the blood:air PC with the urine:air PCs, is one of the parameters that modulate urinary excretion of VOCs, especially those with medium to high water solubilities such as alcohols and small carbon chain ketones which are easily excreted in the urine in their unchanged form (Heinrich-Ramm et al., 2000). Given that the excretion of VOCs takes place almost by passive tubular diffusion, unchanged forms of VOCs are more relevant to be quantified in urine. Although their concentrations are very low, the simplicity of sampling and the stability of these compounds in the urine offer them the advantage of being biomarkers of choice in the biomonitoring of occupational exposure (Erb et al., 2021). This has been demonstrated for example for benzene, for which the quantification of the unchanged form in urine has been shown to be more appropriate in the evaluation of low occupational exposure (Fustinoni et al., 2005; Hoet et al., 2009; Carrieri et al., 2018). Knowledge of the distribution of mVOCs in blood and urine, and their metabolic kinetics as well as the evaluation of their urinary concentrations are critical factors in deciding whether urine could be used in the biomonitoring of mold exposure with mVOCs.

To determine the PCs of volatile chemicals, two approaches are generally followed: experimentally or using predictive models. The most widely used experimental method for low molecular weight volatiles is the vial equilibration technique, in which the chemical is brought to equilibrium between the headspace air and the liquid matrix in tightly sealed vials under a defined temperature (often body temperature; 37 °C). Chromatographic measurement of the gas phase in the head space of vials makes it possible to calculate the PCs. This technique has been used over time to determine the PCs of several volatile organic compounds (Sato et Nakajima, 1979; Perbellini et al., 1985; Fiserova et Diaz, 1986; Gargas et al., 1989; Kaneko et al, 1994; Béliveau et al., 2001; Batterman et al, 2002). The second approach is the use of predictive models based on the physicochemical properties of the chemicals and the composition of tissues and

biological matrices (Poulin et Krishnan, 1995a, b; Schmitt, 2008; Peyret et al., 2010). However, although they are very useful, predictions can sometimes diverge from values obtained from experimental methods which are considered the realistic value. Although the predictive approach is very helpful when measurements are unavailable, experimentally determined values are more reliable since they take into consideration all the phenomena that can modify the solubility of the compounds (Mochalski et al., 2012). Unfortunately, for the majority of the selected mVOCs, experimental determined partition coefficients are scarce, if not unavailable.

The aim of this work was therefore to experimentally determine the blood:air, urine:air and plasma:air PCs for each of our selected mVOCs. The experimental values of blood:air PCs obtained here have been compared with those previously predicted (El Aroussi et al, 2018). An additional objective was to determine if water:air PCs are an adequate surrogate for urine:air PCs. For this purpose the water:air PCs were also measured.

Material and method

Material

Ethylacetate, butan-2-one, pentan-2-one, pentan-3-ol, pentan-2-ol, pent-1-en-3-ol, cyclopentanone, 3-methylbutan-1-ol, cyclohexanone, pent- 2-en-1-ol, nonan-2-one, octan-2-ol, oct-1-en-3-ol, decanal, pentylhexanoate, undecane-6-one, Octan-1-ol, non-3-en—1-ol and 5-ethyloxolan-2-one were purchased from Sigma Aldrich (Saint Louis, USA), they all had a purity ranging from 95% to 99.9%. While Octan-3-one (98% purity) was provided by TCI (Portland, USA) and 2-ethyl-1,6-dioxaspiro [4.4]nonane (95% purity) by Biosynth (International Inc Naperville, USA). Ultrapure water was produced by a Milli-Q water purification system

(Millipore, Burlington, US). Methanol GC-MS grade was purchased from Sigma-Aldrich (Saint Louis, USA).

Single donor human whole blood was obtained from Innovative Research Inc (Novi, USA), with sodium citrate as anticoagulant. Multiple donors Human Plasma was procured from LeeBiosolutions (Missouri, USA) and stored at -20 °C. Pooled urine from healthy persons was stored at 4 °C.

Experimental method

PCs in water, urine, blood, and plasma were determined using the vial equilibration technique according to Gargas et al., (1989) with some modifications; instead of mVOCs being injected as a gas, they were injected as methanol solution according to Batterman et al., (2002). Measurements were made using gas chromatography coupled with tandem mass spectrometry.

A volume of 0.5 ml of each matrix (water, urine, blood, or plasma) was put into clear headspace crimp vials (20 ml) which were immediately closed with headspace cap septa (PTFE/silicone). Then, 2 µl of mVOCs in methanol solution (corresponding to 1.5-2.01 µg of mVOCs) were injected into the vials which were then slightly shaken. For each test vial (containing the liquid matrix), an empty reference vial (without the liquid matrix) was prepared in the same way. Both the test and reference vials were then incubated at 37 °C with continuous agitation at 300 rpm for 1 hour, time deemed sufficient for equilibrium, according to preliminary experiments. Note that, for each liquid matrix, three replicate were used to measure the PCs.

Once this operation was completed, 500 µl of the air in the headspace of each test and reference vials was analyzed by an Agilent system (7890A GC) coupled to a mass spectrometer

(Agilent 7000 triple quadrupole; Agilent Technologies, Palo Alto, USA) equipped with a CTC-CombiPal automatic injector (CTC, Zwingen, Switzerland) using method parameters previously developed by Tabbal et al., (2022a), with minor modifications : Inlet temperature was decreased to 230 °C and injection split was fixed at 1:20. The separation of the analytes was done using a DB-wax capillary column (30 m × 0.32 mm, 0.5 µm film thickness), operating at a constant helium flow of 1.8 mL/min. The initial temperature of the oven was 65 °C, brought to 70 °C at a rate of 3 °C /min then to 220 °C at a rate of 20 °C / min. The temperature of the transfer line and the source were 245 °C and 230 °C, respectively. The headspace syringe used was 2.5 mL 23/56/S-hole provided by CTC Analytics (Agilent crossLab, Australia) and operated at a temperature of 41 °C.

Before measuring, a linear relationship between chromatographic responses (peak areas) and concentrations was confirmed for each of the analytes. Moreover, when a particular matrix was under study, the test and the reference vials were measured on the same day to avoid possible changes in the chromatographic response. Two blanks (empty vials) were passed before and after each pair of test and reference measurements.

The biological matrix: air PCs were then calculated using equation (1) of Gargas et al., (1989) which is a simplified version of equation (3) of Sato et Nakajima., (1979a), as follows:

$$PC_{m:a} = \frac{C_{ref}(V_v) - C_t(V_v - V_t)}{C_t(V_t)} \quad [1]$$

where $PC_{m:a}$ refers to the partition coefficient between the liquid matrix (water, urine, blood, or plasma) and the air, C_{ref} refers to the concentration of mVOCs in the gaseous phase of the reference vial, C_t is the concentration of mVOC in the gaseous phase of the test vial, V_v is the

total volume of the empty vial (20 ml), and V_t signifies the volume of the liquid matrix (0.5 ml).

Since the concentration in the gas phase is proportional to the chromatographic response (peak area). We can, therefore, replace C_{ref} and C_t of each chemical (in the previous equation) with their peak areas in the reference vial and the test vial respectively. The calculation is therefore simplified, requiring no prior determination of the concentrations in the liquid or gaseous phase of the vials.

Results and discussion

Water:air, urine:air, blood:air and plasma:air PCs of the mVOCs studied in this work are listed in table 1. In our conditions, the matrix:air PCs of decanal and 5-ethylloxolan-2-one were not determined due to a gradual decrease in their concentrations in the gas phase of the vials, probably due to a degradation or consumption phenomenon. Also, plasma:air PC of cyclohexanone could not be determined due to an interference which has identical MS/MS transitions and retention time.

Data on the PCs of mVOCs are very rare in the literature. Moreover, the existing values for certain compounds can greatly vary from one study to another. The water:air and blood:air PCs of ethyl acetate found in our work (77 and 78 respectively) agree well with those reported by Kaneko et al (1994) (71.5 and 77.90 respectively). However, our water:air and blood:air PCs of butan-2-one (183 and 158 respectively) and pentan-2-one (127 and 125 respectively) are 20% to 30% lower than those published by Sato et Nakajima (1979) which are 254 and 202 respectively for butan-2-one and 166 and 150 respectively for pentan-2-one. Similarly, Perbilini et al. (1984)

using the same method as the previously cited study, report a blood:air value of 183 for butan-2-one, which is lower than the value of Sato et Nakajima (1979) but still higher than ours. The only explanation that we could find is that the method adopted by these previous authors stipulating the use of water to introduce chemicals in the liquid matrices could affect the solubility of certain compounds and generate overestimations in PCs. The same observation was mentioned by other investigators (Fiserova et Diaz, 1986; Gargas et al., 1989; Battermen et al., 2000).

Table 1. Measured PCs of studied mVOCs at 37°C (mean (\pm SE), n = 3)

COVm	Water:air	Urine:air	Blood:air	Plasma:air	Blood:urine*	Blood:plasma**
Ethyl acetate	76.9 \pm 3.35	72.7 \pm 1.78	77.9 \pm 2.2	64.1 \pm 2.50	1.07	1.21
Butan-2-one	183 \pm 4.44	158 \pm 0.32	158 \pm 0.76	190 \pm 2.89	1.00	0.83
Pentan-2-one	127 \pm 3.62	113 \pm 1.14	125 \pm 4.29	122 \pm 4.28	1.10	1.02
Pentan-3-ol	590 \pm 4.29	651 \pm 16.8	575 \pm 5.63	633 \pm 35.5	0.88	0.91
Pentan-2-ol	694 \pm 6.82	753 \pm 23.4	719 \pm 1.19	759 \pm 20.3	0.95	0.95
Pent-1-en-3-ol	867 \pm 7.55	955 \pm 14.8	808 \pm 9.22	833 \pm 25.9	0.85	0.97
Cyclopentanone	965 \pm 32.9	982 \pm 31	1148 \pm 18.9	1329 \pm 24.9	1.17	0.86
3-methylbutan-1-ol	865 \pm 25.7	870 \pm 35.7	949 \pm 3.19	1120 \pm 18.3	1.09	0.85
Octan-3-one	34.8 \pm 0.82	34.2 \pm 1.42	129 \pm 2.61	151 \pm 8.44	3.77	0.86
Cyclohexanone	783 \pm 34.2	591 \pm 11.8	1173 \pm 30	N/A	1.99	N/A
Pent-2-en-1-ol	2210 \pm 28.6	3586 \pm 116	3065 \pm 40	2120 \pm 44.3	0.85	1.45
2-ethyl-1,6-dioxaspiro[4.4]nonane	1210 \pm 53.8	1546 \pm 131	1433 \pm 14	1359 \pm 8.95	0.93	1.06
Nonan-2-one	21.1 \pm 2.86	20.2 \pm 3.51	444 \pm 11	434 \pm 17.3	22	1.02
Octan-2-ol	186 \pm 1.74	188 \pm 8.74	1227 \pm 9.68	960 \pm 25.53	6.51	1.28
Oct-1-en-3-ol	392 \pm 30.8	430 \pm 42.8	1280 \pm 12.7	1411 \pm 27.7	2.98	0.91
Decanal	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A
Pentyl hexanoate	16 \pm 1.30	13.6 \pm 2.19	4721 \pm 136	2622 \pm 96.3	346	1.80
Undecan-6-one	17.4 \pm 4.18	16.4 \pm 3.11	804 \pm 20.9	1174 \pm 24.6	49.1	0.69
Octan-1-ol	311 \pm 10.9	368 \pm 10.1	3945 \pm 85.2	2627 \pm 19.9	10.7	1.5
Non-3-en 1-ol	593 \pm 25.6	528 \pm 29	4404 \pm 181	5604 \pm 21.1	8.34	0.79
5-ethylloxolan-2-one	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A

*Blood:urine calculated as (blood:air)/(urine:air)

**Blood:plasma calculated as (blood:air)/(plasma:air)

NA: not available

For the selected compounds, the water:air PCs values ranged between 16 and 2210, and for urine:air PCs ranged between 14 and 3586 (Table 1). These results show that all the mVOCs are highly soluble in water and urine. A good correlation ($R^2 = 0.97$, slope = 1.001) between the water:air and urine:air PCs was observed for most of the mVOCs studied (the 17 mVOCs with water:air PCs below 1000)(Figure 1). Nevertheless, two mVOCs which are pent-2-en-1-ol and 2-ethyl-1,6-dioxaspiro-[4.4]-nonane deviated from this correlation and showed a greater affinity to urine than to water. The reason is not yet clear, probably due to a particular affinity for proteins such as albumin that can be present in minute concentrations. These two compounds are the only ones with water:air and urine:air values greater than 1000. Further studies could help determining if this applies to other mVOCs with water:air partition coefficient greater than 1000. The good correlation between water and urine partition coefficients of mVOCs is of interest since it suggests that the water:air values could be used as surrogate for urine:air PCs. This is particularly interesting in the development of PBPK models when, for example, experimental data in urine are not available in the literature, especially that the Henry's law constants used to describe the solubility in water can be easily estimated according to the molecular structure of the compounds (O'Loughlin et English, 2015).

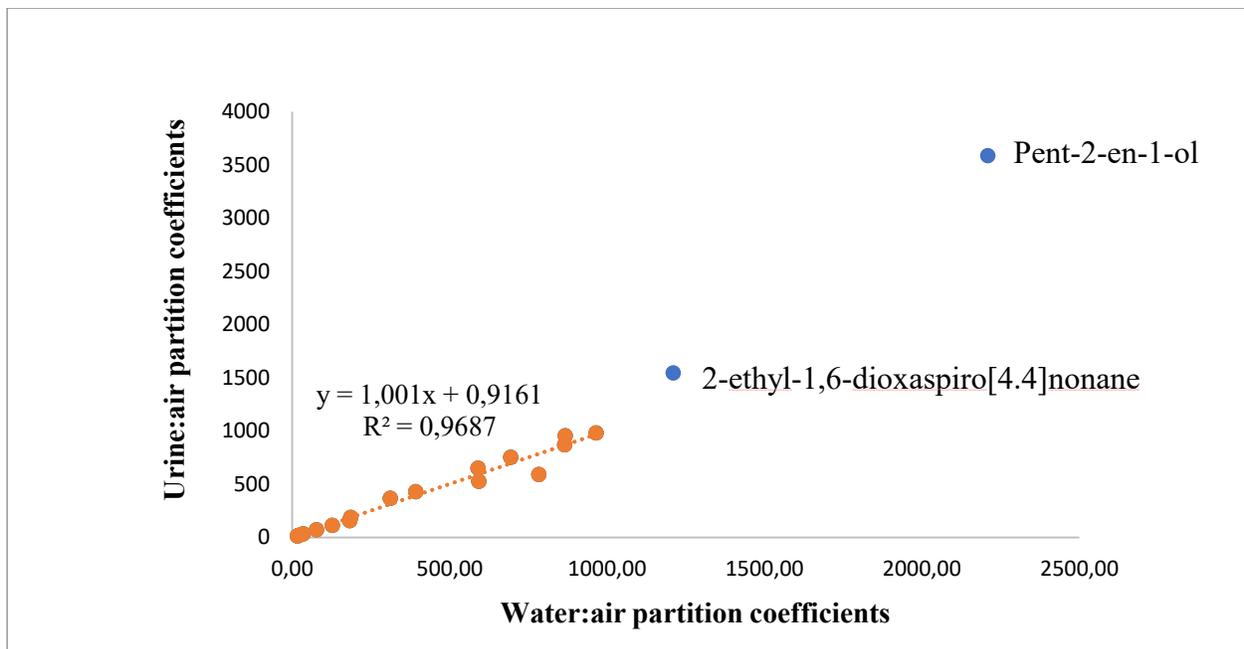


Figure 1. Correlation between urine:air and water:air PCs of mVOCs

The blood:air PCs range from 78 (Ethyl acetate) to 4721 (Pentyl hexanoate) (Table 1). Except for ethyl acetate, all the other compounds have values greater than 100. This indicates that these mVOCs are highly absorbed via the pulmonary route. Furthermore the blood concentrations of mVOCs at steady state have a potential to be very high compared to concentrations in inhaled air depending on clearance rates (Pelekis et al., 1997). Moreover, being highly soluble in the blood, the pulmonary absorption of these compounds would be influenced only by pulmonary ventilation (Imbriani et Ghittori, 2005). Thus, we can expect that for the same exposure levels, pulmonary absorption rates of mVOCs will be greater in people performing physical exercise than in people at rest, which may be the case in the occupational exposures.

The comparison of the blood:air PCs determined in this study with those previously estimated by in silico method by El Aroussi et al, (2018) listed in Table 2, shows differences sometimes quite consistent (Figure 2). Except for oct-1-en-3-ol and undecan-6-one for which the predicted and measured values are very close (predicted blood:air/measured blood:air = 1.16 and

1.06, respectively), about half of the compounds, namely ethyl acetate, butan-2-one, pentan-2-one, pentan-3-ol, pentan-2-ol, pent-1-en-3-ol, cyclopentanone, 3-methylbutan-1-ol, octan-3-one, cyclohexanone and 2-ethyl-1,6-dioxaspiro[4.4]nonane have predictions 1.5 to 6 times greater than measured values, noting that 2-ethyl-1,6-dioxaspiro[4.4]nonane has the highest overestimation with a factor of 6. In contrast for other mVOCs, experimental values show that blood solubility may be greater than that predicted, such is the case for pentyl hexanoate for which the PC measured in the blood is 10 times higher than that previously estimated. These discrepancies may be due to a lack of reliability in the data used in the predictions such as the physicochemical properties of compounds (e.g., octanol:water PCs, Henry's constant H_{cc}), blood composition or interactions of mVOCs with blood components (e.g., protein bonds). Despite these differences between the measured and estimated values, the fact remains that all mVOCs have high experimental blood:air PCs as has already been predicted, indicating that strong pulmonary absorption by inhalation are expected.

Table 2. Estimated PCs, physicochemical properties used for their calculation and estimated blood:air and measured blood:air ratios (El Aroussi et al., 2018)

mVOCs	H_{cc}	Octanol:water PCs	Estimated blood:air PCs	(Estimated blood:air) /(measured blood:air)
Ethyl acetate	0.00548	5.37	157	2.02
Butan-2-one	0.00228	1.95	374	2.36
Pentan-2-one	0.00342	8.13	252	2.02
Pentan-3-ol	0.000809	16.2	1080	1.88
Pentan-2-ol	0.000605	15.5	1440	2.00
Pent-1-en-3-ol	0.000404	13.2	2150	2.66
Cyclopentanone	0.000409	2.40	2090	1.82
3-methylbutan-1-ol	0.000576	14.5	1510	1.59
Octan-3-one	0.00531	166	204	1.58
Cyclohexanone	0.000368	6.46	2340	1.99
Pent-2-en-1-ol	0.000477	13.2	1820	0.59
2-ethyl-1,6- dioxaspiro[4.4]nonane	0.000277	1120	8750	6.11
Nonan-2-one	0.0150	1380	186	0.42
Octan-2-ol	0.00503	794	391	0.32
Oct-1-en-3-ol	0.000945	398	1490	1.16
Decanal	0.0736	5750	121	N/A
Pentyl hexanoate	0.0692	20000	416	0.09
Undecan-6-one	0.00916	4900	842	1.05
Octan-1-ol	0.001	1000	2250	0.57
Non-3-en 1-ol	0.00148	1200	1710	0.39
5-ethyloxolan-2-one	0.00739	3.98	116	N/A

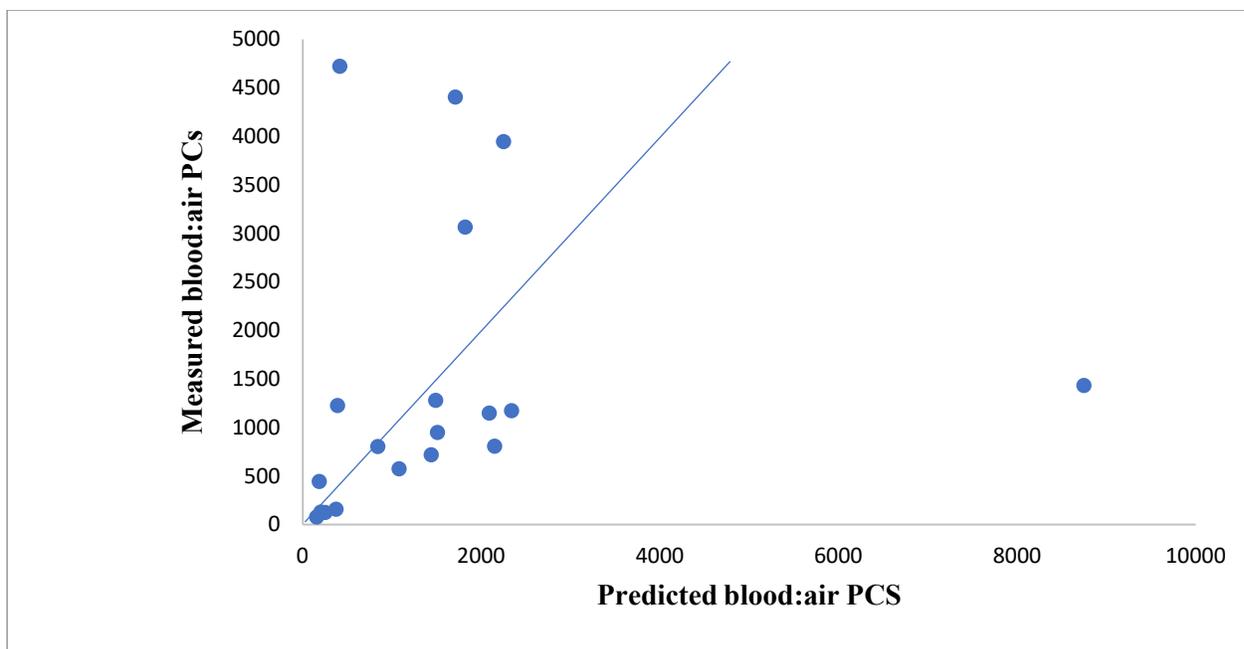


Figure 2. Relationship between measured and predicted blood:air PCs of mVOCs

Plasma:air PCs ranged from 64 for ethyl acetate to 5604 for non-3-en-1-ol. The correlation between the distribution in plasma and in blood is shown in Figure 3. Results indicate that for more than half of our mVOCs ($N = 12$ mVOCs), partitioning in blood and plasma are closely related (blood:plasma PCs ≈ 1 , range 0.8-1.06) (see Table 1). However, some compounds appear to be more soluble in blood than in plasma, such as pentyl hexanoate whose blood:air PC is almost twice as high as plasma:air. A greater affinity for whole blood than for plasma may suggest the existence of bonds with the hemoglobin of blood cells (Mochalski et al., 2012). The results also show that pentyl hexanoate is more than a hundred times more soluble in blood and plasma than in water. This may be related to the fact that this compound is highly lipophilic suggesting a high partition in blood lipids in addition to its affinity for the hemoglobin.

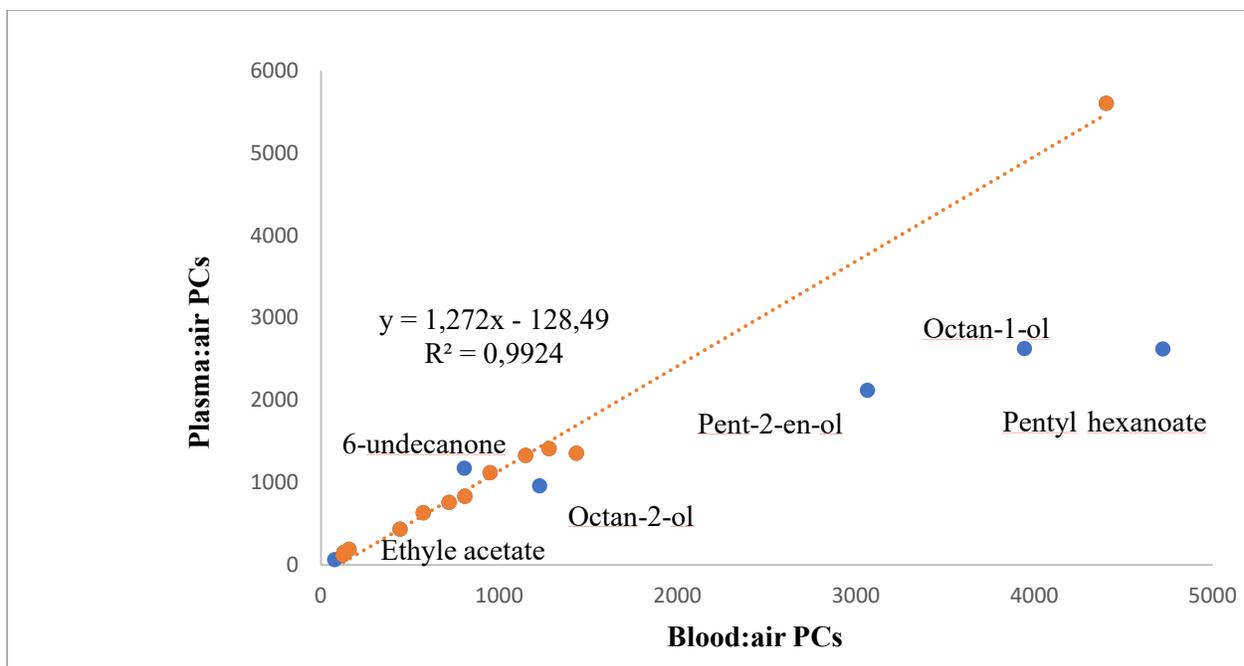


Figure 3. Relationship between plasma:air and blood:air PCs of mVOCs

The blood:urine ratios reported in Table 1 occupy a wide range of values, varying between 0.85 for 1-penten 3-ol and 2-penten 1-ol and 346 for pentyl hexanoate. mVOCs that have the highest blood:urine ratios are those with high octanol:water PCs. This is logical since lipophilic compounds will be more retained by blood lipids. Literature has demonstrated that urinary excretion of VOCs occurs solely by passive diffusion and is modulated mainly by the blood:urine ratio (Imbriani et Ghittori, 2005). Therefore, mVOCs with small blood:urine ratios will be more easily eliminated in the urine compared to those with high blood:urine ratios. For example, it would be expected to measure undecan-6-one and pentyl hexanoate levels in urine 49 and 346 times respectively, lower than in blood. Therefore, it would be more relevant to measure them in blood than in urine. Indeed, blood can be considered as matrix of choice for many VOCs due to their lipophilicity and high blood:air PCs. However, the invasive nature and the difficulty of the blood sampling strategy may favor the use of other matrices such as urine. Many

investigators have supported the search for parent VOCs in urine given their high specificity and their good correlation with atmospheric concentrations (Imbriani et Ghittori., 2005; Fustinoni et al., 2005., Janazik et al., 2010, Erb et al., 2021), like Butan-2-one which proved to be a good biomarker of exposure by inhalation, despite its very low urinary excretion rate (Kawai et al., 2003). However, the results of this study show that some of the mVOCs may be more poorly detected in urine than in blood due to their very high blood:urine ratios. Additional information on the kinetics (distribution and clearance) is necessary to further discuss the choice of the ideal matrix to be used for developing biomarkers of mold exposure with our list of mVOCs.

Conclusion

Water:air, urine:air, blood:air and plasma:air PCs of mVOCs that have potential as biomarkers of mold exposure were determined in this study using the vial equilibration technique. Future studies are needed to determine the range of values for the matrix:air PCs of decanal and 5-ethylxolan-2-on, and plasma:air of cyclohexanone which could not be achieved in the present study. A good correlation was generally observed between the urine:air and water:air PCs suggesting that the data for water could, if necessary, be used as preliminary approximation to simulate those in urine. The high blood:air PCs indicate that strong pulmonary uptakes are expected for all mVOCs which is consistent with previous predictions. Some mVOCs are more soluble in whole blood than in plasma, suggesting the presence of possible interactions with the hemoglobin of red blood cells. For some mVOCs with high blood:urine ratios, the matrix of choice is likely to be blood rather than urine. The data from this study will be very useful for the development of PBPK models for mVOCs to relate mVOC body concentrations to their ambient

air levels and to ultimately assess human exposure to indoor mold. Finally, this data will help in establishing the best matrix and sampling time to adopt for this new biomonitoring approach.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing conflicts of interest related to this work.

Acknowledgements

We are grateful for the « Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST) » for its funding and support (Project # 2018–0021).

Bibliography

- Batterman, S., Zhang, L., Wang, S., & Franzblau, A. (2002). Partition coefficients for the trihalomethanes among blood, urine, water, milk and air. *The Science of the total environment*, 284(1-3), 237–247. [https://doi.org/10.1016/s0048-9697\(01\)00890-7](https://doi.org/10.1016/s0048-9697(01)00890-7)
- Béliveau, M., Charest-Tardif, G., & Krishnan, K. (2001). Blood:air partition coefficients of individual and mixtures of trihalomethanes. *Chemosphere*, 44(3), 377–381. [https://doi.org/10.1016/s0045-6535\(00\)00203-4](https://doi.org/10.1016/s0045-6535(00)00203-4)
- Béliveau, M., & Krishnan, K. (2000). Concentration dependency of rat blood: air partition coefficients of some volatile organic chemicals. *Journal of toxicology and environmental health. Part A*, 60(6), 377–389. <https://doi.org/10.1080/00984100050033467>
- Carrieri, M., Spatari, G., Tranfo, G., Sapienza, D., Scapellato, M. L., Bartolucci, G. B., & Manno, M. (2018). Biological monitoring of low level exposure to benzene in an oil refinery: Effect of modulating factors. *Toxicology letters*, 298, 70-75.
- D'Halewyn-Jean-Marc, M. A., Bélanger-Michel, L. N. K. M., & Frenette, L. Y. (2002). Les risques à la santé associés à la présence de moisissures en milieu intérieur.

- El Aroussi, B., Marchand, G., Aubin, S., Bouchard, M., & Haddad, S. (2018). Utilisation des composés organiques volatils microbiens comme biomarqueurs de l'exposition aux moisissures en milieu de travail – Étude de faisabilité. Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité de travail (IRSST). Rapports scientifiques: R-1037
- Erb, A., Marsan, P., Burgart, M., Remy, A., Lambert-Xolin, A. M., Jeandel, F., Hanser & Robert, A. (2021). Utilisation des composés organiques volatils urinaires non métabolisés comme biomarqueurs pour évaluer les polyexpositions professionnelles. *Références en santé au travail* n°166
- Fiedler, K., Schütz, E., & Geh, S. (2001). Detection of microbial volatile organic compounds (MVOCs) produced by moulds on various materials. *International journal of hygiene and environmental health*, 204(2-3), 111–121. <https://doi.org/10.1078/1438-4639-00094>
- Fiserova-Bergerova, V., & Diaz, M. L. (1986). Determination and prediction of tissue-gas partition coefficients. *International archives of occupational and environmental health*, 58(1), 75–87. <https://doi.org/10.1007/BF00378543>
- Fustinoni, S., Buratti, M., Campo, L., Colombi, A., Consonni, D., Pesatori, A. C., ... & Bertazzi, P. A. (2005). Urinary t, t-muconic acid, S-phenylmercapturic acid and benzene as biomarkers of low benzene exposure. *Chemico-biological interactions*, 153, 253-256.
- Gargas, M. L., Burgess, R. J., Voisard, D. E., Cason, G. H., & Andersen, M. E. (1989). Partition coefficients of low-molecular-weight volatile chemicals in various liquids and tissues. *Toxicology and applied pharmacology*, 98(1), 87–99. [https://doi.org/10.1016/0041-008x\(89\)90137-3](https://doi.org/10.1016/0041-008x(89)90137-3)
- Haddad, S., & Nong, A. (2020). Physiologically based pharmacokinetic model: excretion via urine, feces, and breath. In *Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Modeling* (pp. 175-209). Academic Press

- Heinrich-Ramm, R., Jakubowski, M., Heinzow, B., Christensen, J., Olsen, E. & Hertel, O. (2000). Biological monitoring for exposure to volatile organic compounds (VOCs) (IUPAC Recommendations 2000). *Pure and Applied Chemistry*, 72(3), 385-436. <https://doi.org/10.1351/pac200072030385>
- Hoet, P., De Smedt, E., Ferrari, M., Imbriani, M., Maestri, L., Negri, S., De Wilde, P., Lison, D., & Haufroid, V. (2009). Evaluation of urinary biomarkers of exposure to benzene: correlation with blood benzene and influence of confounding factors. *International archives of occupational and environmental health*, 82(8), 985–995. <https://doi.org/10.1007/s00420-008-0381-6>
- Hung, R., Lee, S., & Bennett, J. W. (2015). Fungal volatile organic compounds and their role in ecosystems. *Applied microbiology and biotechnology*, 99(8), 3395–3405. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6494-4>
- Imbriani, M., & Ghittori, S. (2005). Gases and organic solvents in urine as biomarkers of occupational exposure: a review. *International archives of occupational and environmental health*, 78(1), 1–19. <https://doi.org/10.1007/s00420-004-0544-z>
- Janasik, B., Jakubowski, M., Wesołowski, W., & Kucharska, M. (2010). Unmetabolized VOCs in urine as biomarkers of low-level occupational exposure. *Int J Occup Med Environ Health*, 23(1), 21-26.
- Jia, C., Yu, X., & Masiak, W. (2012). Blood/air distribution of volatile organic compounds (VOCs) in a nationally representative sample. *The Science of the total environment*, 419, 225–232. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.12.055>
- Kaneko, T., Wang, P. Y., & Sato, A. (1994). Partition coefficients of some acetate esters and alcohols in water, blood, olive oil, and rat tissues. *Occupational and environmental medicine*, 51(1), 68–72. <https://doi.org/10.1136/oem.51.1.68>

- Kawai, T., Zhang, Z. W., Takeuchi, A., Miyama, Y., Sakamoto, K., Higashikawa, K., & Ikeda, M. (2003). Methyl isobutyl ketone and methyl ethyl ketone in urine as biological markers of occupational exposure to these solvents at low levels. *International archives of occupational and environmental health*, 76(1), 17–23. <https://doi.org/10.1007/s00420-002-0374-9>
- Korpi, A., Järnberg, J., & Pasanen, A. L. (2009). Microbial volatile organic compounds. *Critical reviews in toxicology*, 39(2), 139–193. <https://doi.org/10.1080/10408440802291497>
- Kramer, C., Mochalski, P., Unterkofler, K., Agapiou, A., Ruzsanyi, V., & Liedl, K. R. (2016). Prediction of blood:air and fat:air partition coefficients of volatile organic compounds for the interpretation of data in breath gas analysis. *Journal of breath research*, 10(1), 017103. <https://doi.org/10.1088/1752-7155/10/1/017103>
- Kuske, M., Romain, A., & Nicolas, J. (2005). Microbial volatile organic compounds as indicators of fungi. Can an electronic nose detect fungi in indoor environments. *Building and Environment*, 40, 824-831.
- Lemfack, M. C., Gohlke, B. O., Toguem, S., Preissner, S., Piechulla, B., & Preissner, R. (2018). mVOC 2.0: a database of microbial volatiles. *Nucleic acids research*, 46(D1), D1261–D1265. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1016>
- Lemfack, M. C., Nickel, J., Dunkel, M., Preissner, R., & Piechulla, B. (2014). mVOC: a database of microbial volatiles. *Nucleic acids research*, 42(Database issue), D744–D748. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1250>
- Matysik, S., Herbarth, O., & Mueller, A. (2008). Determination of volatile metabolites originating from mould growth on wall paper and synthetic media. *Journal of microbiological methods*, 75(2), 182–187. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2008.05.027>

- Minerdi, D., Bossi, S., Gullino, M. L., & Garibaldi, A. (2009). Volatile organic compounds: a potential direct long-distance mechanism for antagonistic action of *Fusarium oxysporum* strain MSA 35. *Environmental Microbiology*, *11*(4), 844-854.
- Mochalski, P., King, J., Kupferthaler, A., Unterkofler, K., Hinterhuber, H., & Amann, A. (2012). Human blood and plasma partition coefficients for C4-C8 n-alkanes, isoalkanes, and 1-alkenes. *International journal of toxicology*, *31*(3), 267-275.
- Moularat, S., Hulin, M., Robine, E., Annesi-Maesano, I., & Caillaud, D. (2011). Airborne fungal volatile organic compounds in rural and urban dwellings: detection of mould contamination in 94 homes determined by visual inspection and airborne fungal volatile organic compounds method. *The Science of the total environment*, *409*(11), 2005–2009. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.02.033>
- O’Loughlin, D. R., & English, N. J. (2015). Prediction of Henry’s Law Constants via group-specific quantitative structure property relationships. *Chemosphere*, *127*, 1-9.
- Pelekis, M., Krewski, D., & Krishnan, K. (1997). Physiologically Based Algebraic for Predicting Steady-State Toxicokinetics of Inhaled Vapors. *Toxicology Methods*, *7*(3), 205-226.
- Perbellini, L., Brugnone, F., Caretta, D., & Maranelli, G. (1985). Partition coefficients of some industrial aliphatic hydrocarbons (C5-C7) in blood and human tissues. *British journal of industrial medicine*, *42*(3), 162–167. <https://doi.org/10.1136/oem.42.3.162>
- Perbellini, L., Brugnone, F., Mozzo, P., Cocheo, V., & Caretta, D. (1984). Methyl ethyl ketone exposure in industrial workers. Uptake and kinetics. *International archives of occupational and environmental health*, *54*(1), 73–81. <https://doi.org/10.1007/BF00378730>

- Peyret, T., Poulin, P., & Krishnan, K. (2010). A unified algorithm for predicting partition coefficients for PBPK modeling of drugs and environmental chemicals. *Toxicology and applied pharmacology*, 249(3), 197–207. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2010.09.010>
- Polizzi, V., Adams, A., Malysheva, S. V., De Saeger, S., Van Peteghem, C., Moretti, A., Picco, A. M., & De Kimpe, N. (2012). Identification of volatile markers for indoor fungal growth and chemotaxonomic classification of *Aspergillus* species. *Fungal biology*, 116(9), 941–953. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2012.06.001>
- Poulin, P., & Krishnan, K. (1995 a). A biologically-based algorithm for predicting human tissue: blood partition coefficients of organic chemicals. *Human & experimental toxicology*, 14(3), 273–280. <https://doi.org/10.1177/096032719501400307>
- Poulin, P., & Krishnan, K. (1995 b). An algorithm for predicting tissue: blood partition coefficients of organic chemicals from n-octanol: water partition coefficient data. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues*, 46(1), 117-129.
- Ruark, C. (2020). Physiologically based pharmacokinetic model: distribution processes. In *Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Modeling* (pp. 139-160). Academic Press.
- Sato, A., & Nakajima, T. (1979). Partition coefficients of some aromatic hydrocarbons and ketones in water, blood and oil. *British journal of industrial medicine*, 36(3), 231–234. <https://doi.org/10.1136/oem.36.3.231>
- Schleibinger, H. (2002). Microbial volatile organic compounds (MVOC) as indicators for fungal damage. *Proceedings of Indoor Air*, 707.
- Schleibinger, H., Laussmann, D., Bornehag, C. G., Eis, D. et Rueden, H. (2008). Microbial volatile organic compounds in the air of moldy and mold-free indoor environments. *Indoor Air*, 18(2), 113-124. doi:10.1111/j.1600-0668.2007.00513.x

- Schleibinger, H., Laussmann, D., Brattig, C., Mangler, M., Eis, D., & Ruden, H. (2005). Emission patterns and emission rates of MVOC and the possibility for predicting hidden mold damage?. *Indoor air, 15 Suppl 9*, 98–104. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0668.2005.00349.x>
- Schmitt W. (2008). General approach for the calculation of tissue to plasma partition coefficients. *Toxicology in vitro : an international journal published in association with BIBRA*, 22(2), 457–467. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2007.09.010>
- Tabbal, S., El Aroussi, B., Bouchard, M., Marchand, G., & Haddad, S. (2022 a). A new headspace solid-phase microextraction coupled with gas chromatography-tandem mass spectrometry method for the simultaneous quantification of 21 microbial volatile organic compounds in urine and blood. *Chemosphere*, 296, 133901.
- Tabbal, S., El Aroussi, B., Bouchard, M., Marchand, G., & Haddad, S. (2022 b). Development and Validation of a Method for the Simultaneous Quantification of 21 Microbial Volatile Organic Compounds in Ambient and Exhaled Air by Thermal Desorption and Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Atmosphere*, 13(9), 1432.
- WHO (World Health Organization), (2010). WHO Guidelines for Indoor Air Quality: Selected Pollutants. https://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/000_9/128169/e94535.pdf.
- Wilkins, K., Larsen, K., & Simkus, M. (2000). Volatile metabolites from mold growth on building materials and synthetic media. *Chemosphere*, 41(3), 437-446.
- Wilson, P. F., Freeman, C. G., McEwan, M. J., Allardyce, R. A., & Shaw, G. M. (2003). SIFT-MS measurement of VOC distribution coefficients in human blood constituents and urine. *Applied occupational and environmental hygiene*, 18(10), 759-763.

Chapitre 3- Discussion et conclusion générale

L'utilisation des COVM en tant que biomarqueurs de l'exposition aux moisissures intérieures est une approche de biosurveillance qui a été récemment proposée comme complément aux méthodes de surveillance existantes. Cependant, le développement de ces biomarqueurs de contamination fongique requiert tout d'abord, la compréhension de leur toxicocinétique dans l'organisme vivant. Les CP sang:air, urine:air et plasma:air sont des paramètres pharmacocinétiques fondamentaux pour le développement de modèles PBPK utilisés pour prédire la toxicocinétique des COVM nécessaire dans l'analyse du risque toxicologique. Ces paramètres fournissent des informations précieuses sur la distribution des COVM dans l'organisme et aident à choisir la matrice biologique et le moment de prélèvement appropriés à leur utilisation comme biomarqueurs. Les CP matrice:air des COV sont habituellement déterminés par des méthodes expérimentales *in vitro* ou par des méthodes de prédiction utilisant des algorithmes. Les estimations des CP sang:air des COVM, précédemment générées à l'aide de l'algorithme de Peyret et al., 2010 ont montré que de fortes absorptions pulmonaires sont attendues pour ces composés. Toutefois, ces estimations restent toujours moins précises que les mesures expérimentales. Néanmoins, très peu de données expérimentales sur les CP sang: air, urine:air et plasma :air des COVM sont disponibles dans la littérature. Il était donc nécessaire d'entreprendre ce présent travail visant essentiellement à déterminer les valeurs de ces CP pour ces composés. Des objectifs secondaires ont également été abordés; i) Comparer les CP sang:air expérimentaux et estimés, ii) vérifier s'il est justifié d'utiliser les CP eau:air comme substituts aux CP urine:air pour ce type de composés.

Le travail mené a permis d'apporter de nouvelles données sur la distribution des COVM entre l'air et les matrices liquides (eau, urine, sang et plasma). Les CP matrice:air générées dans cette

étude sont déterminés pour la première fois pour la plupart des COVM à l'étude. Les résultats des CP sang:air obtenus dans ce travail montrent que tous les COVM étudiés prédisent une forte absorption pulmonaire. Les CP sang:air mesurés étant entre 78 et 4721, il est plausible que les concentrations sanguines des COVM soient plus élevées que celle dans l'air ambiant d'un facteur équivalent dépendant de la clairance de ceux-ci. Ceci indique une forte capacité de concentration dans le sang. En cas d'exposition à un COVM, les taux sanguins augmentent continuellement puis atteignent un état stationnaire. À ce stade, la concentration dans le sang devrait être égale au produit de la concentration dans l'air ambiant et du CP sang:air (El Aroussi et al., 2018). Cela signifie que, plus le CP sang:air d'un COVM est élevé, plus sa concentration dans le sang sera élevée, indiquant une forte absorption pulmonaire par inhalation. Cette solubilité élevée dans le sang signifie aussi que l'absorption des COVM sera essentiellement influencée par la capacité de ventilation pulmonaire (Imbriani et Ghittori, 2005). Cela laisse attendre que, pour un même niveau d'exposition, les doses internes des COVM pourraient être plus importantes chez les personnes en exercice physique que chez les personnes au repos.

Notre étude a toutefois été confrontée à deux limites. La première est l'impossibilité de déterminer les CP matrice:air du Décanal et du 5-éthylxolan-2-one en raison d'une baisse progressive de la concentration de ces deux analytes dans l'espace de tête des flacons. Cette diminution de concentration, possiblement due à un phénomène de dégradation ou de consommation de l'analyte, fait que pour certaines matrices (ex. : sang, plasma) ces analytes n'étaient même plus détectables dans la phase gazeuse à 1h d'incubation. Deuxièmement, il n'a pas été possible de mesurer le CP plasma:air du cyclohexanone en raison d'une interférence qui a exactement le même temps de rétention et les mêmes transitions spectrométriques que ce COVM.

Un des objectifs secondaires de ce travail était de comparer les données expérimentales des CP sang:air, générées par ce travail, avec celles précédemment prédites. Bien que les deux, suggèrent une forte absorption pulmonaire pour l'ensemble des COVM sélectionnés, la corrélation entre les deux est loin d'être parfaite. Les valeurs prédites sont soit sur ou sous-estimées par rapport aux valeurs mesurées. Les écarts sont parfois importants comme dans le cas du pentyle hexanoate (sous évalué d'un facteur 10) et du 2-ethyl-1,6-dioxaspiro [4.4] nonane (sur évalué d'un facteur 6). Ces différences peuvent être causées par un manque de fiabilité des constantes physicochimiques incorporées dans les équations mathématiques de prédiction, telles que la constante de Henry (Hcc) ou le CP octanol:eau estimés à l'aide du logiciel *Estimation Program Interface version 4.1 (U.S. EPA 2017)*. Elles peuvent également résulter d'une estimation erronée des interactions biochimiques des COVM avec les composantes biologiques (ex. : liaison à l'hémoglobine des globules rouges). Ces divergences entre les valeurs prédites et mesurés confirment l'utilité et l'intérêt de ce travail.

Ce présent travail a eu l'originalité d'étudier la corrélation entre les CP eau:air et les CP urine:air des COVM afin de vérifier s'il est justifié de substituer les CP urine:air par les CP eau:air. Les résultats ont montré que pour 17 COVM avec des valeurs de CP inférieures à 10^3 , les CP eau:air peuvent être des substituts appropriés aux CP urine:air. Le pent-2-en-1-ol et le 2-ethyl-1,6-dioxaspiro [4.4] nonane faisaient exception et montraient une plus grande affinité pour l'urine. Ce résultat nous donne plus de confiance à substituer les CP urine:air par les CP eau:air pour ce type de molécule avec des valeurs de CP en dessous de 10^3 . Cela est d'un grand intérêt comme première étape de développement de modèles PBPK étant donné que les CP eau:air peuvent être

facilement obtenus à partir des H_{cc} , qui quant à eux, peuvent être prédites par des approches quantitatives de types structure-activité (QSAR) (O'Loughlin et English, 2015).

Le CP sang:urine, calculé comme le ratio des CP sang:air /CP urine:air, est extrêmement important dans la prédiction de l'excrétion urinaire des COV et COVM. En fait, l'élimination des COV se produit principalement par diffusion passive (Erb et al., 2021) et est essentiellement liée aux propriétés physicochimiques de ces composés (Kawai et al., 2003). Le sang étant riche en lipides et l'urine étant pauvre, les composés hydrosolubles (CP octanol:eau faible) sont facilement excrétés dans l'urine lors de la filtration glomérulaire, contrairement aux composés liposolubles retenus dans les lipides sanguins. Selon leur capacité à être excrétés dans l'urine, les COVM de cette étude peuvent être divisés en deux catégories distinctes. La première catégorie comprend des COVM relativement hydrosolubles pour qui les CP sang:urine sont faibles (aux alentours de 1). Ces COVM seraient plus rapidement et plus facilement excrétés dans l'urine en raison de leur affinité pour l'eau. Des études antérieures étudiant le butan-2-one (CP sang:urine = 1) ont montré qu'il était rapidement excrété dans l'urine des travailleurs exposés (Miyasaka and al. 1982) et ne s'accumulait pas dans les tissus (Cosnier et al., 2018).

En revanche, les COVM de la deuxième catégorie sont plus liposolubles et ont des CP sang:urine élevés (allant jusqu'à 346). Ces COVM auraient une excrétion urinaire plus faible en raison de leur affinité pour les lipides du sang. Ces CP sang:urine suivent la même logique que les V_{dss} précédemment prédits par El Aroussi et al., 2018 (Tableau 1 du chapitre 1). Les COVM avec des CP sang:urine élevés ont également des V_{dss} élevés soit $\geq 10L/Kg$. Cela indique que ces composés auraient plus de chance de quitter le sang en passant à travers les membranes lipidiques pour aller s'accumuler dans les tissus périphériques (Mansoor et Mahabadi., 2021). Ces composés seraient plus lentement éliminés de l'organisme en raison de la longue demi-vie

d'élimination associée à un volume de distribution élevé (Toutain et al., 2004; Smith et al., 2015), Ces résultats auront des implications précieuses dans la sélection de la matrice biologique appropriée et du moment de prélèvement adéquat à l'utilisation des COVM comme biomarqueurs de la contamination fongique. En effet, ces résultats suggèrent que l'urine peut être une matrice adaptée pour les COVM de la première catégorie, car ils ont une affinité considérable pour l'eau. Néanmoins, mesurer les COVM de la deuxième catégorie dans cette matrice peut être plus compliqué et dépendra bien sûr des limites analytiques et des niveaux atmosphériques rencontrés. Le pentyle hexanoate par exemple serait plus de 300 fois moins riches dans l'urine que dans le sang. Cela suggère que le sang forme une matrice de choix pour ce COVM ainsi que pour les autres COVM avec des CP sang:urine élevés, surtout dans les conditions où les niveaux des COVM se rapprochent des limites analytiques.

Finalement, ce travail a également permis de déterminer expérimentalement les CP plasma:air très peu étudiés dans la littérature. Dans le même ordre que le CP sang:air, le CP plasma:air est intéressant pour décrire la toxicocinétique des composés volatils dans les modèles PBPK (Fischer et al., 2020). De plus, la comparaison entre la distribution dans le plasma et dans le sang offre l'avantage de caractériser le transport sanguin des composés chimiques. Par exemple, une solubilité plus élevée dans le sang total peut être liée à des interactions additionnelles aux globules rouges (Molachalski et al., 2012). Dans ce contexte, les résultats de cette étude montrent que plus de la moitié des COVM présentent des CP sang:plasma proches de 1, ce qui suggère que la distribution se fait essentiellement dans les lipides et l'eau des deux matrices. Toutefois, certains COVM montrent clairement une plus grande affinité pour le sang total, suggérant que des liaisons à l'hémoglobine des globules rouges sont possibles. C'est exactement le cas du pentyle hexanoate qui est environ deux fois plus soluble dans le sang que dans le plasma.

En conclusion, ce travail est à notre connaissance, le premier qui a expérimentalement déterminé les CP sang:air, urine:air et plasma:air d'un nombre assez volumineux de COVM proposés comme de potentiels biomarqueurs de la contamination fongique intérieure. Dans une première perspective, les données recueillies seront concrètement utilisées pour développer des modèles PBPK permettant la prédiction de la toxicocinétique pour ces COVM. Ces informations aideront aussi à la sélection des matrices biologiques et des moments de prélèvement appropriés pour cette nouvelle approche de biosurveillance. Enfin, les modèles PBPK sont particulièrement importants pour prédire le risque toxicologique associé à l'exposition aux moisissures intérieures grâce à leur capacité à relier les concentrations biologiques dans le corps à l'exposition.

Références bibliographiques

- Araki, A., Kanazawa, A., Kawai, T., Eitaki, Y., Morimoto, K., Nakayama, K., Shibata, E., Tanaka, M., Takigawa, T., Yoshimura, T., 2012. The relationship between exposure to microbial volatile organic compound and allergy prevalence in single-family homes. *Sci. Total Environ.* 423, 18–2
- Baláz, Š., & Lukáčová, V. (1999). A model-based dependence of the human tissue/blood partition coefficients of chemicals on lipophilicity and tissue composition. *Quantitative Structure-Activity Relationships*, 18(4), 361-368.
- Batterman, S., Zhang, L., Wang, S., & Franzblau, A. (2002). Partition coefficients for the trihalomethanes among blood, urine, water, milk and air. *The Science of the total environment*, 284(1-3), 237–247. [https://doi.org/10.1016/s0048-9697\(01\)00890-7](https://doi.org/10.1016/s0048-9697(01)00890-7)
- Béliveau, M., Charest-Tardif, G., & Krishnan, K. (2001). Blood:air partition coefficients of individual and mixtures of trihalomethanes. *Chemosphere*, 44(3), 377–381. [https://doi.org/10.1016/s0045-6535\(00\)00203-4](https://doi.org/10.1016/s0045-6535(00)00203-4)
- Borjesson, T., Stollman, U., Adamek, P., & Kaspersson, A. (1989). Analysis of volatile compounds for detection of molds in stored cereals. *Cereal Chem*, 66(4), 300-304.
- Borjesson, T., Stöllman, U., & Schnürer, J. (1992). Volatile metabolites produced by six fungal species compared with other indicators of fungal growth on cereal grains. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(8), 2599-2605.
- Borchers, A. T., Chang, C., & Eric Gershwin, (2017). M. Mold and Human Health: a Reality Check. *Clinic Rev Allerg Immunol*, 52, 305–322. <https://doi.org/10.1007/s12016-017-8601-z>.
- Boutin-Forzano, S., charpink, K., Hammou, Y., Gouitaa, M., Botta, A., Dumon, H., & Charpin, D. (2006). Moisissures domestiques, mycotoxines et risques sanitaires, *Environnement, Risques & Santé*, vol. 5, n° 5

- Bruce, A., Wheatley, R. E., Humphris, S. N., Hackett, C. A., & Florence, M. E. (2000). Production of volatile organic compounds by *Trichoderma* in media containing different amino acids and their effect on selected wood decay fungi.
- Bush, R. K., Portnoy, J. M., Saxon, A., Terr, A. I., & Wood, R. A. (2006). The medical effects of mold exposure. *The Journal of allergy and clinical immunology*, 117(2), 326–333. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2005.12.001Annexes>
- Choi, H., Schmidbauer, N., & Bornehag, C. G. (2016). Non-microbial sources of microbial volatile organic compounds. *Environmental Research*, 148, 127-136.
- Cosnier, F., Grossmann, S., Nunge, H., Brochard, C., Muller, S., Lambert-Xolin, A. M., Sebillaud, S., Rieger, B., Thomas, A., Décret, M. J., Burgart, M., Gaté, L., Cossec, B., & Campo, P. (2018). Metabolism of inhaled methylethylketone in rats. *Drug and chemical toxicology*, 41(1), 42–50. <https://doi.org/10.1080/01480545.2017.1289220>
- D'Halewyn-Jean-Marc, M. A., Bélanger-Michel, L. N. K. M., & Frenette, L. Y. (2002). Les risques à la santé associés à la présence de moisissures en milieu intérieur.
- Dinh, T. V., Kim, S. Y., Son, Y. S., Choi, I. Y., Park, S. R., Sunwoo, Y., & Kim, J. C. (2015). Emission characteristics of VOCs emitted from consumer and commercial products and their ozone formation potential. *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 9345-9355
- El Aroussi, B., Marchand, G., Aubin, S., Bouchard, M., & Haddad, S. (2018). Utilisation des composés organiques volatils microbiens comme biomarqueurs de l'exposition aux moisissures en milieu de travail – Étude de faisabilité. Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité de travail (IRSST). Rapports scientifiques: R-1037
- Erb, A., Marsan, P., Burgart, M., Remy, A., Lambert-Xolin, A. M., Jeandel, F., Hanser & Robert, A. (2021). Utilisation des composés organiques volatils urinaires non métabolisés comme biomarqueurs pour évaluer les polyexpositions professionnelles Références en santé au travail n°166

- Fiedler, K., Schütz, E., & Geh, S. (2001). Detection of microbial volatile organic compounds (MVOCs) produced by moulds on various materials. *International journal of hygiene and environmental health*, 204(2-3), 111–121. <https://doi.org/10.1078/1438-4639-00094>
- Fiserova-Bergerova, V., & Diaz, M. L. (1986). Determination and prediction of tissue-gas partition coefficients. *International archives of occupational and environmental health*, 58(1), 75–87. <https://doi.org/10.1007/BF00378543>
- Fisher, J. W., Yang, X., Mehta, D., Housand, C., & Lin, Z. (2020). Fundamentals of physiologically based pharmacokinetic modeling. In *Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Modeling* (pp. 57-80). Academic Press.
- Flannigan, B. (2001). Microorganisms in Indoor Air (in:) *Microorganisms in Home and Indoor Work Environments*, B. Flannigan, R. A. Samson, J. D. Miller, London– New York: 17–31.
- Gagné et Valcke. (2014). La biosurveillance des contaminants environnementaux au Québec: portrait, constats et recommandations pour l’implantation d’actions concertées.
- Garcia-Alcega, S., Nasir, Z.A., Ferguson, R., Whitby, C., Dumbrell, A.J., Colbeck, I., Gomes, D., Tyrrel, S., Coulon, F., 2017. Fingerprinting outdoor air environment using microbial volatile organic compounds (MVOCs) – a review. *Trac. Trends Anal. Chem.* 86, 75–83. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2016.10.010>.
- Gargas, M. L., Burgess, R. J., Voisard, D. E., Cason, G. H., & Andersen, M. E. (1989). Partition coefficients of low-molecular-weight volatile chemicals in various liquids and tissues. *Toxicology and applied pharmacology*, 98(1), 87–99. [https://doi.org/10.1016/0041-008x\(89\)90137-3](https://doi.org/10.1016/0041-008x(89)90137-3)
- Gerritsen, M. G., Brinkman, P., Escobar, N., Bos, L. D., De Heer, K., Meijer, M., ... & Sterk, P. J. (2018). Profiling of volatile organic compounds produced by clinical *Aspergillus* isolates using gas chromatography–mass spectrometry. *Medical mycology*, 56(2), 253-256.
- Guo, Y., Jud, W., Weikl, F., Ghirardo, A., Junker, R. R., Polle, A., ... & Rosenkranz, M. (2021). Volatile organic compound patterns predict fungal trophic mode and lifestyle. *Communications biology*, 4(1), 1-12

- Heinrich-Ramm, R., Jakubowski, M., Heinzow, B., Christensen, J. M., Olsen, E., & Hertel, O. (2000). Biological monitoring for exposure to volatile organic compounds (VOCs)(IUPAC Recommendations 2000). *Pure and Applied Chemistry*, 72(3), 385-436
- Huang, L., Lin, Z., Zhou, X., Zhu, M., Gehring, R., Riviere, J. E., & Yuan, Z. (2015). Estimation of residue depletion of cyadox and its marker residue in edible tissues of pigs using physiologically based pharmacokinetic modelling. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 32(12), 2002-2017.
- Hung, R., Lee, S., & Bennett, J. W. (2015). Fungal volatile organic compounds and their role in ecosystems. *Applied microbiology and biotechnology*, 99(8), 3395–3405. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6494-4>
- Hussain, A., Tian, M.-Y., He, Y.-R. et Lei, Y.-Y. (2010). Differential fluctuation in virulence and VOC profiles among different cultures of entomopathogenic fungi. *Journal of Invertebrate Pathology*, 104(3), 166-171. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jip.2010.03.004>
- Imbriani, M and Ghittori, S. (2005). Gases and organic solvents in urine as biomarkers of occupational exposure: a review. *Int Arch Occup Environ Health*. 78: 1–19 DOI 10.1007/s00420-004-0544-z
- Jepson, G. W., Hoover, D. K., Black, R. K., McCafferty, J. D., Mahle, D. A., & Gearhart, J. M. (1994). A partition coefficient determination method for nonvolatile chemicals in biological tissues. *Fundamental and Applied Toxicology*, 22(4), 519-524.
- Jia, C., Yu, X., & Masiak, W. (2012). Blood/air distribution of volatile organic compounds (VOCs) in a nationally representative sample. *The Science of the total environment*, 419, 225–232. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.12.055>
- Kaminski, E., Stawicki, S., & Wasowicz, E. (1974). Volatile flavor compounds produced by molds of *Aspergillus*, *Penicillium*, and *Fungi imperfecti*. *Applied microbiology*, 27(6), 1001-1004
- Kaneko, T., Wang, P. Y., & Sato, A. (1994). Partition coefficients of some acetate esters and alcohols in water, blood, olive oil, and rat tissues. *Occupational and environmental medicine*, 51(1), 68–72. <https://doi.org/10.1136/oem.51.1.68>

- Kawai, T., Zhang, Z. W., Takeuchi, A., Miyama, Y., Sakamoto, K., Higashikawa, K., & Ikeda, M. (2003). Methyl isobutyl ketone and methyl ethyl ketone in urine as biological markers of occupational exposure to these solvents at low levels. *International archives of occupational and environmental health*, 76(1), 17–23. <https://doi.org/10.1007/s00420-002-0374-9>
- Kim, J.L., Elfman, L., Mi, Y., Wieslander, G., Smedje, G., Norback, D., 2007. Indoor molds, bacteria, microbial volatile organic compounds and plasticizers in schools—associations with asthma and respiratory symptoms in pupils. *Indoor Air* 17, 153–163.
- Konuma, R., Umezawa, K., Mizukoshi, A., Kawarada, K., & Yoshida, M. (2015). Analysis of microbial volatile organic compounds produced by wood-decay fungi. *Biotechnology letters*, 37(9), 1845-1852.
- Korpi, A., Järnberg, J., & Pasanen, A. L. (2009). Microbial volatile organic compounds. *Critical reviews in toxicology*, 39(2), 139–193. <https://doi.org/10.1080/10408440802291497>
- Kuske, M., Romain, A., & Nicolas, J. (2005). Microbial volatile organic compounds as indicators of fungi. Can an electronic nose detect fungi in indoor environments. *Building and Environment*, 40, 824-831.
- Lemfack, M. C., Gohlke, B. O., Toguem, S., Preissner, S., Piechulla, B., & Preissner, R. (2018). mVOC 2.0: a database of microbial volatiles. *Nucleic acids research*, 46(D1), D1261–D1265. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx1016>
- Lemfack, M. C., Nickel, J., Dunkel, M., Preissner, R., & Piechulla, B. (2014). mVOC: a database of microbial volatiles. *Nucleic acids research*, 42(Database issue), D744–D748. <https://doi.org/10.1093/nar/gkt1250>
- Lin, Z., & Fisher, J. W. (2020). A history and recent efforts of selected physiologically based pharmacokinetic modeling topics. In *Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Modeling* (pp. 1-26). Academic Press.
- Mansoor, A., & Mahabadi, N. (2021). Volume of distribution. In *StatPearls [Internet]*. StatPearls Publishing.

- Matysik, S., Herbarth, O. et Mueller, A. (2008). Determination of volatile metabolites originating from mould growth on wallpaper and synthetic media. *Journal of Microbiological Methods*, 75(2), 182-187. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mimet.2008.05.027>
- Méheust, D. (2012). *Exposition aux moisissures en environnement intérieur: méthodes de mesure et impacts sur la santé* (Doctoral dissertation, Université Rennes 1).
- Mendell, M. J., Mirer, A. G., Cheung, K., Tong, M., & Douwes, J. (2011). Respiratory and allergic health effects of dampness, mold, and dampness-related agents: a review of the epidemiologic evidence. *Environmental health perspectives*, 119(6), 748-756.
- Metcalf, S. W., & Orloff, K. G. (2004). Biomarkers of exposure in community settings. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 67(8-10), 715-726.
- Meulenberg, C. J., & Vijverberg, H. P. (2000). Empirical relations predicting human and rat tissue: air partition coefficients of volatile organic compounds. *Toxicology and applied pharmacology*, 165(3), 206-216.
- Minerdi, D., Bossi, S., Gullino, M.L., Garibaldi, A., 2009. Volatile organic compounds: a potential direct long-distance mechanism for antagonistic action of *Fusarium oxysporum* strain MSA 35. *Environ. Microbiol.* 11, 844e854
- Miyasaka M, Kumai M, Koizumi A, Watanabe T, Kurasako K, Sato K, Ikeda M (1982) Biological monitoring of occupational exposure to methyl ethyl ketone by means of urinalysis for methyl ethyl ketone itself. *Int Arch Occup Environ Health* 50:131–137
- Mochalski P, King J, Kupferthaler A, Unterkofler K, Hinterhuber H, Amann A. Human Blood and Plasma Partition Coefficients for C4-C8 n-alkanes, Isoalkanes, and 1-alkenes. *International Journal of Toxicology*. 2012;31(3):267-275. doi:[10.1177/1091581812442689](https://doi.org/10.1177/1091581812442689)
- Molhave, L., 2009. Volatile organic compounds and the sick building syndrome. In: Lippmann, M. (Ed.), *Environmental Toxicants: Human Exposures and Their Health Effects*, third ed. *Wiley-Interscience*, New York, pp. 241e256
- Moularat, S., Hulin, M., Robine, E., Annesi-Maesano, I., & Caillaud, D. (2011). Airborne fungal volatile organic compounds in rural and urban dwellings: detection of mould

- contamination in 94 homes determined by visual inspection and airborne fungal volatile organic compounds method. *The Science of the total environment*, 409(11), 2005–2009. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.02.033>
- Nalli, S., Horn, O. J., Grochowalski, A. R., Cooper, D. G., & Nicell, J. A. (2006). Origin of 2-ethylhexanol as a VOC. *Environ. Pollut*, 140, 181–185.
- Neerinx, A. H., Geurts, B. P., Habets, M. F. J., Booij, J. A., Van Loon, J., Jansen, J. J., ... & Kluijtmans, L. A. J. (2016). Identification of *Pseudomonas aeruginosa* and *Aspergillus fumigatus* mono-and co-cultures based on volatile biomarker combinations. *Journal of breath research*, 10(1), 016002.
- Nong, A. (2007). Caractérisation de la variabilité interindividuelle de la toxicocinétique des composés organiques volatils.
- O’Loughlin, D. R., & English, N. J. (2015). Prediction of Henry’s Law Constants via group-specific quantitative structure property relationships. *Chemosphere*, 127, 1-9.
- Palaty, C. (2011). *Évaluation des moisissures dans les environnements intérieurs: description des lignes directrices et éléments probants*. Centre de collaboration nationale en santé environnementale.
- Palaty, C., & Shum, M. (2012). *Effet de l'exposition aux moisissures ou à l'humidité en milieu intérieur sur la santé*. Centre de collaboration nationale en santé environnementale.
- Park, J. H., & Cox-Ganser, J. M. (2011). Mold exposure and respiratory health in damp indoor environments. *Frontiers in bioscience (Elite edition)*, 3(2), 757–771. <https://doi.org/10.2741/e284>
- Payne, M. P., & Kenny, L. C. (2002). Comparison of models for the estimation of biological partition coefficients. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*, 65(13), 897-931.
- Perbellini, L., Brugnone, F., Caretta, D., & Maranelli, G. (1985). Partition coefficients of some industrial aliphatic hydrocarbons (C5-C7) in blood and human tissues. *British journal of industrial medicine*, 42(3), 162–167. <https://doi.org/10.1136/oem.42.3.162>

- Peyret, T., Poulin, P., & Krishnan, K. (2010). A unified algorithm for predicting partition coefficients for PBPK modeling of drugs and environmental chemicals. *Toxicology and applied pharmacology*, 249(3), 197–207. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2010.09.010>
- Polizzi, V., Adams, A., Malysheva, S. V., De Saeger, S., Van Peteghem, C., Moretti, A., ... & De Kimpe, N. (2012). Identification of volatile markers for indoor fungal growth and chemotaxonomic classification of *Aspergillus* species. *Fungal biology*, 116(9), 941-953.
- Poulin, P., & Krishnan, K. (1995 a). A biologically-based algorithm for predicting human tissue: blood partition coefficients of organic chemicals. *Human & experimental toxicology*, 14(3), 273-280
- Poulin, P., & Krishnan, K. (1995 b). An algorithm for predicting tissue: blood partition coefficients of organic chemicals from n-octanol: water partition coefficient data. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues*, 46(1), 117-129
- Poulin, P., & Krishnan, K. (1996 a). A mechanistic algorithm for predicting blood: air partition coefficients of organic chemicals with the consideration of reversible binding in hemoglobin. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 136(1), 131-137.
- Poulin, P., & Krishnan, K. (1996 b). A tissue composition-based algorithm for predicting tissue: air partition coefficients of organic chemicals. *Toxicology and applied pharmacology*, 136(1), 126-130.
- Richard-Molard, D., Cahagnier, B., Poisson, J., & Drapon, R. (1976). Evolutions compares des constituents volatiles et de la microflore de maïs stockés sous différentes conditions de température et d'humidité. *Ann. Technol. Agric*, 25, 29.
- Robinson, P. J., Gearhart, J. M., Mahle, D. A., Merrill, E. A., Sterner, T. R., Yu, K. O., & Lipscomb, J. C. (2007). Considerations of design and data when developing physiologically based pharmacokinetic models. In *Toxicokinetics and Risk Assessment* (pp. 141-165). Informa Healthcare USA, Inc. New York.
- Ruark, C. (2020). Physiologically based pharmacokinetic model: distribution processes. In *Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Modeling* (pp. 139-160). Academic Press.

- Ryan, T. J., & Beaucham, C. (2013). Dominant microbial volatile organic compounds in 23 US homes. *Chemosphere*, 90(3), 977-985.
- Salo, P.M.; Arbes, S.J.; Crockett, P.W.; Thorne, P.S.; Cohn, R.D.; Zeldin, D.C. (2008). Exposure to multiple indoor allergens in U.S. homes and its relationship to asthma. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 121, 678–684. [[Google Scholar](#)] [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Sato, A., & Nakajima, T. (1979). Partition coefficients of some aromatic hydrocarbons and ketones in water, blood and oil. *British journal of industrial medicine*, 36(3), 231–234. <https://doi.org/10.1136/oem.36.3.231>
- Sawoszczuk, T., Sygulacholewinska, J., & Zczop, J. (2015). An analysis of the microbial quality of air in selected facilities of the national museum in Cracow. Cracow University of Economics Press. Rakowicka 27, 31-510 Kraków, Poland. www.uek.krakow.pl
- Seguel JM, Merrill R, Seguel D, Campagna AC.(2017) Indoor Air Quality. *American Journal of Lifestyle Medicine*. 11(4):284-295. doi:10.1177/1559827616653343
- Schleibinger, H., Laussmann, D., Bornehag, C. G., Eis, D., & Rueden, H. (2008). Microbial volatile organic compounds in the air of moldy and mold-free indoor environments. *Indoor air*, 18(2), 113-124.
- Schuchardt, S. et Kruse, H. (2009). Quantitative volatile metabolite profiling of common indoor fungi: Relevancy for indoor air analysis. *Journal of Basic Microbiology*, 49(4), 350-362.
- Schuchardt, S. et Strube, A. (2013). Microbial volatile organic compounds in moldy interiors: A long-term climate chamber study. *Journal of Basic Microbiology*, 53(6), 532-538. doi:10.1002/jobm.201200056
- Schmitt, W. (2008). General approach for the calculation of tissue to plasma partition coefficients. *Toxicology in vitro*, 22(2), 457-467.
- Shenassa, E. D., Daskalakis, C., Liebhaber, A., Braubach, M., & Brown, M. (2007). Dampness and mold in the home and depression: an examination of mold-related illness and perceived control of one's home as possible depression pathways. *American journal of public health*, 97(10), 1893–1899. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2006.093773>

- Shinohara, N., Hasegawa, K., Kagi, N., Sakaguchi, J., Shiraishi, Y., & Mitamura, T. (2018). Microbial volatile organic compounds and dampness in 60 houses of East Japan. *Building and Environment*, 132, 338-344.
- Silins, I., & Högberg, J. (2011). Combined toxic exposures and human health: biomarkers of exposure and effect. *International journal of environmental research and public health*, 8(3), 629-647.
- Straus D. C. (2009). Molds, mycotoxins, and sick building syndrome. *Toxicology and industrial health*, 25(9-10), 617–635. <https://doi.org/10.1177/0748233709348287>
- Toutain, P. L., & Bousquet-Mélou, A. (2004). Volumes of distribution. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*, 27(6), 441–453. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2004.00602.x>
- U.S. Environmental Protection Agency (2021) In: U.S. EPA. Report on the Environment. Indoor air quality: What are the trends in indoor air quality and their effects on human health? <https://www.epa.gov/report-environment/indoor-air-quality> . Accédé Jan 2022.
- Viau, C. (2005). Biomonitoring in occupational health: Scientific, socio-ethical, and regulatory issues. *toxicology and Applied pharmacology*, 207(2), 347-353.
- Viau, C. (2008). Interprétation des résultats de surveillance biologique. Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement, 69, 315-319. Mycotoxins. Boyd Printing Company, Albany, NY
- Walinder, R., Ernstgård, L., Norbäck, D., Wieslander, G., & Johanson, G. (2008). Acute effects of 1-octen-3-ol, a microbial volatile organic compound (MVOC)--an experimental study. *Toxicology letters*, 181(3), 141–147. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2008.07.013>
- Wilkins, K., Larsen, K., & Simkus, M. (2000). Volatile metabolites from mold growth on building materials and synthetic media. *Chemosphere*, 41(3), 437–446. [https://doi.org/10.1016/s0045-6535\(99\)00273-8](https://doi.org/10.1016/s0045-6535(99)00273-8)

World Health Organization. WHO guidelines for indoor air quality: dampness and mould. Copenhagen, Denmark: WHO, Regional Office for Europe; 2009. Available from: <http://www.euro.who.int/document/E92645.pdf> 16