

Affections respiratoires non infectieuses professionnelles liées aux agents biologiques

Physiopathologie et réactions syndromiques

Des agents biologiques - bactéries, virus, champignons microscopiques (levures et moisissures) et parasites - sont présents au travail ou à l'occasion du travail dans de nombreux secteurs d'activité (encadré 1) et les risques infectieux ne sont pas les seuls risques liés à leur exposition. En effet, d'autres pathologies sont décrites, immunoallergiques, toxiques... Par ailleurs, certains agents biologiques ont un pouvoir cancérigène connu. L'objet de cette fiche est de faire le point des connaissances sur les pathologies allergiques et toxiques.

La survenue de pathologies respiratoires liées aux agents biologiques fait suite à leur pénétration dans l'organisme par voie respiratoire, l'agent biologique inhalé se trouvant sur des particules solides ou liquides dispersées dans l'air, l'ensemble constituant ce qu'on appelle un bioaérosol.

Les affections respiratoires non infectieuses d'origine professionnelle observées, sont :

- pour les pathologies immunoallergiques : des rhinites et asthmes et des pneumopathies d'hypersensibilité ;
- pour les affections toxiques : des symptômes respiratoires aigus non allergiques, peut-être la broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO), et le syndrome toxique des poussières organiques.

AGENTS BIOLOGIQUES EN CAUSE ET MÉCANISMES DE LEUR PATHOGÉNÉCITÉ

Parmi les agents biologiques, ceux qui sont responsables de ces affections sont :

- des champignons microscopiques, essentiellement des moisissures, à l'origine de pathologies respiratoires allergiques et intervenant dans des manifestations toxiques ;

Principales situations professionnelles comportant des risques d'exposition à des agents biologiques

D'après l'Agence européenne pour la sécurité et la santé au travail ()*

Tous les cas où les personnes sont en contact sur leur lieu de travail avec :

- des matériaux naturels ou organiques tels que de la terre, de l'argile, des végétaux (foin, paille, coton, etc.) ;
- des substances d'origine animale (laine, poils, etc.) ;
- de la nourriture ;
- des poussières organiques (exemples : farine, poussière de papier, particules animales) ;
- déchets, eaux usées ;
- sang et autres liquides organiques.

*D'après l'enquête SUMER 2003 (**)*

1. Activités avec « utilisation délibérée » d'agents biologiques (les agents biologiques sont à la base du processus) :

- laboratoires de recherche ou de développement utilisant des micro-organismes ;
- industries biotechnologiques (production) ;
- activités en milieu ouvert (technique de dépollution, extraction de minerais par lixiviation, récupération assistée du pétrole, utilisation phytosanitaire...).

2. Activités entraînant une « exposition potentielle » à des agents biologiques :

- travail en milieu de soins, en secteur social ou au contact d'un réservoir humain ;
- travail en contact d'un réservoir animal ;
- secteur professionnel de l'assainissement ;
- processus industriels associant production de poussières organiques et humidification ;
- secteur agroalimentaire ;
- maintenance et activités de nettoyage dans ces secteurs à risques.

(*) <http://agency.osha.eu.int/publications/magazine/6/fr/index.htm>

(**) Les résultats de l'enquête SUMER 2003 concernant l'exposition à des agents biologiques seront publiés dans un prochain numéro des Documents pour le Médecin du Travail.

ENCADRÉ 1

N. ROSENBERG (*)

(*) Consultation de pathologie professionnelle, Hôpital Fernand Widal, Paris, et ACMS, Paris.

- des bactéries responsables d'affections toxiques mais aussi de pathologies respiratoires allergiques.

De nombreuses activités professionnelles exposent à des quantités importantes de moisissures, de levures et de bactéries (encadré 2).

Les mécanismes de la pathogénicité respiratoire non infectieuse de ces agents biologiques chez l'homme sont variables [1].

Moisissures

Les moisissures entraînent des pathologies respiratoires diverses parmi lesquelles les manifestations aller-

giques occupent une place prépondérante ; rhinites, bronchites allergiques, asthmes, et alvéolites allergiques extrinsèques.

De plus, leurs membranes cellulaires sont riches en substances pro-inflammatoires proches des endotoxines bactériennes, tels l'ergostérol et les (1,3)- β -D-glucanes qui interviennent également dans la survenue de manifestations toxiques.

Enfin, les enzymes secrétées, les métabolites secondaires synthétisés par les moisissures telles les myco-toxines, tout comme les composés organiques volatils (COV) émis dans l'environnement sont des facteurs d'activation, voire d'aggravation de la réaction allergique.

ENCADRÉ 2

Principales activités professionnelles exposant à des quantités importantes de moisissures, de levures et de bactéries

Secteur des biotechnologies

De nombreux procédés utilisant moisissures, levures et bactéries sont exploités industriellement : production d'enzymes, d'acides organiques, de vitamines, dégradation des graisses et résidus pétroliers... À chaque fois, plus ou moins rapidement, des manifestations allergiques sont décrites parmi le personnel.

Milieu rural

La manipulation de végétaux contaminés à même le champ entraîne des manifestations de rhinites et d'asthmes en période de moisson ; après, c'est le stockage des récoltes humides, l'entreposage dans des granges insuffisamment ventilées qui favorisent la croissance d'autres espèces de moisissures et la pullulation bactérienne... Ainsi, de véritables brouillards de spores d'*Aspergillus fumigatus* mais aussi de bactéries gram négatif se dégagent de la moindre manipulation de foin moisi par les cultivateurs [1], sont inhalés et peuvent entraîner des pneumopathies d'hypersensibilité [2, 3] et des syndromes toxiques des poussières organiques [4].

Filière déchets

Les professions liées à la récupération des ordures stockées trop longtemps dans des bacs fermés et les professions liées à la production de compost [5] sont également exposées. Il peut résulter de ces activités de très fortes expositions à des moisissures (spores fongiques) et à des bactéries à spores (thermoactinomycètes), responsables de pathologies allergiques et toxiques. La manipulation manuelle des ordures domestiques peut être associée à des expositions à de grandes quantités de bactéries aérobies et à leurs endotoxines, susceptibles d'entraîner le même type de pathologie [6].

Culture des champignons

Les champignonnistes sont exposés à de très grandes quantités de spores émises par les champignons qu'ils cultivent et qui peuvent être à l'origine de pathologies allergiques. De plus, le substrat de culture peut être contaminé par diverses moisissures allergisantes.

Secteur agroalimentaire

Fromagerie

Les laveurs de fromage inhalent principalement des espèces du genre *Penicillium* variables selon les types de

fromages préparés (*P. casei*, *P. camembertii*, *P. roquefortii*), responsables de pathologies allergiques [6].

Le nettoyage des caves et autres lieux d'affinage ou de stockage associant humidité et température favorables, en particulier dans des installations non récentes, est une opération qui peut exposer les travailleurs à différentes espèces allergisantes, variables selon les productions, la région et la saison, responsables de pathologies allergiques [7].

Production de saucissons

Les ouvriers manipulant des saucissons traditionnels sont essentiellement exposés à *Penicillium nalgiovense* mais aussi à *P. chrysogenum*, *P. candidum*... [8], pour les saucissons type chorizo à *Monascus ruber*, à l'origine de pathologies allergiques [9].

Malterie

Les ouvriers dans les malteries sont exposés à *Aspergillus clavatus* [10].

Boulangerie

Dans les métiers de la boulangerie, les allergies liées à l'emploi d'enzymes en provenance de différentes moisissures sont bien connues : l' α -amylase produite par *Aspergillus oryzae* et employée pour faciliter la fermentation de la farine par la levure, la xylanase extraite d'*Aspergillus niger* qui hydrolyse l'hémicellulose et permet une levée plus rapide de la pâte et une amélioration de la qualité du pain [11]. Mais la responsabilité directe de certains agents biologiques appartenant aux genres *Aspergillus* et *Alternaria* et présents dans les locaux de travail a également été décrite dans la survenue de certains asthmes dans ces professions.

Travail dans des locaux climatisés

Certaines activités mettent en contact avec les systèmes de climatisation de locaux professionnels ; ces derniers, tout comme ceux d'habitation, peuvent disperser dans l'air des ateliers des allergènes provenant des réservoirs d'eau d'humidification, des circuits d'air, de filtres mal entretenus entraînant rhinites, asthmes et même pneumopathies d'hypersensibilité [12]. Les (1,3)- β -D-glucanes, composants de la paroi fongique, les endotoxines des bactéries gram négatif sont impliqués dans la survenue du syndrome toxique des poussières organiques [13]. Distinguer ces pathologies l'une de l'autre est parfois très difficile, voire impossible [14].

Bactéries

Les bactéries responsables de pathologies respiratoires allergiques sont des actinomycètes thermophiles, qui sont des bactéries gram positif, et des bactéries gram négatif telles *Erwinia herbicola*. Elles sont à l'origine de pneumopathies d'hypersensibilité, beaucoup plus rarement d'asthme, voire des deux affections intriquées.

Par ailleurs, les bactéries gram négatif, lors de la lyse de la cellule (mort cellulaire), libèrent de manière massive les lipopolysaccharides (LPS) constitutifs de leur membrane externe. La partie lipidique - le lipide A - correspond à l'endotoxine bactérienne considérée comme responsable de manifestations toxiques. Les LPS ont des propriétés adjuvantes et stimulantes de l'immunité, activent le système complémentaire et entraînent des phénomènes inflammatoires.

Les actinomycètes ne libèrent pas d'endotoxines mais les peptidoglycanes qui forment le squelette de leur paroi cellulaire ont des propriétés adjuvantes de l'immunité.

PATHOLOGIES IMMUNO-ALLERGIQUES

Rhinites et asthmes

Rhinites et asthmes sont observés surtout avec les moisissures lors de l'inhalation de spores fongiques et d'éléments mycéliens, émis dans l'air en quantité et plus rarement avec des bactéries (habituellement en association avec une pneumopathie d'hypersensibilité).

De mécanisme allergique, ces rhinites et asthmes font intervenir des IgE et ne diffèrent pas pour l'essentiel des asthmes non professionnels dus aux pneumallergènes communs de l'environnement.

La réaction entre l'antigène et les IgE spécifiques donne naissance à une cascade d'événements responsables de l'activation de cellules inflammatoires, au niveau de la muqueuse nasale dans la rhinite, au niveau des voies respiratoires dans l'asthme.

La responsabilité d'une moisissure donnée n'est pas toujours simple à mettre en évidence car elle nécessiterait de montrer sa présence dans l'atmosphère de travail, ce qui n'est pas d'une pratique courante (*encadré 3*). Sa responsabilité dans la pathologie observée est recherchée à l'aide de tests allergologiques spécifiques, cutanés ou sérologiques témoignant de la sensibilisation de l'organisme. Toutefois, seuls les tests d'exposition spécifiques, nasal en cas de rhinite, bronchique, pour l'asthme, permettent formellement de rapporter les manifestations cliniques à l'agent responsable.

Pneumopathies d'hypersensibilité

Physiopathologie [2]

Les antigènes susceptibles d'entraîner la survenue d'une pneumopathie d'hypersensibilité doivent répondre à certaines caractéristiques : être « respirables », c'est-à-dire de diamètre aérodynamique inférieur à cinq micromètres, être capables de fixer le complément et d'agir comme adjuvant pour initier la réponse immunologique.

Parmi les agents biologiques, ces propriétés sont le fait de micro-organismes bactériens et fongiques.

La physiopathologie fait intervenir une réaction immunologique de type III. En témoignent : les symptômes cliniques semi-retardés, la présence dans le sérum et le liquide de lavage bronchioalvéolaire (LBA) d'anticorps précipitants, la sécrétion locale de fractions du complément - C1q et C3 -, l'existence de complexes immuns et de facteurs chimiotactiques des polynucléaires neutrophiles. Les complexes immuns en activant les macrophages entraînent la sécrétion par ces derniers de cytokines pro-inflammatoires tels le TNF α et l'IL-1, facteurs d'inflammation pulmonaire qui interviennent dans la réaction granulomateuse.

Les réactions d'immunité cellulaire jouent un rôle essentiel. En effet, on observe expérimentalement l'absence ou la réduction considérable du développement de l'affection chez l'animal préalablement « traité » par un agent inhibiteur des réactions d'hypersensibilité cellulaire comme la cortisone ou la cyclosporine ou par thymectomie néonatale. Il en est de même, toujours chez l'animal, des transferts d'immunité à partir des lymphocytes sensibilisés.

Les réactions cellulaires qui aboutissent au granulome correspondent au schéma de la réaction d'hypersensibilité retardée : l'inhalation d'antigène entraîne un afflux de polynucléaires neutrophiles puis de lymphocytes. Les macrophages alvéolaires sont activés comme en témoignent les marqueurs d'activation et les molécules pro-inflammatoires telles que l'IL-8 et le TNF α qui peuvent être retrouvés dans le LBA. La lymphocytose est classiquement constituée de cellules CD8+ (suppresseurs/cytotoxiques) mais des données récentes montrent que l'étude des sous-populations lymphocytaires n'a pas de valeur diagnostique déterminante et que le rapport CD4/CD8 est souvent supérieur à 1 [16]. C'est, semble-t-il, l'absence de régulation du processus immunologique qui conduit à l'infiltration granulomateuse.

Réaction syndromique [17]

La **forme aiguë classique** se présente sous la forme d'un syndrome respiratoire pseudo-grippal qui associe

Échantillonnage et analyse des aérosols microbiens (*)

L'échantillonnage et l'analyse des bioaérosols sont effectués dans le but d'évaluer l'exposition des personnes aux agents biologiques, d'identifier des sources de contamination ou encore de vérifier l'efficacité de mesures correctives.

Plusieurs normes existent pour le mesurage des micro-organismes dans l'atmosphère des lieux de travail. Ainsi, la norme NF EN 13098 donne les recommandations pour le mesurage des micro-organismes dans l'air et la norme EN 14031 porte sur le mesurage des endotoxines. En pratique, une multitude de méthodes et d'appareils sont utilisables pour l'étude des bioaérosols mais la majorité d'entre eux n'est pas standardisée et leur caractérisation est souvent incomplète.

L'échantillonnage des aérosols biologiques est rigoureusement soumis aux principes physiques et aux bonnes pratiques qui sont appliqués à l'échantillonnage des aérosols non-biologiques. A ces principes s'appliquent des spécificités liées à la manipulation de matériel biologique (conditions aseptiques, prise en compte de la viabilité des agents biologiques...). Plusieurs méthodes et appareils permettent d'échantillonner les bioaérosols :

- l'échantillonnage par impaction consiste à aspirer l'air à travers une série d'orifices (grille) et à provoquer l'impaction des particules sur un support de collecte (généralement un milieu de culture gélosé) placé sur le trajet du flux d'air ;
- l'échantillonnage par filtration consiste à séparer les particules de l'air en les faisant passer à travers un média filtrant constitué de filtres capillaires (type membranes en polycarbonate) ou de filtres poreux (type filtres en fibres de verre) ;
- d'autres appareils d'échantillonnage comme les « impingers » ou le CIP 10-M permettent de collecter les micro-organismes dans un liquide.

L'analyse des échantillons est effectuée par les biais des méthodes utilisées classiquement en microbiologie. Parmi ces méthodes, on peut citer la microscopie à épifluorescence, la culture sur milieu gélosé ou encore les méthodes de la biologie moléculaire. D'autres méthodes permettent de doser des constituants cellulaires comme les endotoxines bactériennes ou les ergostérols fongiques. Ces méthodes d'analyse doivent être validées, compatibles avec les dispositifs d'échantillonnage employés et permettre d'atteindre les limites de détection et de quantification souhaitées.

Le mesurage des bioaérosols en routine se heurte toutefois à deux problèmes :

- d'une part, les méthodes de mesurages ne sont pas totalement caractérisées et un effort de standardisation est encore nécessaire pour pouvoir comparer les résultats obtenus par différents opérateurs avec une même technique ;
- d'autre part, l'absence de valeurs de référence rend délicate l'interprétation des résultats.

Dans ces conditions, des mesurages comparatifs (air intérieur-air extérieur, air de local à problème-air de local similaire sans problème...) devront être envisagés afin de faciliter l'interprétation des résultats.

Des rapprochements pourront être tentés avec les données publiées dans la littérature pour des activités similaires, en tenant compte de toutes les réserves listées ci-dessus sur les appareils et les méthodes non standardisés, ainsi que sur les variations saisonnières et géographiques tenant aux différences climatiques. En attendant la constitution éventuelle d'une base de données rassemblant, par secteur professionnel, les résultats des mesurages effectués dans différentes entreprises, la comparaison au sein de l'entreprise de résultats de mesurages répétés au fil du temps pourra également être envisagée.

(*) D'après : DUQUENNE P, GREFF-MIRGUET G - L'échantillonnage et l'analyse des aérosols microbiens. ND 2222. HST/CND, 2005, 198 : 23-28 (téléchargeable sur le site www.inrs.fr).

toux sèche, dyspnée d'intensité variable, fièvre, frissons, malaise général avec parfois myalgies, survenant de façon semi-retardée, soit 4 à 10 heures après le contact antigénique.

La **forme subaiguë** serait plus fréquente. La symptomatologie y est dominée par la dyspnée qui s'aggrave progressivement sur plusieurs semaines, la toux peut être productive et souvent les symptômes s'aggravent lors des contacts antigéniques. Il existe une atteinte de l'état général (anorexie, asthénie et amaigrissement) qui peut dominer le tableau clinique.

La présence de râles crépitants à l'auscultation pulmonaire est constante dans les formes aiguës et subaiguës.

Dans la **forme chronique**, le tableau clinique est peu évocateur. Dyspnée, toux, expectoration, oppression thoracique sifflante, altération de l'état général sont diversement associées. Seule la notion anamnesticque d'épisodes aigus ou subaigus, s'ils existent, oriente le diagnostic. Sinon, rien ne distingue ces symptômes des autres pneumopathies interstitielles chroniques fibrosantes avec dyspnée et syndrome restrictif, posant le problème du diagnostic étiologique d'une fibrose pulmonaire.

L'analyse de grandes séries de pneumopathies d'hy-persensibilité a toutefois montré que dans la maladie du poumon de fermier, la forme chronique de l'affection est en fait plus souvent une bronchopneumopathie chronique obstructive avec parfois emphysème dont les signes cliniques, fonctionnels et radiologiques peuvent simuler une maladie due au tabac.

Évolution

Dans la maladie du poumon de fermier, à la suite d'une maladie aiguë ou subaiguë, selon les séries, 1/3 à 2/3 des patients restent symptomatiques et 1/3 gardent une insuffisance respiratoire chronique séquellaire [18].

À l'heure actuelle, il n'y a pas, au moment du diagnostic, de facteur pronostic complètement fiable de l'évolution. Si le diagnostic est fait tôt et l'éviction de l'agent responsable réalisée rapidement, l'affection a toute chance de guérir sans séquelle. Toutefois, dans certains cas l'insuffisance respiratoire va survenir progressivement après un épisode aigu, surtout si l'exposition est poursuivie.

Ailleurs des récurrences fréquentes sont observées sans altération à long terme de la fonction respiratoire.

Les formes chroniques évoluent vers l'insuffisance respiratoire chronique grave et la mort dans une proportion non négligeable de cas. La corticothérapie per os améliore plus rapidement la fonction respiratoire en particulier la diffusion du CO dans les épisodes aigus mais n'a pas d'influence sur l'évolution à long terme.

Investigations complémentaires

Épreuves fonctionnelles respiratoires

Les épreuves fonctionnelles respiratoires (EFR avec spirométrie, volumes pulmonaires, diffusion du CO, gazométrie) montrent typiquement un syndrome restrictif avec altération de la diffusion du CO et hypoxémie de repos si l'affection est suffisamment évolutive. Sinon, les volumes pulmonaires, la spirométrie, sont normaux. L'hypoxémie à l'exercice puis l'altération du transfert du CO sont les signes les plus précoces.

Un syndrome obstructif concomitant peut parfois être observé, quand l'agent responsable de l'alvéolite entraîne en même temps un asthme ou encore parce que l'atteinte bronchiolaire est importante ce qui peut entraîner une obstruction bronchique distale et une augmentation du volume résiduel.

Dans les formes chroniques un tableau restrictif, obstructif ou mixte, peut prédominer.

La répétition des tests fonctionnels respiratoires est particulièrement intéressante pouvant montrer des variations des valeurs en situation d'exposition puis après éviction. De plus, elle peut mettre en évidence que des valeurs *a priori* normales sont en fait abaissées par rapport aux valeurs fonctionnelles antérieures du sujet avant qu'il ne soit atteint.

Radiographie pulmonaire

Elle est anormale dans 80 % des cas mais un cliché normal n'élimine pas le diagnostic [19]. Dans les formes aiguë et subaiguë, les images sont faites d'infiltrats interstitiels, micro-nodulaires avec ou sans réticulation et/ou d'opacités en verre dépoli, bilatérales péri-hilaires et basales.

Au stade chronique, les images radiographiques sont celles d'une fibrose pulmonaire ou d'un emphysème diffus.

Tomodensitométrie thoracique avec étude haute résolution

Elle est anormale dans tous les cas, quand la maladie est active.

L'aspect typique est celui d'infiltrats irréguliers en verre dépoli disposés typiquement en mosaïque dans les formes aiguës et subaiguës.

Dans les formes chroniques sont observées des opacités réticulaires, kystiques ou des images d'emphysème, associées à des zones de rétraction avec bronchectasies, déplacement des scissures et/ou des axes bronchovasculaires.

Fibroscopie bronchique et lavage bronchioloalvéolaire

L'aspect macroscopique à la fibroscopie est habituellement normal. Différents prélèvements bactériologiques sont réalisés sur les sécrétions bronchiques et le liquide de lavage. Le diagnostic différentiel des formes aiguës et subaiguës est en fait celui des pneumopathies atypiques (exemples : ornithose-psittacose chez les éleveurs d'oiseaux et en abattoir de volailles, infection à mycoplasmes, légionellose), de l'infection fongique invasive (exemples : aspergillose pulmonaire invasive), de la pneumonie à *Pneumocystis carinii*, des infections à mycobactéries.

L'étude du liquide de lavage bronchioloalvéolaire (LBA) est intéressante en pratique médicale courante : elle montre une augmentation de la cellularité, la plus grande augmentation étant celle des lymphocytes qui peuvent représenter jusqu'à 60 % des cellules (alvéolite lymphocytaire). Le nombre des macrophages alvéolaires est augmenté (bien que le pourcentage soit diminué). Les polynucléaires neutrophiles sont augmentés pendant quelques heures après le contact antigénique.

Les biopsies transbronchiques sont souvent décevantes, ne ramenant que rarement un échantillon de tissu pulmonaire porteur de lésions caractéristiques : infiltration interstitielle mononucléée et granulome.

Recherche d'anticorps précipitants

La recherche de précipitines sériques peut être faite par la méthode classique de double diffusion d'Ouchterlony. On préfère actuellement la technique ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) de plus grande sensibilité mais de moindre spécificité.

Il s'agit d'IgG spécifiques de l'antigène, présentes dans le sérum mais aussi dans le surnageant du liquide de LBA de la plupart des observations de pneumopathie d'hypersensibilité. Quand ces anticorps ne sont pas retrouvés - c'est le cas dans 1/3 des maladies du poumon de fermier -, il peut être envisagé que les antigènes employés ne soient pas les bons et que l'agent responsable soit un autre micro-organisme [17].

Par ailleurs, ces précipitines sont également retrouvées chez nombre de sujets exposés indemnes de tout symptôme clinique d'alvéolite (comme chez les ouvriers du bois) [20]. Ainsi la présence de précipitines dirigées contre *Saccharopolyspora rectivirgula* ou contre des antigènes aviaires a été retrouvée chez 10 % à 30 % de sujets asymptomatiques exposés au foin moisi ou aux pigeons [21 et 22, cités par Cormier, 23].

Test d'inhalation spécifique (test de provocation respiratoire)

C'est le meilleur moyen de montrer que l'affection est une alvéolite allergique et que l'antigène testé en est responsable.

Il peut être réalisé en milieu hospitalier, uniquement en cas de doute diagnostique ; toutefois il n'est pas recommandé, sa technique et ses résultats n'étant pas standardisés.

Sa positivité entraîne un syndrome grippal qui peut persister plusieurs jours. Des modifications des EFR, inconstamment retrouvées, peuvent y être associées.

Pour confirmer la positivité du test, deux solutions sont possibles :

- soit une procédure lourde avec fibroscopie bronchique et LBA à la recherche d'une réponse neutrophilique ;
- soit une procédure plus légère avec observation d'une polypnée et d'une fièvre associées à une modification de la formule sanguine associant neutrophilie et lymphopénie.

Au plan pratique

L'éviction totale et définitive de la source d'antigène reste l'attitude pratique de référence. Toutefois, dans la maladie du poumon de fermier, qui atteint des exploitants agricoles non salariés, le dogme de l'éviction antigénique totale et définitive, c'est à dire l'arrêt de la profession est désormais remis en cause [17].

En effet, plusieurs études concernant la maladie du poumon de fermier [21, 24] et celle des éleveurs d'oiseaux [25] ont montré que la poursuite de l'activité professionnelle était possible sans risque respiratoire significatif si on réaménageait les conditions de travail, c'est à dire en évitant à la personne atteinte les opérations de travail les plus exposantes et en instaurant le port d'une protection respiratoire adaptée lors des opérations de travail les plus « polluantes ».

AFFECTIONS TOXINIQUES

Manifestations bronchiques aiguës réversibles

Des épisodes de sibilances et des symptômes asthmatiformes liés à l'exposition professionnelle sont observés avec une fréquence élevée parmi les sujets professionnellement exposés aux poussières organiques (agriculteurs, éleveurs, industrie textile...). Ces manifestations sont actuellement considérées comme relevant de

mécanismes inflammatoires plutôt qu'allergiques et seraient dues aux toxines bactériennes et fongiques. En effet, on a montré que les endotoxines bactériennes étaient susceptibles d'entraîner une libération non IgE - dépendante d'histamine et de leucotriènes avec une relation de type dose-effet [26 et 27 cités par Dalphin, 28].

Broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO)

Un nombre élevé de bronchites chroniques et de syndromes obstructifs est rapporté dans de nombreuses études chez les fermiers et les éleveurs [18].

À côté des poussières de céréales, d'aliments pour animaux, de leurs déjections, des gaz et émanations du lisier et des désinfectants, les toxines des micro-organismes - endotoxines et mycotoxines - sont envisagées comme initiateurs potentiels du processus inflammatoire des voies aériennes périphériques conduisant à une maladie chronique des voies aériennes. Il a en effet été montré que les poussières de céréales, les poussières de porcheries et surtout les endotoxines et mycotoxines entraînaient par l'intermédiaire de cytokines un afflux de polynucléaires neutrophiles au niveau de la paroi bronchique [26 et 27 cités par Dalphin, 28].

La réponse inflammatoire peut conduire à des lésions fibreuses du parenchyme et des parois bronchiques et à de l'emphysème.

Syndrome toxique des poussières organiques ou Organic Dust Toxic Syndrom (ODTS) [29]

Physiopathologie

On s'accorde actuellement pour dire que l'affection est provoquée par les endotoxines des bactéries gram négatif dans la mesure où elles sont présentes en grande quantité dans l'environnement de travail.

Les endotoxines sont des lipopolysaccharides (LPS) thermostables situés dans la membrane cellulaire de la bactérie. Ces LPS contiennent un lipide biologiquement actif - le lipide A - considéré comme responsable des effets pathogènes des endotoxines.

Les endotoxines sont mesurées par une technique biologique in vitro (test LAL : lysat d'améboocytes de limules). Son principe repose sur les propriétés coagulantes des LPS sur l'hémolymphe de *Limulus polyphemus*, communément appelé limule ou crabe en fer à cheval, exprimées, de préférence, en unités d'endotoxine/m³ (UE) ou en nanogrammes/m³ (ng/m³). Une UE équivaut

environ à 0,1 ng/m³ et dépend de l'activité de la variété d'endotoxine. Cette activité varie significativement selon les espèces (*encadré 4*) [30].

En agriculture, les genres bactériens concernés comprennent *Pseudomonas*, *Corynebacterium*, *Pasteurella*, *Bacillus*, *Vibrio* et *Enterobacter*. Les endotoxines sont présentes lors des procédés de travail générant un empoussièrément organique : élevage, stockage du grain, industrie du coton, préparation de la pomme de terre, industrie du lin, stockage du bois, industrie des déchets... Ailleurs, c'est la contamination importante d'un système de climatisation qui peut être mise en cause.

Une bronchoconstriction peut être observée à des taux d'endotoxines de 100-200 ng/m³ (ce qui est le cas dans la byssinose, atteinte pulmonaire après exposition aux poussières de coton) alors que, d'après la Commission internationale de santé au travail, le syndrome toxique des poussières organiques peut survenir avec des concentrations d'endotoxines de 1000-2000 ng/m³ [cité dans 1].

L'expérimentation a mis en évidence une synergie entre bactéries, spores fongiques et endotoxines dans l'évolution de l'affection [31]. Il n'est d'ailleurs pas toujours certain que les effets des endotoxines bactériennes soient la cause première de ce syndrome, les moisissures, les levures, et les poussières végétales pouvant également contribuer aux

réactions inflammatoires pulmonaires [32]. Ainsi, les (1,3)- β -D-glucanes des parois cellulaires des moisissures et de leurs spores, *in vitro*, activent les macrophages alvéolaires après interaction avec un récepteur spécifique, entraînant la libération d'IL-1 et de TNF [33].

D'autres substances produites par les agents biologiques peuvent par ailleurs être inflammatoires ou immunomodulatrices telles les exotoxines des bactéries gram positif et gram négatif, les phytotoxines, les protéines de stress, les superantigènes d'activation des cellules T...

Dans presque toutes les observations publiées, lorsqu'elles surviennent à l'occasion de la manipulation de poussières organiques, de très fortes concentrations d'endotoxines ont été rapportées ainsi que de très grandes quantités de bactéries et de spores fongiques, de l'ordre de 10¹⁰/m³. Une relation relativement étroite a été montrée entre les taux atmosphériques de bactéries gram négatif et d'endotoxines.

Dans les observations provenant de la contamination de systèmes de climatisation et d'humidification, l'exposition provient d'aérosols de gouttelettes libérés de réservoirs d'eau contaminée. Dans la fièvre des humidificateurs, les agents biologiques responsables sont différentes souches de bactéries gram négatif, telles *Pseudomonas*, ou encore d'autres micro-organismes [29].

ENCADRÉ 4

Technique de mesure des endotoxines : le test LAL [30]

Limulus polyphemus (*photos ci-contre*) est un arthropode marin de la classe des mérostomes, c'est-à-dire plus proche des araignées ou des scorpions que des crabes. Les limules sont des fossiles marins dont les ancêtres ont plus de 400 millions d'années et *Limulus polyphemus* est une des quatre espèces existant actuellement. Ces animaux ont un système circulatoire maintenant les organes dans le sang ou hémolymphe et les échanges s'y opèrent par diffusion. L'hémolymphe est composée de plasma contenant de l'oxygène transporté par l'hémocyanine - et non l'hémoglobine comme chez l'homme - et des cellules appelées amébocytes, de forme ovoïde, granulees et nucléées. Lors d'une agression, par exemple au contact des LPS des bactéries gram négatif, les amébocytes deviennent polylobulés, s'aggrègent et forment un caillot à l'endroit de l'agression. Ce phénomène de coagulation de l'hémolymphe de *Limulus polyphemus* est à la base du test au lysat d'amébocytes de limule (LAL) pour la détection *in vitro* des endotoxines bactériennes.

Le lysat est obtenu à partir des cellules circulantes de l'animal. Les endotoxines activent un système enzymatique qui va aboutir à la production de coaguline, de concentration proportionnelle à la quantité d'endotoxines.



Limulus polyphemus debout sur ses pattes et renversé sur le dos.



© INRS

inrs

Documents pour le Médecin du Travail
N° 102
2^e trimestre 2005

Réaction syndromique [29]

La symptomatologie, faite de réactions fébriles lors d'expositions à des poussières organiques ou à des bio-aérosols, est connue depuis des décennies. Elle est nommée différemment selon le lieu de travail où elle survient ou selon l'agent causal : fièvre des filatures de coton ou fièvre du lundi matin, fièvre des fermiers, fièvre des éleveurs de porcs, mycotoxicoïse lors d'un travail en présence de moisissures, fièvre des humidificateurs... En 1986, le terme de syndrome toxique des poussières organiques a été proposé et est depuis largement employé pour ce type de réactions dues aux poussières organiques. Le terme « fièvre d'inhalation » est une autre appellation mais celle-ci, plus générale, concerne également les fièvres résultant de l'inhalation de fumées métalliques et des produits de pyrolyse des plastiques.

La symptomatologie est maximale le premier jour de travail, lors de la reprise, après un week-end ou des vacances. Une « tolérance » semble s'installer avec la poursuite de l'exposition (fièvre du lundi matin...). La survenue est possible dès la première exposition, par exemple lors du nettoyage de silos à grains, de la manipulation de compost ou d'ordures, ou quand un système d'air conditionné est défectueux.

Quand la manipulation de matières organiques a donné lieu à ce syndrome, on retrouve très habituellement la notion de matières fortement moisies générant un empoussièrément visible à l'œil nu pouvant même gêner la visibilité... L'empoussièrément aérien d'origine bactérienne ou fongique est largement plus élevé que celui à l'origine de l'alvéolite allergique.

Le tableau clinique est celui d'un syndrome pseudo-grippal, associant frissons, fièvre et myalgies dans 70 à 95 % des cas.

Sensation d'oppression thoracique et toux sont présents chez la moitié des sujets atteints alors que céphalées et nausées sont ressentis par 1/3 d'entre eux. Des manifestations d'irritation du nez, des yeux ou de la gorge sont moins fréquentes. La présence de symptômes gastro-intestinaux est rare.

Les symptômes apparaissent 4 à 12 heures après le début de l'exposition et persistent rarement plus de un ou deux jours.

A l'examen clinique, la fièvre est élevée (38,5 à 40 °C), la fréquence respiratoire est augmentée et il existe avec évidence une gêne respiratoire à l'effort. Des râles crépitants des deux bases sont fréquemment entendus mais peuvent manquer. On ne retrouve, en principe, jamais de râles sibilants en dehors d'une obstruction bronchique préexistante.

La persistance d'une forte fièvre après 48 heures et des autres symptômes après 3 jours rend le diagnostic peu probable.

Le syndrome toxique des poussières organiques est une affection qui guérit habituellement spontanément en 36 à 48 heures, sans séquelle [34].

Il n'a jamais été rapporté d'évolution vers une fibrose pulmonaire mais la bronchite chronique est fréquente dans les secteurs d'activité où il y a une exposition importante aux poussières végétales et aux micro-organismes (ouvriers des silos, producteurs de lait, ouvriers des filatures) et dans les milieux riches en toxines bactériennes ou fongiques (éleveurs de porcs...). Il est vraisemblable que des concentrations élevées en « poussières totales » et en toxines microbiennes en sont responsables [28].

Investigations complémentaires

Épreuves fonctionnelles respiratoires

Aux EFR, la spirométrie est normale ou montre un syndrome restrictif modéré. La plupart des sujets atteints ont une légère réduction de la capacité pulmonaire totale (CPT) et de la diffusion du monoxyde de carbone (DLCO). Une hypoxémie est possible mais la plupart du temps la gazométrie de repos est normale.

Radiographie thoracique

Elle est habituellement normale mais de petits infiltrats irréguliers sont parfois présents pendant quelques jours. L'évolution vers un œdème aigu pulmonaire a été décrite. L'aspect tomodynamométrique n'est pas rapporté.

Bilan sanguin

Une hyperleucocytose modérée, à polynucléaires neutrophiles est habituelle pendant quelques jours avec une légère élévation de la vitesse de sédimentation alors que la CRP (C reactive protein) reste normale où s'élève légèrement.

Recherche d'anticorps précipitants

Ils sont par définition absents mais peuvent être détectés de façon co-incidente en cas d'exposition chronique aux allergènes organiques ; ainsi plus de 10 % des fermiers exposés aux allergènes de la ferme sont porteurs de précipitines sériques [35] et, si 10 à 40 % des sujets atteints de fièvre des humidificateurs ont des précipitines dirigées contre des antigènes microbiens [36, 37], c'est aussi le cas de très nombreux sujets exposés non symptomatiques [37].

Fibroscopie bronchique et lavage bronchiolo-alvéolaire

Dans les premiers jours qui suivent l'exposition, la cellularité du lavage bronchiolo-alvéolaire, réalisé par fibroscopie bronchique est augmentée, représentée surtout par des polynucléaires neutrophiles (40 à 60 %), avec moins de 10 % de lymphocytes. Après quelques jours, la cellularité diminue et le rapport cellulaire s'inverse avec une lymphocytose prédominante.

Lors de fortes expositions, le taux d'attaque ⁽¹⁾ est de l'ordre de 50 à 80 %. Lors d'expositions modérées, des

(1) Taux d'attaque : nombre de personnes présentant la maladie rapporté au nombre de personnes exposées.

individus isolés peuvent être atteints, illustrant l'importance de la susceptibilité individuelle.

Au plan pratique [29]

Il s'agit d'identifier l'environnement de travail en cause et de l'améliorer pour prévenir une récurrence des symptômes. Si c'est impossible on soustraira, bien sûr, le sujet à cet environnement : soit en modifiant la procédure de travail, soit par le port d'une protection respiratoire individuelle.

Lorsque l'affection, comme c'est le plus souvent le cas, survient lors de l'exposition aux poussières organiques (déchargement de foin moisi ou d'aliments pour bétail,

manipulation de foin moisi, de copeaux de bois ou de fruits...), des prélèvements environnementaux ne sont pas nécessaires dans la plupart des cas. Le port de protections respiratoires individuelles est indispensable.

Quand le syndrome toxique des poussières organiques est dû aux climatiseurs ou humidificateurs la logique voudrait qu'on puisse mesurer la teneur en bactéries, moisissures et endotoxines dans l'air des locaux et dans l'eau des réservoirs pour localiser la source de contamination. Les difficultés de ces mesurages et l'absence de normes de référence font que, dans un souci de rapport coût-efficacité, on choisit plutôt la simple inspection visuelle du système et son nettoyage après repérage des points critiques par des personnels correctement protégés, en particulier sur le plan respiratoire.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] DUTKIEWICZ J, OLENCZOCK SA, SORENSON WG, GERENCSEK VF ET AL. - Levels of bacteria, fungi, and endotoxin in bulk and aerosolized corn silage. *Appl Environ Microbiol*. 1989 ; 55 (5) : 1093-99.
- [2] DALPHIN JC - Alvéolite allergique extrinsèque. In: Vervloet D (ed), Magnan A (ed) - Traité d'allergologie. Paris : Flammarion Médecine-Sciences ; 2003 : 843-65, 1148 p.
- [3] SKORSKA C, MACKIEWICZ B, DUTKIEWICZ J, KRYSINSKA-TRACZYK E ET AL. - Effects of exposure to grain dust in Polish farmers: work-related symptoms and immunologic response to microbial antigens associated with dust. *Ann Agric Environ Med*. 1998 ; 5 (2) : 147-53.
- [4] VON ESSEN S, ROBBINS RA, THOMPSON AB, RENNARD SI - Organic dust toxic syndrome: an acute febrile reaction to organic dust exposure distinct from hypersensitivity pneumonitis. *J Toxicol Clin Toxicol*. 1990 ; 28 (4) : 389-420.
- [5] POULSEN OM, BREUM NO, EBBEHOJ N, HANSEN AM ET AL. - Sorting and recycling of domestic waste. Review of occupational health problems and their possible causes. *Sci Total Environ*. 1995 ; 168 (1) : 33-56.
- [6] GALLAND C, REYNAUD C, DE HALLER R, POLLA BS ET AL. - Maladie des laveurs de fromages. Une forme toujours actuelle d'alvéolite allergique extrinsèque en milieu rural. *Rev Mal Respir*. 1991 ; 8 (4) : 381-86.
- [7] CHAUMONT JP, SIMERAY J, MANDIN D, ADESSI B - Moisissures et allergies des professions agricoles et de l'agro-alimentaire. *Rev Fr Allergol Immunol Clin*. 2001 ; 41 (3) : 253-56.
- [8] ROUZAUD P, SOULAT JM, TRELA C, FRAYSSE P ET AL. - Symptoms and serum precipitins in workers exposed to dry sausage mould: consequences of exposure to sausage mould. *Int Arch Occup Environ Health*. 2001 ; 74 (5) : 371-74.
- [9] VANDENPLAS O, CAROYER JM, BINARD-VAN CANGH F, DELWICHE JP ET AL. - Occupational asthma caused by a natural food colorant derived from *Monascus ruber*. *J Allergy Clin Immunol*. 2000 ; 105 (6 Pt 1) : 1241-2.
- [10] RIDDLE HFV, CHANNELL S, BLYTH W, WEIR DM ET AL. - Allergic alveolitis in a maltworker. *Thorax*. 1968 ; 23 (3) : 271-80.
- [11] ROSENBERG N - Allergie respiratoire du boulanger. *Allergologie-pneumologie professionnelle TR 29. Doc Méd Trav*. 2002 ; 90 : 189-96.
- [12] WOODARD ED, FRIEDLANDER B, LESHER RJ, FONT W ET AL. - Outbreak of hypersensitivity pneumonitis in an industrial setting. *JAMA*. 1988 ; 259 (13) : 1965-9.
- [13] RYLANDER R, HAGLIND P - Airborne endotoxins and humidifier disease. *Clin Allergy*. 1984 ; 14 (1) : 109-12.
- [14] MAMOLEN M, LEWIS DM, BLANCHET MA, SATINK FJ ET AL. - Investigation of an outbreak of « humidifier fever » in a print shop. *Am J Ind Med*. 1993 ; 23 (3) : 483-90.
- [15] NOLARD N, BEGUIN H - Moisissures. In: Vervloet D (ed), Magnan A (ed) - Traité d'allergologie. Paris : Flammarion Médecine-Sciences ; 2003 : 441-61, 1148 p.
- [16] VERGNON JM, CAILLAUD D, MADROSZYK A, MELLONI B ET AL. - Alveolitis in hypersensitivity pneumonitis. *Eur Resp J*. 1998 ; 12 : 104S.
- [17] DALPHIN JC - La maladie du poumon de fermier. Nouveaux visages et concepts actuels. *Rev Fr Allergol Immunol Clin*. 2001 ; 41 (3) : 245-52.
- [18] Respiratory health hazards in agriculture. *Am J Respir Crit Care Med*. 1998 ; 158 (5 Pt 2) : S1-S76.
- [19] HODGSON MJ, PARKINSON DK, KARP F M - Chest X-rays in hypersensitivity pneumonitis: a metaanalysis of secular trend. *Am J Ind Med*. 1989 ; 16 (1) : 45-53.
- [20] MAIER A, BRONNER J, ORION B, WISSLER JC ET AL. - Bronchopneumopathies des ouvriers du bois et sensibilisation aux moisissures. *Rev Fr Allergol Immunol Clin*. 1981 ; 21 : 73-78.
- [21] CORMIER Y, BELANGER J - Long-term physiologic outcome after acute farmer's lung. *Chest*. 1985 ; 87 (6) : 796-800.
- [22] FINK JN, SCHLUETER DP, SOSMAN AJ, UNGER JF ET AL. - Clinical survey of pigeon breeders. *Chest*. 1972 ; 62 (3) : 277-81.
- [23] CORMIER Y - Hypersensitivity pneumonitis. In: Hendrick DJ (ed), Burge PS (ed), Beckett WS (ed), Chung A (ed) - Occupational disorders of the lung. Recognition, management and prevention. London: WB Saunders ; 2002 : 229-39, 652 p.
- [24] BOUCHARD S, MORIN F, BEDARD G, GAUTHIER J ET AL. - Farmer's lung and variables related to the decision to quit farming. *Am J Respir Crit Care Med*. 1995 ; 152 (3) : 997-1002.
- [25] BOURKE SJ, BANHAM SW, CARTER R, LYNCH P ET AL. - Longitudinal course of extrinsic allergic alveolitis in pigeon breeders. *Thorax*. 1989 ; 44 (5) : 415-18.
- [26] Causative Agents for Organic Dust Related Disease. Proceedings of an International Workshop. Skokloster, Sweden, April 6-9, 1992. *Am J Ind Med*. 1994 ; 25 (1) : 1-146.
- [27] CAILLAUD D, N'GUYEN L, PORTHUALT E, AIACHE JM - Les endotoxines en pathologie respiratoire agricole. Extrait de : 5es Journées parisiennes d'allergie. Paris, 9-11 janvier 1997. *Rev Fr Allergol Immunol Clin*. 1996 ; 36 (8) : 946-49.



- [28] DALPHIN JC - Pathologie respiratoire en milieu agricole. *Rev Prat.* 1998 ; 48 (12) : 1313-318.
- [29] IVERSEN M - Toxic pneumonitis : « organic » agents. In: Hendrick DJ (ed), Burge PS (ed), Beckett WS (ed), Churg A (ed) - Occupational disorders of the lung. Recognition, management and prevention. London : WB Saunders ; 2002 : 221-28, 652 p.
- [30] GREFF-MIRGUET G - Echantillonnage et analyse des endotoxines dans l'air. Etude bibliographique. Note documentaire ND 2170. *Cah Notes Doc - Hyg Séc Trav.* 2002 ; 187 ; 2^e trimestre 2002 : 73-87.
- [31] SHAHAN TA, SORENSON WG, LEWIS DM - Superoxide anion production in response to bacterial lipopolysaccharide and fungal spores implicated in organic dust toxic syndrome. *Environ Res.* 1994 ; 67 (1) : 98-107.
- [32] SORENSON WG, SHAHAN T, SIMPSON J - Cell wall preparations from environmental yeasts: effect on alveolar macrophage function in

vitro. *Ann Agric Environ Med.* 1998 ; 5 (1) : 65-71.

- [33] DOITA M, RASMUSSEN LT, SELJELID R, LIPSKY PE - Effect of soluble aminated beta-1,3-D-polyglucose on human monocytes: stimulation of cytokine and prostaglandin E2 production but not antigen-presenting function. *J Leukoc Biol.* 1991 ; 49 (4) : 342-51.
- [34] MALMBERG P, RASK-ANDERSEN A, PALMGREN U, HÖGLUND S ET AL. - Exposure to microorganisms, febrile and airway-obstructive symptoms, immune status and lung function of Swedish farmers. *Scand J Work Environ Health.* 1985 ; 11 (4) : 287-93.
- [35] CORMIER Y, BELANGER J - The fluctuant nature of precipitating antibodies in dairy farmers. *Thorax.* 1989 ; 44 (6) : 469-73.
- [36] ANDERSON K, WATTS AD, SINCLAIR D, LEWIS C ET AL. - Climate, intermittent humidification, and humidifier fever. *Br J Ind Med.* 1989 ; 46 (9) : 671-74.
- [37] COCKROFT A, EDWARDS J, BEVAN C, CAMPBELL I ET AL. - An investigation of operating theatre staff exposed to humidifier fever antigens. *Br J Ind Med.* 1981 ; 38 (2) : 144-51.