

**UNIVERSITÉ DU QUÉBEC**

**MÉMOIRE**

**MAÎTRISE EN MICROBIOLOGIE APPLIQUÉE**

**PAR**

**STÉPHANE LA ROCHE**

**MESURE DE LA BIOTOXICITÉ DE L'AIR INTÉRIEUR  
DANS LES ÉDIFICES HERMÉTIQUES**

**JANVIER 1994**

## TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES MATIÈRES .....	iii
LISTE DES TABLEAUX .....	vi
LISTE DES FIGURES .....	viii
RÉSUMÉ .....	ix
INTRODUCTION .....	1
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE .....	5
1. L'AIR INTÉRIEUR .....	6
1.1 Problématique du "syndrome des édifices hermétiques" (SEH) .....	6
1.2 Effets sur la santé en général .....	10
2. LES GROUPES DE POLLUANTS .....	13
2.1 Les composés organiques volatiles (COV) .....	13
2.2 La fumée de tabac (Environmental Tobacco Smoke ou ETS) .....	17
2.3 Les bioaérosols .....	21
2.4 Les poussières et particules .....	29
2.5 Les gaz et vapeurs .....	32
3. LES BIOESSAIS .....	34
3.1 Le Microtox® .....	35
3.2 Le Toxi-Chromotest .....	40
3.3 Le test des déshydrogénases bactériennes .....	42
3.4 La qualité de l'air et les bioessais .....	43
MATÉRIEL ET MÉTHODE .....	46
1. LES SUBSTANCES .....	47
1.1 Préparation des échantillons purs et en mélanges	47

	iv
2. LES BIOESSAIS .....	50
2.1 Le Microtox® .....	50
2.2 Le Toxi-Chromotest .....	52
2.3 Le test des déshydrogénases bactériennes .....	54
3. TRAVAUX SUR LE TERRAIN .....	56
3.1 Échantillonnage sur le terrain (membrane et barboteur) et évaluation de la biotoxicité des échantillons .....	56
3.2 Méthodes d'analyses physico-chimiques .....	58
3.2.1 Les poussières .....	58
3.2.2 Les composés organiques volatiles totaux.	59
3.2.3 Le formaldéhyde .....	59
3.2.4 Le plomb .....	60
3.2.5 La nicotine .....	60
3.3 Évaluation de l'efficacité de l'échantillonnage à l'aide de la HPLC .....	60
3.3.1 Membrane 0,45 µm .....	61
3.3.2 Barboteur .....	63
RÉSULTATS .....	66
1. EC50 DES PRODUITS PURS AVEC LES TROIS BIOESSAIS	67
2. EFFETS SYNERGIQUES ET ANTAGONISTES DES POLLUANTS EN MÉLANGES .....	69
3. ÉCHANTILLONNAGES D'AIR INTÉRIEUR VS DONNÉES PHYSICO-CHIMIQUES .....	72
4. ÉVALUATION DE L'EFFICACITÉ DE L'ÉCHANTILLONNAGE	73
4.1 Membrane 0,45 µm .....	73
4.2 Barboteur .....	73
DISCUSSION .....	88
1. SENSIBILITÉ RELATIVE DES TROIS BIOESSAIS .....	89
2. SYNERGISME ET ANTAGONISME DES POLLUANTS EN MÉLANGES .....	92

3.	DIFFICULTÉS DE L'ÉCHANTILLONNAGE .....	96
4.	CORRÉLATIONS ENTRE BIOTOXICITÉ ET DONNÉES PHYSICO-CHIMIQUES DES SITES .....	100
5.	EFFICACITÉ DES MÉTHODES D'ÉCHANTILLONNAGE ....	103
	CONCLUSION .....	105
	REMERCIEMENTS .....	108
	BIBLIOGRAPHIE .....	110



## LISTE DES TABLEAUX

## REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

TABLEAU 1	NORMES ÉTABLIES POUR LES PRINCIPAUX GROUPES DE POLLUANTS LE PLUS SOUVENT RETROUVÉS DANS L'AIR INTÉRIEUR	12
TABLEAU 2	MÉLANGE DE VINGT COVs UTILISÉS PAR LE GROUPE DE MOLHAVE	18
TABLEAU 3	NIVEAUX DE TOXICITÉ DÉTERMINÉS POUR LA MÉTHODE MICROTOX®	39

## RÉSULTATS

TABLEAU 4	RÉSULTATS COMPARATIFS DE LA SENSIBILITÉ DES BIOESSAIS MICROBIENS	68
TABLEAU 5.1	COMPARAISON DES VALEURS ESTIMÉES ET EXPÉRIMENTALES POUR LES MÉLANGES BINAIRES	75
TABLEAU 5.2	COMPARAISON DES VALEURS ESTIMÉES ET EXPÉRIMENTALES POUR LES MÉLANGES TERNAIRES	77
TABLEAU 5.3	COMPARAISON DES VALEURS ESTIMÉES ET EXPÉRIMENTALES POUR LES MÉLANGES À QUATRE SUBSTANCES	79
TABLEAU 5.4	COMPARAISON DES VALEURS ESTIMÉES ET EXPÉRIMENTALES POUR LES MÉLANGES À CINQ SUBSTANCES	81
TABLEAU 5.5	COMPARAISON DES VALEURS ESTIMÉES ET EXPÉRIMENTALES POUR LES MÉLANGES AYANT ENTRE SIX ET DIX SUBSTANCES	82
TABLEAU 6	FRÉQUENCE DE CHAQUE SUBSTANCE INDIVIDUELLE PRÉSENTE DANS LES MÉLANGES MONTRANT UNE DIFFÉRENCE SIGNIFICATIVE ENTRE LA VALEUR ESTIMÉE ET LA VALEUR EXPÉRIMENTALE DE LA EC <sub>50</sub>	83

TABLEAU 7	BILAN DES MÉLANGES MONTRANT UNE TOXICITÉ MODIFIÉE	84
TABLEAU 8	MESURE DE LA BIOTOXICITÉ D'ÉCHANTILLONS D'AIR INTÉRIEUR À L'AIDE DE LA MÉTHODE MICROTOX®. MEMBRANES FILTRANTES	85

## LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 :	SCHÉMA DU MONTAGE UTILISÉ POUR L'ÉVALUATION DE L'EFFICACITÉ DE RÉCUPÉRATION SUR MEMBRANE FILTRANTE 0,45 $\mu\text{m}$ EN PTFE	62
FIGURE 2 :	SCHÉMA DU MONTAGE UTILISÉ POUR L'ÉVALUATION DE L'EFFICACITÉ DE L'ÉCHANTILLONNAGE PAR BARBOTAGE	64

## RÉSUMÉ

Les principaux polluants de l'air intérieur provenant de diverses sources peuvent être subdivisés selon cinq catégories qui sont les composés organiques volatiles (COV), la fumée de tabac, les bioaérosols, les poussières et particules et les vapeurs et gaz. Les bioessais suivants: inhibition de la bioluminescence de *Photobacterium phosphoreum* (Microtox®), inhibition de la biosynthèse de novo de la  $\beta$ -galactosidase chez *E. coli* (Toxi-Chromotest) et inhibition des déshydrogénases chez *Bacillus cereus* ont été utilisés pour mesurer individuellement et en mélanges la toxicité aiguë de plusieurs polluants de l'air intérieur à des concentrations considérées nocives par la littérature. Le formaldéhyde, la nicotine, l'acroléine et plusieurs COV ont démontré une toxicité à des concentrations en deçà des valeurs considérées acceptables par les normes gouvernementales lorsque testés avec ces bioessais. Des essais comparatifs démontrent que l'inhibition de la bioluminescence (Microtox®) est significativement plus sensible. L'évaluation toxicologique d'environ 200 combinaisons de huit COV en mélanges à proportion égale (v/v) a démontré qu'il existe des effets synergiques et antagonistes reliés à plusieurs substances d'un même groupe de polluants. Des tests de toxicité sur des éluats de membranes de 0,45  $\mu\text{m}$  ainsi que du contenu de

barboteurs utilisés pour échantillonner 2 m<sup>3</sup> d'air intérieur dans des sites considérés propres et pollués suggèrent que ces bioessais peuvent être des outils économiques et rapides pour évaluer la qualité globale de l'air intérieur pour éventuellement déterminer un indice de salubrité.

## **INTRODUCTION**

Tous les matins à travers le monde, des dizaines de millions de travailleurs entrent dans les tours à bureaux. Dans ces lieux, synonymes de gagne-pain, les conditions peuvent parfois être à l'origine d'un malaise encore mal connu récemment identifié comme le "syndrome des édifices hermétique" ou SEH (sous le nom anglais de "Sick Building Syndrome"). Ce syndrome est caractérisé par une sensation d'inconfort et parfois par le développement de symptômes cliniques désagréables chez plusieurs personnes. Pour qu'un édifice soit considéré "hermétique" ou à problème, des conditions particulières doivent être remplies: 1) au moins 30% des gens travaillant quotidiennement à l'intérieur de l'édifice doivent se plaindre de la qualité de l'air; 2) identification positive de sources de contamination, qu'il soit d'ordre chimique (ex: composés organiques volatiles ou COV), d'ordre physique (ex: humidité relative, température) et/ou d'ordre biologique (foyer de contamination, ex: spores fongiques, mauvaises odeurs); 3) l'état de l'édifice: est-il neuf, rénové ou vieux?, etc. Les causes peuvent être multiples et sont souvent difficiles à cerner.

Les mesures actuelles pour identifier la ou les sources des manifestations de ce syndrome s'appuient sur le dosage chimique et biologique individuel d'un grand nombre de substances polluantes réparties dans différentes catégories. Dans beaucoup de cas d'investigation d'édifices présumément à

problème, ces coûteux dosages révèlent des concentrations dans l'air ne dépassant pas les normes établies. Toutefois, la capacité d'interaction possible entre divers agents polluants pouvant potentiellement causer des effets néfastes accrus sur l'organisme n'est pas détectable par ces dosages.

Dans la récente littérature, les travaux du groupe de Molhave constituent une nouvelle approche qui vise à établir le lien entre divers symptômes retrouvés chez des travailleurs et les effets synergiques possibles des différents polluants de l'air intérieur. Les polluants sont rarement seuls dans l'environnement intérieur et le potentiel d'interactions entre les différentes substances existe (Menzies *et al*, 1993). L'utilisation de bioessais s'avère un outil précieux dans l'étude des inter-relations entre les agents polluants et les cellules car ceux-ci permettent de mesurer les effets toxicologiques globaux.

Le premier but de ce travail consistait donc à comparer la sensibilité et la fiabilité de trois bioessais microbiens pour détecter les principaux polluants seuls et en mélanges présents dans l'air intérieur à des concentrations analogues à ceux retrouvés dans la littérature. Par la suite, en deuxième étape, l'évaluation de mélanges comprenant plusieurs COVs à proportion égale sur le bioessai choisi nous a permis de confirmer les possibilités de synergisme et d'antagonisme



pouvant exister dans ces mélanges. Puis, dans un troisième temps, il était logique d'évaluer l'efficacité d'échantillonnage afin de valider la sensibilité du bioessai. Enfin, une dernière étape devait mettre à l'épreuve le bioessai choisi pour évaluer son potentiel à détecter la biotoxicité des polluants captés à l'aide de deux types d'échantillonneurs comparés à des données physico-chimiques mesurées en parallèle.

Mettre au point une méthode rapide, sensible, simple et peu coûteuse pour évaluer la biotoxicité de l'air intérieur et possiblement définir un indice de salubrité de l'air intérieur constituent donc notre but ultime. Comprendre les interactions entre les divers agents polluants de l'air intérieur pourra nous permettre de mieux cerner les liens causes-à-effets encore mal connus dans le SEH.

**REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

## **1. L'AIR INTÉRIEUR**

### **1.1 Problématique du "syndrome des édifices hermétiques" (SEH)**

Le syndrome des édifices hermétiques (SEH) est caractérisé par l'apparition d'un ou plusieurs malaises ou symptômes parmi les personnes présentes dans un édifice. Les causes seraient principalement reliées à la mauvaise qualité de l'air intérieur.

Le citoyen moyen ne passe pas plus de 0,7 heure par jour à l'extérieur (Samet et al, 1987 et 1988). En fait, un employé type passe environ 90% de son temps quotidien à l'intérieur (chez lui et au travail) et 5% en transit (Berry, 1990). Cette répartition du temps est probablement plus marquée dans les régions froides (Myers, 1989). Goyer et Nguyen (1989) et l'Environmental Protection Agency (EPA) des États-Unis (1991) font ressortir les données de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estimant que 30% des édifices nouvellement construits ou rénovés en Amérique du Nord présentent des signes identifiables au "syndrome des édifices hermétiques", autant que 10 à 30 % des occupants présents dans ces édifices en seraient affectés. Pour le Québec, les pertes de productivité se chiffrent facilement en dizaines de millions de dollars sans oublier en plus les coûts médicaux.

Selon Stolwijk (1991), lorsqu'environ 30% des occupants se plaignent d'inconfort ou de malaises, il est nécessaire de prêter une attention plus particulière aux conditions du bâtiment. La première démarche consiste donc à mesurer les malaises et symptômes chez les personnes par le biais d'un questionnaire dont les données sont soigneusement analysées par des médecins et des épidémiologistes.

Les causes de ces symptômes peuvent être multiples, uniques ou en combinaisons. Les symptômes sont engendrés en majeure partie par les groupes de polluants ou facteurs suivants: fumée de tabac, composés organiques volatiles (ou COV), bioaérosols, facteurs physiques: humidité relative, température, poussières, concentration en CO<sub>2</sub>, etc. Ces conditions peuvent être temporaires, intermittentes ou chroniques. Toujours selon Stolwijk (1991), des facteurs psychologiques tels les relations patrons-employés (stress) et le niveau de satisfaction ou d'insatisfaction face aux conditions de travail peuvent avoir une profonde influence sur la perception de la qualité de l'air et conséquemment sur les réponses des occupants visés.

La qualité de l'air intérieur devient de plus en plus un sujet préoccupant. En Californie, des audiences publiques sont tenues régulièrement et un comité spécial anime une ligne téléphonique pour répondre aux questions de la population

(Macher et Hayward, 1991). En Europe, à cause notamment d'une plus forte densité de population, les autorités et les chercheurs se sont penchés bien avant les Nord-Américains sur l'étude des problèmes causés par la pollution de l'environnement intérieur. Les pays scandinaves sont les pionniers en matière de recherche au niveau de la qualité de l'air intérieur et de ses effets sur la santé des travailleurs.

Lewtas (1989), dans une imposante publication, expose une revue des études récentes effectuées sur la toxicologie des mélanges complexes de la fumée de tabac, d'une grande partie des dérivés de la combustion et des produits et matériaux qui relarguent des sous-produits tels les COV résultant de leurs procédés de fabrication dans l'air intérieur en général (édifices, maisons, etc). Il souligne la complexité et la grande diversité des polluants présents dans l'air intérieur et les différentes approches expérimentales pour les étudier. Parmi les prédominantes: l'exposition de volontaires en chambre de confinement à différents polluants seuls et en mélanges, la dosimétrie qui est la quantité nécessaire pour interagir avec un récepteur biologique quelconque (ex. l'ADN), la recherche de "l'agent responsable" (causative agent) dans un mélange et la difficulté de prédire les effets nocifs engendrés par ces mélanges. Cet auteur est l'un des seuls à se prononcer sur l'interprétation des effets toxicologiques

appliqués au mélange de plusieurs agents à risque pour la santé dans l'air intérieur. Il a utilisé des matrices dans l'élaboration de ses tests et a minutieusement sélectionné les variables et les fractions pour interpréter ses résultats. Selon ceux-ci, l'agent responsable est celui qui engendre l'effet toxicologique attendu dans un mélange. De plus, les bioessais devraient, selon lui, faire partie intégrante de chaque étude sur les effets combinés des polluants en mélange de par leur nature vivante et le peu de connaissances à ce niveau doit inciter les chercheurs à étudier plus ces phénomènes.

Tous les auteurs s'entendent pour situer l'apparition du phénomène appelé SEH au moment de la crise du pétrole, soit au début des années 1970. Dès lors, des mesures de conservation d'énergie ont été appliquées à grande échelle (Moseley, 1990, EPA, 1991, Molhave et Thorsen, 1991, OMS, 1983). La construction des bâtiments de plus en plus hermétiques, une ventilation réduite et une meilleure isolation sont des mesures qui ont contribué à l'apparition et à l'amplification du SEH.

L'utilisation grandissante de matériaux synthétiques, source importante de produits volatiles entre autres, constitue un autre facteur majeur. Le très grand nombre de produits de synthèse pouvant faire partie de la fabrication de

tels matériaux contiennent une multitudes de produits chimiques tels les produits de nettoyage, les peintures, les tapis, les colles, les produits d'isolation, les produits manufacturés fabriqués de matériaux synthétiques (ex. bureaux, chaises), etc. Plusieurs chercheurs s'intéressent à l'étude des émissions potentielles de produits toxiques, comme le formaldéhyde et les COV en particulier, dans l'air intérieur provenant de ces matériaux. Bien des recherches ont porté sur les matériaux de construction (Silberstein et al, 1988, Lundholm et al, 1990) et les produits d'entretien (Sack et al, 1992).

Pour les besoins de nos travaux, nous pouvons dès lors classer les différentes composantes des polluants de l'air intérieur en cinq groupes distincts qui sont les **composés organiques volatiles (ou COV)**, la **fumée de tabac** et ses sous-produits, les **bioaérosols**, les **poussières et particules** (comprenant les métaux lourds et les hydrocarbures aromatiques polycycliques ou **HAP**) et les **gaz et vapeurs**. Leurs effets directs ou indirectes sur la santé sont multiples et plus ou moins bien connus.

## **1.2 Effets sur la santé en général**

Bien que les relations cause-à-effet et les effets réels

sur la santé ne soient pas encore bien établies pour plusieurs substances, il se dégage un consensus général (OMS, 1983, Molhave *et al*, 1986, Kjærgaard *et al*, 1991, Goyer et Nguyen, 1989, Moseley, 1990, Stolwijk, 1991, EPA 1991, Lenvik, 1991) qui attribue une série de malaises et de symptômes au SEH. Parmi les plus fréquents, mentionnons les maux de tête, les atteintes oculaires, les atteintes aux muqueuses respiratoires, la toux, les atteintes cutanées, les serremments de poitrine, les nausées, la fièvre, les malaises musculaires, la difficulté de concentration, les pertes de mémoire.

Des organismes gouvernementaux ou paragouvernementaux tels l'ASHRAE (the American Society of Heating, Refrigerating, and Air-Conditioning Engineers, Inc), l'ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists), l'EPA et, au Québec, le Ministère de la Santé et des Services Sociaux proposent des valeurs guides ou adaptent des standards à respecter en matière de qualité de l'air dans les édifices pour certaines substances et ce dans le but de protéger les personnes en milieu de travail tel qu'en témoigne le Tableau 1.

La littérature est riche et variée en matière d'effets sur la santé. La plupart des produits connus et identifiés retrouvés dans l'air intérieur ont été testés sur des sujets humains. L'exposition au formaldéhyde (Krzyzanowski *et al*,



TABLEAU 1. NORMES ÉTABLIES POUR LES PRINCIPAUX GROUPES DE POLLUANTS LE PLUS SOUVENT RETROUVÉS DANS L'AIR INTÉRIEUR.

SUBSTANCES	NORMES	
	Québec (1979)	ASHRAE (1989)
COMPOSÉS ORGANIQUES VOLATILS (COV)		
Formaldéhyde	3 000	120
Benzène	30 000	40
Toluène	375 000	375 000
n-Butanol	150	-
Éthylbenzène	435 000	-
Acétate de n-butyle	710 000	-
Isopropanol	980 000	-
Phénol	19 000	-
FUMÉE DE TABAC (ETS)		
Nicotine	500	150
Acroléine	250	250
HYDROCARBURE (HAP)		
Xylène	435 000	-
MÉTAUX LOURDS		
Plomb	150	-
Manganèse	5 000	-
BIOAÉROSOLS		
aucune norme. Valeurs guides: moisissures: 300 cfu/m <sup>3</sup> <sup>a</sup>		
bactéries: 1 000 cfu/m <sup>3</sup>		

<sup>a</sup> cfu: colonies formant des unités par m<sup>3</sup> d'air échantillonné.

1990, Triebig *et al*, 1989, Alexandersson *et al*, 1988), les effets irritants des COV, tel le toluène (Bælum *et al*, 1990), le mélange de Molhave (Molhave *et al*, 1986, Kjærgaard *et al*, 1991), la fumée de tabac (Sterling *et al*, 1982 et 1987, Surgeon General et le National Research Council ou NRC, dans deux imposants rapports en 1986, Meek, 1990) font tous partie de cette littérature. Selon Lenvik (1992), il existe même des différences entre les hommes et les femmes dans la fréquence des symptômes rapportés. Cette dernière serait plus élevée chez les femmes, celles-ci étant plus sensibles.

Cependant, chaque groupe de polluants possède ses effets spécifiques sur la santé. Il est plus pertinent de décrire ceux-ci en même temps que chacun de ces groupes en sachant qu'aux concentrations connues, une portion allant de 10 à 20% de la population est sensible aux conditions rencontrées dans le SEH.

## **2. LES GROUPES DE POLLUANTS**

### **2.1 Les composés organiques volatils (COV)**

Les COV sont essentiellement composés d'atomes de carbone, le plus souvent sous la forme de noyaux aromatiques et, qui par leur masse moléculaire relativement faible, se

retrouvent sous forme de gaz à la température de la pièce (20-22°C). Ces composés, qui sont également présents dans les rejets liquides d'origine industrielle, peuvent être adsorbés ou non aux particules inorganiques de l'air qui leur servent de vecteur (Otson et Fellin, 1992).

Depuis la fin des années 1970, un intérêt certain s'est développé envers les COV considérés comme polluants de l'air intérieur (Molhave et al, 1986). En 1984, l'OMS a décidé d'apposer une certaine priorité sur les recherches portant sur les COV, leur sources et les problèmes de santé qu'ils peuvent entraîner. C'est à partir de ce moment que les chercheurs ont fait le lien entre le problème de la qualité de l'air intérieur et la mauvaise ventilation. Rapidement, il fut démontré que les COV émanaient de sources intérieures et non pas exclusivement des polluants venant de l'air extérieur.

Par contre, le "devenir" des COV n'est pas aussi clair. Il existe très peu d'information sur la façon dont ils s'éliminent dans un environnement intérieur autrement que par l'évacuation vers l'extérieur. Les processus de dispersion et de dilution sont les mieux connus mais ceux de leur transformation et de leur adsorption le sont beaucoup moins (Otson et Fellin, 1992). La recirculation de l'air sans l'apport d'une quantité appréciable d'air neuf à l'intérieur d'un édifice donné résulte en une concentration de ces

substances dans l'air intérieur.

Leurs sources ou provenances sont multiples et sont en général les peintures, les adhésifs, les produits de nettoyage, les matériaux de construction, la photocopie à procédé liquide, les procédés de nettoyage à sec, les meubles, le bois traité, l'utilisation de combustibles fossiles, les produits de beauté, la croissance microbienne (bactéries et moisissures), la combustion du tabac et une foule d'autres produits de consommation courante (Otson et Fellin, 1992).

Bons nombres de chercheurs ont mesuré l'émission de COV provenant des matériaux de construction (Silberstein et al, 1988, Lundholm et al, 1990, Tucker, 1991). Ces émissions peuvent être aussi élevées que  $230 \mu\text{g}/\text{m}^2\text{h}$  dans le cas du formaldéhyde émis par des planches de bois pressé et  $1700 \text{mg}/\text{m}^2\text{h}$  de COV totaux dans le cas d'adhésifs à tuiles (Otson et Fellin, 1992).

Dans la littérature, les COV les plus souvent retrouvés dans l'air intérieur à des fréquences et concentrations élevées sont le formaldéhyde (le plus fréquemment mesuré de tous), le toluène, le benzène, l'éthylbenzène, l'acétate de n-butyle, le n-butanol, le phénol et l'isopropanol (Molhave et al, 1986, Lewtas, 1989, Chan et al, 1990, Otson et Fellin, 1992) lesquels furent utilisés dans la présente recherche.

Cependant, leur concentration individuelle respective demeure en général bien en dessous des valeurs guides suggérées par Québec et l'ASHRAE. Malgré cela, bien des édifices possèdent un certain degré d'insatisfaction et d'apparition de symptômes reliés au SEH chez leurs occupants.

Les méthodes d'échantillonnage furent standardisées par l'ASHRAE qui publie un ensemble de méthodes pour évaluer une à une, chaque substance présente dans l'air intérieur. Plus près de nous, l'IRSST (l'Institut de Recherche en Santé et Sécurité au Travail) a également normalisé, pour le Québec, un ensemble de méthodes recommandées (Goyer et Nguyen, 1989).

Molhave (1986) rapporte que, pour le mélange d'une vingtaine de COV, leur quantité olfactivement détectable dans l'air se situe entre 0,2 et 3 mg/m<sup>3</sup>. À plus de 3 mg/m<sup>3</sup>, on ressent de l'inconfort. À plus de 25 mg/m<sup>3</sup>, des effets toxicologiques aigus font leur apparition. Molhave a testé en chambre à confinement contrôlé, à l'aide de sujets volontaires humains soigneusement choisis, les réactions d'inconfort et d'irritation de la peau et des voies respiratoires à différentes concentrations d'un mélange de COV fréquemment rencontrés (mélange de Molhave). Son équipe a également mis au point un modèle d'investigation afin de mieux cerner la présence de COV dans l'air intérieur et véhiculés par les systèmes de ventilation (Molhave et Thorsen, 1991). Ces COV,

que nous avons utilisés dans nos travaux avec les bioessais microbiens, sont énumérés au Tableau 2.

Les effets manifestés surviennent rapidement et sont considérés de nature aiguë. Dans la majorité des cas, les COVs ont des propriétés irritantes et affectent principalement les voies respiratoires supérieures (provoquant des toux ou des bronchites chroniques), les yeux et la peau. Le formaldéhyde est rapporté cancérigène par inhalation chez les rats et l'exposition à des concentrations élevées de COV peut également avoir des effets narcotiques.

Les effets néfastes des COV se concentrent surtout au niveau des poumons. D'ailleurs, la plupart des études publiées portent sur les atteintes nuisibles des fonctions respiratoires qui sont diminuées (Samet et al, 1986 et 1988, Lippmann, 1988, Alexandersson et Hedenstierna, 1988).

## **2.2 La fumée de tabac (Environmental Tobacco Smoke ou ETS)**

La fumée dégagée par la combustion du tabac contient près de 3 800 sous-produits connus extrêmement diversifiés (NRC, 1986). Parmi les mieux connus, citons la nicotine, l'acroléine, des aldéhydes (le formaldéhyde par exemple), des

TABLEAU 2. MÉLANGE DE VINGT COV UTILISÉ PAR LE GROUPE DE MOLHAVE.

SUBSTANCES	PROPORTION (P/P)
n-Hexane	1
n-Nonane	1
n-Décane	1
n-Undécane	0,1
Octane-1	0,01
Décène-1	0,1
Cyclohexane	1
(3)Xylènes	10
Ethylbenzène	1
Triméthyl-1,2,4 benzène	0,1
n-Propylbenzène	0,1
alpha Pinène	1
n-Hexanal	1
Isopropanol	0,1
n-Butanol	1
Butanone-2	0,1
Méthyl-4 pentanone-2	0,1
Acétate de n-butyle	10
Ethoxyéthylacétate	1
Dichloro-1,2 éthane	1

hydrocarbures aromatiques (comme le benzène, le toluène et le phénol), le monoxyde de carbone, les oxydes d'azote, des nitrosamines, diverses particules de toutes tailles et d'autres substances comme l'ammoniaque, les cétones et les nitriles (Sterling *et al*, 1982, Surgeon General et NRC, 1986).

Les méthodes de détection et d'analyse de la fumée de tabac (environmental tobacco smoke - ETS), autant pour sa présence dans l'environnement intérieur que pour ses effets sur la santé, font appel à des méthodologies modernes et bien établies. Les associations américaines d'ingénieurs en ventilation ont essayé, sans grand succès jusqu'à présent, d'élaborer des systèmes efficaces capables d'éliminer ou de retenir les principaux composés de la fumée de tabac et les autres contaminants aéroportés. Ce qui a comme conséquence de concentrer ces polluants dans l'air des édifices dont la construction est de plus en plus hermétique.

C'est le fumeur passif (sidestream smoker) qui subit la plus grande partie de la toxicité des sous-produits de la combustion du tabac par rapport au fumeur actif (mainstream smoker) (Lewtas, 1989). La fumée de tabac dite "passive" est dégagée par la combustion incomplète (température plus basse) d'une cigarette (sous toutes ses formes) lors de la pause entre les inhalation "actives" (mainstream smoke). Cette fumée "passive" est en majeure partie la cause de la présence



de fumée de tabac dans un lieu; la fumée "active" y contribue de façon mineure. Le fumeur passif respire les divers sous-produits de cette combustion incomplète, qu'il n'est pas habitué à inhaler, et qui peuvent engendrer une série d'effets physiologiques néfastes tels l'irritation des yeux, du nez et des parois des voies respiratoires supérieures, l'hypersensibilité, etc. D'autre part, la fumée "passive" contenant des concentrations beaucoup plus élevées de sous-produits tels les amines aromatiques, l'ammoniaque, les oxydes d'azote, contribue à exposer les gens à des potentiels toxiques plus élevés. (Lewtas, 1989).

Il existe une multitude de méthodes pour détecter la présence de fumée de tabac dans l'air intérieur. Généralement, la nicotine, l'acroléine, le formaldéhyde et les particules sont les éléments les plus fréquemment mesurés. La chromatographie à haute performance en phase liquide (HPLC), la chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectre de masse (GC-MS), la spectrophotométrie et les dosages chimiques de toutes sortes font parties des méthodes proposées dans la littérature (Hein et al, 1991). L'exposition à la fumée de tabac peut aussi être mesurée par la détection des dérivés de la nicotine dans le sang et l'urine. Parmi toutes ces méthodes, nous avons choisi la HPLC pour évaluer l'efficacité de nos échantillonnages en utilisant entre autres la nicotine en solution (Parviainen et al, 1990).

### 2.3 Les bioaérosols

Ce n'est tout récemment que les chercheurs ont commencé à s'intéresser aux bioaérosols en tant que polluants de l'air intérieur. En effet, dans la littérature, la plus grande partie des recherches portant sur les mycotoxines par exemple, ont été entreprises dans les milieux agricoles: fermes, silos, poulaillers, car ce sont les endroits les plus propices à la prolifération des microorganismes potentiellement toxigènes. Jusqu'à tout dernièrement, l'intérêt des mycotoxines se limitait aux travaux portant sur l'ingestion d'aliments avariés.

Bien que notre travail expérimental n'a pas contribué à détecter et à tester de façon fructueuse les bioaérosols à l'aide des bioessais microbiens, leur présence dans l'air intérieur soulève de plus en plus d'inquiétudes. En effet, bon nombre de chercheurs (Miller, 1992, Burell, 1991, Creasia et al, 1990) soupçonnent que les microorganismes contribuent de façon importante à la mauvaise qualité de l'air intérieur selon le type de problème associé à un édifice présentant des signes du SEH. Dans cette revue, il est donc essentiel de mentionner leur potentiel toxigène sans quoi ce travail aurait été incomplet.

Les problèmes causés par les bioaérosols proviennent principalement de deux types de microorganismes, soit les bactéries et les champignons. Les virus, les algues, les amibes (tels *Naegleria* spp, *Acanthamoeba* spp.), les parties d'arthropodes, les fragments de peau d'animaux et d'humains (Arlian, 1990) sont d'autres types de contaminants biologiques qui, dans notre climat, sont moins fréquemment rencontrés dans l'air intérieur, mais peuvent eux aussi entraîner différentes réactions désagréables chez l'humain comme les allergies et les infections opportunistes (Karol, 1991).

Les bactéries peuvent être la cause d'infections plus ou moins graves selon les genres et espèces présents dans l'air. On peut occasionnellement retrouver des espèces comme *Bacillus anthracis*, *Coxsiella burnetii* (fièvre Q), *Chlamydia psittici*, *Pseudomonas* spp et autres organismes à Gram négatif pouvant provoquer, par leurs toxines, de fâcheuses réactions allergiques et la redoutable *Legionella* (en particulier *Legionella pneumophila*) qui cause de graves infections par l'envahissement du système pulmonaire. Ces bactéries peuvent provenir de divers milieux comme les excréments d'animaux, les sols, les poussières, l'eau potable (systèmes de climatisation) dans le cas des Légionelles et être disséminées par les systèmes de ventilation défectueux ou mal entretenus (Burrell, 1991).

Une des caractéristiques propres aux bactéries est celle de produire des endotoxines. Celles-ci, formées de lipopolysaccharides (LPS), font partie de la structure même des parois bactériennes chez les microorganismes à Gram négatif et peuvent être disséminés dans l'air à partir de foyers de croissance impliquant de l'eau stagnante contaminée. Un bon exemple serait *L. pneumophila* qui fait l'objet d'une surveillance rigoureuse, surtout aux États-Unis, à cause justement des effets inflammatoires et immuno-modulateurs provoqués par ces toxines couplées à un envahissement rapide des voies respiratoires. Les endotoxines sont relativement thermostables, ubiquitaires et capables d'initier de très fortes réactions inflammatoires à des concentrations extrêmement faibles, et ce dans l'ordre du ng/mL (Burrell, 1991). Le meilleur moyen de défense contre la légionnellose est de la prévenir avec un programme d'entretien sanitaire efficace des systèmes de climatisation.

Parallèlement, les champignons présents dans les édifices sont représentés presque exclusivement par les moisissures. On retrouve celles-ci dans tous les milieux et elles peuvent croître sur une multitude de substrats comme le verre, les hydrocarbures de toutes sortes, les peintures, le caoutchouc, les poussières, les saletés, les textiles, les équipements électriques (Miller, 1992). Plusieurs souches sont pathogènes et elles peuvent croître très facilement dans des endroits où

le taux d'humidité est supérieur à 70-75% et à des températures entre 4 et 60°C.

Dans plusieurs genres de moisissures habituellement rencontrées dans les édifices, il existe des proportions variables d'espèces capables de produire des mycotoxines dans des conditions propices. Initialement, les recherches sur la présence de mycotoxines dans l'environnement ont porté surtout sur les aliments et les céréales. Ce n'est que depuis 7 à 10 ans que les chercheurs de plusieurs pays comme principalement l'Inde (Roy et Chourasia, 1990), l'Égypte (Abdel-Hafez *et al*, 1986), La France (Leitao *et al*, 1988) et les États-Unis (Park *et al*, 1990, Llewellyn *et al*, 1988) s'y intéressent activement.

Les mycotoxines, dont il existe plusieurs types selon les genres fongiques, sont le produit du métabolisme secondaire. Elles vont apparaître surtout lorsque le milieu environnant n'est plus favorable à la croissance ou que certains nutriments essentiels viennent à s'épuiser. Les mycotoxines se retrouvent en grande majorité dans les propagules mycéliennes et les spores pour assurer la compétition vis-à-vis les autres microorganismes présents dans le milieu. De plus, la majorité des moisissures produisent non pas un, mais plusieurs types de mycotoxines capables d'effets synergiques (Miller, 1992). Dans certains cas, l'éthanol produit

simultanément lors de la croissance active permet d'augmenter cette synergie.

Les spores mycéliennes de quelques micromètres sont véhiculées dans l'air. Très résistantes à la dessiccation, elles peuvent survivre un an et même jusqu'à douze ans chez certaines souches d'*Aspergillus* et de *Penicillium*. Par contre, chez *Stachybotrys atra*, bon producteur de trichothécènes, plus de 80% d'entre elles retrouvées dans l'air ne sont déjà plus viables et n'atteindront pas leur but qui est la survie (Miller, 1990). Toutefois, les spores inertes non viables peuvent contenir des mycotoxines. Leur taille varie de 3 à 60  $\mu\text{m}$ , la moyenne étant de 3 à 10  $\mu\text{m}$ . Donc, présentes dans l'air, elles peuvent facilement pénétrer dans les poumons jusqu'au niveau alvéolaire. Lorsque les spores se désagrègent et laissent échapper leur contenu, les mycotoxines potentiellement présentes dans les spores (viables ou non) peuvent affecter l'organisme humain.

Les mycotoxines sont des molécules polycycliques possédant des formes très variables (Steyn, 1980). Il en existe une grande variété, soit pratiquement autant que les microorganismes les synthétisant. Parmi les genres les plus fréquents, on rencontre *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Stachybotrys*, *Alternaria*, *Rhizopus*, *Trichoderma*... Parmi les mycotoxines, on a identifié les

aflatoxines B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> et G<sub>2</sub>, la patuline, la gliotoxine, l'ochratoxine A, la rubratoxine B, la citrinine, l'acide cyclopiazonique, la trichothécine, la deoxynivalénol, la fameuse toxine T-2, etc... qui sont autant d'exemples illustrant leur grande diversité. Les moisissures peuvent produire au moins 800 métabolites toxiques connus. À elles seules, les espèces de *Fusarium* sont capables de synthétiser plus de 80 trichothécènes différentes. (Robb et al, 1990).

L'effet cytotoxique dépend du type et donc de la structure de la mycotoxine. Selon Creasia et al (1990), leur toxicité serait jusqu'à 20 fois plus élevée par inhalation comparativement à l'ingestion. Les mycotoxines provoquent également des irritations au niveau de la peau et des muqueuses.

Dans un édifice, pour que l'air intérieur soit contaminé par des spores et des propagules mycéliennes de façon telle que la santé des individus soit mise à risque, il est préférable de réunir et d'identifier les conditions suivantes:

- L'accumulation de saletés, débris et résidus organiques pouvant servir de nutriments, en plus une accumulation d'eau stagnante dans des matériaux poreux pendant une période de temps suffisamment longue pour permettre la prolifération des microorganismes;

- La présence d'un foyer de contamination visible à

l'oeil nu ou suspectée par la présence d'une quantité appréciable de spores dans l'air intérieur indiquant une activité de sporulation.

- Par la suite, ces spores et propagules doivent être diffusées par un moyen de dispersion et d'aérosolisation leur permettant d'être véhiculées dans l'air, inhalées puis déposées sur les muqueuses et de pénétrer jusqu'aux alvéoles pulmonaires.

Toutefois, dans la majorité des cas pratiques où la présence de mycotoxines est suspectée, il est très difficile d'établir le lien cause-à-effet.

Le mécanisme permettant d'expliquer comment la présence de moisissures en croissance sur les surfaces engendre la production plus ou moins importante de spores et leur mise en suspension dans l'air n'est pas encore bien connu. Pasanen et al (1992) suggèrent que le taux de spores fongiques dans l'air intérieur serait dû à la rapidité à laquelle les moisissures peuvent croître même sur des surfaces partiellement humides pendant un court laps de temps (24-28 heures). Cependant, lors d'investigation d'édifices pour une présence microbienne dans l'air, il faut déterminer les contenus fongiques de l'air extérieur (sources de l'air intérieur) et idéalement avoir un édifice de référence pour comparer adéquatement les résultats obtenus.



Différentes méthodes ont été mises au point pour détecter les endotoxines et les mycotoxines. Cossette et al (1992) ont identifié la présence qualitative de mycotoxines à l'aide de la chromatographie en couche mince (TLC) et de la HPLC sur des échantillons de 25 et 50 g de poussière prélevés sur les surfaces de systèmes de ventilation d'édifices présumément "hermétiques". Ils ont identifié au moins huit mycotoxines connues. La méthode d'identification et de confirmation absolue reste aujourd'hui la GC-MS, avec de bons standards lorsqu'ils sont disponibles (Croft et al, 1986). Par contre, une nouvelle génération de marqueurs utilisant des anticorps monoclonaux, la culture de tissus et des techniques comme l'ELISA et des minicolonnes à base de silice produisant une fluorescence après chauffage pour détecter les toxines biologiques ont récemment fait leur apparition (Robb et al, 1990, Candlish et al, 1990, Gordon et Gordon, 1990). Toutefois, toutes ces méthodes sont encore au stade expérimental. Yates et Porter (1982 et 1984) ont utilisé la méthode Microtox® pour évaluer la biotoxicité de plusieurs mycotoxines.

Parallèlement, l'échantillonnage pose encore un problème lors des dénombrements fongiques viables et totaux dans l'air intérieur. Bien que les méthodes d'échantillonnage appliquées aux substances chimiques soient bien standardisées, il n'en est pas de même pour celles reliées aux microorganismes. Le

Reuter Centrifugal Sampler (RCS), le Andersen Impactor et les capteurs à l'aide de filtres inertes  $\leq 0,8 \mu\text{m}$  semblent les meilleurs sur le marché aujourd'hui (Silas et al, 1986). Il est encore très difficile de reproduire en laboratoire les conditions analogues à celles existant dans l'environnement et qui permettent à certaines espèces de moisissures de produire les mycotoxines voulues.

Selon Miller et al (1992), l'isolement d'une souche de moisissure appartenant à une espèce reconnue toxigène ne donne pas l'assurance que celle-ci soit effectivement productrice dans les conditions spécifiques. Il est donc préférable de rechercher directement les mycotoxines (ou les substances toxiques) dans l'environnement, i.e. dans l'air respiré. C'est par une approche semblable que nous avons entrepris certaines étapes de nos travaux.

#### **2.4 Les poussières et particules**

Dans ce groupe, il existe plusieurs catégories de substances non volatiles se retrouvant sous forme de particules (métaux, fibres inorganiques et organiques) et semi-volatiles (HAP et dérivés). L'air extérieur est une importante source de particules et de poussières qui contribue largement à celles retrouvées dans l'air intérieur. Les

véhicules automobiles, la construction, l'utilisation des carburants fossiles dans les systèmes de chauffage domestiques et industriels sont quelques exemples de sources de substances particulaires polluantes. Dans l'environnement intérieur, les multiples matériaux synthétiques sont les principales sources: tapis, revêtements de mur et plancher, peintures, vêtements, plâtre, etc, qui peuvent également émettre des COV. De plus, les composés de la fumée de tabac y contribuent largement. Les substances volatiles et semi-volatiles comme les COV ainsi émises dans l'air s'adsorbent sur les poussières et fines particules puis agissent à titre de vecteurs (Otson et Fellin, 1992).

Les effets sur la santé autant aigus que chroniques sont multiples et encore mal connus. Les éternuements, les hypersensibilités de toutes sortes, les effets potentiellement cancérigènes de l'amiante (OMS, Groupe de travail, 1991) et ceux du plomb agissant sur les systèmes nerveux et reproducteur (Body et al, 1991) font toujours l'objet de recherches. Ayant une masse supérieure aux autres polluants de l'air, ces particules possèdent un temps de résidence dans l'air relativement court. Par contre, les métaux par exemple, peuvent persister jusqu'à 40 jours dans l'air (Schroeder et al, 1987). Au niveau des alvéoles, les particules plus petites que  $2,5 \mu\text{m}$  peuvent pénétrer dans le sang et leurs conséquences néfastes restent à prouver (Owen et al, 1992). Les métaux

affectent surtout le système nerveux et peuvent entraîner le développement de problèmes moteurs (Beusterien et al, 1991).

L'utilisation à grande échelle des combustibles fossiles contenant des agents anti-cognement comme le plomb, depuis peu remplacé par le manganèse, ne fait qu'augmenter les problèmes associés aux poussières et particules dans l'air, particulièrement avec les métaux. La plupart des métaux connus se retrouvent tôt ou tard dans l'air.

Les HAP, en grande majorité d'origine industrielle et véhiculés par le vent dans la haute atmosphère, peuvent être très présents dans l'environnement intérieur. Le chauffage et la cuisson au gaz ainsi que la combustion du tabac produisent une quantité appréciable de HAP de toutes sortes comme le naphthalène, le phénanthrène, le pyrène, des polymères de l'antracène pour n'en nommer que quelques uns parmi les centaines connus (Chuang et al, 1991).

Autrefois, l'échantillonnage et le dosage de ces poussières et particules posaient problème. Depuis peu, avec l'arrivée de méthodes d'échantillonnage plus performantes comme les membranes inertes (polytétrafluoroéthylène ou PTFE, polyvinyl chloride ou PVC, cellulose) et d'équipements de détection et d'identification sensibles comme la microscopie électronique et la spectroscopie de masse (GC-MS), l'étude de

leur présence en tant que source de polluants dans l'air intérieur s'avère plus précise.

## 2.5 Les gaz et vapeurs

La présence de gaz nocifs dans l'air intérieur des édifices ne se produit que dans de rares occasions. En effet, les gaz comme les oxydes de soufre (SOx) et les oxydes d'azote (NOx) très présents dans l'air extérieur doivent être éliminés le plus efficacement possible de l'air intérieur. Les oxydes de soufre et d'azote se forment dans l'atmosphère par des réactions photochimiques lors de la combustion des matières fossiles. Voitures, camions, industries, maisons et édifices utilisent tous ces combustibles et rejettent des tonnes d'oxydes quotidiennement. Sont aussi rejetés dans l'atmosphère le monoxyde et le dioxyde de carbone (CO et CO<sub>2</sub>) produits par la combustion des hydrocarbures et les activités humaines.

Les effets sur la santé provoqués par ces gaz sont de types aigus et chroniques. À court terme, à concentrations élevées, les oxydes d'azote et de soufre forment des acides en s'associant aux molécules d'eau (pluies acides). Cette propriété oxydante affecte donc les tissus des voies respiratoires, ce qui peut s'avérer très dangereux. À long

terme, ces gaz diminuent considérablement le niveau de défense immunologique des poumons. Entre autre, on observe une diminution de la perméabilité alvéolaire affectant la capacité respiratoire, une diminution du nombre et de l'activité des macrophages alvéolaires, une baisse de la clairance par les cils des parois du système respiratoire ainsi qu'un affaiblissement du système immunitaire en général (Lippmann, 1988, Lewtas, 1989). De plus, le  $\text{SO}_2$  a tendance à se fixer rapidement sur les tissus.

Le CO pour sa part se combine de façon irréversible avec l'hémoglobine formant le carboxyhémoglobine et peut contribuer à l'asphyxie dans des cas extrêmes. Le  $\text{CO}_2$  en trop grande quantité dans un espace intérieur (800 à 1000 ppm) provoque, chez les sujets exposés, des sensations de coups de chaleur et de la somnolence.

Comme nous avons pu le constater, l'analyse de chacun de ces cinq groupes ci-haut décrits font appel à des méthodes strictement physico-chimiques. La vaste majorité des travaux se limite à l'étude de ces substances de façon individuelle. À notre connaissance, seulement quelques méthodes biologiques sont impliquées dans l'évaluation toxicologique de certains polluants, surtout utilisées pour détecter les toxines d'origine biologique. Ainsi, dans la perspective d'analyse et d'évaluation globale de la qualité de l'air, l'étude du

potentiel des bioessais microbiens nous est apparue comme une première démarche menant à la détermination d'un **indice de salubrité de l'air intérieur**.

### 3. LES BIOESSAIS

Les bioessais microbiens font partie d'une nouvelle génération de méthodes d'analyse. Ils offrent la possibilité d'évaluer l'effet toxique relié à un polluant quelconque tout en sachant que celui-ci est effectivement présent dans un échantillon. L'utilisation des bioessais microbiens met en valeur le fait que, même s'il existe de très grandes différences entre les cellules procaryotes et eucaryotes, plusieurs voies métaboliques sont par contre très similaires (ex: cytochromes). Les possibilités de corrélation avec les organismes supérieurs au niveau des effets toxicologiques de divers polluants est un des grands avantages de cette approche par rapport aux dosages chimiques. Un exemple serait l'utilisation du Microtox® comparé aux essais avec des poissons pour les résidus d'usines industrielles de toutes sortes (Firth et Backman, 1990, Munkittrick et al, 1991)

### 3.1 Le Microtox®

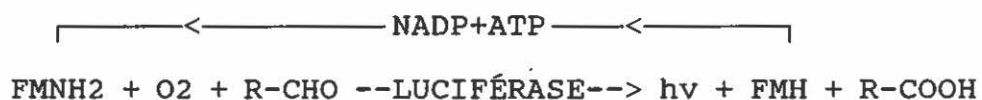
La méthode Microtox® est un bioessai commercialisé par la compagnie américaine Microbics Corp. depuis déjà plusieurs années. Elle est basée sur l'utilisation d'une bactérie luminescente, *Photobacterium phosphoreum*. En 1889, Beijerinck découvrit la présence de bactéries produisant de la lumière à partir des branchies de certains poissons de grands fonds, organismes qu'il nomma à l'époque *Photobacterium luminosum*. Quelques 65 ans plus tard (1955), Spencer établit la classification de ces bactéries dans le genre *Photobacterium* spp. qui regroupe sept espèces. De 1967 à 1969, Serat et al ont entrepris des études sur la toxicité des polluants de l'air ambiant à l'aide de cette bactérie. À notre connaissance, cette équipe fut la seule à initier des travaux sur l'étude de la toxicité de l'air en utilisant directement la bioluminescence de *Photobacterium phosphoreum*. Plus rien ne s'est fait par la suite. Bulich et al (1979) ont développé et étudié une souche sensible aux divers agents polluants d'origine industrielle. La méthode fut normalisée et la souche lyophilisée rendue commercialement disponible. En 1982, Ulitzur et al ont amorcé l'exploitation commerciale de ce test sous le nom de MICROTOX® (Ribo et Kaiser, 1987).

*Photobacterium phosphoreum* est une bactérie marine à Gram négatif, en forme de bâtonnet, communément retrouvée dans



l'environnement marin. Sa température optimale de croissance est 15°C et elle nécessite du sodium pour croître (160-280 mM). Elle émet une lumière de couleur bleue-verte avec un pic à 490 nm. Une réaction catalysée par la luciférase implique l'oxydation luminescente d'une flavine et d'une longue chaîne d'aldéhyde accompagnée de l'émission d'un photon. L'aldéhyde est ensuite recyclé par l'oxygène. L'intensité de l'émission de lumière dépend de plusieurs facteurs dont l'âge de la bactérie, le pH devant se situer entre 5 et 9 et optimalement à 6,5-7,0, la température et la salinité (Ribo et Kaiser, 1987).

La réaction s'illustre comme suit:



Cette méthode est simple, sensible, rapide et depuis peu intégrée à un logiciel de calcul. Les résultats sont exprimés par la EC<sub>50</sub>, "effective concentration", soit la concentration efficace diminuant de 50% la lumière émise par la bactérie durant son exposition à un produit toxique quelconque. Un calcul tient compte à la fois de la baisse de lumière due à la substance testée et à celle attribuable au déclin normal de l'intensité durant la procédure. Une quantité de bactéries

estimée à  $10^6$  bactéries par tube à essai rend ce test statistiquement valable (Ribo et Kaiser, 1987).

Le test présente quelques limitations. L'utilisation de solvants nécessaire à la solubilisation de substances insolubles en milieu aqueux complique les procédures car les bactéries ne peuvent supporter une concentration de méthanol ou de diméthyl sulfoxyde (DMSO) supérieure à 5%. De plus, étant donné que la suspension bactérienne n'est stable que pour quelques heures, il faut donc bien gérer son temps pour effectuer un maximum d'échantillons et réduire les coûts.

C'est un test largement utilisé pour les polluants et effluents liquides d'origine industrielle. Il faut souligner que plusieurs substances polluantes retrouvées dans les rejets liquides sont aussi présentes dans l'air (ex: toluène, formaldéhyde, métaux lourds). La Grande Bretagne a récemment accepté ce test comme preuve admissible en cour pour incriminer des compagnies trop polluantes. Plus près de nous, Environnement Canada utilise depuis plus de 10 ans la méthode Microtox® pour détecter la toxicité des effluents pollués. La société distributrice (Microbics Corp.) a parallèlement mis au point un test en phase solide pour évaluer la toxicité de sédiments, sols, poussières, etc. Cette nouvelle version du bioessai a été comparée et évaluée par Brouwer et al (1990).

Ribo et Kaiser (1987) ont publié un imposant article sur les procédures et applications de la méthode. Les caractéristiques et paramètres de la bactérie ainsi qu'un survol des publications ayant fait des comparaisons avec les autres tests de toxicité déjà existants comme les poissons (alevins), les daphnies, le *Spirillum*, composent la première partie. La deuxième partie propose sous forme d'un long tableau l'ensemble des données existantes jusqu'à ce jour sur les  $EC_{50}$  de quelques 500 produits différents dont plusieurs COV, sous-produits de la fumée de tabac et mycotoxines. Cependant, selon les divers auteurs, il existe de bonnes variations dans les valeurs des  $EC_{50}$  mesurées pour les même substances. Il est important de souligner que d'excellentes corrélations existent entre tous les (présents) tests microbiens et ceux impliquant des poissons et d'autres organismes aquatiques (Greene et al, 1985, Coleman et Qureshi, 1985, Firth et Backman, 1990, Munkittrick et al, 1991). Coleman et Qureshi (1985) proposent une méthode pour interpréter les pourcentages selon une classe et un rang (Tableau 3).

TABLEAU 3. NIVEAUX DE TOXICITÉ DÉTERMINÉS POUR LA MÉTHODE MICROTOX®

Résultat EC <sub>50</sub>	classe	rang
< 25%	toxicité élevée	1
25-50%	toxicité modérée	2
51-75%	toxique	3
> 75%	toxicité légère	4
pas d'effet	non toxique	5

Une autre façon d'exprimer les résultats est l'Unité Toxique (UT) qui représente  $1/EC_{50}$ . L'UT facilite l'interprétation et la compréhension des résultats obtenus.

À l'aide de la méthode Microtox®, Ribo et Rogers (1990) se sont penchés sur la toxicité de mélanges faits à partir de cinq produits chlorophénoliques qu'ils ont agencés deux à deux selon des proportions variables. Ils ont avancé un modèle d'estimation par calcul à l'aide d'une formule et ont testé leur hypothèse expérimentalement. La formule semble se conformer à la réalité mais ne peut s'appliquer qu'à des mélanges à deux produits. Aucun autre auteur ne s'est avancé plus loin dans l'évaluation toxicologique des polluants en mélanges, à notre connaissance, à l'aide de la méthode Microtox® ou tout autre bioessai microbien.

D'utilisation conviviale, le système Microtox® est relativement facile d'apprentissage. Un logiciel de calcul diminue considérablement le temps nécessaire pour les calculs et facilite l'interprétation des données.

### 3.2 Le Toxi-Chromotest

Le Toxi-Chromotest est une version modifiée du SOS Chromotest déjà sur le marché depuis plusieurs années, tous deux fabriqués et distribués par Organics Ltd., Israël. Il est basé sur l'habileté d'un produit toxique à inhiber la synthèse *de novo* de la  $\beta$ -galactosidase induite chez une souche spécialement mutée de *E. coli* OR 85 (Organics Ltd., 1985). La lyophilisation endommage les cellules susceptibles. Lors de la réhydratation, elles possèdent alors une sensibilité accrue aux toxiques attribuable à l'état de leurs membranes. Même les produits toxiques de haut poids moléculaire peuvent pénétrer les cellules (jusqu'à une certaine limite). Il faut 30 minutes à la cellule pour débiter la production de l'enzyme après la réhydratation, laissant donc assez de temps au produit toxique d'agir. L'induction de l'enzyme se fait à l'aide de l'isopropyl  $\beta$ -D-thiogalactopyranoside (IPTG). Le substrat est le bromo-chloro-indoxyl-B-D-galactoside (X-gal) qui, une fois réduit, devient bleu. Ce test peut s'utiliser avec les produits toxiques hydrosolubles et tout au plus

solubilisés par l'addition d'une concentration de solvant organique tel le DMSO à 3%. Les résultats sont exprimés par la  $MIC_{20}$ , "Minimal Inhibitory Concentration", soit la concentration minimale inhibant l'efficacité enzymatique de 20%. La  $MIC_{50}$  peut aussi être estimée afin de constituer une base de comparaison.

Il existe très peu de publications dans la littérature reliées à l'utilisation du Toxi-Chromotest en général. Les concepteurs (Reinhartz et al, 1987) ont publié un texte expliquant et comparant à d'autres tests leurs produits d'analyse. Ils affirment que ce test est plus sensible que le Microtox<sup>R</sup> pour les pesticides, les mycotoxines et les métaux. Ils ont aussi rapporté les résultats de quelques produits exprimés par la  $MIC_{20}$ . Récemment, Kwan et Dutka (1992) ont publié un article proposant une approche combinée des deux tests (Toxi et SOS) appliquée aux sédiments. Le méthanol (n'excédant pas 10%) semble le meilleur solvant pour améliorer la biodisponibilité des polluants présents dans six échantillons de sédiments. La mise au point de bioessais pour détecter la toxicité d'échantillons de sédiments (ou de sol) possède un bon potentiel, car ceux-ci éliminent les manipulations supplémentaires associées à l'extraction des contaminants.

Le test en soi est relativement simple, peu coûteux et ne

requiert pas de matériel très dispendieux. Il utilise des plateaux de 96 puits et s'accomplit dans la même journée. À notre connaissance, aucune recherche n'a été rapportée au sujet de l'application du Toxi-Chromotest aux polluants retrouvés dans l'air.

### **3.3 Le test des déshydrogénases bactériennes**

Ce test a été développé par Liu selon en 1989. L'indicateur de la toxicité, dans ce cas, est l'inhibition de l'activité deshydrogénasique chez une souche de *Bacillus cereus* soumise à l'exposition d'un produit toxique. La résazurine est utilisée comme substrat; un virage du bleu au rose indique la réduction irréversible de celle-ci par les déshydrogénases excrétées dans le milieu par *B. cereus*. Les déshydrogénases sont directement impliquées dans plusieurs processus anaboliques et cataboliques chez les êtres vivants. Leur activité est facilement inhibée par les polluants chimiques. Ce test ne figure presque nulle part dans la littérature et nous donnait donc l'occasion de tester un nouveau bioessai pour sa fiabilité et sa sensibilité. Toutefois, Greene et al (1985) ont utilisé une version antérieure (Liu, 1981) de ce bioessai comme test de comparaison dans leurs travaux. Ils ont comparé le test de Liu en utilisant *E. coli*, la méthode Microtox® et une méthode

qui analyse la réduction de l'oxygène dissous à l'intérieur de boues activées.

L'incubation de la bactérie dans un bouillon nutritif est nécessaire pour démarrer le test. Le lendemain, des procédures simples et des temps d'incubation à l'obscurité font partie de la marche à suivre. Après la dernière incubation, les dilutions d'échantillons sont centrifugées. La couleur des surnageants est confrontée à un témoin sans bactéries et à un autre avec bactéries mais sans produit toxique. La densité optique (D.O.) du témoin sans bactéries étant la valeur nulle et celle du témoin avec bactéries mais sans produit étant la valeur 100%, l'estimation de la  $EC_{50}$  se fait en rapport avec la dilution de la substance toxique et la D.O. que celle-ci affiche.

### **3.4 La qualité de l'air et les bioessais**

La qualité de l'air en milieu de travail devient de plus en plus un sujet préoccupant. Il est encore difficile de cerner avec précision les causes et les effets néfastes des différents polluants retrouvés dans l'air intérieur. Une récente étude de l'OTAN estime qu'aux États-Unis, plus de 10% de la population serait exposée aux contaminants biologiques, plus de 20% au formaldéhyde, plus de 50% au benzène et plus de



75% aux composés de la fumée de tabac (NATO/CCMS Groupe de travail, 1989). Plusieurs auteurs suggèrent des approches pour l'étude des problèmes reliés à une mauvaise qualité de l'air. Tous sont d'accord sur les faits suivants: évaluer le bien fondé des plaintes, trouver le foyer ou la source de contamination et apporter les corrections nécessaires (Besch, 1989, Moseley, 1990, Molhave et Thorsen, 1990).

Dans le but de prévenir ces problèmes, l'ASHRAE (1989) suggère 7,5 L/s/personne d'air neuf comme ventilation standard tandis que Québec (1979) accepte un minimum de 2,5 L/s/personne. Néanmoins, Cone et Shusterman (1991) estiment que la norme de l'ASHRAE s'avère nettement insuffisante et devrait être 10 fois plus élevée, soit 75 L/s/personne, pour éliminer les polluants dans l'air intérieur. De plus, il faut tenir compte qu'une personne respire de 2 à 3 m<sup>3</sup> d'air par période de 8 heures de travail léger.

Il existe des normes et des standards pour les substances individuelles. Toutefois, dans plusieurs cas d'édifices à problèmes, les mesures individuelles de plusieurs substances montrent que les normes étaient respectées alors que les occupants continuaient à se plaindre. Or, les polluants sont rarement seuls et la présence de synergismes et d'antagonismes entre ceux-ci est une possibilité plusieurs fois vérifiée entre autre par les récents travaux de Menzies et al (1993).

Il faut donc s'avancer plus profondément dans l'étude de ces effets combinés, ce qui pourrait apporter des réponses et des remédiations plus satisfaisantes. Dans beaucoup de cas, les polluants organiques comme les hydrocarbures, retrouvés dans l'air intérieur sont identiques à ceux retrouvés dans l'environnement.

Les bioessais microbiens, de leur côté, jouent un rôle de plus en plus important dans le suivi environnemental surtout aquatique car ils ont été prouvés faciles d'utilisation, simples, rapides, économiques et possédant une bonne corrélation face aux bioessais sur des organismes supérieurs tels le plancton et les poissons.

Leur utilisation s'avère très efficace pour l'évaluation des toxicités aiguës et sub-chroniques des effluents liquides, des lixiviats et de tout autre matière toxique en milieu aqueux. Récemment, un des bioessais (le Microtox®) a été développé pour détecter la biotoxicité dans les sédiments, sols contaminés et matières solides quelconques pouvant être toxiques. À notre connaissance, aucune recherche n'a porté sur l'étude de la qualité de l'air en général (ambiant et intérieur) à l'aide de bioessais à l'exception de Serat (1965) qui, à l'époque, n'a pas continué dans cette direction.

**MATÉRIEL ET MÉTHODE**

## 1. LES SUBSTANCES

### 1.1 Préparation des échantillons purs et en mélanges.

En vue de comparer la sensibilité relative des trois bioessais que nous avons choisis, les divers types de substances retenues étaient de pureté élevée et donc de qualité analytique. Celles-ci sont représentées par le formaldéhyde, le toluène, le n-butanol, l'éthylbenzène, le l'acétate de n-butyle, le benzène, l'isopropanol, le phénol, les (3)xylènes, la nicotine, l'acroléine, les solvants organiques ainsi que les autres produits contenus dans le mélange de Molhave (Tableau 2) et tous proviennent des compagnies Mallinckrodt, Anachemia, Sigma et Aldrich selon leurs disponibilités.

Plusieurs de ces produits ne sont que peu ou pas solubles en milieu aqueux. Il a donc fallu augmenter leur biodisponibilité à l'aide de solvants organiques. Notre choix s'est arrêté sur le méthanol (de qualité analytique) car une concentration de 5% ou moins (préalablement testée) n'affecte pas la performance et la sensibilité des bioessais (Ribo et Kaiser, 1987).

Les produits testés individuellement sont préparés le jour même du début des expériences et gardés tout au plus deux

semaines à 4°C dans des contenants hermétiquement fermés avec des bouchons de téflon. Les concentrations initiales sont préparées selon celles retrouvées dans la littérature et qui entraînaient des effets sur les bioessais choisis. La concentration finale de méthanol pour les produits hydrophobes est de 5%. Il s'agissait du toluène, de l'éthylbenzène, du benzène et du mélange de Molhave. Les produits testés seuls nous ont permis d'évaluer le bioessai le plus sensible en estimant la  $EC_{50}$  pour chaque substance ou groupes de substances.

Les produits testés en mélanges étaient préparés extemporanément. Les COV suivants ont été testés en mélanges de deux à huit substances, avec toutes les permutations possibles, sans répétition dans un rapport volumétrique 1:1: le formaldéhyde, le toluène, le n-butanol, l'éthylbenzène, l'acétate de n-butyle, benzène, isopropanol et phénol. De plus, la nicotine et l'acroléine ont été testées séparément et ensemble avec le mélange des huit COV. Près de 200 mélanges différents ont été évalués uniquement à l'aide du Microtox®, considéré comme le plus sensible. Aux concentrations connues (en mmol/L), chaque mélange a été évalué de la façon suivante.

L'addition des  $EC_{50}$  individuelles est tout d'abord calculée à l'aide de la formule I :

$$(I) \frac{\text{subst. A } EC_{50} + \text{subst. B } EC_{50} + \dots}{\text{nombre de substances}} = EC_{50} \text{ du mélange (mmol/L)}$$

Puis, les  $EC_{50}$  mesurées pour chaque mélange sont calculées comme suit (formule II) :

$$(II) \frac{[A \text{ mmol/L}] + [B \text{ mmol/L}] + \dots}{\text{nombre de substances}} \times \%EC_{50} \text{ mesurée} = \text{mmol/L}$$

En comparant, pour un mélange donné, la  $EC_{50}$  mesurée et estimée, nous obtenons le ratio suivant (formule III) :

$$(III) \frac{EC_{50} \text{ mesurée}}{EC_{50} \text{ estimée}} = \text{ratio}$$

Ce ratio permet de situer chaque mélange selon l'effet que celui-ci aurait dû causer au bioessai et l'effet qu'il engendre réellement.

## 2. LES BIOESSAIS

### 2.1 Le Microtox®

Les procédures de manipulation du Microtox® proviennent de la compagnie de fabrication Microbics Corp.(1990). La méthode standard, c'est-à-dire en phase aqueuse, a servi pour évaluer la biotoxicité de tous les échantillons purs et ceux recueillis sur le terrain. Suite aux résultats obtenus lors de l'étude comparative, les produits en mélanges ainsi que les échantillons prélevés sur le terrain n'ont été testés qu'avec le Microtox®.

La pression osmotique de l'échantillon testé sur le Microtox® en phase liquide doit d'abord être équilibrée à une concentration de 2% NaCl avec le MOAS (Microtox Osmotic Adjustment Solution, 22% NaCl). L'échantillon est ensuite dilué par un facteur de deux avec un diluant contenant 2% de NaCl. Dans des cuvettes spécialement conçues, une série de 4 dilutions et un témoin négatif servent de test standard. Des dilutions supplémentaires peuvent être nécessaires si la substance à tester est particulièrement toxique.

Parallèlement, la bactérie *Photobacterium phosphoreum* lyophilisée par le fabricant doit être resuspendue à l'aide d'eau ultra purifiée (Reagent Reconstitution Solution) et

gardée à 4°C au moins 30 minutes avant le début du test. Dans le témoin négatif et chacune des cuvettes contenant 500 µL de la solution saline 2% NaCl, une quantité d'environ 10<sup>6</sup> bactéries est alors pipetée puis incubée à 15°C. Une première lecture de l'émission de lumière est effectuée au début de l'expérience à l'aide du spectrophotomètre spécialement adapté à cette fin (Microbics Corp. Model 500), contrôlé par un micro-ordinateur avec un logiciel de travail et de calcul simultané version 6.3.

Tout au long de ces manipulations, des précautions techniques spéciales doivent être prises pour éviter toute contamination des tubes et du diluant à cause de la grande sensibilité du test.

Les dilutions de l'échantillon de la substance à tester sont ensuite transférés dans les cuvettes contenant les bactéries pré-incubées. Après un temps d'exposition de 5 et de 15 minutes, les mesures d'émission de lumière sont lues automatiquement et compilées par le logiciel. L'ordinateur fait le calcul afin d'estimer la EC<sub>50</sub> et garde en mémoire chaque test effectué.



## 2.2 Le Toxi-Chromotest

Ce bioessai a pour principe d'évaluer l'effet toxicologique d'une substance toxique sur la synthèse *de novo* de l'enzyme  $\beta$ -galactosidase chez une souche sensible d'*E. coli*. La souche d'*E. coli* sensibilisée et les différents réactifs fut obtenus de la société Organics, Ltd, Israël. Des plateaux à 96 puits Nunclon de Nunc furent utilisés pour exécuter le test.

Il s'agit d'abord de diluer par un facteur de deux le ou les produits à tester avec de l'eau bidistillée, en laissant le dernier puits comme témoin négatif. Un volume de 100  $\mu$ L d'une solution contenant l'IPTG, des cofacteurs permettant l'induction de la production de  $\beta$ -galactosidase et la bactérie lyophilisée resuspendue est ensuite introduite dans tous les puits sauf le témoin négatif où seulement l'IPTG et les cofacteurs sont présents. En plus de ce témoin, une solution standard à 4  $\mu$ g/mL de  $\text{HgCl}_2$  sert de contrôle positif. Le dernier puits sert de contrôle pour évaluer la toxicité du diluant ou du solvant utilisé lorsque les produits ne sont pas solubles dans l'eau. Pour le méthanol, dans ce cas-ci, une concentration de 3% ne peut être excédée. Les échantillons furent éprouvés en duplicata durant la même procédure et trois fois pour chaque substance.

Une première incubation de 90 minutes à 37°C est nécessaire pour amorcer la production de l'enzyme. Un volume de 100 µL d'une solution de X-gal (incolore) est ensuite ajouté et une seconde incubation de 90 minutes permet à l'enzyme nouvellement synthétisé d'agir sur le substrat. Lorsqu'il y a réduction du substrat, il se produit un virage au bleu. S'il n'y a pas apparition de couleur, cela indique l'absence de toxicité. Une observation à l'oeil nu peut déceler diverses teintes de bleus, cependant à cause de la gamme de couleur d'intensité variable, ces teintes peuvent être mesurées plus précisément à l'aide d'un lecteur de puits. Un modèle Titertek® Multiscan type 310c à 600 nm a servi d'instrument de mesure pour cette occasion.

L'inhibition de la synthèse de l'enzyme se quantifie selon la formule suivante:

$$\% \text{ toxicité} = \left[ \frac{1 - (\text{DO bact. avec toxique})}{\text{DO bact. contrôle}} \right] \times 100.$$

La MIC<sub>20</sub> ou la MIC<sub>50</sub> peut alors être estimée.

### 2.3 Le test des déshydrogénases bactériennes

Pour ce bioessai, une adaptation de la procédure décrite par Liu (1989) fut utilisée. La souche de *Bacillus cereus* provient du Laboratoire de Santé Publique du Québec. Les produits et milieux furent obtenus chez les compagnies Anachemia et BDH. Le milieu tampon à pH 7,0 pour les épreuves se composait de 1,64 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 2,65 g de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ , 2,0 g de glucose et 2,0 g d'acétate de sodium dans un litre d'eau Milli-Q. Le milieu de culture, pour un litre, contient tous ces produits en même quantité plus 2,0 g d'extrait de levure. La résazurine provient de BDH sous forme de comprimés (5 mg) et diluée dans 100 mL d'un tampon phosphate. Les temps de préincubation et d'incubation de 15 minutes chacun s'est avéré insuffisant; une période de 45 minutes a suffi pour les deux.

Les échantillons sont placés dans des tubes à centrifuger et habituellement quatre ou cinq dilutions (ou plus si nécessaire) par un facteur de deux permettent d'évaluer plus précisément la  $\text{EC}_{50}$ . En même temps, un contrôle du réactif (résazurine), un contrôle positif des cellules (cellules + résazurine), un contrôle du solvant testé comme un échantillon et les échantillons sont mesurés. Les échantillons sont pré-incubés 45 minutes avant l'ajout de la résazurine, après quoi l'incubation se poursuit pendant 45 minutes à l'obscurité. Un volume de 100  $\mu\text{L}$  de  $\text{HgCl}_2$  est rapidement ajouté dans chaque

tube pour arrêter la réaction. Tous les tubes sont alors centrifugés à 3450 g pendant 15 minutes et la lecture du surnageant est faite à 601 nm sur un spectrophotomètre Spectronic "1001 plus" de Milton Roy.

La formule suivante permet d'évaluer le pourcentage d'inhibition des déshydrogénases:

$$PI = \left[ \frac{(A - B) - (A - C)}{(A - B)} \right] \times 100$$

où PI: pourcentage d'inhibition  
A: DO du contrôle du réactif (résazurine)  
B: DO du contrôle positif avec cellules  
C: DO de l'échantillon testé

À l'aide d'une courbe étalon, le pourcentage d'inhibition en fonction des concentrations de l'échantillon permet de calculer la EC<sub>50</sub>.

### 3. TRAVAUX SUR LE TERRAIN

#### 3.1 Échantillonnage sur le terrain (membrane et barboteur) et évaluation de la biotoxicité des échantillons.

Deux méthodes d'échantillonnage de l'air ambiant furent utilisées lors de notre étude dans les édifices afin de maximiser nos chances de capter le plus d'éléments possibles. Le choix des édifices s'est fait avec l'accord de la Société Immobilière du Québec qui gère plus de 5000 édifices à travers la province. Une trentaine de ces édifices ont fait l'objet d'une étude de la qualité de l'air par la firme d'ingénieurs-conseils "ADN Inc". de Montréal. Cette étude exhaustive a porté sur les paramètres physico-chimiques de l'air intérieur. La firme nous a gracieusement accordé son aide durant cette étude qui s'est déroulée de décembre 1991 à mars 1992. Nos échantillons ont donc été pris en même temps et aux mêmes endroits que les leurs de façon à pouvoir utiliser leurs résultats sur la caractérisation physico-chimique.

L'utilisation d'une cassette (monitor) avec membrane filtrante et d'un barboteur comme méthodes d'échantillonnage s'explique par le besoin de minimiser au maximum les manipulations supplémentaires qu'exigent les dosage chimiques. Il est préférable d'utiliser ces deux types d'échantillonnage

car seulement une étape d'extraction est nécessaire dans le cas du filtre et aucune n'est effectuée dans les cas du barboteur, le contenu de ce dernier étant testé tel quel.

Une cassette Millipore 37 mm contenant un filtre en PTFE (polytétrafluoroéthylène) 0,45  $\mu\text{m}$  de Gelman préalablement pesé représente notre premier type de capteur. À l'aide d'une pompe à grand débit SKC MCS30, des volumes de 1 à 2  $\text{m}^3$  d'air intérieur sont aspirés à travers ces cassettes à un débit moyen de 14 L/min. Les échantillons sont gardés à 4°C jusqu'au moment de les tester. La membrane est ensuite repesée puis éluée par 2 mL de méthanol 100% (réactif de qualité analytique par Mallinckrodt) dans un tube en verre scellé avec un bouchon de Téflon pour extraire le maximum de composés organiques potentiellement présents sous forme de particules. Le tube est agité au vortex pendant 5 minutes à 20°C. Les éluats sont testés par la méthode Microtox® après les dilutions à la concentration de méthanol-eau 1:20 en utilisant de l'eau bidistillée Milli-Q.

La seconde méthode d'échantillonnage de l'air ambiant utilise un barboteur (Midget Impinger w/frit de SKC). Un volume de 15 mL d'une solution méthanol-eau 1:20 est introduit dans le barboteur, puis traversé par 1 à 2  $\text{m}^3$  d'air aspiré au débit de 7,5 L/min à l'aide d'une pompe SKC modèle MCS30. Idéalement, tout ce qui est présent dans l'air ambiant est

capté, incluant les gaz solubles. La toxicité de cette solution de barbotage, conservée à 4°C, est ensuite évaluée telle quelle par la méthode Microtox®.

Le débit est calibré avant et après l'échantillonnage à l'aide d'un débitmètre Gilmont Instruments n°14. Chaque échantillon fut testé en triplicata.

### **3.2 Méthodes d'analyses physico-chimiques.**

Toutes les analyses chimiques ont été effectuées en collaboration avec le laboratoire environnemental de l'École de Santé au Travail de l'Université McGill.

#### **3.2.1 Les poussières**

Aux sites retenus, les poussières présentes dans l'air ont été collectées sur des membranes filtrantes en PVC prépesées à l'aide de pompes SKC à grand débit (2,5 L/min en moyenne). Ces membranes ont par la suite été pesées en laboratoire par la méthode de gravimétrie pour connaître les quantités prélevées. Les résultats sont exprimés en  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  selon la quantité d'air filtrée à travers ces membranes.

### 3.2.2 Les composés organiques volatiles totaux (COV totaux)

Les COV ont été recueillis à l'aide de tubes contenant du charbon activé reliés à des pompes SKC à bas débit (0,5 L/min. en moyenne). Leur contenu en COV a été élué du charbon activé à l'aide de 0,7 mL de sulfure de carbone (CS<sub>2</sub>) puis analysé par chromatographie en phase gazeuse et comparé à un standard.

### 3.2.3 Le formaldéhyde

Le formaldéhyde a été mesuré par un dosimètre passif. Durant un période de 24 heures, un tube contenant 1% d'une solution de bisulfite de sodium est disposé dans un endroit stratégique, avec un bouchon à orificé muni d'une membrane de téflon laissant seulement pénétrer les gaz. Par la suite, au laboratoire, on ajoute à la solution quelques millilitres d'acide sulfurique concentré puis de l'acide chromotropique, le dioxy-1,8 naphthalène disulfonique-3,6 (Granderye, 1962) pour obtenir une concentration finale de 1% dans la solution. Ce mélange produit un virage coloré par réaction avec le formaldéhyde et est analysé à l'aide d'un spectrophotomètre à 580 nm selon la méthode certifiée NIOSH 3500.



#### 3.2.4 Le plomb

L'analyse du plomb dans l'air a été effectuée par la méthode NIOSH no 173. Des filtres en PVC pré-pesés reliés à des pompes SKC à grand débit (2,5 L/min en moyenne) ont servi à échantillonner l'air dans les endroits où le plomb était susceptible de se trouver à des concentrations élevées. Les filtres sont élués puis analysés par absorption atomique.

#### 3.2.5 La nicotine

Des tubes adsorbants au charbon activé XAD-2 reliés à des pompes ayant un débit moyen de 0,5 L/min pour une période de trois journées consécutives de huit heures ont servi à capter la nicotine. La nicotine est ensuite éluee à l'aide de 0,7 mL de CS<sub>2</sub> et analysée par chromatographie en phase gazeuse parallèlement à un standard connu.

### **3.3 Évaluation de l'efficacité de l'échantillonnage à l'aide de la HPLC**

Le rendement des méthodes d'échantillonnage ainsi que leur reproductibilité ont été vérifiées de façon quantitative. Cette vérification s'avérait une étape logique et

indispensable afin de démontrer le niveau de représentativité des échantillons récoltés sur le terrain et la présence de polluants soupçonnés pouvant être captés en quantité suffisante. Cette étape devait permettre la quantification des polluants captés par les deux types d'échantillonnage utilisés dans notre étude.

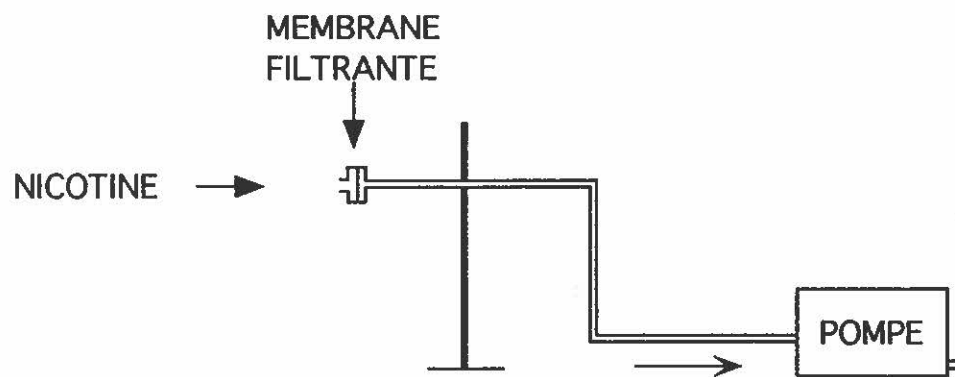
### 3.3.1 Membrane 0,45 $\mu\text{m}$

Une quantité connue (10  $\mu\text{g}$ ) de nicotine est déposée sur une membrane de PTFE 0,45  $\mu\text{m}$  (cassette Millipore 37 mm et membrane Gelman) préalablement pesée. L'air (du laboratoire sans fumeur) est ensuite aspiré à travers celle-ci pendant un laps de temps et un débit équivalents à ce qui est pratiqué lors de l'échantillonnage de 2 m<sup>3</sup> d'air (Figure 1). Le filtre est repesé puis élué avec 2 mL de méthanol 100% (de qualité analytique). L'expérience est répétée trois fois.

Par la suite, un dosage est effectué à l'aide d'un HPLC de Waters modèle 650 muni d'un détecteur Waters modèle 481 (Lambda-max) et d'une colonne MicroBondapack C18, Radialpack. La méthode suivie s'inspire de celle décrite par Parviainen et al (1990) pour le dosage de la nicotine et ses métabolites en milieu aqueux. La phase mobile acétonitrile:eau (2,5 : 97,5 v/v) avec 0,01% d'acide tri-fluorique (TFA) a suffit pour

FIGURE 1. SCHÉMA DU MONTAGE UTILISÉ POUR L'ÉVALUATION DE  
L'EFFICACITÉ DE RÉCUPÉRATION SUR MEMBRANE  
FILTRANTE 0,45  $\mu\text{m}$  EN PTFE.

## SYSTEME MILLIPORE



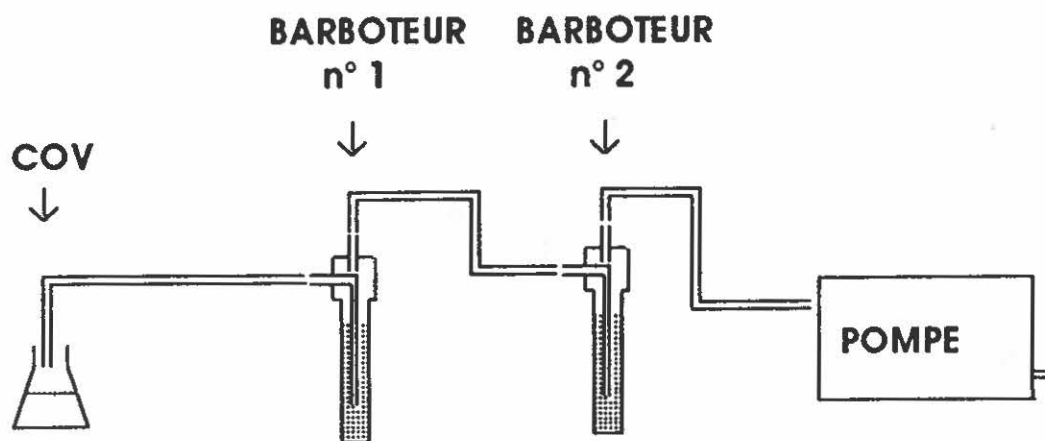
doser la nicotine éluée. Le débit est 1,5 mL/min et la détection se fait à 256 nm. Le taux de récupération est évalué en comparant le poids de la membrane avant et après y avoir déposé la nicotine et la concentration mesurée par le HPLC après élution.

Enfin, avec une solution témoin de nicotine dans un mélange eau-méthanol, 20:1, l'éluat est testé par la méthode Microtox® pour confirmer sa biotoxicité par rapport à des concentrations connues.

### 3.3.2 Barboteur

Trois COV, soit le toluène, le benzène et l'éthylbenzène, ont servi à évaluer l'efficacité d'échantillonnage du barboteur. Un mélange des trois VOC est aspiré dans un circuit fermé passant à travers deux barboteurs en série contenant une solution eau-méthanol (20:1 v/v) à un débit de 7,5 L/min selon le schéma illustré à la Figure 2. L'utilisation de deux barboteurs montés en série a pour but de déterminer la saturation des trois COV dans la solution d'échantillonnage. Toujours en triplicata, les contenus des deux barboteurs sont dosés en utilisant la même colonne (MicroBondapack C18), à un débit de 2,0 mL/min dans une phase mobile acétonitrile:eau

FIGURE 2. SCHÉMA DU MONTAGE UTILISÉ POUR L'ÉVALUATION DE  
L'EFFICACITÉ DE L'ÉCHANTILLONNAGE PAR BARBOTAGE.



(60:40 v/v), contenant 0,1% d'acide acétique. La détection se fait également à 256 nm. La concentration maximale de chacun des trois COV pouvant être dissous dans la solution méthanol-eau est directement évaluée selon les données obtenues et comparées à une courbe standard.

Les échantillons sont finalement testés tels quels par la méthode Microtox®.



## RÉSULTATS

## 1. EC<sub>50</sub> DES PRODUITS PURS AVEC LES TROIS BIOESSAIS

Les résultats de l'étude comparative des trois bioessais à l'aide de plusieurs substances sont résumés au Tableau 4. Les valeurs des EC<sub>50</sub> expérimentales obtenues pour huit COV ainsi que celles du mélange de substances organiques de Molhave y sont résumées. La nicotine et l'acroléine font aussi partie de ces résultats. Le Microtox® démontre nettement une plus grande sensibilité et une plus grande précision par rapport aux deux autres bioessais. Pour tous les produits testés, il est le plus sensible à l'exception du formaldéhyde, où le Toxi-Chromotest montre une plus grande sensibilité car il réagit à de plus faibles concentrations. La méthode Microtox® s'avère particulièrement sensible pour l'éthylbenzène, le mélange de Molhave et l'acroléine; la détection de toxicité à de faibles concentrations pour ces substances se situe en dessous de 10 µg/mL. La toxicité de la nicotine se mesure de façon beaucoup plus précise avec la méthode Microtox®.

Pour certains produits, un problème de biodisponibilité ne nous a pas permis d'évaluer la EC<sub>50</sub> avec deux bioessais. Ainsi, le toluène, l'éthylbenzène, l'acétate de n-butyle et le mélange de Molhave n'ont pu être testés avec le Toxi-Chromotest et le test des déshydrogénases aux concentrations supérieures à celles indiquées dans le Tableau 4 car la

TABLEAU 4. RÉSULTATS COMPARATIFS DE LA SENSIBILITÉ DES BIOESSAIS MICROBIENS.

SUBSTANCES	MICROTOX®	TOXI- CHROMOTEST	DÉSHYDRO- GÉNASES	NORMES QUÉBEC
FORMALDÉHYDE	10 <sup>a</sup>	6 <sup>b</sup>	30 <sup>a</sup>	3 000 <sup>c</sup>
BENZÈNE	38	45	900	30 000
TOLUÈNE	20	>450	>450	375 000
n-BUTANOL	2 000	5 400	14 000	150 000
ÉTHYLBENZÈNE	4	>200	>200	435 000
ACÉTATE N-BUTYLE	77	>4 500	>4 500	710 000
ISOPROPANOL	23 000	40 000	40 000	980 000
PHÉNOL	30	300	10 000	19 000
MÉLANGE DE MOLHAVE <sup>d</sup>	9	>3 000	>3 000	-
NICOTINE	120	1 250	8 000	500
ACROLÉINE	0,2	2	2	250

">" signifie la concentration maximum pouvant être testée à cause de la limite de solubilisation.

a EC50 exprimée en µg/mL

b MIC50 exprimée en µg/mL

c concentration en µg/m<sup>3</sup> d'air

d le mélange de Molhave contient: n-hexane, n-nonane, n-décane, n-undécane, octane-1, décène-1, cyclohexane, (3)xylènes, éthylbenzène, triméthyl-1,2,4 benzène, n-propylbenzène, alpha-pinène, n-hexanal, isopropanol, n-butanol, butanone-2, méthyl-4 pentanone-2, acétate de n-butyle, éthoxyéthylacétate et dichloro-1,2 éthane.

Pourcentage d'erreur: < 5%.

solubilité de ces produits en milieu aqueux, même avec 5% de méthanol, se limitait à ces concentrations. Malgré cela, les trois bioessais choisis peuvent en général détecter des concentrations en dessous des seuils utilisés comme normes par la réglementation du Québec pour tous les produits testés, en postulant que la quantité de substances présentes dans 1 m<sup>3</sup> d'air soit contenue dans 1 mL de solution aqueuse.

Le bioessai le plus sensible est le Microtox®. Dans la suite de nos travaux, toutes les mesures de biotoxicité ont été exécutées uniquement à l'aide de ce bioessai. Suite à ces mesures effectuées en laboratoire avec des mélanges expérimentaux, des échantillonnages d'air intérieur et des dosages de toxicité ont été planifiés.

## **2. EFFETS SYNERGIQUES ET ANTAGONISTES DES POLLUANTS EN MÉLANGES**

Près de 200 mélanges ont été testés. Les EC<sub>50</sub> (mmol/L) estimées et mesurées sont alors comparées au moyen de l'équation III. Lorsque le ratio est  $< 0,80$  ou  $> 1,20$ , la toxicité mesurée d'un mélange donné s'avère significativement différente de celle estimée. Si le ratio est  $> 1,20$ , il s'agit d'une forme d'antagonisme; par contre, si ce ratio est  $< 0,80$ ,

une forme de synergie se manifeste dans la toxicité du mélange. Les tableaux 5.1 à 5.5 énumèrent les 125 mélanges dont les résultats possèdent un ratio inférieur à 2,00. Ces tableaux, ainsi que les suivants, sont placés à la fin de cette section.

Par la suite, la fréquence de chaque substance présente de façon individuelle dans chaque mélange (Tableau 6) expose des traits intéressants. Le toluène, le butanol et l'éthylbenzène sont plus souvent présents dans les mélanges affichant une synergie (ratio  $<0,80$ ). L'isopropanol apporte toujours une toxicité antagoniste dans un mélange (ratio  $>1,20$ ).

Le Tableau 7 représente un bilan des mélanges caractérisés par des toxicités montrant des valeurs de synergie et d'antagonisme.

Pour les mélanges binaires, 15 mélanges sur 28 ont montré une différence significative dans leur toxicité. Parmi eux, cinq se sont avérés moins toxiques et 11 (39%) ont démontré une toxicité plus élevée. Ici, l'éthylbenzène et le phénol se retrouvent plus souvent dans les mélanges à caractère synergique.

De toutes les catégories de mélanges testés, celles à

trois substances possèdent le plus haut taux de combinaisons montrant une toxicité accrue. En effet, 21 mélanges sur 40 (soit 53%) montrent une plus grande toxicité par rapport à 4/40 pour les mélanges moins toxiques. L'isopropanol est encore ici prédominant dans les mélanges à plus faible toxicité tandis que le butanol et le toluène se voient plus souvent dans les mélanges montrant une toxicité accrue.

Les mélanges à quatre substances sont représentés par 35 combinaisons différentes. Parmi elles, 15 (43%) sont plus toxiques ( $<0,80$ ) et 7 le sont moins ( $>1,20$ ). Le formaldéhyde, le toluène, le butanol et l'éthylbenzène sont, le plus souvent, retrouvés dans les mélanges à toxicité accrue. Le phénol est ici parmi les mélanges moins toxiques.

Enfin, seulement 2 des 12 mélanges à cinq substances (17%) présentent un effet toxique accrue contre 4/12 pour une toxicité plus faible. Le benzène et le butanol sont parmi les substances les plus présentes dans les mélanges à faible toxicité. L'isopropanol apporte toujours un ratio supérieur à 2,00 dans ces mélanges et peut donc être considéré comme le responsable des effets antagonistes.

### 3. ÉCHANTILLONNAGES D'AIR INTÉRIEUR VS DONNÉES PHYSICO-CHIMIQUES

Huit édifices localisés dans différentes régions urbaines au sud-ouest du Québec ont servi de sites de prélèvement. Plus d'une trentaine d'échantillons ont été récoltés sur membrane PTFE 0,45  $\mu\text{m}$  ainsi que 10 échantillons à l'aide de barboteurs.

Les paramètres chimiques ne sont pas identiques pour tous les échantillons. Les poussières, le formaldéhyde et les COV totaux sont les paramètres qui ont été analysés dans la majorité des cas pour la comparaison entre les données physico-chimiques et la détection de la biotoxicité. Par contre, la nicotine et le plomb ont été dosés que dans certains échantillons à des endroits stratégiques.

Parmi les échantillons d'air intérieur, cinq sites ont montré un certain niveau de toxicité à l'aide du Microtox®: quatre échantillons prélevés par filtration sur membrane et un par barboteur présentés au Tableau 8. À la comparaison des niveaux de toxicité avec les données physico-chimiques mesurées simultanément et aux même endroits, on constate que la plus forte toxicité détectée correspond à un site localisé dans une salle de tir pour lequel la caractérisation chimique révèle, en plus des COV totaux élevés, une concentration de

plomb s'approchant de la norme tolérée ( $150 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ). Par contre, d'autres sites montrant des concentrations élevées en COV totaux (ex:  $5185$  et  $9463 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) n'ont pas permis de détection de biotoxicité par la méthode Microtox®.

#### **4. ÉVALUATION DE L'EFFICACITÉ DE L'ÉCHANTILLONNAGE**

##### **4.1 Membrane $0,45 \mu\text{m}$**

La nicotine dosée par HPLC indique un taux de récupération se situant entre 50 et 65%.

##### **4.2 Barboteur**

Toujours à l'aide du HPLC, il nous a été possible de déterminer la quantité maximale pouvant être dissoute dans une solution de méthanol 5%. Le système en série présenté plus haut a permis de démontrer que cette solution possédait un certain niveau de saturation face à trois COV. Le benzène peut se retrouver à  $300 \mu\text{g}/\text{mL}$ , le toluène à  $125 \mu\text{g}/\text{mL}$  et l'éthylbenzène à  $115 \mu\text{g}/\text{mL}$ .

Si le seuil de concentration de la nicotine doit être



plus grand ou égal à  $120 \mu\text{g/mL}$  pour avoir un effet toxique détectable par la méthode Microtox®, compte tenu des dilutions nécessaires lors de l'éluion, il doit y avoir théoriquement un minimum de  $4800 \mu\text{g}$  de nicotine capté sur le filtre en PTFE. Par contre, à l'aide d'un barboteur, la quantité initiale présente dans l'échantillon peut être testée intégralement, c'est-à-dire qu'une concentration égale ou plus grande que  $120 \mu\text{g/mL}$  dans la solution d'échantillonnage peut être détectée au moyen de ce même bioessai. Comme exemple concret, signalons qu'une cigarette contient en moyenne  $4,0 \text{ mg/g}$  de nicotine et pèse généralement  $2 \text{ g}$  (NRC, 1986). À elle seule, une cigarette va donc émettre dans l'air  $8000 \mu\text{g}$  de nicotine. Il faut toutefois se rappeler que les polluants sont rarement seuls. Les substances en mélanges peuvent donc contribuer à abaisser ce seuil de détection lorsque le captage est effectué soit à l'aide de filtres, soit à l'aide du barboteur.

TABLEAU 5.1: COMPARAISON DES VALEURS ESTIMÉES ET  
EXPÉRIMENTALES POUR LES MÉLANGES BINAIRES.

SUBSTANCES	ESTIMÉ	EXPÉRIMENTAL	RATIO (EXP/EST)
FO BE	0,33 <sup>a</sup>	0,30	0,91
FO TO	0,25	0,19	0,76
FO BU	19,19	18,48	0,96
FO EB	0,19	0,13	0,69
FO BA	0,41	0,47	1,15
FO IS	183,34	227,80	1,24
FO PH	0,33	0,25	0,77
BE TO	0,21	0,28	1,30
BE BU	19,18	16,41	0,86
BE EB	0,21	0,13	0,60
BE BA	0,45	0,37	0,82
BE IS	177,38	209,48	1,18
BE PH	0,32	0,31	0,97
TO BU	19,02	8,97	0,47
TO EB	0,05	0,04	0,80
TO BA	0,29	0,25	0,86
TO IS	177,22	198,68	1,12
TO PH	0,16	0,12	0,75
BU EB	19,00	8,75	0,46
BU BA	19,23	21,45	1,12
BU IS	196,16	304,17	1,55
BU PH	19,10	16,74	0,87

(SUITE)

SUBSTANCES	ESTIMÉ	EXPÉRIMENTAL	RATIO (EXP/EST)
EB BA	0,26	0,19	0,73
EB IS	177,19	175,05	0,99
EB PH	0,13	0,06	0,46
BA IS	177,43	251,92	1,42
BA PH	0,36	0,25	0,69
IS PH	177,30	221,70	1,25

FO: Formaldéhyde  
 TO: Toluène  
 BU: Butanol  
 EB: Éthylbenzène

BA: Acétate de n-butyle  
 BE: Benzène  
 IS: Isopropanol  
 PH: Phénol

<sup>a</sup> mmol/L

TABLEAU 5.2: COMPARAISON DES VALEURS ESTIMÉES ET  
EXPÉRIMENTALES POUR LES MÉLANGES TERNAIRES.

SUBSTANCES	ESTIMÉ	EXPÉRIMENTAL	RATIO (EXP/EST)
FO BE TO	0,23 <sup>a</sup>	0,17	0,76
FO BE BU	12,93	7,27	0,56
FO BE EB	0,28	0,18	0,64
FO BE BA	0,44	0,31	0,70
FO BE IS	118,39	130,99	1,11
FO BE PH	0,35	0,31	0,88
FO TO BU	12,82	7,87	0,61
FO TO EB	0,17	0,11	0,65
FO TO BA	0,33	0,23	0,69
FO TO IS	118,29	120,52	1,02
FO TO PH	0,24	0,18	0,75
FO BU EB	12,80	7,57	0,59
FO BU BA	12,96	12,80	0,99
FO BU PH	12,87	10,06	0,78
FO EB BA	0,28	0,28	1,00
FO EB PH	0,22	0,15	0,68
FO BA IS	118,42	145,58	1,23
FO BA PH	0,38	0,32	0,84
FO IS PH	118,34	185,49	1,57
BE TO BU	12,82	7,13	0,56
BE TO EB	0,17	0,19	1,12
BE TO BA	0,32	0,39	1,22

(SUITE)

SUBSTANCES	ESTIMÉ	EXPÉRIMENTAL	RATIO (EXP/EST)
BE TO PH	0,24	0,23	0,96
BE BU EB	12,79	6,67	0,52
BE BU BA	12,95	9,60	0,74
BE BU PH	12,87	9,55	0,74
BE EB BA	0,29	0,39	1,34
BE EB PH	0,22	0,19	0,86
BE BA PH	0,38	0,36	0,96
TO BU EB	12,69	5,48	0,43
TO BU BA	12,85	8,57	0,67
TO BU PH	7,75	8,89	1,14
TO EB BA	0,20	0,15	0,75
TO EB PH	0,11	0,11	1,00
TO BA PH	0,27	0,17	0,63
TO IS PH	122,21	193,78	1,59
BU EB BA	12,83	8,03	0,63
BU EB PH	12,74	7,36	0,58
BU BA PH	12,90	10,94	0,85
EB BA PH	0,24	0,21	0,88

FO: Formaldéhyde  
 TO: Toluène  
 BU: Butanol  
 EB: Éthylbenzène

BA: Acétate de n-butyle  
 BE: Benzène  
 IS: Isopropanol  
 PH: Phénol

<sup>a</sup> mmol/L

TABLEAU 5.3: COMPARAISON DES VALEURS ESTIMÉES ET  
EXPÉRIMENTALES POUR LES MÉLANGES À QUATRE  
SUBSTANCES.

SUBSTANCES	ESTIMÉ	EXPÉRIMENTAL	RATIO (EXP/EST)
FO BE TO BU	9,72 <sup>a</sup>	6,48	0,67
FO BE TO EB	0,19	0,22	1,16
FO BE TO BA	0,35	0,23	0,67
FO BE TO PH	0,23	0,28	1,22
FO BE BU EB	9,70	5,67	0,58
FO BE BU BA	9,82	8,24	0,84
FO BE BU PH	9,75	8,99	0,92
FO BE EB BA	0,29	0,25	0,86
FO BE EB PH	0,21	0,23	1,10
FO BE BA PH	0,39	0,30	0,77
FO TO BU EB	9,62	4,40	0,46
FO TO BU BA	9,74	6,40	0,66
FO TO BU PH	9,67	6,07	0,63
FO TO EB BA	0,23	0,17	0,74
FO TO EB PH	0,15	0,19	1,27
FO TO BA PH	0,31	0,25	0,81
FO BU EB BA	9,72	6,24	0,64
FO BU EB PH	9,66	6,81	0,70
FO BU BA PH	6,02	9,05	1,50
FO EB BA PH	0,25	0,21	0,84
BE TO BU EB	5,88	5,39	0,92
BE TO BU BA	9,73	9,59	0,98

(SUITE)

SUBSTANCES	ESTIMÉ	EXPÉRIMENTAL	RATIO (EXP/EST)
BE TO BU PH	9,67	8,96	0,93
BE TO EB BA	0,24	0,15	0,63
BE TO EB PH	0,16	0,17	1,06
BE TO BA PH	0,30	0,41	1,37
BE BU EB BA	5,99	8,36	1,39
BE BU EB PH	9,65	7,37	0,76
BE BU BA PH	9,77	8,31	0,85
BE EB BA PH	0,26	0,26	1,00
TO BU EB BA	9,64	6,87	0,71
TO BU EB PH	9,57	5,91	0,62
TO EB BA PH	0,20	0,16	0,80
TO BA IS PH	91,79	135,06	1,47
TO EB BA PH	5,95	7,99	1,34

FO: Formaldéhyde  
 TO: Toluène  
 BU: Butanol  
 EB: Éthylbenzène

BA: Acétate de n-butyle  
 BE: Benzène  
 IS: Isopropanol  
 PH: Phénol

<sup>a</sup> mmol/L

TABLEAU 5.4: COMPARAISON DES VALEURS ESTIMÉES ET  
EXPÉRIMENTALES POUR LES MÉLANGES À CINQ  
SUBSTANCES.

SUBSTANCES	ESTIMÉ	EXPÉRIMENTAL	RATIO (EXP/EST)
FO BE TO BU EB	4,83 <sup>a</sup>	5,72	1,18
FO BE TO BU PH	4,80	7,67	1,60
BE TO BU EB BA	4,81	6,20	1,29
BE TO BU EB PH	4,74	6,30	1,33
TO BU EB BA PH	4,78	5,17	1,08
FO TO BU EB BA	4,80	5,46	1,14
FO TO BU EB PH	7,74	5,17	0,63
FO TO BU BA PH	7,84	5,64	0,72
FO TO EB BA PH	0,22	0,20	0,91
FO BU EB BA PH	4,82	5,19	1,08
BE BU EB BA PH	4,83	6,01	1,24
TO BU EB BA PH	4,78	4,73	0,99

FO: Formaldéhyde  
TO: Toluène  
BU: Butanol  
EB: Éthylbenzène

BA: Acétate de n-butyle  
BE: Benzène  
IS: Isopropanol  
PH: Phénol

<sup>a</sup> mmol/L



TABLEAU 5.5: COMPARAISON DES VALEURS ESTIMÉES ET  
EXPÉRIMENTALES POUR LES MÉLANGES AYANT ENTRE SIX  
ET DIX SUBSTANCES.

SUBSTANCES	ESTIMÉ	EXPÉRIMENTAL	RATIO (EXP/EST)
FO BE TO BU EB BA	6,56 <sup>a</sup>	4,47	0,68
FO BE TO BU EB PH	4,00	3,66	0,92
FO TO BU EB BA PH	4,03	4,12	1,02
BE TO BU EB BA PH	4,04	3,62	0,90
FO BE TO BU EB BA PH	3,50	3,22	0,92
FO BE TO BU EB BA IS PH	46,86	53,00	1,08
FO BE TO BU EB BA IS PH NI	43,48	53,86	1,24
FO BE TO BU EB BA IS PH AC	43,43	46,39	1,06
FO BE TO BU EB BA IS PH NI AC	39,13	43,38	1,11

FO: Formaldéhyde  
TO: Toluène  
BU: Butanol  
EB: Éthylbenzène  
NI: Nicotine

BA: Acétate de n-butyle  
BE: Benzène  
IS: Isopropanol  
PH: Phénol  
AC: Acroléine

<sup>a</sup> mmol/L

TABLEAU 6: FRÉQUENCE DE CHAQUE SUBSTANCE INDIVIDUELLE PRÉSENTE  
DANS LES MÉLANGES MONTRANT UNE DIFFÉRENCE  
SIGNIFICATIVE ENTRE LA VALEUR ESTIMÉE ET LA VALEUR  
EXPÉRIMENTALE DE LA EC<sub>50</sub>.

SUBSTANCES	NOMBRE DE SUBSTANCES DANS LES MÉLANGES							
	DEUX		TROIS		QUATRE		CINQ	
	<0,80	>1,20	<0,80	>1,20	<0,80	>1,20	<0,80	>1,20
FO	3	1	1	2	10	2	2	1
BE	0	1	8	2	6	3	0	4
TO	4	1	10	2	10	4	2	3
BU	2	1	12	0	10	3	2	2
EB	6	0	9	1	10	2	1	4
BA	2	1	6	3	8	5	1	2
IS	0	3	0	3	0	1	0	0
PH	4	1	6	2	6	6	2	3

FO: formaldéhyde, BE: benzène, TO: toluène, BU: butanol,  
EB: éthylbenzène, BA: acétate de n-butyle, IS: isopropanol,  
PH: phénol.

RATIO =  $\frac{\text{EXPÉRIMENTAL}}{\text{ESTIMÉ}}$

<0,80 = SYNERGIE

>1,20 = ANTAGONISME

TABLEAU 7: BILAN DES MÉLANGES MONTRANT UNE TOXICITÉ MODIFIÉE.

NOMBRE DE SUBSTANCES DANS LES MÉLANGES	NOMBRE DE MÉLANGES SELON LEUR RATIO			
	<0,80	>1,20	total testé	<0,80/total
DEUX	11	5	28	39%
TROIS	21	5	40	53%
QUATRE	15	7	35	43%
CINQ	2	4	12	17%

<0,80 = SYNERGIE

>1,20 = ANTAGONISME

TABLEAU 8: MESURE DE LA BIOTOXICITÉ D'ÉCHANTILLONS D'AIR INTÉRIEUR À L'AIDE DE LA MÉTHODE MICROTOX®. MEMBRANES FILTRANTES.

ÉDIFICE SOURCE	EC <sub>50</sub> / UT <sup>a</sup> (%)	CARACTÉRISATION CHIMIQUE μg/m <sup>3</sup>	
<b>POLICE</b>			
SALLE DE TIR SOUS-SOL	21,4/ 4,7	POUSSIÈRES	29
		COV totaux*	3255
		FORMALDÉHYDE	21
		Pb	146
BUREAU (3e ÉTAGE)	ND <sup>b</sup>	POUSSIÈRES	17
		COV totaux	3560
		FORMALDÉHYDE	10
<b>PALAIS DE JUSTICE #1</b>			
AIRE DE TRAVAIL #1 (PRÉSENCE DE FUMEURS)	40,5/ 2,5	POUSSIÈRES	17
		COV totaux	2450
		FORMALDÉHYDE	20
AIRE DE TRAVAIL #2 (PRÉSENCE DE FUMEURS)	57,7/ 1,7	POUSSIÈRES	15
		COV totaux	286
		FORMALDÉHYDE	37
AIRE DE TRAVAIL #3	ND	POUSSIÈRES	11
		COV totaux	195
		FORMALDÉHYDE	38
<b>PALAIS DE JUSTICE #2</b>			
SALLE DE DÉTENTION	40,7/ 2,5	POUSSIÈRES	61
		COV totaux	259
		FORMALDÉHYDE	23
BUREAU D'AVOCAT	ND	POUSSIÈRES	20
		COV totaux	336
		FORMALDÉHYDE	21

(SUITE)

ÉDIFICE SOURCE	EC <sub>50</sub> / UT <sup>a</sup> (%)	CARACTÉRISATION CHIMIQUE μg/m <sup>3</sup>	
SALLE DE TRAVAIL	ND	POUSSIÈRES	181
		COV totaux	119
		FORMALDÉHYDE	28
<b>PALAIS DE JUSTICE #3</b>			
SALLE DE TRAVAIL #1 (PHOTOCOPIEUR)	ND	POUSSIÈRES	26
		COV totaux	5185
		FORMALDÉHYDE	12
SALLE DE TRAVAIL #2 (PHOTOCOPIEUR)	ND	POUSSIÈRES	46
		COV totaux	1849
		FORMALDÉHYDE	49
AIRE DE TRAVAIL #3	ND	POUSSIÈRES	28
		COV totaux	96
		FORMALDÉHYDE	N/A**
AIRE DE TRAVAIL #4 (PHOTOCOPIEUR)	ND	POUSSIÈRES	24
		COV totaux	9463
		FORMALDÉHYDE	10
TOURS D'EAU	ND	POUSSIÈRES	N/A
		COV totaux	N/A
		FORMALDÉHYDE	N/A
<b>ÉDIFICE A</b>			
AIRE DE TRAVAIL #1	ND	POUSSIÈRES	N/A
		COV totaux	N/A
		FORMALDÉHYDE	N/A
AIRE DE TRAVAIL #2 (PRÉSENCE DE FUMEURS)	ND	POUSSIÈRES	N/A
		COV totaux	N/A
		FORMALDÉHYDE	N/A
		NICOTINE	8
TOURS D'EAU	ND	POUSSIÈRES	N/A
		COV totaux	N/A
		FORMALDÉHYDE	N/A

(SUITE)

ÉDIFICE SOURCE	EC <sub>50</sub> / UT <sup>a</sup> (%)	CARACTÉRISATION CHIMIQUE μg/m <sup>3</sup>	
<b>ÉDIFICE B</b>			
AIRE DE TRAVAIL #1 (PHOTOCOPIEURS)	ND	POUSSIÈRES COV totaux FORMALDÉHYDE	23 2196 102
AIRE DE TRAVAIL #2	ND	POUSSIÈRES COV totaux FORMALDÉHYDE	17 822 32
<b>ÉDIFICE C</b>			
SALLE DE TRAVAIL #1	ND	POUSSIÈRES COV totaux FORMALDÉHYDE	28 63 10
SALLE DE TRAVAIL #2	ND	POUSSIÈRES COV totaux FORMALDÉHYDE	74 39 48
SALLE DE TRAVAIL #3	ND	POUSSIÈRES COV totaux FORMALDÉHYDE	63 9 21
CAFÉTÉRIA D'UN COLLÈGE (PRÉSENCE DE NOMBREUX FUMEURS)	54,0/ 1,8 <sup>c</sup>	POUSSIÈRES COV totaux FORMALDÉHYDE	N/A N/A N/A
CONTRÔLES	0 0	MEMBRANE PTFE 0,45μm BARBOTEUR 5% MeOH	

a)  $\frac{1}{\% EC_{50}}$  = unités toxiques (UT).

b) toxicité non détectable

c) échantillonnage effectué à l'aide d'un barboteur.

\* COV totaux: composés organiques volatiles totaux.

\*\* N/A: non analysé

## DISCUSSION

## 1. SENSIBILITÉ RELATIVE DES TROIS BIOESSAIS

Le but premier du présent travail consistait à étudier comparativement trois bioessais rapides et peu coûteux en vue d'établir une base expérimentale pour l'évaluation de la toxicité des différents polluants présents dans l'air intérieur. Cette première étape nous a permis de choisir un bioessai autant sensible que simple d'utilisation. Le Tableau 4 résume les résultats comparatifs et nous montre bien que le Microtox® s'avère être, de loin, le bioessai le plus sensible parmi les trois.

Malgré le fait que le Toxi-Chromotest soit capable de détecter une toxicité à une plus faible concentration de formaldéhyde, ce test manque de sensibilité par rapport au Microtox® à cause de sa sensibilité réduite face à toutes les autres substances. D'apparition récente, ce dernier bioessai pourrait être amélioré principalement au niveau de la souche et des procédures, afin d'augmenter sa sensibilité et sa fiabilité.

Pour les trois bioessais étudiés, une limitation réside dans la difficulté de tester des substances peu ou pas solubles en milieu aqueux. En effet, même si l'utilisation de solvants comme le méthanol ou le DMSO, à des concentrations non toxiques, aide à les rendre plus disponibles, il existe



une limite que nous ne pouvons dépasser à l'heure actuelle. D'ailleurs, la plupart des auteurs qui emploient des bioessais microbiens, soulignent cette restriction (Donnelly et al, 1991, Somasundaram et al, 1990, Jacobs et al, 1992, Yates et Porter, 1982, Kwan et Dutka, 1992, Ribo et Kaiser, 1987, etc). D'autres techniques comme l'ultra-sonication ou le test en phase solide du Microtox® ne peuvent qu'aider de façon limitée sans toutefois compenser complètement.

Ankley et al (1990) se sont questionnés sur l'interaction du NaCl, utilisé avec la méthode Microtox®, et certains polluants testés. Plusieurs substances, particulièrement les métaux, produiraient des effets toxiques différents sur *P. phosphoreum* suite à la présence du NaCl qui agirait de façon nuisible sur la biodisponibilité et subséquemment sur la toxicité. Le sucrose, employé comme stabilisateur osmotique alternatif, produirait de meilleurs résultats. Ceci peut apporter une explication plausible aux faibles corrélations qui existent entre ce bioessai et d'autres tests de toxicité (poissons, amphibiens, etc) pour certains groupes de polluants. Par contre, plusieurs auteurs ont démontré qu'une bonne corrélation existe entre les différents bioessais utilisant ces organismes supérieurs et le Microtox® ou d'autres bioessais microbiens pour les effluents liquides industriels (Firth et Backman, 1990, Arbuckle et Alleman, 1992, Munkittrick et al, 1991, Greene et al, 1985).

Cependant, nous avons utilisé les bioessais microbiens comme mode de détection. La simplicité et la standardisation du test sont donc primordiales. Même s'il existe des variations dans la détection de certains agents polluants, le fait d'obtenir une régularité (reproductibilité) et une sensibilité constante des résultats obtenus est considéré comme acceptable.

L'avantage d'utiliser le test des déshydrogénases de *B. cereus* (ou tout autre microorganisme) dans l'évaluation toxicologique de plusieurs substances réside dans le fait que cette bactérie se retrouve dans presque tous les milieux. Il est donc logique d'assumer que les premiers organismes affectés par les divers polluants présents dans un milieu donné peuvent être les microorganismes de part leur relative simplicité et leur grande dépendance face à l'environnement. Ce bioessai peut très bien s'utiliser pour l'évaluation de polluants présents dans le sol ou l'eau mais s'avère inadéquat pour les polluants sous formes de vapeurs ou de particules dans l'air. Son manque de sensibilité le rend donc inapte à détecter les faibles concentrations généralement échantillonnées dans l'air à l'aide des méthodes actuelles.

Le Toxi-Chromotest semble plus prometteur. Il est malgré tout assez sensible pour les substances hydrophiles. Par contre, dans nos conditions expérimentales, sa

reproductibilité s'est avérée plutôt médiocre. Lors des essais avec ce test, les différents lots de bactéries lyophilisées fournis par le fabricant n'avaient pas, d'un à l'autre, les mêmes temps d'incubation. De plus, ce bioessai n'a pu évaluer les  $EC_{50}$  de plusieurs polluants testés tels le toluène, l'éthylbenzène, l'acétate de n-butyle et le mélange de Molhave (Tableau 4). Il en a été de même d'ailleurs avec le test des déshydrogénases pour ces quatre produits.

Reproductibilité, sensibilité, simplicité, moindre coût sont donc tous des facteurs importants qui ont fait pencher le choix sur la méthode Microtox®.

## **2. SYNERGISME ET ANTAGONISME DES POLLUANTS EN MÉLANGES**

D'après nos résultats expérimentaux (Tableau 6), à l'intérieur des mélanges de polluants, la fréquence d'effets synergiques apparaît plus grande que celle des effets antagonistes. Nos déterminations ont porté sur un groupe restreint de huit COV en mélange. Plusieurs évaluations toxicologiques des polluants se penchent sur les effets combinés des différents groupes et même d'individus à l'intérieur d'un groupe (Lewtas, 1989, Ribo et Rogers, 1990).

Ces agents, dosés sur une base individuelle, n'offrent pas de réponses concrètes aux symptômes auxquels ils sont associés (Molhave *et al*, 1986, Kjaergaard *et al*, 1991). La présence de ces polluants, souvent sporadiques et à différentes concentrations, est difficilement associable aux divers symptômes rencontrés chez certains travailleurs. De plus, leur dosage individuel ne dépasse pas en général les normes en vigueur (Goyer et Nguyen, 1989, Lewtas, 1989, Myers, 1989, Schroeder *et al*, 1987). Toutefois, la mesure des effets synergiques potentiels que l'on peut rencontrer à l'intérieur de groupes de polluants présents dans un environnement intérieur apparaît comme une explication plus probable.

Nos résultats font partie d'une première étape visant à mieux comprendre l'interaction des mélanges de polluants et de leur répercussion toxicologique sur des organismes. Nous connaissons depuis peu les effets synergiques des mycotoxines en combinaisons (bioaérosols) et associées à certains COV (Miller, 1992). Lewtas (1989) estime qu'il existe un agent responsable (causative agent) dans tout mélange et que celui-ci serait le seul inducteur d'une toxicité accrue. Sans infirmer cette allégation, nos résultats montrent que ce n'est pas toujours le même agent qui cause un effet synergique dans un mélange. En effet, les mélanges binaires à deux substances montrant une synergie comportent le plus souvent de l'éthylbenzène et du phénol, les mélanges tertiaires à trois

substances, du butanol et du toluène. Les mélanges à quatre substances sont influencés par trois des quatre composés précédents plus le formaldéhyde. Le phénol fait partie des mélanges moins toxiques comme l'ont aussi remarqué Ribo et Rogers (1990). Finalement, ceux à cinq substances ne sont influencés par aucun d'eux. De plus, les mélanges tertiaires semblent comporter une plus haute fréquence d'effets synergiques que les autres groupes.

Dans les mélanges de trois à cinq substances, le butanol, l'éthylbenzène, le toluène et le formaldéhyde exercent le plus souvent dans l'ensemble des effets synergiques à l'intérieur des mélanges.

Les effets antagonistes, moins fréquents, sont surtout attribuables à l'isopropanol dans tous les groupes et par le phénol dans les mélanges à quatre. L'isopropanol possède une toxicité qui varie de façon non linéaire selon sa concentration. Il devient subitement toxique autour de la concentration exposant sa  $EC_{50}$  qui se situe assez loin des autres substances, soit à 23 000  $\mu\text{g/mL}$ . Son influence diminue la toxicité globale d'un mélange en proportions égales (v/v). Le phénol, pour sa part, semble accroître l'effet antagoniste de l'isopropanol lorsqu'ils sont tous deux présents dans un même mélange. Parallèlement, le phénol accentue les antagonismes au fil de l'augmentation de substances dans un

mélange; il est de plus en plus visible (Tableaux 5.1 à 5.5).

Une étude plus poussée portant sur les interactions entre les différents groupes de polluants et leurs effets possibles sur des cellules vivantes avec entre autres, des proportions variables, des mélanges inter- et intra-groupes, permettrait d'enrichir les connaissances trop limitées à ce sujet. Rares sont les auteurs qui s'y sont attardés. Il est donc difficile de plus élaborer en faveur de nos propres résultats en comparaison avec ceux retrouvés dans la littérature. Les hypothèses sont récentes et encore peu soutenues par des preuves expérimentales. Une étude portant sur la présence dans l'air intérieur de différents polluants en mélange caractérisés chimiquement et sur l'évaluation quantitative des symptômes identifiés par un médecin spécialiste pourrait faire l'objet d'une intéressante recherche multidisciplinaire.

C'est dans cette perspective que des auteurs s'y intéressent déjà en émettant l'hypothèse de l'existence d'effets synergiques entre les polluants pour expliquer les symptômes pouvant résulter d'une exposition à de multiples contaminants (Menzies et al, 1993).

### 3. DIFFICULTÉS DE L'ÉCHANTILLONNAGE

Le nombre d'échantillons fut restreint pour diverses raisons de disponibilité du matériel et de fonctionnement de l'équipement. Premièrement, la pompe à grand débit que nous avons utilisée a développé des problèmes de programmation et a présenté un fonctionnement irrégulier lors de certains échantillonnages. Par contre, ceci n'a aucunement affecté la précision de nos résultats puisque le débit était vérifié par un débitmètre fixé au tuyau de l'entrée d'air et les temps d'échantillonnage étaient enregistrés puis convertis en quantités réelles d'air échantillonné. Un autre facteur a été la disponibilité et le choix des lieux d'échantillonnage de l'équipe de la Société ADN Inc. Leur choix nous était donc imposé afin de pouvoir comparer nos résultats avec la détermination des paramètres physico-chimiques.

L'échantillonnage en tant que tel ne pose pas de problème majeur. Il faut choisir avec soin le bon type d'échantillonneur associé au groupe de polluants visé comme les filtres inertes  $<0,8 \mu\text{m}$  pour les polluants sous forme particulaire, les géloses pour microorganismes vivants et les barboteurs pour les gaz et les COV. La partie délicate se situe au niveau de l'extraction. Pour les analyses chimiques et biochimiques (GC-MS, HPLC), l'extraction se fait plus facilement et de façon très précise. Divers solvants

organiques et phases mobiles sont utilisés. Une pureté élevée de l'échantillon permet une identification et un dosage précis. Par contre, lorsqu'il s'agit de bioessais, les méthodes d'extraction en vue de rendre biodisponibles certains groupes de polluants ne sont pas nombreuses et présentent un défi de taille.

Ici encore, la complexité de l'analyse toxicologique associée à la présence de solvants organiques plus ou moins toxiques dans les échantillons représente un obstacle majeur. Nous pouvons donc confirmer qu'une concentration n'excédant pas 5% de ces solvants n'affectera en rien l'exactitude et la reproductibilité des résultats. L'utilisation de ces solvants en faible concentration restreint la solubilisation et donc la quantité de plusieurs agents polluants pouvant être testés à l'aide de bioessais, surtout les plus hydrophobes. L'alternative consisterait à capter les agents polluants dans du méthanol concentré, ou dans tout autre solvant, puis à éliminer ces derniers par évaporation et à resolubiliser les polluants dans une phase aqueuse.

Les filtres, pour leur part, doivent garantir l'interception d'une quantité de matériel suffisamment représentatif afin de donner de bons résultats sur les bioessais. Contrairement aux récoltes du barboteur qui peuvent être testées directement sans autre démarche, celles



obtenues par l'utilisation du filtre doivent subir une série de dilutions. Cette étape nécessaire diminue de façon appréciable la précision et la portée de l'évaluation toxicologique lorsque nous utilisons les filtres comme moyen d'échantillonnage. Bien que la plupart des polluants semi et peu volatiles soient adsorbés sur des particules et qu'il est plus adéquat de les capter par cette méthode, une dilution de 1:40 réduit passablement notre seuil de détection. Par contre, lorsque nous voulons déterminer les propriétés physico-chimiques de ce qui a été capté, la quantité de matière éluee préalablement par du méthanol pur s'avère suffisant. Les méthodes d'analyses chimiques actuelles sont bien sûr capables de détecter et identifier pratiquement n'importe quelle substance individuelle.

Le barbotage présente aussi certains inconvénients. En effet, la grande quantité d'air circulant à travers l'appareil accentue l'évaporation de la solution méthanol-eau. Il faut donc prendre en considération deux facteurs. En premier lieu, le débit d'échantillonnage ne doit pas excéder un certain niveau car plus le débit est élevé, plus l'évaporation est importante. De plus, en deuxième lieu, le temps d'échantillonnage ne doit pas être lui aussi trop élevé. Un volume de 2 m<sup>3</sup> d'air au débit de 1 ou 2 L/min nécessite entre 16 à 33 heures d'échantillonnage et peut aussi contribuer à une certaine évaporation. Par contre, un débit de 15 L/min

prend peu de temps mais évapore rapidement la solution. Notre choix s'est donc arrêté à 1 m<sup>3</sup> d'air avec un débit de 7,5 L/min qui entraîne l'évaporation de la solution que de moitié. Parallèlement, l'évaluation physico-chimique et toxicologique à l'aide de bioessais de l'échantillon permet de bien définir les polluants captés par la solution.

Des alternatives peuvent être suggérées. Pour le barboteur, l'ajout d'une quantité plus élevée de solvant dans la solution de départ en serait une. Un solvant organique tel le méthanol s'évapore plus vite que l'eau. En ajoutant initialement plus de méthanol à la solution de départ, celui-ci s'évaporerait plus rapidement et pourrait donc être présent à la concentration finale désirée (5%). Il suffit d'estimer expérimentalement le taux réel d'évaporation du méthanol. Un solvant moins volatil pourrait être utilisé. Ce solvant, barboté à l'état pur, est dilué par la suite au seuil de non toxicité. Des mesures de toxicité lorsqu'il n'a pas capté des agents polluants sont comparées aux toxicités du solvant avec polluants. Garder les barboteurs au froid (4-8°C) durant l'échantillonnage pourrait contribuer à une meilleure efficacité. Pour les filtres, un solvant moins toxique pour les microorganismes (ex: agents tensioactifs) ainsi qu'une augmentation du rendement de récupération seraient les points à améliorer.

#### 4. CORRÉLATIONS ENTRE BIOTOXICITÉ ET DONNÉES PHYSICO-CHIMIQUES DES SITES

Afin de bien cerner le rapport qu'il peut y avoir entre la biotoxicité retrouvée pour les échantillons prélevés dans les édifices et les résultats d'analyses physico-chimiques effectuées parallèlement aux mêmes endroits, il faut d'abord comprendre que les polluants de l'air sont rarement seuls dans l'air intérieur. Une autre étape dans notre démarche expérimentale nous a amenés à évaluer la biotoxicité (Microtox®) de plusieurs échantillons d'air intérieur prélevés sur des membranes 0,45  $\mu\text{m}$  et à les comparer avec les données physico-chimiques disponibles présentés au Tableau 8.

En général, un taux plus ou moins élevé de COV totaux procure une réponse positive de la part du bioessai. L'échantillon le plus toxique (salle de pratique de tir) montre un niveau de 4,7 Unité Toxique (UT), soit une  $EC_{50}$  de 21,4%, considérée comme élevée selon l'interprétation de Coleman et Qureshi (1985). Il possède un taux de plomb très près de la norme maximale et un taux anormalement élevé de COV totaux (Tableau 8). Ce dernier nous donne une bonne indication de la biotoxicité retrouvée à partir d'échantillons prélevés dans différents environnements intérieurs. Pour sa part, le formaldéhyde, assez volatile, ne semble pas apporter une contribution significative à la biotoxicité du mélange de

polluants. Son dosage, somme toute peu variable, n'a pas, selon nos observations, contribué à la biotoxicité dans les autres échantillons captés à l'aide de membranes filtrantes. Un échantillonnage par barbotage aurait été plus adéquat.

La nicotine, dosée seulement dans un édifice, n'affichait pas une concentration élevée. La méthode Microtox® ne l'a pas détectée dans ce cas-ci.

Malheureusement, il n'a pas été possible de suivre tous les groupes de polluants autres que ceux obtenus de la firme ADN. Nous devons donc nous baser sur les renseignements préliminaires qui sont à notre disposition pour valider nos résultats. L'évaluation des bioaérosols, des gaz et d'au moins un représentant de la fumée de tabac (l'acroléine ou la nicotine de préférence) nous aurait permis de confirmer avec plus de certitude les composantes responsables d'une toxicité détectée par la méthode Microtox®.

Selon les résultats présentés au Tableau 4, les concentrations élevées de COV totaux dosés dans certains lieux ne sont probablement pas captées de façon suffisante par les méthodes d'échantillonnage et d'extraction utilisées; la méthode Microtox® n'ayant pas détecté leur présence. Une méthode d'échantillonnage plus efficace utilisant les propriétés d'adsorption du charbon activé suivi d'une étape de

désorption au laboratoire permettrait d'augmenter fort probablement l'efficacité de captage. Une mesure de la biotoxicité peut ensuite être exécutée (ASHRAE, 1989). La détection positive de la biotoxicité dans les échantillons par la méthode Microtox® suggèrerait un effet combiné de la part des polluants présents dans l'air intérieur.

Nous savons d'ores et déjà que les COV peuvent s'adsorber aux particules (Otson et Fellin, 1992). La majorité des échantillons positifs provenaient d'éluats de membranes. Il est donc très possible que les COV fixés sur les particules aient donné ces résultats. Toutefois, une multitude d'agents polluants peuvent engendrer de la toxicité. Peut-être l'agent responsable n'a-t-il pas été dosé? La présence de bioaérosols, tels des mycotoxines ou certains autres types de polluants, était peut-être non mesurés. Néanmoins, nous avons prouvé expérimentalement qu'il existe des effets synergiques et antagonistes à l'intérieur d'un même groupe de polluants organiques et il est bien possible que ces effets aient été détectés par le bioessai.

Dans un travail de confirmation à venir, le suivi d'un éventail plus complet de données physico-chimiques ainsi qu'un échantillonnage plus complet (membrane et barbotage) apporterait davantage de poids aux corrélations qui existent entre les symptômes décelés ou rapportés chez les travailleurs

et la biotoxicité enregistrée par un bioessai.

## 5. EFFICACITÉ DES MÉTHODES D'ÉCHANTILLONNAGE

Il s'agissait de vérifier le degré de "captage" ou encore l'importance des pertes des polluants toxiques en cours de prélèvement. C'est donc par souci de rigueur qu'une section du projet visait à déterminer quelle quantité de polluants une membrane filtrante et une solution en barbotage seraient capables de prélever afin de pouvoir évaluer avec précision l'efficacité ou le rendement de nos méthodes d'échantillonnage de l'air intérieur.

L'extraction au méthanol de nicotine déposée sur une membrane oscille entre 50 et 65%. Étant donné la grande fiabilité de la HPLC, ce résultat nous laisse donc un peu perplexe. Silas et al (1986) ont rapporté qu'il était possible d'extraire jusqu'à 90% les mycotoxines présentes sur un filtre Millipore 0,5  $\mu\text{m}$  avec un mélange acétonitrile:eau (9:1 v/v)). Par ailleurs, Parviainen et al (1990) qui ont extrait la nicotine et ses métabolites de l'urine, ont obtenu un rendement semblable à nos résultats (63%). L'extraction s'est effectuée à l'aide d'un mélange butanol-éthyl acétate (80:20, v/v). Schroeder et al (1987) estiment que les

membranes organiques, telles le Téflon et le PTFE, sont insolubles et inertes dans la majorité des solvants organiques, ce qui rend facile l'extraction des substances captées. Elles possèdent également peu d'impuretés et différentes porosités sont disponibles. Par contre, elles offrent une grande résistance aux vitesses de filtration élevées, ce qui les rend généralement mieux appropriées aux échantillonnages à faible débit.

Malgré toutes ces différences, le fait de connaître la valeur réelle du taux de récupération nous permet d'évaluer avec précision la quantité de matières présentes sur le filtre et dans l'air intérieur à étudier. Peut-être n'est-il pas 100% dans nos conditions expérimentales mais plusieurs auteurs ignorent complètement le rendement de leur méthode, assumant à tort qu'il est de 100%.

## CONCLUSION



La méthode Microtox® s'est nettement démarquée des autres bioessais testés de par sa sensibilité, sa fiabilité et sa convivialité. Ce bioessai basé sur la bioluminescence a donc été retenu comme méthode de mesure de la biotoxicité pour la suite de nos travaux. Sa capacité à mesurer la toxicité des composés à des concentrations en deçà de celles établies comme valeurs guides démontre l'efficacité de la méthode dans l'étude des polluants organiques de l'air intérieur.

Les méthodes d'échantillonnage de ces polluants de l'air intérieur et leur extraction utilisées dans nos travaux possèdent un rendement acceptable de récupération. Toutefois, il y a place à amélioration pour rendre plus biodisponible les différents polluants présents dans l'air intérieur. Une étude comparative de la biotoxicité d'un plus grand nombre d'échantillons confrontée à un éventail plus grand de données physico-chimiques apporterait un poids supplémentaire à notre approche toxicologique par la méthode Microtox® des agents polluants de l'air intérieur. Des essais plus variés avec entre autres les mycotoxines avec ou sans agents chimiques, les gaz et les principaux composés de la fumée de tabac montrant des effets combinés sur les cellules vivantes seraient une autre étape importante.

Notre étude a cependant démontré l'existence d'effets synergiques et antagonistes entre les divers COV testés. Ces

effets jouent probablement un rôle souvent insoupçonné dans l'appréciation des effets néfastes des polluants de l'air intérieur sur la santé des personnes exposées. Bien qu'encore imparfaite à ce stade-ci des travaux, l'évaluation de l'effet nocif global des polluants de l'air intérieur par le biais d'un bioessai mesure de façon plus réaliste, à notre avis, les effets toxiques par rapport au dosage chimique des substances polluantes individuelles. Nos résultats ont prouvé que des effets synergiques et antagonistes existent entre plusieurs substances d'un même groupe de polluants.

## REMERCIEMENTS

Je voudrais remercier sincèrement mon directeur, Gilles Paquette pour son dévouement, sa compétence et sa patience. Je voudrais aussi le remercier pour m'avoir donné la chance de poursuivre mes études de 2<sup>ème</sup> cycle parmi l'équipe de chercheurs du centre de recherche en microbiologie appliquée et d'acquérir une expérience diversifiée et enrichissante.

Mille fois merci au Dr François Lépine, à Guy McSween, Ginette Denis et Louise Labrie pour leur précieux support technique et moral.

Enfin, merci à tous ceux et celles qui ont contribué, de près ou de loin, à la réussite de ce projet, y compris ma conjointe Annie Tremblay.

## BIBLIOGRAPHIE

- Abdel-Hafez, S.I.I., A.A.M. Shoreit, A.I.I Abdel-Hafez et O.M.O.E.-Maghraby, 1986. Mycoflora and mycotoxin-producing fungi of air-dust particles from Egypt. *Mycopathologia*; 93: 25-32.
- Alexandersson, R. et G. Hedenstierna, 1988. Respiratory hazards associated with exposure to formaldehyde and solvents in acid-curing paints. *Arch Environ Health*; 43: 222-227.
- Ankley, G.T., G.S. Peterson, J.R. Amato et J.J. Jenson, 1990. Evaluation of sucrose as an alternative to sodium chloride in the Microtox® assay: comparison to fish and Cladoceran tests with freshwater effluents. *Environ Toxicol Chem*; 9: 1305-1310.
- Arbuckle, W.B. et J.E. Alleman, 1992. Effluent Toxicity Testing Using Nitrifiers and Microtox®. *Water Environ Res*; 64: 263-267.
- Arlie, L.G. 1990. House-dust-mite allergens: a review. *Exp Appl Acarology*; 10: 167-186.
- ASHRAE, 1989. *Ventilation for Acceptable Indoor Air Quality*. ASHRAE Standard Committee 62-1989, Atlanta, 26 pp.
- Bælum, J., G.R. Lundqvist, L. Molhave et N.T. Anderson, 1990. Human response to varying concentration of toluene. *Int Arch Occup Environ Health*; 62: 65-71.
- Besch, E.L., 1989. Regulation and its role in the prevention of building-associated illness. *Occ Med: State of the Art Rev*; 4: 741-752.
- Beusterien, K.M. et al, 1991. Indoor air mercury concentrations following application of interior latex paint. *Arch Environ Contam Toxicol*; 21: 62-64.
- Blaise, C., 1991. Microbiotests in aquatic ecotoxicology: characteristics, utility, and prospects. *Environ Toxicol Water Quality: Int J*; 6: 145-155.
- Body, P.E., G. Inglis, P.R. Dolan et D.E. Mulcahy, 1991. Environmental lead: a review. *Crit Rev Environ Control*; 20: 299-310.
- Brouwer, H., T. Murphy et L. McArdle, 1990. A sediment-contact bioassay with *Photobacterium phosphoreum*. *Environ Toxicol Chem*; 9: 1353-1358.
- Burrell, R., 1991. Microbiological agents as health risks in indoor air. *Environ Health Persp*; 95: 29-34.

- Candlish, A.A.G., J.E. Smith et W.H. Stimson, 1990. Aflatoxin monoclonal: academic development to commercial production. *Lett Appl Microbiol*; 10: 167-169.
- Chan, C.C., L. Vainer, J.W. Martin et D.T. Williams, 1990. Determination of organic contaminants in residential indoor air using an adsorption-thermal desorption technique. *J Air Waste Manage Assoc*; 40: 62-67.
- Chuang, J.C., G.A. Mack, M.R. Kuhlman et N.K. Wilson, 1991. Polycyclic aromatic hydrocarbons and their derivatives in indoor and outdoor air in an eight-home study. *Atmos Environ*; 25B: 369-380.
- Coleman R.N. et A.A. Qureshi, 1985. Microtox® and *Spirillum volutans* tests for assessing toxicity of environmental samples. *Bull Environ Contam Toxicol*; 35: 443-451.
- Cone, J.E. et D. Shusterman, 1991. Health effects of indoor odorants. *Environ Health Persp*; 95: 53-59.
- Coşsette, B., W. Smoragiewicz, A. Boutard et G. Bouchard, 1992. La Détection des mycotoxines trichothécènes. *Travail et santé*; 8: S2-S6.
- Cox, B.G., D.T. Mage et F.W. Immerman, 1988. Sample design considerations for indoor air exposure surveys. *JAPCA*; 38: 1266-1270.
- Creasia, D.A., 1990. Acute inhalation toxicity of T-2 mycotoxin in the rat and guinea pig. *Fund Appl Toxicol*; 14: 54-59.
- Croft, W.A, B.B. Jarvis et C.S. Tatawara, 1986. Airborne outbreak of trichothecene toxicosis. *Atmos Environ*; 20: 549-552.
- Donnelly, K.C., K.W. Brown, C.S. Anderson et J.C. Thomas, 1991. Bacterial mutagenicity and acute toxicity of solvent and aqueous extracts of soil samples from an abandoned chemical manufacturing site. *Environ Toxicol Chem*; 10: 1123-1131.
- EPA, 1991. *Indoor Air Facts No.4: Sick Building Syndrome*. USEPA (ANR-445-W), Washington, D.C.
- Firth, B.K. et C.J. Backman, 1990. Comparison of Microtox® testing with rainbow trout (acute) and *Ceriodaphnia* (chronic) bioassays in mill wastewaters. *TAPPI J*; Dec: 169-174.

- Gordon, W.C. et L.J. Gordon, 1990. Rapid screening method for deoxynivalenol in agriculture commodities by fluorescent minicolumn. *J Assoc Off Anal Chem*; 73: 266-270.
- Goyer, N. et V.H. Nguyen, 1989. *Stratégie d'étude de la qualité de l'air dans les édifices à bureaux*. IRSST, Montréal. 34 pp.
- Granderye, L.M., 1962. *Dictionnaire de chimie*. Dunod, Paris. p 152.
- Greene, J.C., W.E. Miller, M.K. Dedacon, M.A. Long et C.L. Bartels, 1985. A comparison of three microbial assay procedures for measuring toxicity of chemical residues. *Arch Environ Contam Toxicol*; 14: 659-667.
- Hein H.O., P. Suadicani, P. Skov et F. Gyntelberg, 1991. Indoor dust exposure: an unnoticed aspect of involuntary smoking. *Arch Environ Health*; 46: 98-101.
- Jacobs, M.W., J.J. Delfino et G. Bitton, 1992. The toxicity of sulfur to Microtox® from acetonitrile extracts of contaminated sediments. *Environ Toxicol Chem*; 11: 1137-1143.
- Karol, M.H., 1991. Allergic reactions to indoor air pollutants. *Environ Health Persp*; 95: 45-51.
- Kjærgaard, S.K., L. Molhave et O.F. Pedersen, 1991. Human reactions to a mixture of indoor air volatile organic compounds. *Atmos Environ*; 25A: 1417-1426.
- Krzyzanowski, M., J.J. Quackenboss et M.D. Lebowitz, 1990. Chronic respiratory effects of indoor formaldehyde exposure. *Environ Res*; 52: 117-125.
- Kwan, K.K. et B.J. Dutka, 1992. A novel bioassay approach: direct application of the Toxi-Chromotest and the SOS Chromotest to sediments. *Environ Toxicol Water Quality: Int J*; 7: 49-60.
- Leitao, J., G. De Saint Blanquat J.R. Bailly et C.H. Paillas, 1988. Quantitation of aflatoxins from various strains of *Aspergillus* in food-stuffs. *J Chrom*; 435: 229-234.
- Lenvik, K., 1992. Sick Building Syndrome symptoms- different prevalences between males and females. *Environ Int*; 18: 11-17.
- Lewtas, J., 1989. Toxicology of complex mixtures of indoor air pollutants. *Ann Rev Pharmacol & Toxicol*; 29: 415-439.



- Lippmann, M., 1988. Health significance of pulmonary function responses to airborne irritants. *JAPCA*; 38: 881-887.
- Liu, D., 1989. A rapid and simple biochemical test for direct determination of chemical toxicity. *Tox Asses: Int J*; 4: 399-404.
- Llewellyn, G.C. et al, 1988. Mycotoxigenic isolates and toxin production on buckwheat and rice hulls used as bedding materials. *J Ind Microbiol*; 3: 351-356.
- Lundholm, M., G. Lavrell et L. Mathiasson, 1990. Self-leveling mortar as a possible cause of symptoms associated with "Sick Building Syndrome". *Arch Environ Health*; 45: 135-140.
- Macher, J.M. et S.B. Hayward, 1991. Public inquiries about indoor air quality in California. *Environ Health Persp*; 92: 175-180.
- Meek, S.L., 1990. Indoor air quality and environmental tobacco smoke. *Missouri Med*; 87: 219-220.
- Menzies, R., R.M. Tamblin, J. Hanley, F. Nunes et R.T. Tamblin, 1993. Impact of exposure to multiple contaminants on symptoms of Sick Building Syndrome. *Proceeding of the 6th International Conference on Indoor Air Quality and Climate*; 1: 363-368.
- Microbics Corporation, 1992. *Microtox® manual*. Microbics Corp., Carlsbad, Calif. Vol 1-5.
- Miller, J.D., 1992. Fungi as contaminants in indoor air. *Atmos Environ*; 26A: 2163-2172.
- Miller, J.D., 1990. Fungi as contaminants in indoor air. *Proceedings of the 5th International Conference on Indoor Air Quality and Climate*; 5: 51-64
- Ministère de la Santé et des Services Sociaux, Santé et Sécurité du Travail- Qualité du milieu de travail, Québec, 1981. *Règlement sur la qualité du milieu de travail (c.S-21, r.15)*. pp 1-59.
- Molhave, L., B. Bach et O.F. Pedersen, 1986. Human Reactions to Low Concentrations of Volatile Organic Compounds. *Environ Int*; 12: 167-175.
- Molhave, L. et M. Thorsen, 1991. A model for investigations of ventilation systems as sources for volatile organic compounds in indoor climate. *Atmos Environ*; 25A: 241-249.

- Moseley, C., 1990. Indoor air quality problems: a proactive approach for new or renovated buildings. *J Environ Health*; 53: 19-22.
- Munkittrick, K.R., E.A. Power et G.A. Sergy, 1991. The relative sensitivity of Microtox®, Daphnid, rainbow trout, and fathead minnow acute lethality tests. *Environ Toxicol Water Quality: Int J*; 6: 35-62.
- Myers, R.L., 1989. A survey of indoor air quality in twenty-nine anchorage residence. *Alaska Med*; 31: 103-107.
- National Research Council, 1986. *Environmental tobacco smoke: measuring exposures and assessing health effects*. Committee on passive smoking, Board on Environmental Studies and Toxicology, National Academy Press, Washington, D.C. pp 1-283.
- NATO/CCMS, groupe de travail, 1989. *Pilot study on indoor air quality: the implications of indoor air quality for modern society*. M. Maroni et M.A. Berry éditeurs.
- Organics, Ltd., 1985. *The Toxi-Chromotest - instructions for use*. Organics, Ltd., Yavne, Israël.
- OSM, groupe de travail, 1991. Indoor air quality: inorganic fibres. *Environ Tech*; 12: 833-835.
- Otson, R. et P. Fellin, 1992. Volatile organic in the indoor environment: sources and occurrence. Dans: *Gaseous pollutants: characterization and cycling*, John Wiley & Sons, Inc. éditeur. pp 335-421.
- Owen M.K., D.S. Ensor et L.E. Sparks, 1992. Airborne particule sizes and sources found in indoor air. *Atmos Environ*; 26A: 2149-2162.
- Park, D.L., S. Neshein, M.W. Trucksess, M.E. Stack et R.F. Newell, 1990. Liquid chromatographic method for determination of aflatoxins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, and G<sub>2</sub> in corn and peanut products: collaborative study. *J Assoc Off Anal Chem*; 73: 260-266.
- Parviainen, M.T., E.V.J. Puhakainen, R. Laatikainen, J. Herranen et R.D. Barlow, 1990. Nicotine metabolites in the urine of smokers. *J Chrom*; 525: 193-202.
- Pasanen A.-L., H. Heinonen-Tanski, P. Kalliokoski et M.J. Jantunen, 1992. Fungal microcolonies on indoor surfaces—An explanation for the base-level fungal spore counts in indoor air. *Atmos Environ*; 26B: 117-120.

- Reinhartz, A., I. Lampert, M. Herzberg et F. Fish, 1987. A new, short term, sensitive, bacterial assay kit for the detection of toxicants. Organics Ltd, POB 360, Yavne, Israël.
- Ribo, J.M. et K.L. Kaiser, 1987. *Photobacterium phosphoreum* toxicity bioassay. I. Test procedures and applications. *Tox Asses: Int Quarterly*; 2: 305-323.
- Ribo, J.M. et K.L. Kaiser, 1988. *Photobacterium phosphoreum* toxicity bioassay. II. Toxicity data compilation. *Tox Asses: Int J*; 3: 195-237.
- Ribo, J.M. et F. Rogers, 1990. Toxicity of mixtures of aquatic contaminants Using the bioluminescent bacteria bioassay. *Tox Asses: Int J*; 5: 135-152.
- Robb, J., M. Norval et W.A. Neill, 1990. The use of tissue culture for the detection of mycotoxins. *Lett Appl Microbiol*; 10: 161- 165.
- Roy, A.K. et H.K. Chourasia, 1990. Mycoflora, mycotoxin producibility and mycotoxins in traditional herbal drugs from India. *J Gen Appl Microbiol*; 36: 295-302.
- Sack, T.M., D.H. Steele, K. Hammerstrom et J. Remmers, 1992. A survey of household products for volatile organic compounds. *Atmos Environ*; 26A: 1063-1070.
- Samet, J.M., M.C. Marbury et J.D. Spengler, 1987. Health effects and sources of indoor air pollution. Part I. *Am Rev Respir Dis*; 136: 1486-1508.
- Samet, J.M., M.C. Marbury et J.D. Spengler, 1988. Health effects and sources of indoor air pollution. Part II. *Am Rev Respir Dis*; 137: 221-242.
- Samet, J.M., M.C. Marbury et J.D. Spengler, 1987. Respiratory effects of indoor air pollution. *J Allergy Clin Immunol*; 79: 685-700.
- Schroeder, W.H., M. Dobson, D.M. Kane et N.D. Johnson, 1987. Toxic trace elements associated with airborne particulate matter: a review. *JAPCA*; 37: 1267-1285.
- Serat W.F., F.E. Budinger, Jr et P.K. Mueller, 1967. Toxicity evaluation of air pollutants by use of luminescent bacteria. *Atmos Environ*; 1: 21-32.

- Serat W.F., J. Kyono et P.K. Mueller, 1969. Measuring the effect of air pollutants on bacterial luminescence: a simplified procedure. *Atmos Environ*; 3: 303-309.
- Silas, J.C., M.A. Harrison et J.A. Carpenter, 1986. Evaluation of particulate air samplers for airborne aflatoxin B<sub>1</sub>. *J Toxicol Environ Health*; 18: 215-220.
- Silberstein S., R.A. Grot, K. Ishiguro et J.L. Mulligan, 1988. Validation of models for predicting formaldehyde concentrations in residences due to pressed-wood products. *JAPCA*; 38: 1403-1411.
- Somasundaram, L., J.R. Coats, K.D. Racke et H.M. Stahr, 1990. Application of the Microtox® system to assess the toxicity of pesticides and their hydrolysis metabolites. *Bull Environ Contam Toxicol*; 44: 254-259.
- Sterling, T.D., C.W. Collett et E.M. Sterling, 1987. Environmental tobacco smoke and indoor air quality in modern office work environments. *J Occ Med*; 29: 57-62.
- Sterling, T.D. et D. Kobayashi, 1982. Indoor byproduct levels of tobacco smoke: a critical review of the literature. *J Air Poll Control Assoc*; 32: 250-159.
- Stewart, G.S.A.B., 1990. *In vivo* bioluminescence: new potentials for microbiology. *Lett Appl Microbiol*; 10: 1-8.
- Steyn, P.S., 1980. *Biosynthesis of mycotoxins: a study in secondary metabolism*. Academy Press, New York. 432 pp.
- Stolwijk, J.A.J., 1991. Sick-Building Syndrome. *Environ Health Persp*; 95: 99-100
- Surgeon General, 1986. *The health consequences of involuntary smoking*. U.S. Dept Health & Human Services, Rockville, Maryland. pp 1-260.
- Triebig G., K.H. Schaller, B.Beter, J. Müller et H. Valentin, 1989. Formaldehyde exposure at various workplaces. *Science Total Env*; 79: 191-195.
- Tucker, W.G., 1991. Emission of organic substances from indoor surface material. *Environ Int*; 17: 357-363.
- Yates, I.E. et J.K. Porter, 1982. Bacterial bioluminescence as a bioassay for mycotoxins. *Appl Environ Microbiol*; 44: 1072-1075.

Yates, I.E. et J.K. Porter, 1984. Temperature and pH affect the toxicological potential of mycotoxins in the bacterial bioluminescence assay. Dans: *Toxicity-screening procedures using bacterial systems*. M. Dekker Inc. New York. pp 77-86.