

“Evaluation non invasive de l'inflammation des voies aériennes chez des jeunes travailleurs exposés à des agents inhalés facteurs de risque d'asthme professionnel”

Paul Tossa¹, Christophe Paris^{1,2}, Valérie Demange³, Pascal Wild³, Stéphanie Acouetey¹, Thomas Remen¹, Estelle Mounier-Geyssand¹, Jean-Pierre Michaely¹, Abraham Bohadana¹, Denis Zmirou-Navier^{1,2,4}

¹U954, Inserm, Vandoeuvre-Les-Nancy, France; ²Nancy Université, Faculté de médecine, France; ³Département d'Epidémiologie au Travail, INRS, Vandoeuvre-Les-Nancy, France; ⁴Département Santé-Environnement-Travail, EHESP, Rennes, France.

Introduction

L'asthme professionnel (AP) est une maladie caractérisée par une restriction variable du flux aérien et/ou une hyperréactivité des voies aériennes causée par des facteurs en lien avec un environnement professionnel particulier et non par des facteurs rencontrés en dehors du cadre de travail. Par convention, on décrit deux formes d'AP: l'un est de type immunologique et survient après une période d'exposition, nécessaire pour que le travailleur acquière une sensibilisation à l'agent causal; c'est la forme la plus commune d'AP, représentant à peu près 90% des cas. Un mécanisme IgE-médié a été décrit pour des agents de haut poids moléculaire (HPM) (>5 kDa, par ex des protéines animales ou de la farine). La nature du mécanisme immunologique n'est pas bien comprise pour des expositions à des agents de bas poids moléculaire (BPM) (<5 kDa; par ex isocyanates ou persulfates alcalins). Cette seconde forme, non immunologique, d'AP est beaucoup moins commune, représentant à peu près 7% des cas. Elle est caractérisée par une absence de période de latence et survient typiquement après une exposition accidentelle à des hautes concentrations de vapeurs irritantes, gaz ou fumée. De l'ordre de 300 agents capables de provoquer un AP sont rapportés dans des registres réunissant divers métiers et agents (par ex <http://www.asmanet.com/>). En France, selon l'ONAP, les agents les plus fréquemment incriminés sont la farine (20.3%), les isocyanates (14.1%), le latex (7.2%), les aldéhydes (5.9%), les sels de persulfate (5.8%), et la poussière de bois (3.7%). Les métiers les plus exposés au risque d'AP sont la boulangerie et la pâtisserie (683 cas/million de sujets), la carrosserie-peinture (326/million), la coiffure (308/million), et le travail du bois (218/million). D'un point de vue étiopathogénique, l'altération princeps de l'AP est l'inflammation des voies aériennes [Chan-Yeung et al 1990]. Chez des sujets susceptibles, l'inflammation cause des épisodes récurrents de sifflements, dyspnée, d'essoufflement et de toux, typiquement accompagnés d'une obstruction bronchique et d'une

hyperréactivité bronchique (HRB). La plupart des patients souffrent d'une persistance des symptômes et de l'HRB même après élimination de l'exposition, constat attribué au processus inflammatoire et au remodelage des voies aériennes.

Malgré une connaissance parcellaire de l'état pré-morbide– depuis le début de l'exposition jusqu'à l'AP – il a été montré que le rythme d'acquisition d'une sensibilisation et des symptômes dépendait des agents en cause [Malo et al 2001; Monso et al 2000; Archambault et al 2001; Gautrin et al 2001]. Ces données suggèrent que l'inflammation des voies aériennes serait un phénomène précoce dans la chaîne des événements conduisant à l'AP [Thiel et al 1980, Kennedy et al 1999]. Diverses méthodes sont maintenant utilisées pour apprécier l'inflammation, mais elles ne conviennent pas toutes à des études en population générale. Ainsi, la biopsie bronchique, le "gold standard", ne peut être pratiquée dans ce contexte. En revanche, le test d'HBR non spécifique à la métacholine, est un indicateur indirect valide de l'inflammation des voies aériennes [O'Byrne et al 1996] et a démontré son utilité dans l'étude de l'asthme professionnel [Massin et al 1996; Bohadana et al 1994] ; il prend cependant du temps, requiert la participation active des volontaires et n'est pas de réalisation aisée. Des méthodes alternatives non invasives pour explorer la fonction ventilatoire et l'inflammation existent, et en particulier trois: la technique des oscillations forcées [Pham et al 1995], la mesure de la fraction exhalée du monoxyde d'azote [Kharitonov et al 2001] (FE_{NO}) et le comptage des éosinophiles dans le liquide de lavage nasal [Hilding et al 1972]. Ces méthodes ont été validées, sont bien tolérées et reproductibles [Kennedy et al 1999; O'Byrne et al 1996], ce qui en fait de bonnes candidates pour être utilisées en épidémiologie professionnelle. De plus, elles prennent peu de temps à réaliser et sont moins dépendantes de la coopération des sujets. De manière surprenante, peu d'études épidémiologiques sur l'AP se sont intéressées à ces méthodes.

Dans ce contexte, nous avons décidé d'explorer les phases précoces du développement de l'inflammation des voies aériennes et des signes évocateurs d'un AP dans une cohorte d'apprentis de la boulangerie, de la pâtisserie et de la coiffure, des populations à risque d'AP, avec deux objectifs: a) examiner la performance d'une batterie de test non invasifs aptes à détecter une inflammation précoce des voies aériennes susceptible de déboucher sur un AP; et b) de mieux comprendre l'influence de facteurs de risque constitutionnels (atopie) et comportementaux (tabagisme) sur "l'histoire naturelle" de l'inflammation des voies aériennes et de l'AP.

Matériel et méthodes

MIBAP est une étude longitudinale prospective, avec suivi de jeunes apprentis boulangers/pâtisseries et coiffeurs pendant les deux années que dure leur apprentissage. Le protocole détaillé a été décrit dans un précédent article [Tossa et al 2009]. En bref, la population d'étude est constituée de jeunes apprentis entrant au centre d'apprentissage au cours des années scolaires 2004-

2005, 2005-2006 et 2006-2007 (année du dernier recrutement) dans les métiers de la boulangerie/pâtisserie et de la coiffure. Ils ont été recrutés dans 6 Centres de Formation d'Apprentis (CFA) de la région Lorraine. Les critères d'inclusion étaient : l'engagement dans l'une de ces branches de formation et une absence d'exposition antérieure à des substances susceptibles d'induire un asthme professionnel. Les sujets présentant un asthme lors de la visite initiale, qu'ils soient déjà connus et traités ou découverts lors de l'examen initial, n'ont pas été inclus. Le nombre de sujets nécessaire a été estimé à approximativement 400 à 450 afin d'assurer une sensibilité des nouveaux tests de 70 à 80% avec une précision de 10-15% ($\alpha=5\%$), avec une incidence attendue de 10-15% de l'inflammation des voies aériennes et un taux d'abandon de 25% durant les 2 années du suivi. Les sujets ont été examinés la première fois à leur entrée dans l'apprentissage, avant exposition professionnelle, puis à 6, 12 et 18 mois du suivi longitudinal.

Des questionnaires standardisés ont permis d'apprécier les symptômes lors de chaque visite, le statut tabagique, l'existence ou non d'un terrain allergique personnel ou familial, l'histoire professionnelle ainsi que l'évaluation des conditions réelles d'exposition des sujets. L'inflammation bronchique est évaluée en utilisant des méthodes conventionnelles ainsi que trois nouvelles approches. Les méthodes conventionnelles sont la spirométrie, l'étude de la réactivité bronchique à la métacholine et la mesure du monoxyde d'azote (NO) exhalé (NOE, analyseur de chemiluminescence NIOX analyzer, Aerocrine, Suède). Les méthodes nouvelles sont la mesure de l'impédance respiratoire par la technique des oscillations forcées (FOT), la numération des cellules (en particulier les éosinophiles) et le dosage de médiateurs inflammatoires dans le liquide de lavage nasal.

Les mesures spirométriques ont été réalisées selon les recommandations de l'ATS 1995 [ATS 1995]. L'HRB non spécifique a été évaluée par un test de provocation à la métacholine selon un protocole décrit antérieurement, avec trois doses cumulatives de métacholine (100, 600 and 1600 μg i.e. 0.5, 3.0 and 8.0 μmol respectivement) [Massin et al 1996; Bohadana et al 1994]. La survenue ou l'aggravation d'une HRB, variable principale "d'effet" de l'étude, a été définie selon l'un des 3 critères suivants:

- une baisse du VEMS de 20% ou plus à l'une quelconque des visites lors du test si celui-ci était négative à l'inclusion, même si le résultat se négativait à une visite ultérieure; ou
- une baisse du VEMS de 20% ou à la première visite, suivie d'une baisse semblable à une visite postérieure, mais à une dose inférieure de métacholine (aggravation); ou
- une baisse de 0.100 ou plus de la droite de la relation dose-réponse standardisée à deux points [Bohadana et al 1994] relativement à la pente mesurée lors de la première visite si, alors, le VEMS marquait une baisse de 15% ou plus. Le seuil de 0.100 était la valeur moyenne des baisse observe chez tous les sujets qui avaient un test d'HRB positif (aggravation).

La mesure de l'impédance totale du système respiratoire (Z_{rs}) utilise le système Random Noise

Oscillatory Spirometer (R.O.S) (Sensor Medics Corporation, Datalink, Montpellier, France). Le lavage nasal est effectué selon la méthode de Hilding [Hilding 1972], et a permis un comptage des éosinophiles et des autres cellules le liquide du lavage nasal.

L'atopie et la survenue d'une sensibilisation allergénique aux allergènes courants et/ou aux allergènes professionnels, ont été investiguées par des tests cutanés allergéniques d'hypersensibilité immédiate (prick tests). Les allergènes testés sont : 1) les aéroallergènes communs à tous les sujets : les acariens (*Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae* contenus dans les poussières de maison et les mites de stockage), les squames cutanées d'animaux (poils de chat, chien), les pollens de végétaux (pollens 12 graminées, pollens 4 céréales, mélanges herbacées, mélanges bétulacées, mélanges d'arbres), les moisissures (*Alternaria tenuis*, *Aspergillus mix*) ; 2) les antigènes propres à chaque catégorie professionnelle : les allergènes de la boulangerie/pâtisserie (levures de bière et de boulangerie, alpha amylase, 7 céréales, sésame, sarrasin, poussières de boulangerie), les allergènes de la coiffure (les persulfates alcalins 1% en solution aqueuse).

Chaque apprenti a complété, pour les différents lieux de stage qu'il a fréquentés au cours de sa formation un questionnaire détaillant le temps passé sur le lieu de travail et ses caractéristiques afin d'estimer les conditions de diffusion des poussières et aérosols associés à l'activité (volume des locaux, dispositifs de ventilation, intensité des tâches ...). En parallèle, l'exposition personnelle des apprentis pendant leur stage a été mesurée dans un sous-groupe de volontaires, au moyen de capteurs portés dans un sac à dos, en accord avec leurs employeurs, au cours d'un poste de travail, en saison froide et chaude. Les concentrations mesurées au poste de travail ont également été mesurées. Le protocole détaillé de cette étude de métrologie des expositions est décrit par ailleurs (Mounier).

Les caractéristiques personnelles, telles que sexe, âge, filière et tabagisme ont été comparées à l'inclusion et au fil des visites. Les caractéristiques médicales telles que atopie, les symptômes respiratoires et cutanés et l'HRB lors de la dernière visite, en cas d'abandon ont été comparées avec celles des sujets ayant participé à l'étude complète.

L'analyse visant à répondre à la question principale de l'étude suit la logique suivante. « L'effet » explore dans l'étude et l'HRB, telle que définie plus haute. L'association entre cet effet et chaque test non invasive (y compris les signes cliniques) est exploré, lors de la dernière visite d'une part puis (pour ceux associés à V4) aux visites 3 et 2, en vue d'identifier ceux qui apparaîtront plus prédictifs (et précoces) de l'effet final, en considérant l'hétérogénéité possible due à l'atopie et la filière. Les analyses ont été conduites avec le logiciel SAS.

Résultats

Population d'étude

Parmi 1839 apprentis invités à participer, 1399 ont refusé ou ont été exclus car ne remplissant pas les conditions de sélection. Les élèves de 1ère année de 3 promotions successives ont été enrôlés pour

atteindre l'effectif requis. Un total of 441 sujets, représentant 24.0% des éligibles, ont donné leur consentement et ont été inclus; 90 (20.0%) ont abandonné pour diverses raisons, expliquées plus loin. La visite 2 a été suivie par 315 sujets seulement (un problème technique avec l'analyseur de FE_{NO} a empêché d'inviter les élèves pendant plusieurs semaines), V3 par 384 et la dernière visite par 354. De plus, les tests cutanés n'ont pas été faits la première année de recrutement. Les sujets sont âgés en moyenne de 17 ans à l'entrée de l'étude.

Une grande attention a été portée à identifier les causes d'abandon. Parmi les 90 sujets qui ne se sont pas présents à la visite 4, 77 ont été interviewés au téléphone; les autres (14.4%) n'ont pu être retrouvés sur les listes de téléphone (changement de nom après mariage pour les filles, déménagement hors de la région d'étude). La principale raison invoquée était l'abandon de la formation et le manqué de temps. Seul un élève a déclaré un problème respiratoire. Les caractéristiques de base à l'inclusion ont été comparées entre les participants et les perdus de vue et étaient semblable (Tableau 1) sauf une: les apprentis perdus de vue avaient tendance à être plus fréquemment fumeurs (57.8% versus 41.3% respectivement, $p=0.005$), mais non plus gros fumeurs (8.9 (± 5) cigarettes par jour versus 9.9 (± 7.5); $p=0.32$).

Tableau 1: Raisons de perte de vue

Raisons	N	Percentage
Manque de temps	41	45.6
Examen médical jugé « douloureux »	1	1.1
Déménagement hors de la région	1	1.1
Autres raisons	10	11.1
Abandon de la formation	37	41.1
<i>Raisons d'abandon (parmi 37 ayant abandonné):</i>		
<i>désintérêt pour la formation</i>	<i>13</i>	<i>35.1</i>
<i>désaccord avec le patron</i>	<i>19</i>	<i>51.4</i>
<i>déménagement</i>	<i>2</i>	<i>5.4</i>
<i>grossesse</i>	<i>1</i>	<i>2.7</i>
<i>problèmes respiratoires ou allergiques</i>	<i>1</i>	<i>2.7</i>
<i>autres problèmes (non liés au sujet d'étude)</i>	<i>1</i>	<i>2.7</i>
Total	90	100

Exposition personnelle

Au total, 586 apprentis coiffeurs et boulangers ont rempli un questionnaire décrivant leurs profils d'activités et l'environnement du travail. Parmi ces apprentis, 28 coiffeurs et 34 boulangers se sont portés volontaires pour l'étude de leur exposition personnelle.

En salon de coiffure, les expositions personnelles à l'ammoniac (NH₃) et à l'eau oxygénée (H₂O₂) sont plus élevées que les concentrations d'ambiance (moyenne (écart-type)); celles-ci sont respectivement 0.677 (0.425) et 0.037 (0.031) mg.m⁻³ ; les expositions personnelles sont 0.900 (0.762) et 0.051

(0.042) mg.m⁻³) sans différence saisonnière. Les expositions personnelles aux persulfates sont légèrement plus élevées en été (0.022 (0.028) mg.m⁻³ par rapport à la période hivernale, 0.011 (0.012) mg.m⁻³) avec des concentrations d'ambiance semblables. Plus de la moitié des espaces techniques où sont préparées les substances chimiques par les apprentis ne comportent aucun ouvrant sur l'extérieur, ni système de ventilation. L'exposition personnelle à la poussière de farine (PM₁₀) est en moyenne de 0.61 (0.33) mg/m³ en saison chaude, et 0.84 mg/m³ (0.73) en hiver. Les résultats détaillés ont déjà été publiés (Mounier-Geysant et al 2006 et 2007)

Signes respiratoires et évolution de l'hyperréactivité bronchique

Parmi les différents symptômes explorés, seuls ceux évocateurs d'asthme augmentent significativement entre le début et la fin de l'étude. Alors que la prévalence de l'atopie est restée stable, la sensibilisation aux allergènes professionnels est passée de 6.4 % à 9.6 % (p=0.01). L'incidence de l'hyperréactivité bronchique non spécifique est de 18,2% chez l'ensemble des sujets. A 7 mois du début de la formation, le taux d'incidence chez les boulangers et pâtisseries est statistiquement plus élevé que chez les coiffeurs (différence de 0,206 cas pour 100 personnes-années [IC à 95 % = 0,01 – 0,40], puis les différences se réduisent jusqu'à la dernière visite.

Les valeurs de NOE dépendent du sexe (hommes>femmes), de l'atopie (atopiques>non atopiques), du tabagisme (non fumeurs> fumeurs). Une augmentation du NOE depuis le démarrage de l'exposition est associée à une incidence de l'hyperréactivité bronchique (OR = 2,00 [95%IC=1,21-3,32] par unité d'augmentation du FE_{NO} exprimée en log ppb), à la fois chez les volontaires atopiques et non atopiques, et ne dépend ni du tabagisme passé ou présent ni du sexe ou de la filière de formation. L'incidence de l'hyperréactivité bronchique est reliée à l'atopie chez les boulangers et les pâtisseries (OR = 2.37 [1.2-4.7] et à la sensibilisation cutanée aux persulfates alcalins chez les coiffeuses [OR = 4.3 [0.9-21.4)] [Tossa et al, soumis].

Discussion et conclusions

L'incidence de signes d'inflammation des voies aériennes est élevée dans cette population s'engageant dans des métiers à risque d'asthme professionnel. La différence dans la cinétique d'apparition de l'hyperréactivité bronchique observée selon les filières pourrait être due à la différence de mécanisme de sensibilisation mis en jeu par les deux types d'agents (haut poids et bas poids moléculaire). Les agents de haut poids moléculaire impliquent un mécanisme de type IgE alors que le mécanisme des agents de bas poids moléculaire n'est pas encore clairement élucidé. La mesure du FE_{NO} est un moyen pratique pour détecter de manière précoce une hyperréactivité bronchique dans des métiers à risque d'asthme professionnel. L'intérêt de ce test mériterait d'être également exploré pour la détection précoce d'une hyperréactivité bronchique dans un contexte environnemental non professionnel. Les salons de coiffure et les boulangeries étant habituellement des petites structures, les mesures d'hygiène

du travail telles qu'une ventilation appropriée sont trop rarement mises en oeuvre. Les résultats des mesures d'exposition à des substances irritantes et à des allergènes connus des voies aériennes chez les apprentis montrent des niveaux substantiels, même si ceux-ci respectent le plus souvent les actuelles normes professionnelles de qualité de l'air.

Il est important de savoir, au-delà de ces premières manifestations d'inflammation bronchiques, combien de ces jeunes développeront un asthme au cours de leurs premières années d'activité professionnelle, et quels en sont les facteurs de risque. C'est l'objet d'un autre projet en cours.

Références

- Chan-Yeung M, Lam S: Evidence for mucosal inflammation in occupational asthma. *Clin Exp Allergy* 1990, 20(1):1-5.
- Malo JL, Chan-Yeung M: Occupational asthma. *The Journal of allergy and clinical immunology* 2001, 108(3):317-328.
- Monso E, Malo JL, Infante-Rivard C, Ghezzi H, Magnan M, L'Archeveque J, Trudeau C, Gautrin D: Individual characteristics and quitting in apprentices exposed to high-molecular-weight agents. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2000, 161(5):1508-1512.
- Archambault S, Malo JL, Infante-Rivard C, Ghezzi H, Gautrin D: Incidence of sensitization, symptoms, and probable occupational rhinoconjunctivitis and asthma in apprentices starting exposure to latex. *The Journal of allergy and clinical immunology* 2001, 107(5):921-923.
- Gautrin D, Infante-Rivard C, Ghezzi H, Malo JL: Incidence and host determinants of probable occupational asthma in apprentices exposed to laboratory animals. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2001, 163(4):899-904.
- Gautrin D, Ghezzi H, Infante-Rivard C, Malo JL: Natural history of sensitization, symptoms and occupational diseases in apprentices exposed to laboratory animals. *Eur Respir J* 2001, 17(5):904-908.
- Thiel H, Ulmer WT: Bakers' asthma: development and possibility for treatment. *Chest* 1980, 78(2 Suppl):400-405.
- Kennedy SM, Chan-Yeung M, Teschke K, Karlen B: Change in airway responsiveness among apprentices exposed to metalworking fluids. *American journal of respiratory and critical care medicine* 1999, 159(1):87-93.
- O'Byrne P M, Postma DS: The many faces of airway inflammation. *Asthma and chronic obstructive pulmonary disease*. Asthma Research Group. *American journal of respiratory and critical care medicine* 1999, 159(5 Pt 2):S41-63.
- TOSSA P, BOHADANA A, MICHAELY JP, PARIS C, ZMIROU-NAVIER D. Early markers of airways inflammation and occupational asthma : design of a longitudinal study among bakery, pastry and hair dressing apprentices. *BMC Public Health*, 2009, 9:113 ; <http://www.biomedcentral.com/1471-2458/9/113>
- ATS: Standardization of Spirometry, 1994 Update. American Thoracic Society. *American journal of respiratory and critical care medicine* 1995, 152(3):1107-1136.
- Massin N, Bohadana AB, Wild P, Goutet P, Kirstetter H, Toamain JP: Airway responsiveness, respiratory symptoms, and exposures to soluble oil mist in mechanical workers. *Occup Environ Med* 1996, 53(11):748-752.
- Bohadana AB, Massin N, Wild P, Kolopp MN, Toamain JP: Respiratory symptoms and airway responsiveness in apparently healthy workers exposed to flour dust. *Eur Respir J* 1994, 7(6):1070-1076.
- Kharitonov SA, Barnes PJ: Exhaled markers of pulmonary disease. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2001, 163(7):1693-1722.
- Hilding AC: Simple method for collecting near-normal human nasal secretion. *The Annals of otology, rhinology, and laryngology* 1972, 81(3):422-423.

MOUNIER-GEYSSANT E, OURY V, MOUCHOT L, PARIS C, ZMIROU-NAVIER D. Exposure of hairdressing apprentices to airborne hazardous substances. [Environ Health: A Global Access Science Source](#). 2006, **5**:23

MOUNIER-GEYSSANT E, BARTHELEMY JF, MOUCHOT L, PARIS C, ZMIROU-NAVIER D. Exposure of bakers and pastry apprentices to airborne flour dust using PM_{2.5} and PM₁₀ personal samplers. *BMC Public Health*, 2007, 7:311

TOSSA P, PARIS C, WILD P, DEMANGE V, MICHAELY JP, ZMIROU-NAVIER D, BOHADANA A. Evolution of exhaled nitric oxide concentrations are associated with the incidence of bronchial hyperresponsiveness among bakery, pastry and hairdressing apprentices. *Am J Crit Care Respir Med* (en revision).