

Qualité microbiologique de l'air des écuries et conséquences pour la santé des travailleurs du secteur équestre

Période : septembre 2009 à décembre 2009

Anne OPPLIGER

Institut universitaire romand de Santé au Travail – Université de Lausanne et Genève – Lausanne - Suisse

Mots clés : Bioaérosols, Cheval, Écurie, Élevage de chevaux, Endotoxine, Poussière organique, Risque biologique

Les sports équestres sont en plein développement en France où l'on compte plus d'un million de chevaux. Le nombre de cavaliers pratiquant en club ou chez eux est estimé à 600 000 et l'on dénombre plus de 68 000 emplois en France dans tous les domaines : agriculture, environnement, courses, loisirs, sports (www.haras-nationaux.fr). On trouve également dans les métiers du cheval les vétérinaires spécialisés ainsi que les maréchaux-ferrants. De plus, la France est un pays reconnu pour son activité d'élevage avec une production de chevaux de concours de très grande qualité.

Récemment, plusieurs études relatant les expositions professionnelles à la poussière des écuries ont paru dans les journaux scientifiques. Les résultats montrent que la poussière issue des écuries contient, entre autres, des concentrations relativement élevées d'endotoxines⁽¹⁾ et de $\beta(1-3)$ -glucan⁽²⁾ pouvant avoir des conséquences sur la santé respiratoire des travailleurs. En effet, des études précédentes ont montré que le fait de travailler ou de côtoyer des chevaux était associé avec une augmentation des risques de problèmes des voies respiratoires supérieures tels que des irritations du nez, de la toux (sèche et productive), de l'asthme, des bronchites chroniques et des épisodes d'« organic dust toxic syndrome⁽³⁾ » (Gallagher *et al.*, 2007; Mazan *et al.*, 2009).

Exposition à la poussière inhalable, aux endotoxines, aux bêta(1-3)-glucans et aux micro-organismes aéroportés dans les écuries

Analyse

Cette étude réalisée en Hollande par Samadi *et al.* (2009) a pour but d'évaluer les concentrations en poussière inhalable, endotoxines, $\beta(1-3)$ -glucan et bactéries cultivables aéroportées dans 4 écuries abritant chacune entre 4 et 50 boxes individuels et dans une forge. Des prélèvements d'air ont été effectués au printemps sur une période d'une semaine et à différentes périodes de la journée (matin, après-midi et soir), reflétant ainsi l'exposition spécifique à certaines tâches. En tout, 95 échantillons ont été analysés pour la poussière inhalable, 91 pour les endotoxines et 90 pour les $\beta(1-3)$ -glucans. Parmi ces échantillons, 42 ont été faits en prélèvements personnels (effectués dans la zone de respiration) sur les palefreniers de deux écuries (35 prélèvements dans une écurie, 3 dans l'autre et 4 dans la forge lors du ferrage des chevaux), 32 en prélèvements stationnaires dans les 4 écuries avec une grande majorité des prélèvements effectués que dans une écurie (25 prélèvements de la même écurie) et 21 dans la zone des naseaux des chevaux.

Les principaux résultats montrent que la moyenne de l'exposition personnelle des palefreniers est de 1,4 mg de poussière inhalable, 608 unités d'endotoxines et 9,5 μ g de $\beta(1-3)$ -glucans par m³ d'air. Les activités du matin et tout particulièrement l'activité de

balayage des sols génèrent significativement plus de poussières, d'endotoxines et de $\beta(1-3)$ -glucans que les activités de l'après-midi et du soir. L'exposition aux $\beta(1-3)$ -glucans et aux endotoxines dans la zone de respiration des chevaux est très élevée lors du fourrage. Lorsque l'on regarde en détail les résultats, il apparaît que l'exposition personnelle à la poussière ne dépasse jamais la norme hollandaise en vigueur (10 mg/m³), alors que 85,7 % des échantillons sont au-dessus de la norme proposée pour les endotoxines (200 unités). Les valeurs pour les $\beta(1-3)$ -glucans sont difficilement interprétables car il n'existe aucune recommandation à leur sujet. Les résultats des concentrations en bactéries et champignons aéroportés cultivables sont moins préoccupants puisqu'ils atteignent, en moyenne, des niveaux jugés acceptables (respectivement 3 100 et 1 900 unités formant colonie/m³). Aucune différence significative n'est observée entre les différentes périodes de la journée.

Commentaire

Cet article (Samadi *et al.*, 2009) très intéressant montre de manière indéniable que l'exposition aux endotoxines est très élevée dans les écuries investiguées. Cependant, l'étude souffre de quelques faiblesses : le texte ne précise pas si les 4 écuries investiguées appartiennent à une même structure équestre ou si elles proviennent de lieux géographiquement distincts. En outre, très peu de détails sont donnés concernant l'activité de cette ou ces structures équestres (centre de loisirs, centre vétérinaire, autres?).

Ceci est important pour savoir si les résultats sont représentatifs d'une structure équestre ou s'ils peuvent être généralisés à plusieurs structures. Il aurait aussi été souhaitable de connaître la manière dont sont nourris les chevaux et avec quel type de nourriture, puisqu'apparemment le fourrage des bêtes génère beaucoup de poussière comme l'attestent les mesures d'endotoxines faites dans la zone de respiration des animaux. Il serait aussi intéressant de voir l'évolution des concentrations de bioaérosols au cours des saisons. Un gros effort d'échantillonnage a été fait dans 1 seule des 4 écuries. Ce déséquilibre limite fortement la généralisation potentielle des résultats. Cette étude doit être considérée comme une première évaluation des dangers d'exposition aux bioaérosols des personnes impliquées dans l'entretien et la fréquentation des écuries.

Influence de l'environnement des écuries de chevaux sur les voies respiratoires des Hommes

Analyse

Contrairement à l'article précédent, cette étude de *Elfman et al. (2009)* faite en Suède, ne se limite pas à une mesure de la qualité microbiologique de l'air mais associe aussi des investigations médicales de 13 palefreniers d'une même structure équestre à 3 périodes différentes de l'année (février et septembre 2004 et mars 2005). L'écurie abrite 18 chevaux en stalles individuelles. Les prélèvements stationnaires d'air ont tous été faits durant la matinée à trois endroits de l'allée centrale. Les paramètres suivants ont été mesurés : bactéries et champignons aéroportés totaux (par comptage microscopique), $\beta(1-3)$ -glucans, endotoxines, allergènes équins (dosés par test ELISA⁽⁴⁾), ammoniac et hydrogène sulfuré. La poussière totale et inhalable a été mesurée à l'aide de prélèvements personnels sur les palefreniers.

L'estimation des effets sur la santé a été faite par le biais d'un questionnaire axé sur les problèmes respiratoires, par le dosage, dans le liquide de lavage nasal des marqueurs biologiques d'inflammation suivant : ECP⁽⁵⁾, MPO⁽⁶⁾, lysozyme⁽⁷⁾ et albumine. D'autre part, des spirométries⁽⁸⁾ ont été réalisées 1 à 3 fois par jour durant 1 à 4 semaines sur 11 palefreniers. Seul 1 palefrenier a participé aux tests des trois périodes différentes.

Les résultats donnés sont tous des résultats descriptifs. Dès lors, la notion d'augmentation ou diminution des concentrations est très subjective et il est impossible de savoir si ces différences de concentrations sont significatives. Cependant, les résultats les plus intéressants sont les suivants : la concentration moyenne hivernale d'endotoxines lorsque l'écurie n'est pas aérée est de 310 unités/m³ (31 ng/m³) et cette valeur descend à 50 unités (5 ng/m³) lorsque les portes sont ouvertes. En automne, avec les portes ouvertes, le niveau moyen d'endotoxines est de 150 unités (15 ng/m³). Les concentrations moyennes en $\beta(1-3)$ -glucans varient de 0,3 à 0,02 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ et la concentration en allergènes atteint sa valeur la plus élevée en hiver avec 18 300 unités/m³. Les concentrations

de bactéries et champignons aéroportés totaux (cultivables et non cultivables) sont respectivement d'environ 50x10⁵ et 10x10⁵ en automne et 20x10⁵ et 15x10⁵ unités formant colonies/m³ au printemps.

Pour ce qui concerne les données médicales, hélas il manque beaucoup de détails (sur la population de comparaison, sur les normes biologiques, sur les effets pour la santé, sur l'influence du sexe et de la fumée) et les résultats sont très difficilement interprétables. Cependant, il ressort que 2 marqueurs biologiques (MPO et lysozymes) semblent être augmentés chez 9 palefreniers et que ces marqueurs indiquent respectivement une augmentation de l'activité granulocytaire et une augmentation des sécrétions nasales.

Commentaire

Le fait de n'avoir investigué qu'une écurie limite à nouveau la généralisation des résultats. De plus, le nombre de prélèvements lors des 3 périodes d'échantillonnage n'est pas précisé. Bien que les résultats soient limités au cas bien spécifique d'une structure équestre, il est intéressant d'avoir les résultats météorologiques pour les différentes saisons, mais le problème majeur dans l'interprétation des résultats est qu'ils ne sont jamais validés par des tests statistiques. Ainsi, il est impossible de savoir si les différences des taux d'exposition signalées sont significatives. De même, il est précisé que certains marqueurs biologiques sont augmentés, mais la signification de cette augmentation et ses conséquences ne sont jamais évoquées. Les résultats microbiologiques ne sont pas comparables avec ceux de l'étude précédente car nous ne savons pas quelle est la proportion de germes cultivables parmi les germes totaux identifiés par dénombrements microscopiques.

L'analyse des données médicales est très succincte, rien n'est dit sur le contenu et les résultats du questionnaire. Le fait que seul 1 palefrenier a subi les tests biologiques à trois reprises limite aussi grandement la possibilité de généraliser les résultats. Rien n'est précisé sur les raisons qui ont poussé les 12 autres palefreniers à quitter leur emploi (effet du travailleur sain ?). Aucun commentaire n'est fait sur la signification de la concentration en allergènes.

Les résultats disponibles dans les annexes sont des résultats bruts, sans aucune explication et donc totalement inutiles. Ceci est dommage car il aurait été très intéressant d'exploiter davantage ces données et de les discuter de façon plus détaillée. Mais il ressort tout de même de cette étude que l'exposition aux endotoxines est importante et qu'il y a une variation saisonnière probable.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Jusqu'à présent, l'exposition à la poussière organique et ses effets sur la santé des travailleurs était bien documentée pour les élevages d'animaux de rente, notamment la volaille et les porcs. Pratiquement toutes les études sur l'exposition à la poussière dans les écuries provenaient d'études de médecine vétérinaire et étaient ciblées sur la santé des chevaux, qui apparemment souffrent aussi beaucoup de problèmes respiratoires liés à la présence d'endotoxines aéroportées. Ces deux études, bien que restreintes à très peu d'échantillonnages apportent donc de nouvelles données concernant le risque pour la santé des personnes travaillant avec les chevaux et mettent en évidence que les milieux aériens des écuries contiennent des quantités non négligeables de bioaérosols, en particulier des endotoxines connues pour leurs effets aigus tels que l'« organic dust toxic syndrom » et/ou chroniques tels qu'une altération des fonctions pulmonaires.

Des mesures de prévention assez simples pourraient être prises afin de diminuer la génération de poussière. Par exemple, lors du balayage des écuries, une humidification des sols éviterait la mise en suspension de poussières. L'utilisation de nourriture céréalière sous forme de pelletes ou flocons avec une humidification du foin distribué aux animaux diminuerait aussi fortement la poussière émise avec du foin sec et avec des céréales brutes. Le choix d'une litière dégageant peu de poussière et une bonne aération des locaux participeraient aussi à l'amélioration du taux d'empoussièrement des écuries. De plus, des études de plus grande envergure sont encore nécessaires afin de caractériser plus précisément les risques pour la santé et pour pouvoir généraliser les conclusions de ces études. Les influences du type de nourriture, du type de litière, du type de ventilation, de la manière dont sont soignés les animaux (brossage à la main ou à l'aspirateur) devraient notamment être testées.

Lexique

- (1) Endotoxine: ce sont des substances toxiques. Elles font partie de la membrane des bactéries Gram-négatives. Elles sont constituées de protéines, lipides et lipopolysaccharides (LPS, dont le lipide A principal responsable de la toxicité). Ces LPS sont responsables de la plupart des effets biologiques des endotoxines, notamment de la propriété immunogène (faculté d'être reconnu comme étranger par l'organisme, et de provoquer une réaction immunitaire). D'autre part, les endotoxines sont très connues pour leurs effets pyrogéniques (provoquant de la fièvre). Les endotoxines sont libérées lors de la multiplication des bactéries et lors de leur lyse. Une simple stérilisation qui tue les bactéries laissera intactes les endotoxines.
- (2) $\beta(1-3)$ -glucan: ce sont des polysaccharides présents dans les parois des plantes et de certains champignons et bactéries susceptibles d'engendrer une inflammation des voies respiratoires.
- (3) Organic dust toxic syndrome: ce syndrome de poussière organique toxique est caractérisé par l'apparition de symptômes grippaux de courte durée (fièvre, toux, douleurs musculaires) environ 24 heures après une exposition aux endotoxines.
- (4) ELISA: ELISA est l'acronyme d'un examen de laboratoire appelé (en anglais) Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay. C'est une technique biochimique, principalement utilisée en immunologie, mais pas uniquement, afin de détecter la présence d'un anticorps ou d'un antigène dans un échantillon.
- (5) ECP: la protéine cationique des éosinophiles (eosinophil cationic protein: ECP) est une protéine cytotoxique libérée par les granules intracytoplasmiques des polynucléaires éosinophiles activés dans la phase retardée de l'asthme. La concentration de l'ECP dans le sérum est un excellent reflet de l'inflammation bronchique lors d'une exposition allergénique, même en l'absence de signes cliniques. Dans l'asthme, elle permet de surveiller l'efficacité d'un traitement anti-inflammatoire, d'adapter sa posologie et de vérifier l'observance du patient, en complément des explorations fonctionnelles respiratoires.
- (6) MPO: la myéloperoxydase (MPO) est une enzyme hémique présente en concentrations importantes dans les granules primaires des cellules polymorphonucléaires neutrophiles. Les concentrations anormalement élevées en MPO dans le plasma, dans les liquides biologiques et dans les tissus indiquent une activation importante ou excessive des neutrophiles.
- (7) Lysozyme: le lysozyme est une hydrolase acide sécrétée par les granulocytes et les monocytes. Elle détruit la paroi bactérienne en catalysant l'hydrolyse des glycosaminoglycane la constituant. Cette propriété a incité certains auteurs à la qualifier d'antibiotique corporel.
- (8) Spirométrie: la spirométrie est un test médical pour contrôler la fonction ventilatoire des poumons. Elle est basée sur la mesure des volumes mobilisables et des débits. C'est une mesure dynamique effectuée au cours du temps grâce aux variations de volumes respiratoires mesurées à la bouche à l'aide d'un appareil appelé spiromètre. L'analyse de la courbe volume en fonction du temps obtenu permet la détermination de nombreux indicateurs fondamentaux. La spirométrie mesure entre autre la Capacité Vitale Forcée (CVF).

Publications analysées

Elfman L, Riihimäki M, Pringle J et al. Influence of horse stable environment on human airways. *J. Occup. Med. Toxicol.* 2009; 4:10. <http://www.occup-med.com/content/4/1/10>.

Samadi S, Wouters IM, Houben R et al. Exposure to inhalable dust, endotoxins, beta(1->3)-glucans, and airborne microorganisms in horse stables. *Ann. Occup. Hyg.* 2009; 53(6):595-603.

Publications de référence

Gallagher LM, Crane J, Fitzharris P et al. Occupational respiratory health of New Zealand horse trainers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 2007; 80(4):335-41.

Mazan MR, Svatek J, Maranda L et al. Questionnaire assessment of airway disease symptoms in equine barn personnel. *Occup. Med.(Lond).* 2009; 59(4):220-5.

Publications non sélectionnées

Dungan RS, Leytem AB. The effect of extraction, storage, and analysis techniques on the measurement of airborne endotoxin from a large dairy. *Aerobiologia.* 2009; 25(4):265-73.

Étude importante pour la méthodologie de l'analyse des endotoxines et de l'effet du délai de l'adjonction du dernier réactif le plus souvent utilisé.

Dungan RS, Leytem AB. Qualitative and quantitative methodologies for determination of airborne microorganisms at concentrated animal-feeding operations. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2009; 25(9):1505-18.

Très bonne revue sur les aspects techniques et méthodologiques de métrologie des bioaérosols.

Fallschissel K, Kämpfer P, Jäckel U. Direct detection of salmonella cells in the air of livestock stables by real-time PCR. *Ann. Occup. Hyg.* 2009; 53(8):859-68.

Étude intéressante montrant l'utilité des nouvelles méthodes de biologie moléculaire pour identifier des micro-organismes spécifiques dans l'air des élevages d'animaux.

Hessel EF, Garlipp F, Van den Weghe HFA. Generation of airborne particles from horses feeds depending on type and processing. *J. Equine Vet. Sci.* 2009; 29(9):665-74.

Cette étude très intéressante dans le contexte des facteurs d'empoussièrement des écuries montre que certains types de fourrage, notamment les flocons de céréales génèrent nettement moins de poussières que les céréales brutes non lavées.

Kaarakainen P, Rintala H, Vepsäläinen A et al. Microbial content of house dust samples determined with qPCR. *Sci. Total Environ.* 2009; 407(16):4673-80.

Encore une étude dédiée à l'utilisation des méthodes moléculaires pour quantifier les champignons dans la poussière.

O'Shaughnessy PT, Donham KJ, Peters TM et al. A task-specific assessment of Swine worker exposure to airborne dust. *J. Occup. Environ. Hyg.* 2010; 7(1):7-13.

Étude montrant les différences d'exposition à la poussière selon le type d'activité professionnelle et les saisons.

Rimac D, Macan J, Varnai VM et al. Exposure to poultry dust and health effects in poultry workers: impact of mould and mite allergens. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 2010; 83(1):9-19.

Étude qui mesure les taux de poussières, d'endotoxines et d'allergènes d'acariens dans les élevages de poulets, la mesure d'allergène d'acariens est assez nouvelle pour cette branche de travail.

Sikkeland LIB, Eduard W, Stangeland AM et al. Occupational exposure to bacterial single cell protein induces inflammation in lung and blood. *Inhal. Toxicol.* 2009; 21(8):674-81.

Article intéressant mais pas en rapport avec la présente note d'actualité scientifique.

Zhong Z, Chai T, Duan H et al. REP-PCR tracking of the origin and spread of airborne *Staphylococcus aureus* in and around chicken house. *Indoor Air.* 2009; 19(6):511-6.

*Étude novatrice, utilisant le génotypage des *Staphylococcus aureus* pour détecter leur source d'émission.*

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Bioaerosol, Endotoxin, Horse stable, Occupational health, Organic dust.