

Exposition aéroportée aux endotoxines : caractérisation de la réponse inflammatoire et influence des facteurs génétiques

Période de veille : septembre 2011 à décembre 2011

Anne OPPLIGER et Frédéric MASCLAUX

Institut universitaire romand de Santé au Travail, Université de Lausanne et Genève – Groupe des risques biologiques – Lausanne

Mots clés : Endotoxine, Réponse inflammatoire pulmonaire, Santé au travail, Station d'épuration des eaux usées

L'exposition aux endotoxines, notamment par voie intraveineuse, peut provoquer un syndrome de détresse respiratoire aigu, en raison des fortes réactions inflammatoires qu'elles initient. Paradoxalement, il a aussi été montré que l'exposition aux endotoxines pouvait avoir un rôle bénéfique sur les maladies de type allergique avec prédisposition génétique (atopie), notamment lorsque l'exposition a eu lieu pendant l'enfance. Les travailleurs du monde agricole peuvent être exposés à de très fortes quantités inhalables d'endotoxines, 100 à 10 000 fois plus que les quantités observées dans des habitations. Les études épidémiologiques ont montré que les travailleurs agricoles exposés avaient un risque élevé de développer des maladies respiratoires. Cependant, beaucoup de ces travailleurs ne présentent pas de réduction de leurs capacités respiratoires, ce qui suggère l'existence d'une grande variabilité de sensibilité entre les individus. Le rôle des facteurs génétiques dans l'apparition ou non de certains symptômes suite à une exposition aux endotoxines est mal connu, en milieu professionnel. C'est cette problématique qui est abordée dans le premier article proposé.

Le second article concerne la caractérisation de la réponse inflammatoire aux particules aéroportées chez les travailleurs de stations d'épuration des eaux usées (STEP). Dans cet article, les auteurs ont utilisé une méthode relativement nouvelle pour mesurer les effets (l'activité) des endotoxines, entre autres, sur les personnes exposées. Cette nouvelle façon de caractériser l'exposition aux endotoxines, par le biais de la réponse physiologique est prometteuse. Auparavant, la grande majorité des études faites sur les liens entre l'exposition aux poussières organiques et/ou endotoxines et les symptômes médicaux utilisaient la métrologie aérienne pour estimer le risque pour la santé. Lorsque l'on sait que la réponse à ce type d'exposition dépend beaucoup de la susceptibilité individuelle des personnes (voir premier article discuté), l'utilisation d'une méthode qui permet d'estimer directement les effets de la nuisance sur les personnes semble être beaucoup plus pertinente même si sa mise en œuvre est plus délicate à réaliser que la métrologie classique.

Exposition aux endotoxines, CD14 et respiration sifflante chez les agriculteurs : une interaction gène-environnement

Smit LA, Heederik D, Doekes G, Koppelman GH, Bottema RW, Postma DS, Wouters IM. Endotoxin exposure, CD14 and wheeze among farmers: a gene-environment interaction. *Occup Environ Med.* 2011; 68: 826-831.

Résumé

Smit *et al.* (2011) ont étudié une population initiale de 408 travailleurs néerlandais du monde agricole (agriculteurs et personnels du traitement industriel de produits agricoles) qui sont exposés aux endotoxines. Leur objectif était de déterminer si la variabilité génétique pouvait modifier la susceptibilité de ces travailleurs aux endotoxines. Les travailleurs ont été soumis à des tests respiratoires (spirométrie), à des questionnaires sur leurs symptômes respiratoires et parfois (chez 198), leur niveau d'exposition aux endotoxines dans l'air a été mesuré. De plus, pour chacun de ces travailleurs, plusieurs gènes impliqués dans la reconnaissance des endotoxines (CD14 et MD2) ont été génotypés

à des positions variables (polymorphisme d'un seul nucléotide ou SNP pour *single-nucleotide polymorphism*). Les auteurs ont trouvé que l'association entre l'exposition aux endotoxines et le sifflement respiratoire était modifié par le polymorphisme de 3 positions du gène CD14 et une position du gène MD2. Par exemple, pour la position nucléotidique -260 du gène CD14, 82 % de la population de travailleurs étudiée est porteuse du génotype CC (homozygote) ou CT (hétérozygote) et 18 % du génotype TT (homozygote). Les porteurs du génotype CC ou CT présentent une prévalence de sifflement respiratoire qui augmente avec le niveau d'exposition aux endotoxines. Les porteurs de l'allèle minoritaire à la position -260 (génotype TT) présentent le phénomène inverse : la prévalence de sifflement respiratoire diminue avec le niveau d'exposition aux endotoxines, même en considérant des concentrations très élevées en endotoxines. Les auteurs ont aussi montré que le polymorphisme du gène CD14 a également un effet marginal sur l'association entre l'exposition aux endotoxines et le « volume expiratoire forcé durant la première seconde » (VEMS).

Commentaire

Ces données sont en accord avec les travaux précédemment publiés sur la susceptibilité des individus aux endotoxines et le polymorphisme nucléotidique de gènes comme CD14 (LeVan *et al.*, 2005). Cette étude est originale car elle révèle que le polymorphisme des gènes CD14 et MD2 modifie l'association entre le sifflement respiratoire et l'exposition aux endotoxines dans une population de travailleurs agricoles qui sont potentiellement exposés à de fortes concentrations en endotoxines. Les résultats pourraient être consolidés avec une population de travailleurs plus importante car la taille de la population étudiée dans cette étude est plutôt faible, ce que les auteurs reconnaissent eux-mêmes. Cependant, leurs résultats mettent en évidence que la susceptibilité aux endotoxines des travailleurs agricoles est dépendante de leur patrimoine génétique.

Caractérisation de particules biologiques aéroportées dans les stations d'épuration des eaux usées et réponse inflammatoire

Gangamma S, Patil RS, Mukherji S. Characterization and proinflammatory response of airborne biological particles from wastewater treatment plants. *Environ Sci Technol.* 2011; 45: 3282-3287.

Résumé

Cette étude a été menée en Inde en 2009 dans 6 Stations d'Épuration des eaux usées (STEP). 63 prélèvements de particules aéroportées ont été faits à l'aide d'un barboteur⁽²⁾ permettant de collecter les bactéries et leurs dérivés, les endotoxines, dans une suspension liquide. Ces prélèvements ont été faits sur le site de chaque STEP, à différents endroits, notamment près des sources de contamination (vers le dégrillage⁽³⁾, ainsi que vers le lagunage⁽⁴⁾), mais aussi dans les bureaux du personnel qui sont éloignés des sources de contaminations majeures. L'étude ne précise pas si les prélèvements dans chaque STEP ont été faits le même jour ou étaient étalés sur plusieurs jours.

Le but de l'étude était de mesurer la concentration en endotoxines de ces prélèvements, de compter et d'identifier les bactéries ainsi que de mesurer la réponse inflammatoire induite par les poussières aéroportées récoltées dans l'eau des barboteurs. Cette mesure de la réponse inflammatoire s'est faite *in vitro* pour 25 échantillons, en utilisant un essai au sang complet qui consiste à mettre en présence le sang d'un donneur avec le liquide collecté dans le barboteur afin, ensuite, de doser les facteurs de nécrose tumorale (TNF- α) qui sont un groupe de cytokines⁽⁵⁾ sécrétées par certains globules blancs lors de réactions inflammatoires. Les concentrations de TNF- α obtenues sont ainsi corrélées à l'intensité de la réponse inflammatoire induite par les poussières organiques présentes dans l'air. Dans un deuxième temps, les mêmes 25 échantillons ont été analysés à nouveau mais en inhibant l'activité des endotoxines par l'ajout de sulfate de polymixine B. La proportion de la réponse inflammatoire attribuée aux endotoxines a ainsi pu être établie.

Les résultats montrent que les niveaux d'exposition aux endotoxines sont assez élevés puisqu'environ 50 % des prélèvements ont des valeurs de plus de 50 Unités d'Endotoxines

(UE) avec un peu plus de 20 % dépassant les 200 UE. Les échantillons de poussières collectées près des sources de contamination montrent une induction de TNF- α quatre fois plus élevée que les échantillons collectés dans les bureaux. Les concentrations de ces TNF- α sont aussi corrélées positivement avec les concentrations en endotoxines mesurées aux mêmes endroits.

Les analyses bactériologiques montrent une prédominance de bactéries gram positif (67 à 90 % des bactéries cultivables) avec *Bacillus* sp présent dans 63 % des échantillons et *Micrococcus* sp présent dans 8 % des échantillons. Les bactéries gram négatif sont représentées surtout par des entérobactéries (86 à 94 % des bactéries gram négatif) avec *Escherichia coli* présent dans 17 % des échantillons. Ces trois espèces dominantes se retrouvent aussi bien dans l'air à proximité des sources de contamination que dans les bureaux.

Commentaire

Le titre de cet article laissait présager qu'il porterait principalement sur les mesures de l'activité biologique des endotoxines. Or, il s'avère que les résultats et la discussion sont axés principalement sur les communautés bactériennes rencontrées dans les STEP. Le lien entre la composition de ces communautés bactériennes et leur rôle dans l'induction de réponses inflammatoires n'est pas du tout abordé. Pour les résultats de l'activité biologique, il n'y a pas de données sur les réponses inflammatoires induites par les échantillons où les endotoxines ont été inhibées. Les auteurs signalent juste que la réduction des TNF- α est plus grande que celle attendue et suggèrent que les endotoxines peuvent agir comme des adjuvants sans donner davantage d'explications.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Bien que le lecteur reste un peu sur sa faim avec le deuxième article, il est très intéressant de mettre en parallèle ces deux articles très complémentaires. En effet, la susceptibilité individuelle génétique des réponses physiologiques suite à une exposition aéroportée aux endotoxines montre que le dosage des endotoxines dans l'air est un indicateur très relatif des effets que ces endotoxines peuvent engendrer chez les personnes exposées. Dès lors, selon le principe de la surveillance biologique, il pourrait être plus utile de procéder à des estimations individuelles des effets des endotoxines sur la santé des travailleurs en confrontant leur sang avec les poussières aéroportées collectées dans leur environnement de travail afin de mesurer individuellement la réponse inflammatoire induite (ceci nécessitant d'être vérifié dans d'autres études...).

Lexique

- (1) Endotoxines : les endotoxines sont définies comme étant des composants de la paroi des bactéries Gram négatif qui sont libérées lors de la multiplication et la lyse (ou destruction) de ces bactéries. Les lipopolysaccharides, éléments biologiquement actifs de ces endotoxines, ont des actions sur le système immunitaire, la coagulation et l'inflammation (déf INRS, 2011).
- (2) Barboteur : en métrologie aéroportée, le barboteur ou impinger en anglais, est un vase qui contient un liquide à travers lequel on fait passer l'air à analyser. Les particules en suspension dans l'air sont ainsi piégées dans le liquide.
- (3) Dégrillage : le dégrillage est destiné à retenir les matières volumineuses et déchets de toutes sortes contenus dans les eaux usées. Il est situé généralement en amont d'une filière de traitement des eaux usées (wikipedia).
- (4) Lagunage : le lagunage est une technique biologique d'épuration des eaux usées, où le traitement est assuré par une combinaison de procédés aérobies et anaérobies impliquant un large éventail de micro-organismes (essentiellement des algues et des bactéries). Les mécanismes épuratoires et les micro-organismes qui y participent sont fondamentalement les mêmes que ceux responsables du phénomène d'autoépuration des lacs et des rivières (Wikipedia).
- (5) Cytokine : la cytokine est une glycoprotéine (en chimie : association d'un sucre et d'une protéine) sécrétée par les lymphocytes et les macrophages, qui sont les cellules de défense de l'organisme chargées d'absorber des particules étrangères. Les cytokines sont impliquées dans le développement et la régulation du système immunitaire.

Publications de référence

LeVan TD, Von Essen S, Romberg DJ et al. Polymorphisms in the CD14 gene associated with pulmonary function in farmers. *Am J Respir Crit Care Med.* 2005; 171: 773-779.

Gehin D, Le Bacle C. Documents pour le médecin du travail. Collection dossier médico-techniques. INRS, 2011.

Autres publications identifiées

Dungan RS, Leytem AB, Bjorneberg DL. Concentrations of airborne endotoxin and microorganisms at a 10'000-cow open-freestall dairy. *J Anim Sci.* 2011; 89: 3300-3309.

Dans cette étude, les auteurs ont mesuré les concentrations aéroportées en bactéries, champignons et endotoxines à 50 et 200 mètres autour d'installation de bovins en stabulation libre à ciel ouvert.

Cette étude est intéressante d'un point de vue santé publique, puisqu'elle montre que l'exposition aux bioaérosols autour des installations d'élevage intensif de bovins n'est pas négligeable et qu'elle dépend de facteurs climatiques et saisonniers.

Pankhurst LJ, Deacon LJ, Liu J et al. Spatial variations in airborne microorganisms and endotoxin concentrations at green waste composting facilities. *Int J Hyg Environ Health.* 2011; 214: 376-383. *Dans cette étude, les auteurs ont aussi mesuré les concentrations aéroportées en bactéries, champignons (Aspergillus fumigatus en particulier) et endotoxines à diverses distances autour d'installations de compostage de plein air. Les résultats montrent aussi que les concentrations en bioaérosols observées sont assez importantes.*

Le Goff O, Godon JJ, Steyer JP et al. New specific indicators for qPCR monitoring of airborne microorganisms emitted by composting plants. *Atmos Environ.* 2011; 45: 5342-5350.

Étude très intéressante, qui a mis en évidence des marqueurs aéroportés (deux types de bactéries et un groupe de champignons) de dissémination des bioaérosols dans les environnements naturels situés autour des stations de compostage.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Endotoxin, Farmers, Occupational health.