

Asthme professionnel aux enzymes

En résumé

À l'heure actuelle, les enzymes, fabriquées le plus souvent par ingénierie génétique à partir de bactéries ou de moisissures, sont utilisées dans de très nombreux secteurs d'activité. Si elles sont manipulées sous forme pulvérulente ou aérosolisée, elles constituent un risque professionnel de sensibilisation respiratoire.

C'est la structure protéique qui est à l'origine de la sensibilisation, et non l'activité enzymatique ; la symptomatologie étant due à une hypersensibilité réaginique.

Les secteurs d'activité les plus fréquemment concernés sont l'industrie des détergents, la production d'enzymes et la recherche biotechnologique, l'industrie pharmaceutique, l'industrie alimentaire, en particulier, la boulangerie.

Le diagnostic, souvent facile, repose sur l'association d'une symptomatologie compatible, chez un sujet manipulant des enzymes sous forme pulvérulente ou aérosolisée et ayant des tests allergologiques - cutanés ou plus souvent sérologiques - positifs.

L'atopie est un facteur de risque mais l'asthme aux enzymes est toujours la conséquence de conditions de travail défavorables et sa prévention nécessite une hygiène de travail rigoureuse.

La rhinite et l'asthme aux enzymes sont répertoriés au titre du tableau n° 63 du régime général de la Sécurité sociale.

façon caricaturale le risque que peut entraîner l'introduction d'un nouveau procédé de travail considéré pourtant comme une avancée technologique certaine.

À l'heure actuelle, les enzymes, fabriquées le plus souvent par ingénierie génétique à partir de bactéries ou de moisissures, sont utilisées dans de très nombreux secteurs d'activité qui, si elles sont manipulées sous forme pulvérulente ou aérosolisée, constituent un risque professionnel de sensibilisation respiratoire. Les classes d'enzymes, leurs applications et les secteurs industriels concernés sont présentés dans le **tableau I** [1].

PHYSIOPATHOLOGIE

C'est par leur structure protéique que les enzymes sont des allergènes potentiels. Et c'est leur présence en grande quantité dans l'atmosphère de travail sous forme de particules facilement inhalables qui est à l'origine de la sensibilisation respiratoire. Ceci a été montré de façon quasi expérimentale lors de l'introduction des subtilisines (protéases, telles l'alkalase mais également l'alpha-amylase, provenant de la fermentation de *Bacillus subtilis*) dans l'industrie des détergents en 1968. En effet, quand la fabrication industrielle des lessives aux enzymes a débuté, aucune précaution particulière n'avait été prévue lors de leur manipulation ; l'extrait enzymatique, sous forme d'une poudre d'enzymes concentrées, était ajouté aux lessives à concurrence de 0,5 % à 3 % et n'augmentait pas de façon significative l'empoussièrement global ; quelques mois plus tard, la prévalence des symptômes respiratoires atteignait près de 50 % à ces postes de travail [2, 3].

La symptomatologie est due à une hypersensibilité réaginique avec des IgE spécifiquement dirigées contre l'enzyme responsable [4 à 14].

N. ROSENBERG (*)

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

L'asthme aux enzymes a d'abord été décrit dans l'industrie lessivante avec l'apparition des lessives aux enzymes dans les années 60, à l'origine d'épidémies d'asthmes professionnels parmi les ouvriers exposés. Cet exemple illustre de

TABLEAU I

Exemples d'enzymes employées dans différents secteurs industriels et leurs applications [1].

SECTEUR INDUSTRIEL OU CLASSE D'UTILISATION	FAMILLES CHIMIQUES	APPLICATION - USAGE
■ Industrie des détergents	<ul style="list-style-type: none"> • Protéase • Amylase • Lipase • Cellulase • Mannanase 	<ul style="list-style-type: none"> • Enlèvement des tâches protéiques • Enlèvement des tâches d'amidon • Enlèvement des tâches de graisse • Nettoyage, clarification des couleurs, antiredéposition (coton) • Traitement de la réapparition des tâches
■ Amidon et combustible	<ul style="list-style-type: none"> • Amylase • Amyloglucosidase • Pullulanase • Glucose isomérase • Cyclodextrine-glycosyl-transferase • Xylanase • Protéase 	<ul style="list-style-type: none"> • Liquéfaction de l'amidon et saccharification • Saccharification • Saccharification • Conversion du glucose en fructose • Production de cyclodextrine • Réduction de viscosité (carburant et amidon) • Nutrition de levures (carburant)
■ Secteur de l'alimentation (+ laitages)	<ul style="list-style-type: none"> • Protéase • Lipase • Lactase • Pectine méthyl estérase • Pectinase • Transglutaminase 	<ul style="list-style-type: none"> • Lait caillé, lait hypoallergénique (enfants), arôme • Arôme des fromages • Dégradation du lactose (lait) • Affermissement de produits à base de fruits • Produits à base de fruits • Modification des propriétés viscoélastiques.
■ Boulangerie	<ul style="list-style-type: none"> • Amylase • Xylanase • Lipase, phospholipase • Glucose oxydase • Lipooxygénase • Protéase • Transglutaminase 	<ul style="list-style-type: none"> • Améliorant de la farine, de la consistance du pain • Conditionnement de la pâte à pain • Stabilisant de la pâte et conditionnement (émulsifiant in situ) • Renforcement de la pâte • Renforcement de la pâte, blanchiment du pain • Biscuits et gâteaux • Renforcement pâte feuilletée
■ Secteur de l'alimentation animale	<ul style="list-style-type: none"> • Phytase • Xylanase, β-glucanase 	<ul style="list-style-type: none"> • Digestibilité des phytates, libération du phosphore • Digestibilité.
■ Secteur de l'alimentation (boissons)	<ul style="list-style-type: none"> • Pectinase • Amylase • β-glucanase • Acetolactate decarboxylase • Laccase 	<ul style="list-style-type: none"> • Dépectinisation, broyage • Traitement des jus (bière hypocalorique) • Broyage • Maturation de la bière • Clarification des jus, saveur de la bière, traitement des bouchons de liège

TABLEAU I
(suite)

SECTEUR INDUSTRIEL OU CLASSE D'UTILISATION	FAMILLES CHIMIQUES	APPLICATION - USAGE
■ Industrie textile	<ul style="list-style-type: none"> • Cellulase • Amylase • Pectate lyase • Catalase • Laccase • Peroxydase • Lipase • Protéase • Amylase 	<ul style="list-style-type: none"> • Apprêtage du denim, assouplissement du coton • Désapprêtage • Lessivage • Finition du blanchiment • Blanchiment • Enlèvement des couleurs en excès. • Contrôle de la poix, du contaminant • Enlèvement du bio-film • Revêtement d'amidon, désencrage, amélioration du drainage
■ Pâte à papier	<ul style="list-style-type: none"> • Xylanase • Cellulase 	<ul style="list-style-type: none"> • Augmentation du blanchiment • Désencrage, améliorant de drainage, modification de la fibre
■ Graisses et huiles	<ul style="list-style-type: none"> • Lipase • Phospholipase 	<ul style="list-style-type: none"> • Transestérification • Dégommage, production de lyso-lécithine
■ Synthèse organique	<ul style="list-style-type: none"> • Lipase • Acylase • Nitrilase 	<ul style="list-style-type: none"> • Séparation des alcools chiral et des amides • Synthèse de pénicilline semi-synthétique • Synthèse d'acides carboxyliques énantiotropes
■ Cuir	<ul style="list-style-type: none"> • Protéase • Lipase 	<ul style="list-style-type: none"> • Trempage, battage et arrachage des poils • Dégraissage des peaux
■ Industrie pharmaceutique	<ul style="list-style-type: none"> • Amyloglucosidase • Glucose oxydase • Peroxydase 	<ul style="list-style-type: none"> • Propriété antimicrobienne (conjointement avec la glucose oxydase) • Blanchiment, propriété antimicrobienne • Propriété antimicrobienne

C'est la structure protéique et non l'activité enzymatique qui est à l'origine de la sensibilisation, même si le site enzymatique correspond au site antigénique ; en effet, les tests cutanés à lecture immédiate restent positifs avec l'enzyme préalablement inactivée [7, 11, 14, 15].

Le rôle de la protéolyse dans la genèse et surtout dans l'évolution des manifestations respiratoires provoquées par l'exposition professionnelle aux enzymes protéolytiques a été très discuté.

L'expérimentation animale a montré que l'alcalase, à forte concentration, provoquait une hémorragie intralvéolaire avec infiltration éosinophilique et neutrophilique [16] et la symptomatologie respiratoire qui fut

observée au tout début de l'utilisation industrielle de cette enzyme, associant hémoptysie et douleur thoracique à une dyspnée asthmatiforme [15], est à rapprocher de ces constatations expérimentales. Après une stricte amélioration des conditions de travail, les manifestations respiratoires ont pris l'aspect d'un asthme réaginique classique et la protéolyse n'est plus en cause dans la pathologie respiratoire actuellement observée dans l'industrie des détergents.

En ce qui concerne la papaine, cause établie d'emphysème chez l'animal d'expérience [17], la protéolyse avait été évoquée pour expliquer la rhinorrhée hémorragique observée parfois lors de fortes expositions [18].

La constatation d'une augmentation de la compliance pulmonaire, chez des sujets fortement exposés aux subtilisines, mise sur le compte de l'action protéolytique, avait été à l'origine de questions sur une éventuelle facilitation de la réponse bronchique aux agents bronchoconstricteurs et sur la persistance de l'asthme après arrêt de l'exposition [19].

Des travaux bien plus récents suggèrent que la présence de protéases potentialiserait l'allergénicité d'enzymes non protéasiques, telles l'alpha-amylase et la lipase [20]. Une explication physiopathologique pourrait être que l'activité enzymatique protéasique lèse l'épithélium bronchique et accroît ainsi la perméabilité muqueuse d'où facilitation de la pénétration de l'allergène, de l'inflammation des voies aériennes et des mécanismes non immunologiques, comme cela a été montré avec un allergène majeur de *D. pteronyssimus* (Der p 1) qui est en fait une cystéine protéase - enzyme digestive de l'acarien [21].

Dans l'asthme aux enzymes, la recherche de précipitines sériques est habituellement négative ; des précipitines ont toutefois été mises en évidence chez quelques sujets sensibilisés à la papaine [22, 23].

Une autre étude [24], étudiant la présence d'IgE et d'IgG spécifiques dans le sérum de salariés exposés ou non à différentes enzymes dans l'industrie pharmaceutique à l'aide des techniques RAST et Immunoblot, ne retrouvait d'IgG que chez les sujets ayant été au contact des enzymes et ce, indépendamment de la présence de symptômes cliniques ; de plus, des taux plus élevés d'IgG spécifiques et un rapport IgG/IgE plus élevé étaient observés chez les sujets asymptomatiques posant la question d'un effet protecteur des IgG en dépit de la présence d'une sensibilisation IgE dépendante aux enzymes.

PRÉVALENCE DE L'ASTHME AUX ENZYMES

Dans l'industrie des détergents

Au début de la décennie 70, l'asthme aux subtilisines était épidémique parmi les ouvriers employés à la production industrielle des lessives aux enzymes : entre 19 % [3] et 31 % [25] de sujets atteints en Grande-Bretagne en 1970, 15 % [26] à 24 % [27] aux États-Unis en 1971, alors que la même année en Australie une entreprise totalisait 50 % d'employés asthmatiques et 60 % souffrant d'une rhinite allergique [2].

Une politique de strict contrôle de l'empoussièrement semblait avoir permis de venir à bout de l'épidémie [16, 28] en quelques années, en particulier par

l'emploi d'enzymes encapsulées ou présentées sous forme liquide.

Ainsi en 1985 en Grande-Bretagne, Flood et al. [29] signalaient qu'entre 1969 et 1980 l'affection était survenue chez 4,5 % des 2 344 ouvriers employés par trois usines des deux plus importants producteurs d'enzymes.

Cathcart et al. en 1997 [12], à l'occasion d'un travail sur le suivi fonctionnel respiratoire des employés de l'industrie des détergents en Grande-Bretagne, signalaient que pour l'ensemble de l'industrie lessivelle britannique, seulement 16 cas d'asthme professionnel étaient survenus entre 1978 et 1993. Ces auteurs avaient réalisé un suivi respiratoire de 731 ouvriers avec en particulier la réalisation d'EFR sur une période de 4 à 20 ans. Aucune chute accélérée du VEMS et de la CVF, au cours des années, corrélée aux niveaux d'exposition (définis sur le calendrier professionnel) n'avait été observée.

L'asthme aux enzymes, dans l'industrie des détergents, n'a pourtant pas vraiment disparu.

Déjà, Liss et al., en 1984 [30], observaient que la survenue d'une sensibilisation de l'organisme restait possible malgré l'emploi d'enzymes encapsulées.

En 1992, Perdu et al. [31], à propos de 8 observations survenues dans une usine fabriquant des détergents dans la région rémoise, signalaient que 17 salariés parmi les 110 sujets de l'usine qui étaient en contact avec les enzymes - pourtant présentées sous forme encapsulée -, présentaient en fait des symptômes respiratoires rythmés par leur activité professionnelle. L'affection était survenue après l'introduction d'une nouvelle enzyme dont l'enveloppe était de mauvaise qualité, avec une surface fissurée ou rompue, laissant s'échapper le principe enzymatique. Par ailleurs le port des protections respiratoires n'était pas systématiquement respecté et une remise en suspension de poussières contenant éventuellement des enzymes se faisait par l'intermédiaire d'un chauffage à air pulsé en atmosphère confinée. La symptomatologie clinique avait disparu avec l'arrêt de l'utilisation de l'enzyme incriminée.

En 2000, Vanhanen et al. [32], lors d'une étude transversale réalisée dans une usine fabriquant des détergents en Finlande, observaient parmi 76 ouvriers dont 40 travaillaient à la fabrication, au conditionnement et à la maintenance et 36 autres n'étaient pas exposés aux enzymes, que 9 sujets (22 %) étaient sensibilisés (IgE positifs et/ou prick-tests positifs) dans le groupe exposés, tous étant symptomatiques (9 rhinites et 1 asthme). Aucun des 36 sujets du groupe non exposé n'était sensibilisé. Les concentrations en protéases étaient trouvées généralement < 20 ng/m³ avec toutefois des pics d'exposition atteignant 80 ng/m³ voire dépassant 1 µg/m³ dans la zone des mélanges. Les auteurs concluaient que, malgré l'emploi de préparations enzymatiques encapsulées, des taux élevés d'enzymes dans l'atmosphère de travail étaient possibles et qu'il en résultait un risque de sensibilisation supérieur à celui attendu.

Avec l'introduction au début des années 90 dans la composition des détergents, d'autres types d'enzymes que les subtilisines, l'affection a été signalée avec une amylose extraite de *Bacillus licheniformis*, chez 4 sujets par Hole et al. [33] en 2000 en Grande-Bretagne. Tous présentaient une dyspnée sifflante au travail et un test de provocation bronchique positif avec l'amylose. Les tests allergologiques étaient positifs pour l'amylose chez les 4 sujets, mais aussi pour une protéase et une cellulase chez 2 d'entre eux.

La même année, la même équipe [34] publiait les résultats d'une étude transversale effectuée en 1998 dans une usine fabriquant des produits lessiviels. L'enquête par questionnaire avait concerné 350 employés dont 342 avaient bénéficié de prick-tests avec les 3 types d'enzymes utilisées (amylose, cellulase et protéase, toutes sous forme encapsulée) ; 90 sujets avaient un test cutané positif avec au moins une enzyme - le plus souvent avec l'amylose - parmi lesquels 68 rapportaient des manifestations cliniques des voies aériennes supérieures chronologiquement liées au travail et 54 des symptômes d'asthme, également liés au travail. Finalement un diagnostic d'asthme professionnel avait été confirmé chez 28 sujets. L'estimation des niveaux d'exposition, appréciée sur l'intitulé des postes de travail avait permis aux auteurs de montrer un net gradient entre sensibilisation et niveau d'exposition, symptômes liés au travail et niveau d'exposition. La métrologie d'ambiance disponible pour l'année 1997 trouvait des valeurs moyennes de 4,25 ng/m³ dont 5 % dépassait les valeurs recommandées de 15 ng/m³ avec une valeur maximale de 57 ng/m³. Des 74 salariés qui avaient été embauchés à partir de 1997, 7 étaient sensibilisés (prick-tests positifs avec au moins une enzyme), parmi lesquels 2 signalaient des symptômes thoraciques et 5 des manifestations oculo-nasales, chronologiquement liés au travail. Les auteurs concluaient à l'insuffisance de la seule encapsulation des enzymes pour éviter la survenue des sensibilisations et à la nécessité de prendre en compte l'introduction d'autres enzymes, de potentiel allergénique incertain, dans une réévaluation des techniques de fabrication et des risques respiratoires dans l'industrie des détergents.

En 2002, Kizkin et al. [35], à l'occasion d'une enquête rétrospective portant sur une période de 10 ans chez 65 employés d'une usine de produits détergents turque, trouvaient un déclin annuel plus important des valeurs fonctionnelles respiratoires que celui attendu, surtout chez les sujets sensibilisés aux enzymes - prick-test positif - et ce, indépendamment de la présence d'un asthme professionnel et du tabagisme.

En 2004, Brant et al. [8] rapportaient 3 observations cliniques d'asthme (vues en consultation), prouvées par test de provocation bronchique, avec une cellulase extraite de *Humicola insolens*, et une lipase produite par ingénierie génétique par *Aspergillus oryzae*.

Dans la production d'enzymes et la recherche biotechnologique

L'affection y est bien sûr aussi rapportée.

En 1981, Zachariae et al. [36], ayant suivi pendant 10 ans 667 ouvriers employés à l'extraction d'espérase, à partir d'une souche de *Bacillus licheniformis*, signalaient 31 cas de sensibilisation à l'espérase dont 9 étaient asymptomatiques. Le diagnostic était porté sur la présence d'IgE spécifiques mises en évidence par la technique du RAST.

En 1993, Bernstein et al. [7] rapportaient une observation d'asthme professionnel survenu lors de la fabrication de poudre de lysozyme extraite du blanc d'œuf, pour un usage pharmaceutique (l'enzyme est utilisée pour sa propriété stimulante sur l'activité antibiotique et comme conservateur). C'est l'étape de séchage du produit final, effectuée par soufflage d'air chaud qui libérait le lysozyme en poudre dans l'air. Les symptômes avaient débuté deux mois après le premier contact ; le diagnostic était confirmé sur la positivité du prick-test avec le lysozyme de l'œuf, la présence d'IgE spécifiques aux techniques ELISA et ELISA-inhibition et la positivité d'un test de provocation bronchique.

En 1994 Hytönen et al. [37], en Finlande, rapportaient une observation d'œdème pharyngé avec rhinite et asthme au travail chez un contremaître de maintenance d'une usine fabriquant des enzymes. Le prick-test et le RAST étaient positifs avec une cellulase dont la responsabilité symptomatique était attestée par un test inhalatoire réalisé dans une chambre d'exposition.

En Finlande encore, Vanhanen et al. [38] en 1997, lors d'une enquête transversale, initiée à la suite de l'apparition de plusieurs cas d'asthme professionnel dans deux laboratoires de recherche biotechnologique et de développement de production d'enzymes [39] - en particulier de cellulases et xylanases à partir de *Trichoderma reesei* - trouvaient 15,6 % (N = 27) des sujets symptomatiques (rhinite, toux, dyspnée) parmi les 173 employés participant à l'étude. Les prick-tests, réalisés avec les différentes enzymes manipulées étaient positifs pour au moins une enzyme chez 21 sujets (12 %). La fréquence de la sensibilisation, comme celle des symptômes, était liée aux niveaux d'exposition (définis préalablement en 3 catégories : souvent exposé, occasionnellement exposé, rarement ou pas exposé).

Dans l'industrie pharmaceutique (photo 1)

L'industrie pharmaceutique est un autre secteur d'activité à « haut risque ».

L'allergie professionnelle respiratoire a été décrite avec la trypsine [26, 40], la chymotrypsine [40], la broméline [41, 42], la cellulase [43], la pepsine [11]. La



Photo 1 : Poudre comprimée sous forme de pilules dans l'industrie pharmaceutique.

papaine a été à l'origine de véritables épidémies [18, 23] atteignant jusqu'à 43 % des sujets exposés [23].

En 1985 en Allemagne, Wiessmann et al. [44] rapportaient chez 14 employés de l'industrie pharmaceutique, exposés pendant 1 à 18 ans à des extraits pancréatiques d'origine porcine et vus en consultation en raison de crises d'asthme ou de dyspnée à l'exercice, une obstruction fonctionnelle respiratoire, une hyper-réactivité bronchique ou un trouble de la diffusion du CO. Les images radiologiques étaient en faveur d'une alvéolite aiguë chez 2 sujets, mettaient en évidence des signes de fibrose minime chez 3 sujets et des images d'emphysème chez 7 autres. Les tests cutanés et les tests de provocation bronchique aux extraits pancréatiques étaient positifs et la responsabilité de l'alpha-amylase pancréatique était étayée par la technique du RAST.

En 1997 au Danemark, Johnsen et al. [45] signalaient à l'occasion d'une étude rétrospective basée sur les dossiers cliniques et les tests allergologiques de 1 064 ouvriers des laboratoires Novo Nordisk A/S suivis par le service de médecine du travail entre 1970 et 1992, des taux de sensibilisation clinique (à type d'asthme, de rhino-conjonctivite ou d'urticaire) de 8,8 % au cours des trois premières années de travail. Les sujets étaient exposés à différents types d'enzymes : des protéases, des lipases, des cellulases et des carboxyhydrases et des sensibilisations étaient observées avec toutes, surtout dans les zones de production et dans les laboratoires ; 8 % des sujets de l'étude avaient un test RAST positif avec au moins une enzyme.

Au Canada la même année, dans une usine de l'industrie pharmaceutique où étaient effectués les formulations et le conditionnement de nombreux produits médicamenteux de consommation courante, Muir et al. [46] rapportaient la survenue de rhinite et d'asthme très rapidement après l'introduction d'une lactase pulvérulente produite par fermentation à partir d'*Aspergillus* spp ; 20 ouvriers de l'usine sur 279 salariés exposés présentaient des symptômes de gravité variable, caractéristiques d'une allergie

respiratoire professionnelle et 65 avaient des tests cutanés réaginniques positifs avec l'enzyme. L'atopie était notée comme un facteur de risque de la survenue de la sensibilisation, surtout en cas de polysensibilisation et il existait une corrélation positive entre tests cutanés positifs avec l'enzyme et tests cutanés positifs avec *Aspergillus*.

Encore en 1997, Park et al. [47] signalaient l'affection chez un salarié sensibilisé conjointement à une peptidase d'origine bactérienne (*Serratia* spp) et au lysozyme. Le diagnostic était confirmé par test cutané réaginnique, test de provocation bronchique et mise en évidence d'IgE spécifiques par la technique ELISA.

Dans l'industrie alimentaire

Le travail de la boulangerie est apparu comme à risque de sensibilisation aux enzymes à partir de la décennie 70, quand a commencé leur emploi en tant qu'améliorant de la farine - en particulier alpha-amylase mais aussi xylanase, cellulase, hémicellulase, amyloglucosidase fongiques. Ce sujet a déjà été traité dans la fiche de pneumo-allergologie professionnelle consacrée à l'allergie respiratoire du boulanger [48].

Le rôle non négligeable des différentes enzymes fongiques, comme celui de l'alpha-amylase, était confirmé par Elms et al. [49] en 2003 qui, chez 135 boulangers de 18 boulangeries artisanales écossaises, montraient la présence d'IgE spécifiques du mélange xylanase-cellulase-hémicellulase chez 6 % d'entre eux et d'IgE spécifiques de l'alpha-amylase chez 12 %.

Ultérieurement, en 2004 en Grande-Bretagne, la fréquence de la sensibilisation à l'alpha-amylase était encore attestée par Brisman et al. [10], dans une cohorte de 300 boulangers et meuniers britanniques suivis pendant 40 mois en moyenne et dont l'exposition à l'alpha-amylase était estimée à partir de prélèvements d'ambiance et des réponses aux questionnaires, puis classée en trois catégories. Les auteurs rapportaient la survenue de nouveaux cas de symptômes respiratoires (36 sujets) et de symptômes oculonasaux (86 sujets) alors que 24 sujets avaient un prick-test positif pour l'alpha-amylase. Les auteurs observaient également un effet du niveau d'exposition dans la survenue des symptômes et dans celle de la sensibilisation à l'alpha-amylase, avec une prévalence des symptômes thoraciques significativement augmentée dans la catégorie la plus exposée.

La papaine, employée pour l'attendrissement des viandes [4, 23], a également été à l'origine d'asthmes professionnels dans l'industrie alimentaire.

L'emploi, à partir du début de la décennie 80, de phytase et de β -glucanase comme améliorant des qualités nutritives de l'alimentation animale, a aussi été à l'origine de sensibilisations professionnelles lors de leur fabrication et de leur expérimentation (des taux de

sensibilisation [IgE spécifiques positifs] (14/53) de 28 % sont rapportés [50]), tout comme lors de leur manipulation [51, 52]. Par ailleurs, des IgG sont retrouvées chez des sujets manipulant de la phytase pulvérulente extraite d'*Aspergillus niger* sans lien avec une symptomatologie clinique, ni avec l'importance de l'exposition [50].

Autres secteurs

L'allergie respiratoire aux enzymes a encore été rapportée chez les pharmaciens d'officine avec la papaine [53] et la flaviastase [54], dans l'industrie des matières plastiques avec la trypsine [13], chez un anatomopathologiste avec la cellulase et le macérozyme [14], dans la recherche biochimique avec la papaine [17].

- Une observation d'alvéolite allergique extrinsèque provoquée par le Déterzyme®, utilisé en spray pour la détertion des plaies, a été rapportée chez une infirmière par Gueland et al. [55] en 1993. Le principe actif du produit consistait en des fractions enzymatiques protéolytiques et amylolytiques d'*Aspergillus oryzae*. Le diagnostic avait été porté sur la mise en évidence de précipitines sériques vis-à-vis du Déterzyme® en poudre puis, vis-à-vis d'une souche d'*Aspergillus oryzae* isolée, dans un deuxième temps, à partir de cette poudre après culture sur milieu de Sabouraud. Un test d'exposition respiratoire réaliste était positif après pulvérisation de Déterzyme® en spray. La symptomatologie avait disparu avec l'arrêt de l'emploi du produit.

- Un second cas est signalé par Tripathi et al. [56] en 2001, avec le Klenzyme® - produit désinfectant contenant des subtilisines et du tétraborate de sodium - lors du nettoyage/stérilisation d'instruments chirurgicaux et d'un bloc opératoire, chez une femme de 53 ans. Le diagnostic étiologique de cette alvéolite confirmée par tomodynamométrie et lavage bronchiolo-alvéolaire reposait sur la chronologie symptomatique et la présence de précipitines sériques dirigées contre le Klenzyme®.

DIAGNOSTIC EN MILIEU DE TRAVAIL

Diagnostic positif

Il est évoqué chez un sujet qui débute une symptomatologie oculo-nasale et/ou respiratoire alors qu'il est exposé professionnellement aux enzymes.

La rhinite est le plus souvent la première manifestation de la sensibilisation respiratoire [17, 23, 26, 57]. Elle peut apparaître de quelques jours [17, 57] à plusieurs années [14, 18, 26] après le premier

contact avec l'enzyme. Le délai de sensibilisation est d'autant plus court que l'exposition est plus forte [17, 18] ou l'allergène plus puissant : éternuements, rhinorrhée aqueuse et obstruction nasale, souvent accompagnés de conjonctivite [2, 17, 57] surviennent au travail et persistent plusieurs heures [2, 18]. La symptomatologie peut parfois s'aggraver tout au long de la semaine de travail [26], s'améliorer en fin de semaine, être aggravée lors de la ré-exposition qui suit un congé de quelques jours [2]. Après éviction, les symptômes peuvent mettre plusieurs semaines pour disparaître complètement [17]. Une rhinorrhée striée de sang a été décrite chez des sujets très fortement exposés aux enzymes protéolytiques [18].

L'asthme peut accompagner d'emblée la rhinite [14, 17, 58], survenir isolément [43, 52, 54, 57] ou compliquer les manifestations ORL après quelques semaines ou mois d'exposition persistante [23, 57]. Il peut s'agir d'une simple sensation d'essoufflement, d'une toux spasmodique ou d'une crise d'asthme typique [16, 52, 57, 59] survenant après quelques minutes d'exposition et/ou à la fin de la journée de travail [16, 28, 58, 59] ou encore la nuit [16, 28]. Des attaques récurrentes plusieurs nuits de suite sont parfois observées après une seule exposition [16, 28]. La symptomatologie est améliorée lors des congés hebdomadaires [11, 43, 52]. L'asthme une fois apparu, des crises provoquées par les polluants non spécifiques sont possibles [28]. Ailleurs, la symptomatologie se traduit par une dyspnée plus ou moins permanente améliorée en fin de semaine [59].

La spirométrie de pointe réalisée par le sujet lui-même, 4 à 6 fois par jour, au travail et pendant les périodes de repos, peut conforter le diagnostic devant une symptomatologie atypique ou lors de la rechute d'un asthme atopique préalablement guéri ou stabilisé [11, 52], en montrant la relation chronologique entre horaires de travail et chute des débits de pointe.

Diagnostic étiologique

Les activités professionnelles exposant aux enzymes sont nombreuses [1] et la manipulation d'enzymes est le plus souvent connue du médecin du travail qui évoquera le diagnostic facilement dans les secteurs d'activité concernés :

- extraction des enzymes ;
- industrie des détergents ;
- industrie pharmaceutique, pharmacie d'officine ;
- laboratoires de biochimie, d'anatomopathologie, d'hématologie ;
- industrie textile (enzymes protéolytiques et amylolytiques utilisées pour la préparation du textile - encollage, désencollage -, le traitement de la laine, décreusage de la soie par la papaine) ;
- industrie des peaux et cuirs (enzymes protéoly-

tiques utilisées pour le délainage, le reverdissage (ou nettoyage à l'eau), le confitage (ou conservation) ;

- industrie du papier et de la pâte à papier ;
- fabrication de la bière (amylases et papaine employées pour clarifier la bière) ;
- industrie alimentaire :
 - boulangerie, meunerie (alpha-amylases, protéases qui agissent sur le gluten),
 - fabrication de jus de fruit (enzymes protéolytiques pour la clarification, l'amélioration de la filtration...),
 - fromagerie (présure contenue dans la caillette de veau, pepsine),
 - préparations alimentaires diverses (cellulase utilisée pour diminuer leur contenu en cellulose),
 - attendrissage des viandes par la papaine,
- industrie cosmétique (fabrication de produits dépilatoires, crèmes et lotions faciales).
- ...

CONFIRMATION DIAGNOSTIQUE EN MILIEU SPÉCIALISÉ

Diagnostic positif

Il comporte :

- la recherche d'un terrain atopique : prick-tests aux pneumallergènes courants de l'environnement domestique, phadiatope ou CLA-30 pneumallergènes (ou test multiallergènes : sérologie recherchant la présence d'IgE spécifiques d'un mélange de 30 pneumallergènes), dosage des IgE totales ;
- le bilan d'une rhinite allergique : rhinoscopie, radiographie, voire TDM des sinus ;
- un bilan fonctionnel respiratoire objectivant la présence d'un asthme :
 - à l'état basal : fonction respiratoire normale, obstruction bronchique distale ou encore syndrome obstructif global, particulièrement évocateur s'il est réversible sous bêta-mimétiques,
 - mesure de la réactivité bronchique aspécifique : hyperréactivité bronchique (seuil cholinergique abaissé) [11, 16, 57] confirmant l'existence d'un asthme, ou réactivité bronchique normale [57].

Un profil fonctionnel respiratoire normal n'élimine donc pas le diagnostic d'asthme aux enzymes.

Diagnostic étiologique

- Tests immunologiques cutanés ou sérologiques :
 - Tests cutanés à lecture immédiate, sous forme de prick-tests. En dehors de l'alpha-amylase, il n'existe pas de solution allergénique commercialisée et prête

à l'emploi pour les enzymes. Ces dernières doivent donc être spécialement préparées pour chaque patient, aux dilutions appropriées - de l'ordre de 100 µg/ml - [60] et éventuellement progressivement croissantes.

- La détection d'IgE. Les tests allergologiques sérologiques, employant la technique du RAST sont plus nombreux à être commercialisés. En particulier, le test est disponible dans le commerce pour l'alcalase, l'alpha-amylase, la broméline, le lysozyme, la maxatase, la papaine, la pepsine, la phospholipase et la savinase.

Les tests cutanés sous forme de prick sont toutefois plus sensibles que la détection d'IgE spécifiques par le RAST et sont en fait à préférer pour le suivi au long cours de la survenue des sensibilisations professionnelles [6].

- Le test de provocation nasale est indiqué s'il existe une rhinite. Le contact entre la muqueuse nasale et la solution allergénique reproduit la symptomatologie ORL (éternuements, rhinorrhée...) et entraîne le doublement des résistances nasales mesurées par rhinomanométrie, ce qui objective la sensibilisation.

- Le test de provocation bronchique doit être réalisé avec prudence, en cabine, chez un patient hospitalisé.

L'allergène peut être administré :

- sous forme d'un aérosol liquide que diffuse un nébuliseur pendant quelques minutes [4, 13, 41, 57, 58]. Un test placebo préalable - avec le lactose seul - est alors indispensable ; en effet, une réponse bronchique précoce peut être due à l'effet non spécifique de l'aérosol particulaire ;

- par la méthode du transvasement [11, 22, 26, 42, 52]. L'enzyme, mélangée en quantité infime à 100 ou 200 g de lactose en poudre, est transvasée d'un récipient à un autre pendant 5 à 15 minutes. Un test placebo avec le lactose seul réalisé au préalable est utile.

Les réactions observées peuvent être :

- immédiate : chute de VEMS dans les minutes qui suivent la fin de l'exposition, suivie d'une remontée précoce [18] ou, plus souvent, prolongée pendant plusieurs heures [7, 11, 18, 41, 42]. Avec les enzymes, la réaction immédiate peut être très importante ; elle est alors accompagnée de râles sibilants.

- retardée : chute du VEMS entre la 3^e et la 6^e heure après la fin de l'exposition, suivie d'une remontée lente, en plusieurs heures [57].

- double : chute quasi immédiate du VEMS suivie d'une remontée rapide ou très lente puis d'une rechute (ou paroxysme) entre la 3^e et la 6^e heure [22, 41, 42, 47, 57, 58].

Une symptomatologie de rhinite avec conjonctivite est assez souvent observée avant même la fin de l'exposition [11, 42] ; elle signe l'origine immuno-allergique des manifestations cliniques.

PRÉVENTION

Prévention médicale

Les sujets atopiques se sensibilisent plus facilement [2, 3, 23 à 25, 29]. En Grande-Bretagne dans l'industrie des détergents à partir de 1970, une politique d'exclusion à l'embauche des postes à risque a été pratiquée chez les sujets qui avaient des antécédents cliniques d'atopie (eczéma du nourrisson, asthme, rhume des foies) et chez ceux dont les tests cutanés aux pneumallergènes courants étaient positifs pour au moins un allergène [28, 29]. Indépendamment du fait que cette décision interdisait ce secteur d'activité à environ 25 % de la population, cette mesure a rapidement été déconseillée car sans réelle valeur préventive [28].

Toutefois pour les salariés ayant des antécédents d'asthme ou de pollinose et les atopiques présentant une affection respiratoire (bronchite chronique, emphysème), il est particulièrement important de réduire le plus possible les niveaux d'exposition.

Un suivi médical régulier, semestriel, les deux premières années d'exposition, puis annuel, a été recommandé pour les sujets travaillant à la fabrication de produits lessiviels contenant des enzymes [62]. Lors des visites, on associera un interrogatoire à la recherche de symptômes respiratoires, conjonctivaux, ORL ou cutanés, un examen clinique et une EFR.

Prévention technique

C'est l'élément déterminant ; en effet, la prévalence et la gravité des symptômes sont directement liées à l'importance de l'exposition allergénique [16, 23, 28, 63] :

- automatisation aussi poussée que possible,
- manipulation en vase clos,
- dispositifs d'aspiration mettant la zone où persiste un risque en dépression,
- s'assurer de l'absence de poussière visible à l'œil nu,
- supprimer les risques de projections et les réparations transitoires (rafistolage) ; enlèvement des récipients d'enzymes, même vides [63],
- utiliser des formulations qui réduisent l'empoussièrément et la production d'un aérosol (encapsulation dans un matériau inerte dans l'industrie de détergents) [63].
- pratiquer des contrôles d'atmosphère très fréquents, utilisant des méthodes immunologiques ou encore basées sur l'activité enzymatique, pouvant aller jusqu'au prélèvement horaire, voire procédé de monitoring en continu [64], afin de connaître les taux d'empoussièrage et d'activité enzymatique,
- information, éducation des salariés professionnellement exposés,

La possibilité de réactions immédiates très intenses, de paroxysmes très retardés, justifie de ne pratiquer ce test que chez un sujet hospitalisé et limiter au maximum son indication.

En pratique médicale courante, le diagnostic d'asthme aux enzymes repose sur la conjonction d'une exposition professionnelle aux enzymes, d'une symptomatologie chronologiquement liée au travail et de la positivité de tests allergologiques spécifiques, cutanés ou sérologiques.

ÉVOLUTION

La rhinite allergique, quand elle est la première manifestation clinique de la sensibilisation respiratoire, évolue vers un asthme après quelques semaines ou mois si l'exposition est poursuivie [23, 57]. L'asthme peut ne survenir qu'après plusieurs années [26].

L'asthme, après éviction complète, peut guérir sans séquelle. Cependant la persistance d'un état asthmatique de gravité variable est observée fréquemment.

L'obstruction bronchique peut persister longtemps après l'éviction [15 à 17, 22].

La toux, les sibilants et la gêne thoracique peuvent persister sous la forme de crises intermittentes provoquées par les surinfections bronchiques, les irritants respiratoires (fumées, froid, poussières diverses) ; ces manifestations sont particulièrement fréquentes quand une bronchite chronique, un emphysème ou un asthme existaient avant l'exposition [29].

L'apparition d'un asthme atopique ou d'une pollinose est parfois observée chez un sujet atopique préalablement indemne de tout symptôme [4].

Enfin, la sensibilisation respiratoire à la broméline, protéase extraite des tiges de l'ananas, peut s'accompagner d'une allergie alimentaire à ce fruit, traduite par des crises d'asthme lors de son ingestion [42]. Le même phénomène est possible avec le lysozyme de l'œuf [61].

En 2006 en Grande-Bretagne, Brant et al. [9] rapportaient les résultats du suivi de 35 employés atteints d'un asthme professionnel dans une même usine fabriquant des détergents ; après avoir quitté la société depuis 37 mois en moyenne, 25 avaient présenté un symptôme respiratoire le mois précédent, 20 étaient toujours suivis pour asthme par leur médecin traitant et 19 continuaient à prendre un traitement antiasthmatique au long cours. De plus, seuls 16 sujets avaient retrouvé un emploi temps plein et 4, un emploi temps partiel. L'étude avait aussi permis d'estimer la demi-vie des IgE spécifiques à 20 mois pour la protéase et 21 mois pour la cellulase et l'amylase.

- port de masques anti-poussières pour les opérations occasionnelles quand la protection collective est inopérante.

Pour les subtilisines, une valeur limite d'exposition a été établie à 60 ng/m³ par l'ACGIH (*American Conference of Governmental Industrial Hygienists*), et à 40 ng/m³ en Grande-Bretagne [cité par Rowell, 64]. Des taux encore inférieurs (15 ng protéine/m³) sont en usage dans la grande industrie lessivielle, pour l'alcalase [63].

RÉPARATION

La rhinite et l'asthme objectivés par explorations fonctionnelles respiratoires et la conjonctivite aiguë, bilatérale, sont réparés au titre du tableau n° 63

« Affections provoquées par les enzymes » du Régime général de la Sécurité sociale s'ils récidivent en cas de nouvelle exposition ou s'ils sont confirmés par test.

La liste indicative des principaux travaux mentionne la préparation, la manipulation, l'emploi des enzymes et des produits en renfermant, notamment :

- extraction et purification des enzymes d'origine animale (trypsine), végétale (broméline, papaïne, ficine), bactérienne et fongique (préparés à partir des *Bacillus subtilis*, *Aspergillus oryzae*) ;

- fabrication et conditionnement de détergents renfermant des enzymes.

Le délai de prise en charge est de 7 jours. Lorsque le délai de prise en charge des affections inscrites au tableau est dépassé, la reconnaissance du caractère professionnel de l'affection est du ressort du Comité régional de réparation des maladies professionnelles.

Points à retenir

Des enzymes sont utilisées dans de très nombreux secteurs d'activité (industrie des détergents, production d'enzymes et recherche biotechnologique ; industrie alimentaire humaine [boulangerie] et animale, industrie pharmaceutique...).

Elles constituent un risque d'asthme professionnel par leur présence pulvérulente ou aérosolisée.

Leur structure protéique explique la sensibilisation réaginique.

Le diagnostic est souvent facile : symptomatologie compatible associée à la manipulation d'enzymes et à des tests allergologiques (sérologique ou cutané) positifs.

L'atopie est un facteur favorisant la survenue de la sensibilisation, comme toujours avec les allergènes macromoléculaires, mais l'éviction des atopiques à l'embauche est à proscrire.

La prévention technique est essentielle ; elle comprend toutes les mesures susceptibles de réduire l'exposition allergénique (travail en vase clos, aspiration avec mise en dépression des zones à risque, changement de formulation, information, éducation des salariés...).

BIBLIOGRAPHIE

- [1] KIRK O, DAMHUS T, BORCHERT TV, FUGLSANG CC ET AL. - Enzyme applications, industrial. In: Seidel A (Ed) - Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology, 5th edition. Volume 10. New-York : Wiley-Interscience ; 2005 : 248-317, 898 p.
- [2] MITCHELL CA, GANDEVIA B - Respiratory symptoms and skin reactivity in workers exposed to proteolytic enzymes in the detergent industry. *Am Rev Respir Dis*. 1971 ; 104 (1) : 1-12.
- [3] NEWHOUSE ML, TAGG B, POCOCK SJ, McEWAN AC - An epidemiological study of workers producing enzyme washing powders. *Lancet*. 1970 ; 1 (7649) : 689-93.
- [4] BAUR X, FRUHMANN G - Papain-induced asthma: diagnosis by skin test, RAST and bronchial provocation test. *Clin Allergy*. 1979 ; 9 (1) : 75-81.
- [5] BELIN L, HOBORN J, FALSEN E, ANDRÉ J. - Enzyme sensitisation in consumers of enzyme-containing washing powder. *Lancet*. 1970 ; 2 (7684) : 1153-57.
- [6] BERNSTEIN DI, BERNSTEIN IL, GAINES WG JR, STAUDER T ET AL. - Characterization of skin prick testing responses for detecting sensitization to detergent enzymes at extreme dilutions: inability of the RAST to detect lightly sensitized individuals. *J Allergy Clin Immunol*. 1994 ; 94 (3 Pt 1) : 498-507.
- [7] BERNSTEIN JA, KRAUT A, BERNSTEIN DI, WARRINGTON R ET AL. - Occupational asthma induced by inhaled egg lysozyme. *Chest*. 1993 ; 103 (2) : 532-35.
- [8] BRANT A, HOLE A, CANNON J, HELM J ET AL. - Occupational asthma caused by cellulase and lipase in the detergent industry. *Occup Environ Med*. 2004 ; 61 (9) : 793-95.
- [9] BRANT A, ZEKVELD C, WELCH J, JONES M ET AL. - The prognosis of occupational asthma due to detergent enzymes: clinical, immunological and employment outcomes. *Clin Exp Allergy*. 2006 ; 36 (4) : 483-88.
- [10] BRISMAN J, NIEUWENHUISEN MJ, VENABLES KM, PUTCHA V ET AL. - Exposure-response relations for work related respiratory symptoms and sensitisation in a cohort exposed to alpha-amylase. *Occup Environ Med*. 2004 ; 61 (6) : 551-53.
- [11] CARTIER A, MALO JL, PINEAU L, DOLOVICH J - Occupational asthma due to pepsin. *J Allergy Clin Immunol*. 1984 ; 73 (5 Pt 1) : 574-77.
- [12] CATHCART M, NICHOLSON P, ROBERTS D, BAZLEY M ET AL. - Enzyme exposure, smoking and lung function in employees in the detergent industry over 20 years. Medical Subcommittee of the UK Soap and Detergent Industry Association. *Occup Med*. 1997 ; 47 (8) : 473-78.
- [13] COLTEN HR, POLAKOFF PL, WEINSTEIN SF, STRIEDER DJ - Immediate hypersensitivity to hog trypsin resulting from industrial exposure. *N Engl J Med*. 1975 ; 292 (20) : 1050-53.
- [14] RANSOM JH, SCHUSTER M - Allergic reactions to enzymes used in plant cloning experiments. *J Allergy Clin Immunol*. 1981 ; 67 (5) : 412-15.
- [15] FLINDT ML - Pulmonary disease due to inhalation of derivatives of *Bacillus subtilis* containing proteolytic enzyme. *Lancet*. 1969 ; 1 (7607) : 1177-81.
- [16] MEDICAL RESEARCH COUNCIL - Symposium on biological effects of proteolytic enzyme detergents. *Thorax*. 1976 ; 31 (6) : 621-34.
- [17] MILNE J, BRAND S - Occupational asthma after inhalation of dust of the proteolytic enzyme, papain. *Br J Ind Med*. 1975 ; 32 (4) : 302-07.
- [18] BAUR X, KÖNIG G, BENCZE K, FRUHMANN G - Clinical symptoms and results of skin test, RAST and bronchial provocation test in thirty-three papain workers: evidence for strong immunogenic potency and clinically relevant 'proteolytic effects of airborne papain'. *Clin Allergy*. 1982 ; 12 (1) : 9-17.
- [19] MUSK AW, GANDEVIA B - Loss of pulmonary elastic recoil in workers formerly exposed to proteolytic enzyme (alcalase) in the detergent industry. *Br J Ind Med*. 1976 ; 33 (3) : 158-65.
- [20] SARLO K, RITZ HL, FLETCHER ER, SCHROTEL KR ET AL. - Proteolytic detergent enzymes enhance the allergic antibody responses of guinea pigs to nonproteolytic detergent enzymes in a mixture: implications for occupational exposure. *J Allergy Clin Immunol*. 1997 ; 100 (4) : 480-87.
- [21] ROCHE N, CHINET TC, HUCHON GJ - Allergic and nonallergic interactions between house dust mite allergens and airway mucosa. *Eur Respir J*. 1997 ; 10 (3) : 719-26.
- [22] NOVEY HS, MARCHIOLI LE, SOKOL WN, WELLS ID - Papain-induced asthma, physiological and immunological features. *J Allergy Clin Immunol*. 1979 ; 63 (2) : 98-103.
- [23] NOVEY HS, KEENAN WJ, FAIRSHTER RD, WELLS ID ET AL. - Pulmonary disease in workers exposed to papain: clinical-physiological and immunological studies. *Clin Allergy*. 1980 ; 10 (6) : 721-31.
- [24] ZENTNER A, JEEP S, WAHL R, KUNKEL G ET AL. - Multiple IgE-mediated sensitizations to enzymes after occupational exposure: evaluation by skin prick test, RAST, and immunoblot. *Allergy*. 1997 ; 52 (9) : 928-34.
- [25] GREENBERG M, MILNE JF, WATT A - Survey of workers exposed to dusts containing derivatives of *Bacillus subtilis*. *Br Med J*. 1970 ; 2 (5710) : 629-33.
- [26] ZWEIMAN B, GREEN G, MAYOCK RL, HILDRETH EA - Inhalation sensitization to trypsin. *J Allergy*. 1967 ; 39 (1) : 11-16.
- [27] SLAVIN RG, LEWIS CR - Sensitivity to enzyme additives in laundry detergent workers. *J Allergy Clin Immunol*. 1971 ; 48 (5) : 262-66.
- [28] JUNIPER CP, ROBERTS DM - Enzyme asthma: fourteen year's clinical experience of a recently prescribed disease. *J Soc Occup Med*. 1984 ; 34 (4) : 127-32.
- [29] FLOOD DF, BLOFELD RE, BRUCE CF, HEWITT JJ ET AL. - Lung function, atopy, specific hypersensitivity and smoking of workers in the enzyme detergent industry over 11 years. *Br J Ind Med*. 1985 ; 42 (1) : 43-50.
- [30] LISS GM, KOMINSKY JR, GALLAGHER JS, MELIUS J ET AL. - Failure of enzyme encapsulation to prevent sensitization of workers in the dry bleach industry. *J Allergy Clin Immunol*. 1984 ; 73 (3) : 348-55.
- [31] PERDU D, LAVALD F, COSSART C, LEGRELE S ET AL. - Enzymes des lessives : le risque de sensibilisation professionnelle a-t-il disparu ? *Rev Mal Respir*. 1992 ; 9 (4) : 443-48.
- [32] VANHANEN M, TUOMI T, TIKKAINEN U, TUPASELA O ET AL. - Risk of enzyme allergy in the detergent industry. *Occup Environ Med*. 2000 ; 57 (2) : 121-25.
- [33] HOLE AM, DRAPER A, JOLLIFFE G, CULLINAN P ET AL. - Occupational asthma caused by bacillary amylase used in the detergent industry. *Occup Environ Med*. 2000 ; 57 (12) : 840-22.
- [34] CULLINAN P, HARRIS JM, NEWMAN TAYLOR AJ, HOLE AM ET AL. - An outbreak of asthma in a modern detergent factory. *Lancet*. 2000 ; 356 (9245) : 1899-900.
- [35] KIZKIN O, SULEYMAN GT, HACIEVLİYAGIL S, GUNEN H - Proteolytic enzyme sensitivity and decrease in respiratory function (a 10-year follow-up). *Int Arch Occup Environ Health*. 2002 ; 75 (6) : 441-44.
- [36] ZACHARIAE H, HOECH-THOMSEN J, WITMEUR O, WIDE L - Detergent enzymes and occupational safety. Observations on sensitization during Esperase production. *Allergy*. 1981 ; 36 (7) : 513-16.
- [37] HYTÖNEN M, VANHANEN M, KESKINEN H, TUOMI T ET AL. - Pharyngeal edema caused by occupational exposure to cellulase enzyme. *Allergy*. 1994 ; 49 (9) : 782-44.
- [38] VANHANEN M, TUOMI T, NORDMAN H, TUPASELA O ET AL. - Sensitization to industrial enzymes in enzyme research and production. *Scand J Work Environ Health*. 1997 ; 23 (5) : 385-91.
- [39] TARVAINEN K, KANERVA L, TUPASELA O, GRENGUIST-NORDÉN B ET AL. - Allergy from cellulase and xylanase enzymes. *Clin Exp Allergy*. 1991 ; 21 (5) : 609-15.
- [40] HOWE C, ERLANGER BF, BEISER SM, ELLISON SA ET AL. - Hypersensitivity to purified trypsin and chymotrypsin. *N Engl J Med*. 1961 ; 265 : 332-34.



- [41] BAUR X, FRUHMANN G - Allergic reactions, including asthma, to the pineapple protease bromelain following occupational exposure. *Clin Allergy*. 1979 ; 9 (5) : 443-50.
- [42] GALLEGUILLOS F, RODRIGUEZ JC - Asthma caused by bromelain inhalation. *Clin Allergy*. 1978 ; 8 (1) : 21-24.
- [43] LOSADA E, HINOJOSA M, MONEO L, DOMINGUEZ J ET AL. - Occupational asthma caused by cellulase. *J Allergy Clin Immunol*. 1986 ; 77 (4) : 635-39.
- [44] WIESSMANN KJ, BAUR X - Occupational lung disease following long-term inhalation of pancreatic extracts. *Eur J Respir Dis*. 1985 ; 66 (1) : 13-20.
- [45] JOHNSEN CR, SORENSEN TB, INGEMANN LARSEN A, BERTELSEN SECHER A ET AL. - Allergy risk in an enzyme producing plant: a retrospective follow up study. *Occup Environ Med*. 1997 ; 54 (9) : 671-75.
- [46] MUIR DC, VERRALL AB, JULIAN JA, MILLMAN JM ET AL. - Occupational sensitization to lactase. *Am J Ind Med*. 1997 ; 31 (5) : 570-71.
- [47] PARK HS, NAHM DH - New occupational allergen in a pharmaceutical industry: serratal peptidase and lysozyme chloride. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 1997 ; 78 (2) : 225-29.
- [48] ROSENBERG N - Allergie respiratoire du boulanger. Allergologie-pneumologie professionnelle TR 29. *Doc Méd Trav*. 2002 ; 90, 2^e trimestre 2002 : 189-96.
- [49] ELMS J, FISHWICK D, WALKER J, RAWBONE R AL. - Prevalence of sensitisation to cellulase and xylanase in bakery workers. *Occup Environ Med*. 2003 ; 60 (10) : 802-04.
- [50] BAUR X, MELCHING-KOLLMUSS S, KOOPS F, STRASSBURGER K ET AL. - IgE-mediated allergy to phytase – a new animal feed additive. *Allergy*. 2002 ; 57 (10) : 943-45.
- [51] DOEKES G, KAMMINGA N, HELWEGEN L, HEEDERIK D - Occupational IgE sensitisation to phytase, a phosphatase derived from *Aspergillus niger*. *Occup Environ Med*. 1999 ; 56 (7) : 454-59.
- [52] O'CONNOR TM, BOURKE JF, JONES M, BRENNAN N - Report of occupational asthma due to phytase and beta-glucanase. *Occup Environ Med*. 2001 ; 58 (6) : 417-19.
- [53] BEECHER W - Hyperesthetic rhinitis and asthma due to digestive ferments. *Ill Med J*. 1951 ; 59 : 343-4.
- [54] PAUWELS R, DEVOS M, CALLENS L, VAN DER STRAETEN M - Respiratory hazards from proteolytic enzymes. *Lancet*. 1978 ; 1 (8065) : 669.
- [55] GUELAND C, FRUIT J, VANNIMENUS C, WALLAERT B ET AL. - Alvéolite allergique extrinsèque professionnelle à *Aspergillus oryzae*. *Rev Mal Respir*. 1993 ; 10 (4) : 362-65.
- [56] TRIPATHI A, GRAMMER LC - Extrinsic allergic alveolitis from a proteolytic enzyme. *Ann Allergy Asthma Immunol*. 2001 ; 86 (4) : 425-27.
- [57] PEPYS J, LONGBOTTOM JL, HARGREAVE FE, FAUX J - Allergic reactions of the lungs to enzymes of *Bacillus subtilis*. *Lancet*. 1969 ; 1 (7607) : 1181-84.
- [58] FRANZ T, MC MURRAIN KD, BROOKS S, BERNSTEIN IL - Clinical, immunologic, and physiologic observations in factory workers exposed to *B. subtilis* enzyme dust. *J Allergy*. 1971 ; 47 (3) : 170-80.
- [59] WEILL H, WADDELL LC, ZISKIND M - A study of workers exposed to detergent enzymes. *JAMA*. 1971 ; 217 (4) : 425-33.
- [60] VANHANEN M, TUOMI T, HOKKANEN H, TUPASELA O ET AL. - Enzyme exposure and enzyme sensitisation in the baking industry. *Occup Environ Med*. 1996 ; 53 (10) : 670-76.
- [61] LESER C, HARTMANN AL, PRAML G, WÜTHRICH B - The "egg-egg" syndrome: occupational respiratory allergy to airborne egg proteins with consecutive ingestive egg allergy in the bakery and confectionery industry. *J Investig Allergol Clin Immunol*. 2001 ; 11 (2) : 89-93.
- [62] NICHOLSON PJ, NEWMAN TAYLOR AJ, OLIVER P, CATHCART M - Current best practice for the health surveillance of enzyme workers in the soap and detergent industry. *Occup Med*. 2001 ; 51 (2) : 81-92.
- [63] SCHWEIGERT MK, MACKENZIE DP, SARLO K - Occupational asthma and allergy associated with the use of enzymes in the detergent industry – a review of the epidemiology, toxicology and methods of prevention. *Clin Exp Allergy*. 2000 ; 30 (11) : 1511-18.
- [64] ROWELL FJ, SYKES D, GRIEVESON L, THEAKER B ET AL. - A near real-time system for continuously monitoring airborne subtilisin-type enzymes in the industrial atmosphere. *J Environ Monit*. 2007 ; 9 (1) : 33-43.