

Les allergies professionnelles

Conférence INRS 2013 sur la recherche en santé au travail

Nancy, 3-5 avril 2013

EN
RÉSUMÉ

AUTEURS :

V. Demange ⁽¹⁾, X. Simon ⁽²⁾, F.X. Keller ⁽³⁾, F. Gagnaire ⁽⁴⁾, G. Hédelin ⁽¹⁾,

(1) département Épidémiologie en entreprise, (2) département Métrologie des polluants, (3) département Ingénierie des procédés, (4) département Polluants et santé, INRS.

Cette conférence, organisée par l'INRS avec le soutien du Partenariat pour la recherche européenne en santé et sécurité au travail (Perosh), avait pour but de dresser un état des lieux des connaissances sur les allergies, ces pathologies invalidantes et très souvent sous-estimées, aussi bien dans leur fréquence que dans leurs conséquences pour les salariés. Les points de vue des toxicologues, épidémiologistes, métrologues, ingénieurs et professionnels de la prévention s'y sont croisés. Ce compte rendu rapporte principalement les aspects médicaux, les autres domaines sont évoqués de façon plus synthétique.

MOTS CLÉS

Allergie /
Asthme / Rhinite /
Dermatose /
Affection
respiratoire /
Dermatite de
contact

SESSIONS ÉPIDÉMIOLOGIE ET TOXICOLOGIE

CONFÉRENCES INVITÉES

La première conférence invitée s'est intéressée aux mécanismes de la réaction allergique aux produits chimiques. Les fonctions du système immunitaire ont été rappelées : assurer une réponse biologique permettant d'écarter un danger pour l'organisme, distinguer le soi du non-soi, reconnaître ce qui est un danger pour l'organisme et tolérer ce qui ne l'est pas. Pour mémoire, les 2 composantes de l'immunité sont l'immunité innée, d'action immédiate, reposant sur des neutrophiles, macrophages, cellules *Natural Killers*, et l'immunité acquise, permettant une réponse spécifique par reconnaissance et mémorisation de l'antigène et amplification de la réponse. Les cellules dendritiques présentatrices de l'antigène doivent distinguer antigènes dangereux (virus, bactéries...) nécessitant une réponse immunitaire appropriée, d'antigènes non dangereux (antigène d'une plante par

exemple) nécessitant une tolérance immunitaire grâce aux cellules T régulatrices. En 1994, l'immunologiste Polly Matzinger émet l'idée que notre système immunitaire peut être stimulé par le stress ou la mort de cellules, même en l'absence de risque infectieux. De multiples récepteurs immuns innés (*Pattern Recognition Receptors*) à l'intérieur et à l'extérieur de la cellule dendritique, comme les *Toll-like Receptors* (TLR) par exemple, peuvent reconnaître dans leur environnement des signaux de danger (issus de bactéries, virus, champignons... et issus aussi de la nécrose cellulaire). D'autres signaux de danger sont constitués par l'inflammasome (complexe protéique cytoplasmique) et les cytokines pro-inflammatoires. Pour rappel, une réponse immunitaire nécessite la présence d'un antigène, reconnu comme du non-soi et dangereux, la présentation de l'antigène à des cellules T ayant des récepteurs spécifiques de l'antigène, et une réponse de défense bien contrôlée. En l'absence de contrôle, l'inflammation, l'allergie ou des maladies auto-immunes prennent place.

Les allergies professionnelles

Conférence INRS 2013 sur la recherche en santé au travail

Une allergie à un produit chimique est une manifestation clinique due à une réponse immune non contrôlée, provoquée par l'exposition à un produit chimique de poids moléculaire inférieur à 1 000 Daltons. Comme dans toute allergie, il y a deux phases : la sensibilisation silencieuse, dose dépendante, qui est une situation fréquente et l'expression clinique, qui constitue une situation rare par rapport à la sensibilisation. Une réponse immunitaire spécifique au produit chimique est toujours impliquée.

Différentes études publiées à partir des années 2000 ont recherché comment les produits chimiques peuvent représenter un danger reconnu par les cellules dendritiques et conduisant à une réponse immunitaire qui lui est spécifique. Plusieurs de ces études ont montré que des haptènes peuvent activer directement des cellules dendritiques *in vitro* ainsi que des TLR comme dans le cas du nickel par exemple. Les haptènes peuvent aussi modifier l'environnement microcellulaire de la cellule dendritique (appelé épimunome) par la production de dérivés oxygénés réactifs (*reactive oxygen species* ROS des anglo-saxons), de ligands endogènes pour les TLR et par l'induction de la mort cellulaire avec libération d'adénosine tri phosphate et activation de l'inflammasome. De plus, l'épimunome peut être modifié différemment selon la structure chimique ou l'activité de l'haptène. Pour devenir un antigène, un produit chimique doit donc pouvoir être reconnu par le système immunitaire (donc pouvoir se lier à une protéine) et pouvoir alors générer des épitopes spécifiques reconnus par des récepteurs spécifiques des cellules T. Beaucoup de produits chimiques peuvent induire une sensibilisation avec des anticorps

et des cellules dirigés contre eux sans induire de réaction allergique car la réponse immunitaire est bien contrôlée. On parle de tolérance immunitaire périphérique. La survenue d'allergies peut être la conséquence de facteurs déclenchants (par exemple une infection concomitante) et/ou une rupture de la tolérance immunitaire et/ou un manque de contrôle de la réponse par les cellules T régulatrices.

Le pouvoir allergisant des produits chimiques peut être prédit par différentes méthodes, exposées lors de **la deuxième conférence invitée**. La sensibilisation cutanée se développe lors d'une exposition à certains produits chimiques susceptibles de provoquer une prolifération des cellules immunitaires avec la peau pour cible lors d'une réexposition. L'induction de cellules T mémoire spécifiques de l'allergène est fréquente puisque jusqu'à 20 % des adultes en Europe présentent une sensibilisation cutanée. Les cellules T spécifiques de l'allergène reconnaîtront le produit chimique en cause et produiront une réaction inflammatoire lors d'une réexposition se traduisant cliniquement par une dermatite allergique de contact. Le potentiel allergisant des produits chimiques est évalué *in vivo* depuis le début des années 40. L'animal de choix est le cobaye. Pendant la dernière décennie, l'utilisation de la souris a suscité un intérêt croissant et le test standardisé de stimulation locale des ganglions chez cette espèce est très utilisé aujourd'hui. Le test réglementaire de Buehler datant de 1965 explore les phases de sensibilisation et de déclenchement. Il consiste en une phase de sensibilisation avec occlusion pendant 6 heures, exécutée à 3 reprises. Après une période de repos, des patchs sont appliqués sur les flancs des animaux. L'œdème et l'érythème sont

ensuite évalués par lecture oculaire par un technicien expérimenté. Le test réglementaire de maximisation chez le cobaye, datant de 1969, combine des injections dans le derme de l'adjuvant complet de Freund et une exposition sous occlusion pendant 48 heures. Des patchs sont ensuite appliqués sur les flancs des animaux et l'œdème et l'érythème évalués par lecture oculaire par un technicien expérimenté. Le test de l'œdème de l'oreille de souris repose sur l'exposition de l'épiderme et l'utilisation d'injections du complément complet de Freund dans l'épiderme pour la phase de sensibilisation. L'exposition de l'épiderme est réalisée à 3 reprises sur la peau abrassée de l'abdomen. Le produit à tester ou le véhicule utilisé sont déposés sur la face dorsale de chaque oreille. La sensibilisation est évaluée en mesurant l'œdème de l'oreille, plus important du côté exposé. Le test réglementaire de stimulation locale des ganglions lymphatiques chez la souris est bien adapté pour déterminer des seuils de sensibilisation. Contrairement aux tests réalisés sur le cobaye, ce test ne nécessite pas d'injection dans le derme ni d'adjuvant. Le stress des animaux est ainsi moindre. Ce test a cependant certaines limites, nécessitant de préférer les tests classiques sur le cobaye dans certains cas (par exemple certains métaux donnent des résultats faussement négatifs lors de l'utilisation du test de stimulation locale des ganglions lymphatiques).

L'évaluation actuelle de la sensibilisation cutanée repose sur les tests *in vivo*. Cependant, l'interdiction en 2013 de l'utilisation des tests *in vivo* pour la cosmétique en Europe et le programme REACH (*Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemical substances*), dont un objectif principal est le développement de méthodes alter-

natives à l'utilisation d'animaux, poussent au développement rapide de tests *in vitro*, *in chemico* ou *in silico* du potentiel sensibilisant des produits chimiques.

Les tests *in vitro* reposent principalement sur l'utilisation de cellules présentatrices de l'antigène (CPA) et l'observation des changements phénotypiques induits par les produits chimiques. Comme ces cellules sont difficiles à isoler de la peau, des méthodes de génération de CPA à partir de cellules humaines mononucléaires du sang périphérique ou de cellules souches hématopoïétiques CD34 sont utilisées. Il est alors possible de suivre l'expression des protéines CD86 et CD54, la libération de l'interleukine 1b ou l'internalisation des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II en présence de produits chimiques. L'utilisation de lignées cellulaires avec des caractéristiques de cellules dendritiques suscite beaucoup d'intérêt et deux tests basés sur ces méthodes sont actuellement en pré-validation par le Centre européen de validation de méthodes alternatives. Le test d'activation des cellules humaines est basé sur l'utilisation de THP-1 (lignée de cellules de leucémie monocyttaire). Les cellules en culture sont exposées à des doses croissantes des molécules à tester. Après 24 heures d'incubation, les cellules sont mises en présence d'anticorps anti CD86 et/ou anti CD54. Les auteurs du test ont montré que l'expression des CD86 et CD54 étaient de bons marqueurs prédictifs pour discriminer des substances sensibilisantes de substances non sensibilisantes. Le test de sensibilisation cutanée myéloïde U937 repose sur l'utilisation de la lignée cellulaire de lymphome histiocyttaire U937. Les cellules en culture sont exposées à des doses croissantes des molécules à tester. Après 48 heures d'incubation, les cellules

sont mises en présence d'anticorps anti CD86.

Les tests *in chemico* dans le champ de la sensibilisation cutanée reposent sur la mesure expérimentale de la réactivité chimique des molécules étudiées vis-à-vis de peptides naturelles (glutathion) ou synthétiques, et les tests *in silico* sur les modèles informatiques et statistiques de relation quantitative structure-activité (QRSA) et les systèmes experts. Ces modèles identifient les relations entre structure chimique et activité biologique des composés étudiés. Dans le domaine de la sensibilisation cutanée, il s'agit de l'identification des caractéristiques électrophiles des produits chimiques. La formation d'un complexe haptène-protéine est un prérequis pour le développement d'une sensibilisation cutanée et la structure des haptènes doit être très spécifique. Par exemple, dans les réactions croisées latex-fruit tels que la banane, l'avocat ou le kiwi, une partie de la réaction croisée repose sur la ressemblance structurelle entre l'hévéine hev b 6.02 (allergène majeur du latex) et des domaines hévéine-like des plantes chitinases de classe I. Le premier modèle QRSA pour les allergies cutanées, développé en 1982 par Robert et Williams, consistait en des corrélations entre la capacité de sensibilisation et des paramètres physicochimiques pour plusieurs agents d'alkylation. L'index relatif d'alkylation (IRA) a été utilisé pour quantifier le degré d'alkylation d'une protéine et le corréler avec le potentiel de sensibilisation. Quelques systèmes experts ont été cités : DEREK for Windows (*Deductive Estimation of Risk from Existing Knowledge*), TOPKAT (*Toxicity Prediction by Komputer Assisted Technology*), CASE/ Multi-CASE (*Computer Automated Structure Evaluation*) et TIMES-SS (*TI-*

sue Metabolism Simulator for Skin Sensitization). En vue de remplacer les tests menés sur l'animal, il est admis que la complexité des mécanismes conduisant à la sensibilisation obligera à utiliser une combinaison de ces trois approches.

Jusqu'à récemment, les sensibilisants respiratoires ou cutanés ne constituaient pas une priorité réglementaire dans le cadre du règlement REACH. Cependant, la dernière adaptation aux progrès du CLP (*Classification, Labelling and Packaging*) a vu l'apparition d'une sous-catégorisation des sensibilisants en tant que substances très préoccupantes susceptibles d'être soumises à la procédure d'autorisation. Les intervenants ont souligné la difficulté d'identifier les sensibilisants respiratoires du fait de l'absence de tests adaptés et d'évaluer quantitativement les risques, la plupart des mesures réglementaires prises jusqu'à maintenant étant fondées sur les dangers et non sur les risques. Dans ce contexte ont été présentées, lors de deux communications, les démarches développées par l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) et le DGUV (Fédération des caisses allemandes d'assurance accident) pour évaluer quantitativement les risques de sensibilisation cutanée et classer les substances en fonction de leur pouvoir sensibilisant en prenant en compte les données humaines disponibles, animales et les données alternatives (tests *in vitro*, *in silico*, *in chemico*).

La troisième conférence invitée

a présenté la physiopathologie de l'asthme professionnel pour comprendre les possibilités de prévention de cette pathologie. Une partie des asthmes professionnels est due à des mécanismes immunologiques. La phase de sensibilisation se fait à

Les allergies professionnelles

Conférence INRS 2013 sur la recherche en santé au travail

des allergènes pouvant être des particules (glycoprotéines d'origine animale ou végétale) dont la granulométrie est importante car elle conditionne leur progression dans l'appareil respiratoire ou encore des gaz ou des vapeurs métalliques. L'apparition d'une sensibilisation nécessite une certaine dose inhalée. Il s'agit d'une réaction immunitaire particulière, plus fréquente en cas d'atopie préexistante, aboutissant à la synthèse d'immunoglobulines E (IgE) spécifiques, insuffisamment contrôlée par la voie Th1, qui vont se fixer sur les mastocytes, basophiles, éosinophiles, macrophages. Lors du contact suivant avec l'allergène, la réaction antigène-anticorps se déclenche avec dégranulation des mastocytes et basophiles libérant histamine et enzymes, synthèse de prostaglandines, leucotriènes, *platelet activating factors*, et de cytokines pro-inflammatoires lors de la phase précoce. Ces différents médiateurs vont attirer les cellules inflammatoires de type éosinophiles et macrophages avec dégranulation et synthèse des mêmes molécules lors de la phase tardive. Avec le temps, des lésions chroniques avec destruction épithéliale et fibrose apparaissent. Il existe également des mécanismes non immunologiques dans l'asthme comme les mécanismes pharmacologiques ou d'irritation (syndrome d'hyperréactivité bronchique suivant l'inhalation de gaz irritant). Ces différents mécanismes peuvent s'intriquer rendant le diagnostic et la prise en charge difficiles. L'asthme professionnel est d'origine multifactorielle, avec des facteurs personnels (génétiques, psychologiques) et environnementaux (allergènes, irritants, agents infectieux). Les principaux diagnostics différentiels sont la bronchopneumopathie chronique obstructive, l'emphysème, la pneumopathie d'hypersensibilité, le syndrome d'intolérance aux odeurs

avec des intrications possibles entre ces pathologies. La batterie des tests diagnostiques de l'asthme professionnel comprend les mêmes outils cliniques et paracliniques (tests cutanés, hyperréactivité bronchique non spécifique) que celle d'un asthme, complétée par la recherche d'IgE spécifiques de l'agent suspecté, des tests de provocation nasale et des tests de provocation bronchique spécifiques en milieu de travail ou en milieu spécialisé. Les tests réalistes reposent sur des explorations fonctionnelles respiratoires (EFR) ou des courbes débit-volume réalisées en périodes d'activité professionnelle et d'absence d'exposition, dont l'analyse s'intéressera aux variations du volume expiratoire maximal par seconde (VEMS) ou d'hyperréactivité bronchique entre les périodes ; ou sur des mesures itératives de débit de pointe ou de VEMS. Les limites de ces tests réalistes sont l'absence de contrôle de réalisation des manœuvres d'expiration forcée et de mesure de la dose inhalée, pouvant générer des difficultés de réalisation et d'interprétation. Les tests en milieu spécialisé peuvent utiliser des aérosols liquides (solution dans laquelle l'allergène est dilué, utilisation d'un nébuliseur avec dosimètre), des gaz comme pour les isocyanates (cabine avec mesures de la concentration atmosphérique et de la durée d'exposition ou chambre d'inhalation avec mesures de la concentration atmosphérique et du volume d'air inhalé) ou des aérosols solides (capsule contenant la dose diluée dans une poudre inerte ou chambre d'inhalation avec mesures de la concentration atmosphérique et du volume d'air inhalé). Ces tests spécifiques ont permis de mettre en évidence la variabilité inter individuelle de la variation du VEMS (sujets plus réactifs que d'autres pour une même quantité d'allergène) et aussi la variabilité de la réactivité

des allergènes (farine de seigle induisant de plus grandes variations de VEMS que la farine de riz pour une même quantité par exemple). Ces tests ont aussi permis de modéliser la variation du VEMS. Celle-ci dépend de la concentration de l'antigène et du temps d'exposition mais aussi de la dose inhalée et du débit de dose (pics d'exposition). Il est possible de calculer des seuils d'exposition en dessous desquels le patient ne présente pas de signe clinique, ce qui peut aider à l'aménagement du poste de travail du salarié et son maintien au poste.

La quatrième conférence invitée a exposé les tendances et émergences dans le domaine des allergies professionnelles, en ciblant la dermatite de contact et l'asthme professionnels. L'Agence européenne pour la sécurité et la santé au travail a défini comme risque émergent pour la sécurité et la santé au travail, tout risque nouveau et en augmentation. Un risque nouveau peut être un risque inconnu jusqu'alors du fait de nouveaux procédés, nouvelles technologies ou nouvelle organisation du travail ou un risque existant mais qui devient perceptible ou pour lequel on a de nouvelles connaissances scientifiques. Un risque en augmentation peut l'être parce qu'il touche un plus grand nombre de travailleurs ou que les niveaux d'exposition augmentent ou encore parce qu'il a des effets plus délétères sur la santé. Des méthodes statistiques issues de la pharmacovigilance permettent de détecter ces risques émergents. On peut par exemple calculer des rapports entre événements observés et attendus ou chercher à représenter des exposomes entre des expositions multiples et un événement de santé. Les données sur lesquelles les appliquer proviennent de 3 types de sources : les bases enregistrant les *patch-tests*

réalisés, par exemple la base européenne ESSCA (*European Surveillance System of Contact Allergies*), la base allemande IVDK (*Information Network of Departments of Dermatology for the epidemiological study of contact allergies*) ; les systèmes de surveillance nationaux, par exemple SENSOR (*Sentinel Event Notification System for Occupational Risks*, États-Unis), SABRE (*Surveillance of Australian workplace Based Respiratory Events*, Australie), SWORD (*Surveillance of Work-related and Occupational Respiratory Disease*, Royaume-Uni), ONAP (Observatoire national des asthmes professionnels, France), RNV3P (Réseau national de vigilance et de prévention des pathologies professionnelles, France) ; et les bases enregistrant les cas donnant lieu à compensation. Ces systèmes présentent différentes limites : l'effectif du dénominateur n'est pas connu donc le calcul de taux est impossible, les indicateurs peuvent diminuer du fait d'une baisse de la motivation des personnes alimentant les bases de données, le lien de causalité entre la nuisance et l'effet sur la santé n'est pas connu, les diagnostics ne sont pas standardisés, les tests cutanés ont évolué dans le temps et selon les pays, il existe une sous-déclaration des maladies professionnelles. Des méthodes statistiques d'analyses de séries temporelles permettent de prendre en compte certaines de ces limites comme l'*odds ratio* rapporté par exemple. On fait l'hypothèse que la sous-déclaration est constante dans le temps et qu'elle n'empêche pas d'observer des variations au cours du temps.

Concernant les tendances dans le domaine des allergies professionnelles en Europe, on observe des différences d'évolution de fréquence des dermatites de contact entre pays et entre secteurs d'activité. On constate une baisse de la fré-

quence de l'implication du nickel, des chromates, et du formaldéhyde. En revanche, on remarque une augmentation pour le Kathon CG (biocide utilisé dans les huiles de coupe, détergents...), les résines époxy et les agents de vulcanisation du caoutchouc (gants). Les tendances globales pour l'asthme professionnel sont à la baisse, avec des différences entre secteurs. On observe une diminution de la fréquence de l'implication pour les aldéhydes, les isocyanates, les animaux de laboratoire, le latex et une augmentation pour les biocides.

Le point sur les nouveaux agents responsables d'asthme professionnels a été publié récemment. Pour les agents de haut poids moléculaire, on peut citer la poudre de riz, la chicorée, le turbot, des agents améliorants de la farine de blé comme la peroxydase ; la gerbille comme animal de laboratoire ; *Chrysonilia sitophila* (moisissure du marc de café) ; certaines essences de bois comme l'olivier. Pour les agents de bas poids moléculaire, on peut citer la vancomycine intervenant dans des procédés pharmaceutiques ; et divers agents comme l'essence de térébenthine, le tourteau d'argan utilisé dans l'industrie des cosmétiques ou les acrylates utilisés dans les ongleries.

COMMUNICATIONS

- La première présentation concernait les effets respiratoires de l'exposition aux poussières de céréales chez des céréaliers du canton de Vaud en Suisse. Les bioaérosols, comme la poussière de céréales, peuvent induire une inflammation locale, une réaction immunologique et un effet cytotoxique au niveau des voies aériennes. Il peut en résulter différentes pathologies comme l'asthme, la bronchopneumopathie chronique obstructive, la

pneumopathie d'hypersensibilité et le syndrome toxique des poussières organiques. Les agents incriminés peuvent être des bactéries, des moisissures, des substances issues des micro-organismes tels les endotoxines ou peptidoglycanes. L'objectif de l'étude est de connaître l'impact clinique de l'exposition professionnelle aux poussières de blé et de déterminer des marqueurs biologiques d'exposition à ces poussières. Deux groupes de salariés exposés, l'un exposé de façon saisonnière et l'autre de façon perannuelle (minotiers), sont comparés à deux groupes de travailleurs du tertiaire non exposés, l'un composés de résidents urbains et l'autre de résidents ruraux. Chaque groupe constitué de 30 salariés est vu deux fois à 6 mois d'intervalle (saison basse exposition, saison haute exposition) avec recherche par questionnaire de symptômes rythmés par le travail, réalisation de spirométries et de mesures de NO (monoxyde d'azote) exhalé (mesurant l'inflammation éosinophilique des voies aériennes). L'exposition professionnelle est recherchée par l'histoire professionnelle recueillie par questionnaire, par la quantification des moisissures, bactéries et endotoxines dans les poussières auxquelles les salariés sont exposés, et par le dosage d'immunoglobulines sériques dirigées contre ces microorganismes et endotoxines. Des résultats préliminaires ont été présentés au congrès, portant sur la saison haute exposition. La fréquence des fumeurs actuels est plus élevée chez les minotiers (52 %) que chez les saisonniers (29 %) et les non exposés ruraux (21 %) et urbains (9 %). On observe une plus grande prévalence des symptômes au niveau respiratoire, du nez, des yeux et de la peau chez les exposés que chez les non exposés (respectivement 50 %, 57 %, 45 % et 36 % vs

Les allergies professionnelles

Conférence INRS 2013 sur la recherche en santé au travail

6 %, 19 %, 16 % et 6 %). Indépendamment du statut tabagique, la valeur du débit expiratoire de pointe (DEP) est en moyenne plus basse chez les exposés que chez les non-exposés alors que les mesures du NO exhalé sont plus élevées chez les exposés que chez les non-exposés. Des analyses complémentaires sont à venir, prenant en compte l'exposition et comparant les saisons haute et basse expositions.

- Des mesures de marqueurs d'inflammation recueillis chez des boulangers travaillant en boulangerie artisanale ont été présentées. Cent cinq boulangers ont été inclus et ont réalisé une spirométrie, un test de provocation bronchique non spécifique à la métacholine et si besoin un test de provocation bronchique spécifique. Des tests cutanés aux allergènes présents dans l'environnement ont été également réalisés ainsi que des dosages sériques de 3 cytokines pro-inflammatoires : les interleukines 6 et 8 et le TNF- α . Les boulangers étaient âgés en moyenne de 41 ans (écart-type de 11 ans) et avaient une durée d'exposition de 19 ans en moyenne (écart-type de 12 ans). La proportion de fumeurs était de 37 %. Trois groupes ont été constitués : 31 sujets atopiques (positivité des tests cutanés à au moins un allergène présent dans l'environnement), 43 sujets présentant un asthme ou une rhinite professionnels dus à la poussière de farine et 31 sujets sains non atopiques. Les taux sériques d'interleukines 6 et 8 étaient inférieurs de façon statistiquement significative chez les sujets présentant un asthme ou une rhinite professionnels par rapport aux autres sujets, ce que les auteurs expliquent par la prise quotidienne de corticothérapie. La proportion de sujets ayant un NO exhalé supérieur à 35 ppb était différente dans les 3 groupes de façon statistiquement

significative et était la plus élevée chez les sujets présentant un asthme ou une rhinite professionnels (75 %, 46 % chez les atopiques et 8 % chez les sujets sains). Les auteurs concluent de ces résultats que les cytokines pourraient constituer une réponse de défense chez les sujets atopiques ou sains et pourraient de ce fait jouer le rôle de marqueurs d'exposition. La mesure du NO exhalé pourrait être un paramètre de surveillance de l'inflammation des voies aériennes.

- Les ammoniums quaternaires (AQ) sont utilisés très fréquemment dans des produits de nettoyage et de désinfection mais leur rôle dans l'augmentation de l'incidence de l'asthme dans le secteur de la santé ces dernières années n'est pas clairement établi. Une étude a recherché les liens entre asthme et exposition professionnelle aux désinfectants et plus particulièrement aux ammoniums quaternaires, parmi des infirmiers, aides-soignants et agents de nettoyage dans 7 établissements de soins publics ou privés. Un tirage au sort stratifié sur le service a permis d'identifier 700 salariés. Après des réunions d'information des départements, des questionnaires étaient envoyés au personnel, recherchant notamment l'existence de symptômes au niveau du nez pendant le travail, d'un asthme diagnostiqué par un médecin, ou débutant après l'entrée dans la vie professionnelle en milieu de soins. Un dosage sérique d'IgE spécifiques dirigées contre des pneumallergènes (Phadiatop), le latex et les AQ était également proposé. L'évaluation des expositions professionnelles a été recueillie par un questionnaire spécifique basé sur les tâches réalisées, par des études de poste et la recherche des compositions des produits utilisés. Cinq cent quarante-trois

sujets (taux de réponse de 77 %), dont 89 % de femmes, ont participé et se répartissaient en 37 % d'infirmiers, 16 % d'aides soignants, 17 % de personnel de nettoyage, 18 % d'autres personnels (médecins, techniciens,...) et 11 % de personnel administratif. Un tiers des sujets était atopique. Trois quarts des sujets étaient exposés aux AQ (plus de 95 % des infirmiers, aides-soignants et personnel de nettoyage et 38 % des autres personnels). En analyse univariée, les infirmiers, de même que les aides-soignants, avaient un risque plus élevé de façon statistiquement significative d'avoir un asthme diagnostiqué par un médecin que le personnel administratif (respectivement OR = 5,49, IC 95 % [1,27-23,7] ; OR = 5,7, IC 95 % [1,24-26,12]). Le personnel de nettoyage et les autres personnels n'avaient pas de risque d'asthme plus élevé de façon statistiquement significative que le personnel administratif (respectivement OR=2,38, IC 95 % [0,48-11,85] ; OR=1,52, IC 95 % [0,29-8,07]). En analyse multivariée, le risque d'asthme diagnostiqué par un médecin en cas d'exposition aux AQ était multiplié par 8 par rapport aux salariés non exposés (IC 95 % [1,84-31,05]). Les salariés réalisant des tâches générales de désinfection avaient un risque d'asthme multiplié par 3 (Intervalle de confiance à 95 % : 1,17-8,52) et ceux réalisant des tâches de dilution de produits désinfectants, par 4 (IC 95 % [1,34-12,00]), par rapport à ceux ne réalisant pas ces tâches. Les salariés présentant un asthme ou des symptômes au niveau du nez lors du travail n'avaient pas plus souvent des IgE spécifiques dirigées contre les AQ que les salariés ne présentant pas d'asthme ou de symptômes au niveau du nez, alors que c'était le cas pour les IgE dirigées contre le latex. En effet, 36 % des 14 salariés présentant des

IgE dirigées contre le latex avaient un asthme diagnostiqué par un médecin vs 10 % des 480 salariés qui n'avaient pas d'IgE ($p = 0,01$). De plus, 21 % des salariés présentant des IgE dirigées contre le latex présentaient un asthme ayant débuté après l'entrée dans la vie professionnelle en milieu de soins vs 4 % des salariés sans IgE dirigées contre le latex ($p=0,03$). Dans cette étude transversale, la définition de l'asthme s'est faite uniquement sur questionnaire et est peu spécifique. L'étude ne distingue pas les asthmes aggravés par le travail des asthmes professionnels. Cependant, une association positive entre exposition et risque élevé d'asthme est observée, que ce soit en termes de poste, de tâche ou d'exposition aux AQ. Ceux-ci ne paraissent pas avoir un fort pouvoir sensibilisant mais plutôt un effet irritatif dans l'apparition des symptômes respiratoires. La plupart des travailleurs exposés dans cette étude ne connaissent pas exactement la composition des produits qu'ils utilisent, et particulièrement la présence d'AQ. Des formations adaptées devraient être mises en place pour mieux les informer et les former à leur utilisation. Par exemple, pour les tâches de dilution de produit, celui-ci était trop concentré du fait de l'utilisation d'un contenant trop petit pour la dilution.

- Le caractère asthmogène de certaines amines est reconnu, mais bien que les amines soient fréquemment utilisées en milieu professionnel, elles apparaissent rarement parmi les nuisances responsables d'asthmes professionnels indemnisés. Les études épidémiologiques ont mis en évidence un risque plus élevé d'asthme chez le personnel de nettoyage par rapport à d'autres professions comme le personnel administratif ainsi qu'une associa-

tion positive entre l'utilisation de sprays et l'asthme. L'identification de substances chimiques particulières est difficile en épidémiologie où les produits sont plus souvent identifiés par l'usage qui en est fait que par leur composition. Les programmes de surveillance systématique des pathologies professionnelles peuvent avoir des données sur la substance chimique considérée comme responsable de la pathologie. Le programme de surveillance systématique des pathologies professionnelles aux États-Unis, *Sentinel Event Notification System for Occupational Risks* (SENSOR) a mis en évidence 300 cas d'asthme en relation avec le travail dû aux produits de nettoyage (dont 3 dus à l'éthanolamine) dans les 4 états participants, sur la période 1993-1997. Les données du RNV3P montrent une stabilité du nombre de cas d'asthme en relation avec le travail dû aux produits de nettoyage (hormis les ammoniums quaternaires) en France de 2001 à 2009. L'ONAP a enregistré, sur la période 2008-2010, 2 % d'asthmes avec latence dus aux amines. Les études de cas rapportent de façon plus précise l'agent responsable de la pathologie. Depuis les années 50, une vingtaine de publications concerne les amines dans divers secteurs d'activité (industrie chimique, pharmaceutique, métallurgie...). Une analyse publiée de type relation quantitative structure activité (*quantitative structure activity relationship* QSAR des anglosaxons) a mis en évidence que plus une molécule contient de fonctions amines, plus la probabilité qu'elle soit sensibilisante augmente. Dans un centre de consultations de pathologies professionnelles francilien, 37 patients en 10 ans adressés pour une rhinite professionnelle (avec ou sans asthme) ont réalisé un test de provocation nasale spécifique à une amine présente dans les

produits qu'ils manipulaient au travail. Parmi eux, 7 ont eu un test positif (doublement de la résistance nasale mesurée par rhinomanométrie postérieure). Ils travaillaient dans le secteur hospitalier ou étaient salariés d'entreprises de nettoyage. Les auteurs concluent en émettant l'hypothèse que la fréquence des rhinites ou asthmes professionnels dus aux amines pourrait être sous-estimée et encouragent une exploration aussi exhaustive que possible des substances professionnelles pouvant être à l'origine de ces pathologies.

- La dermatite allergique de contact se présente comme un eczéma des mains avec une réaction positive aux *patch-tests* faits avec le composant en cause. La dermatite de contact d'irritation se présente comme un eczéma des mains provenant de l'utilisation d'irritants sans réaction aux *prick* ou aux *patch-tests*. Parmi les allergènes, on distingue les allergènes non protéiques, les haptènes, des allergènes protéiques. Les haptènes peuvent provoquer une urticaire et des réactions d'hypersensibilité retardées localisées : eczéma (dermatite de contact), ou systémiques : eczéma généralisé, réactions cutanées (effets secondaires des médicaments). L'urticaire est à explorer avec des *prick-tests* ou des intradermo réactions à lecture différée. Les réactions d'hypersensibilité retardée sont à explorer avec des *patch-tests* lus à J2 et J4 pour les réactions localisées, complétés pour les réactions systémiques avec des *prick-tests* et des intradermo réactions à lecture différée. Les protéines sont à l'origine de la synthèse d'Ig E anti-protéines. Celles-ci peuvent être à l'origine :
 - d'histaminolibération muqueuse et cutanée, provoquant une urticaire de contact, un angio-œdème ou un choc anaphylactique ;

Les allergies professionnelles

Conférence INRS 2013 sur la recherche en santé au travail

- d'une histaminolibération pouvant provoquer une rhinite, une conjonctivite ou un asthme ;
- ou des réactions retardées par la fixation de l'IgE sur les cellules dendritiques avec présentation de la protéine et activation des cellules T, ayant pour résultat la dermatite atopique et la dermatite de contact aux protéines.

Les personnes ayant une urticaire de contact immunologique présentent immédiatement une papule érythémateuse après contact des protéines spécifiques avec la peau, disparaissant rapidement et sans signe résiduel, et un *prick-test* cutané positif à la protéine concernée. Les patients avec une urticaire de contact non immunologique présentent les mêmes signes cliniques mais avec un *prick-test* négatif. La dermatite de contact aux protéines est définie par un eczéma chronique ou récurrent des mains chez des personnes exposées à des protéines ayant un *prick-test* positif aux protéines. Une urticaire immédiate est possible après le contact avec les protéines mais n'est pas la règle. Une trentaine de fruits et légumes différents a été rapportée dans la littérature comme pouvant être à l'origine de dermatite de contact aux protéines mais aussi des épices comme le cumin, l'ail, le persil, la coriandre, le curry, le paprika ; les viandes de bœuf, cheval, porc, mouton ; le lait et les fromages ; les farines et l'alpha-amylase ; le poisson et les fruits de mer. Des plantes non comestibles ont également été rapportées comme étiologie possible : le chrysanthème et le ficus ainsi que le latex. Des cas de dermatite de contact aux protéines ont également été rapportés suite au contact avec des liquides biologiques (liquide amniotique, salive, sang...) ou organes d'animaux et leurs poils. Il peut s'agir de mammifères, de poissons, d'amphibiens, de vers ou de parasites (anisakiase). Les

conséquences professionnelles des dermatites de contact aux protéines semblent plus importantes que les dermatoses des mains professionnelles dues au contact avec de la nourriture. Une récente étude danoise a observé qu'elles conduisent plus souvent à un changement de profession (62 % vs 43 %, $p = 0,02$) et les arrêts maladie de 3 semaines ou plus sont plus fréquents (62 % vs 30 %, $p = 0,02$). Une description des cas de dermatite des mains ou des avant-bras avec test positif aux protéines venus en consultation en dermatologie allergologique du CHU de Nancy de 2006 à 2012 a été réalisée. Vingt-six cas parmi les 5 882 patients (0,44 %) ayant eu des explorations allergologiques en raison de réactions cutanées d'hypersensibilité ont été inclus. Il s'agissait de 20 cas de dermatites de contact aux protéines dont 17 étaient liées au travail, de 5 cas d'urticaires de contact et d'un cas d'une nouvelle entité appelée « éruption fixe alimentaire neutrophilique » qui tous les 6 étaient liés au travail. Ce cas d'éruption fixe alimentaire neutrophilique concerne un cuisinier, présentant des plaques bulleuses des avant-bras récurrentes toujours au même endroit. Les *patch-tests* et *prick-tests* effectués sur les cicatrices sont positifs avec les poissons et les crevettes en lecture immédiate et retardée. La prévalence de l'atopie était de 46 % chez les patients ayant eu des explorations allergologiques en raison de réactions cutanées d'hypersensibilité et de 56 % chez ceux ayant une dermatite de contact aux protéines. La sensibilisation par le contact avec les protéines est fréquemment liée au travail, les manifestations cliniques sont variées et peuvent induire des erreurs diagnostiques. L'étiquetage de ces dermatites nécessite des *prick-tests* et non des *patch-tests* pour identifier l'allergène responsable.

SESSION MÉTROLOGIE

L'évaluation de l'exposition des salariés à des substances et à des microorganismes allergènes repose sur des approches métrologiques diversifiées, dont les résultats restent souvent délicats à interpréter en termes de risques encourus. Les présentations et les discussions concernant cette problématique ont été l'occasion de répertorier les connaissances et les pratiques actuellement disponibles, mais aussi de lister certains questionnements et verrous scientifiques.

Les expositions concernent de nombreux salariés dans des environnements professionnels variés. Ce constat a d'ailleurs été bien illustré par les différents lieux de travail investigués : établissements agricoles, entreprises de l'agroalimentaire, installations de traitement du café vert, docks portuaires, usines de transformation de crustacés, hôpitaux, industrie pharmaceutique, laboratoires, plates-formes de compostage, scieries, entreprises de nettoyage, salons de coiffure, etc. Les études présentées ont également démontré la diversité des substances allergènes rencontrées (protéines du soja ou de crustacés, microorganismes fongiques ou bactériens, enzymes d'origine microbiologique, allergènes d'origine animale...). Par conséquent, les méthodes de mesure qui ont été décrites sont diversifiées, tant au niveau de l'échantillonnage que de l'analyse.

L'échantillonnage est réalisé par des prélèvements des allergènes aéroportés (voie d'exposition respiratoire) à poste fixe ou en individuel et sont parfois complétés par des prélèvements de surface de type écouvillonnage (voie d'exposition cutanée). Par commodité, les prélèvements

sur filtre demeurent les plus utilisés mais d'autres méthodes de collecte sont disponibles et mériteraient d'être plus largement étudiées. Les conditions opératoires (débit et durée de prélèvement par exemple) varient d'une étude à l'autre et, pour la majorité des allergènes aéroportés, il n'existe pas de consensus sur la fraction conventionnelle cible à privilégier (inhalable, thoracique, alvéolaire). Peu de données existent concernant les distributions granulométriques des aérosols contenant des allergènes ou les diamètres des particules à prendre en considération. De récents travaux suggèrent, par exemple, que de nombreux fragments fongiques submicroniques (fragments de spores ou de mycélium < 1 µm) puissent être aérosolisés à partir de surfaces contaminées par des moisissures. L'existence de ces fragments interroge sur leur pouvoir allergène qui semble être supérieur à celui d'entités fongiques plus volumineuses et sur la capacité des appareils de prélèvement à les collecter efficacement.

L'exposition à des microorganismes peut être évaluée en utilisant différentes méthodes analytiques (culture, microscopie, biologie moléculaire...), dont la complémentarité des résultats mériterait d'être plus largement exploitée. L'identification des espèces microbiennes échantillonnées, en utilisant préférentiellement des techniques moléculaires, est reconnue comme nécessaire pour une interprétation plus pertinente des résultats. L'intérêt de quantifier, en parallèle, d'autres composés non allergènes (β-D-glucanes, endotoxines, mycotoxines...) a été souligné par plusieurs orateurs. Concernant les allergènes spécifiques (protéines, enzymes et autres molécules d'intérêt), de nombreuses méthodes existent également. Des exemples

de techniques immuno-enzymatiques (comme ELISA, *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*) ou de couplage de techniques séparatives ou analytiques (chromatographie liquide et spectrométrie de masse en tandem par exemple) ont été mises en œuvre dans les travaux présentés. Le traitement de l'échantillon (efficacité d'extraction, digestion...) apparaît comme une étape primordiale de l'analyse qu'il convient de parfaitement valider. Si les avancées métrologiques sont indéniables concernant l'évaluation des expositions aux allergènes, les orateurs ont toutefois estimé que beaucoup de travail restait à effectuer dans l'avenir concernant le développement et la standardisation de méthodes. À ce titre, la complémentarité des travaux de laboratoire et de terrain sera nécessaire.

Enfin, il a été clairement rappelé que le manque de valeurs limites d'exposition professionnelle applicables aux microorganismes et aux substances allergènes constituait un frein dans l'interprétation des résultats de mesure et dans l'évaluation des risques liés à ces contaminants. Quelques valeurs guides sont toutefois proposées (spores de moisissures, bactéries cultivables, subtilisine...) par certains instituts ou pays, mais elles ne sont pas strictement fondées sur des relations exposition-réponse issues d'études épidémiologiques. Les approches métrologiques actuellement déployées méritent d'être encore améliorées mais participent déjà grandement à objectiver les expositions et à enclencher des actions de prévention pour réduire les niveaux de concentrations ou tout simplement mieux informer les salariés.

SESSION PRÉVENTION

L'utilisation de la ventilation pour éliminer les poussières autour d'un poste de travail est un vecteur de prévention très fréquemment rencontré dans l'industrie. Son efficacité est augmentée lorsqu'une démarche d'analyse de la production de poussières est réalisée. Les éléments principaux pour mettre en place une aspiration localisée effective sont le captage, l'encoffrement et le récepteur. L'adaptation de hottes au-dessus des sources de polluants auxquelles on ajoute un contrôle efficace du captage des poussières augmente la performance des actions de prévention. De plus, la formation aux techniques de captage permet d'améliorer les connaissances des installateurs de dispositifs d'aspiration à la source.

Dans le cadre d'une étude, une méthode permettant de déterminer les niveaux d'émission des machines utilisées dans les boulangeries a été développée dans le but de réduire les émissions et de concevoir des machines avec dispositifs de captage efficaces. Un des objectifs de cette étude est de labéliser les équipements en utilisant une méthode de mesure normalisée. Différents paramètres ont été pris en compte comme la génération de la farine, les dépôts, la position de la source de polluant. Les principaux résultats montrent des variations importantes sur la mesure de concentration en farine. Des travaux complémentaires sont encore nécessaires pour fiabiliser cette méthode.

Une seconde étude concernant la farine des boulangers a été menée dans le but de diminuer la propension de la farine à générer des poussières inhalables par la modification

Les allergies professionnelles

Conférence INRS 2013 sur la recherche en santé au travail

de ses ingrédients. Des tests ont été effectués en variant les proportions des composants principaux, l'huile végétale, le sulfate de calcium et le silicate de calcium. Un des résultats de ces travaux montre que le plus faible taux de poussières est obtenu lorsque l'on diminue le sulfate de calcium et que l'on augmente l'huile végétale. Des questions restent cependant ouvertes quant à la qualité du produit fini obtenu et à l'émergence d'autres problèmes éventuels.

Par ailleurs, une étude a été menée pour diminuer le taux de trichloramine (NCl_3) dans les piscines. Les étapes principales de cette étude consistaient à la mesure des niveaux d'exposition, au développement de solutions techniques pouvant être mises en place dans les bassins ainsi qu'à la révision de la réglementation et des normes concernant cette problématique. Un contrôle de la formation du NCl_3 par le développement d'un modèle résultant d'une étude hydraulique des bassins a été proposé.

Afin de connaître l'impact des travaux sur la réduction des allergies professionnelles, des résultats issus de réseaux de surveillance ont été détaillés. Le réseau THOR (*The Health and Occupational Research network*) en Angleterre et le réseau RNV3P en France ont servi de base pour cette étude. Les allergies de contact liées au chrome et l'asthme professionnel lié au latex ont diminué alors que des mesures de prévention étaient prises pour réduire ces expositions. Une tendance similaire a été observée dans les deux réseaux en France et en Angleterre, allant dans le sens d'une certaine efficacité des actions de prévention dans ces deux pays.

Le programme détaillé et les présentations des intervenants sont disponibles sur le site de la conférence « Allergies professionnelles » :

www.inrs-allergiepro2013.fr/site/FR