

anses
alimentation, environnement, travail

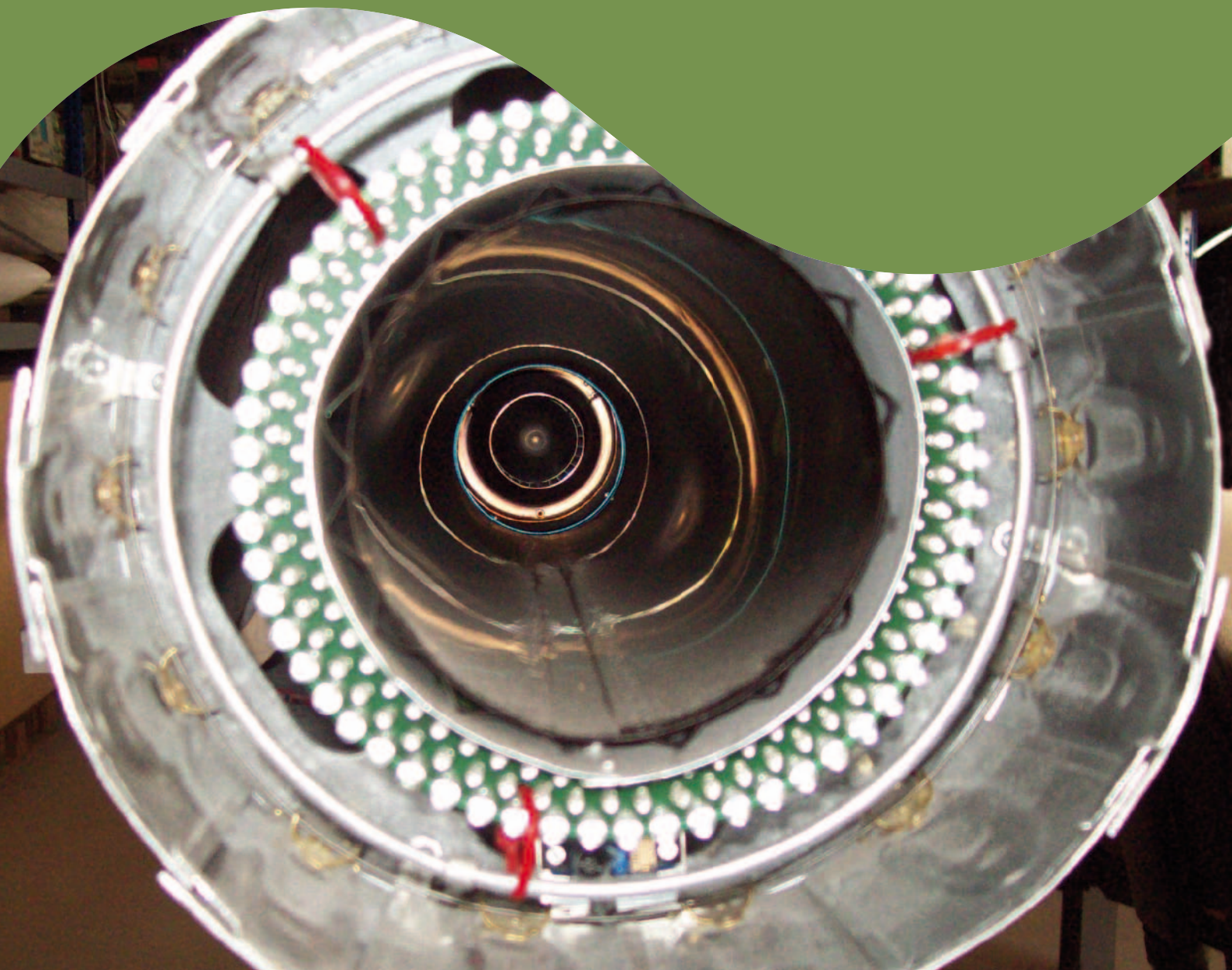


Bulletin de veille scientifique

BVS

Édition scientifique • 10 mai 2011
Spécial Rencontres scientifiques
Des TMS aux nanoparticules, risques
d'aujourd'hui en santé environnement travail

Santé / Environnement / Travail



Une analyse critique de l'actualité bibliographique en santé environnement et santé travail

L'Agence de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) publie trois fois par an un bulletin de veille scientifique, recueil de notes d'analyse critique des récentes publications scientifiques apparues dans la littérature sur les problématiques de la santé environnementale et de la santé au travail.

L'analyse critique est assurée par des scientifiques appartenant aux diverses institutions françaises de recherche. Nombreux sont ceux qui désireux de partager les résultats de leur veille scientifique, répondent, chaque année, à l'appel à contribution que lance l'Agence. Présentée sous forme de note, l'analyse consiste en l'examen de deux à cinq articles publiés dans les quatre à six mois précédant la rédaction de la note avec une mise en perspective de ces informations pour l'évaluation ou la gestion des risques sanitaires.

Coordonné par l'Anses, le bulletin de veille est animé par un comité éditorial composé des représentants de 14 institutions publiques, membres du réseau de partenaires de l'Anses dans le domaine de la sécurité sanitaire*, et des représentants de trois collègues d'enseignants en santé publique et en médecine du travail.

À l'occasion des Rencontres scientifiques de l'Anses du 10 mai 2011, l'Agence vous propose cette édition spéciale, qui réunit les notes d'actualité relatives aux deux thématiques de cet événement : *risques liés aux particules dans l'environnement* et *risques émergents en santé travail*, notes extraites des *Bulletins de veille scientifique* publiés en novembre 2010 et en février 2011.

* L'Anses est chargée de mettre en place un réseau d'organismes publics (R31), article R1313-1 2° du Code de la santé publique.

Bioparticules	5
Qualité microbiologique de l'air des écuries et conséquences pour la santé des travailleurs du secteur équestre	6
Anne OPPLIGER (BVS n° 12 de février 2011 – page 54)	
Transmission aérienne des virus respiratoires humains	10
Laurent ANDREOLETTI (BVS n° 12 de février 2011 – page 58)	
Exposition à des moisissures dans le milieu hospitalier et dans des usines de production de biogaz – Intérêt des protections individuelles et collectives	13
Annie PFOHL-LESZKOWICZ (BVS n° 11 de novembre 2010 – page 59)	
Particules	17
Particules en suspension et maladies cardio-vasculaires	18
Myriam BLANCHARD, Édouard CHATIGNOUX et Christophe DECLERCQ (BVS n° 12 de février 2011 – page 23)	
Les particules ultrafines dans les environnements intérieurs : impact des activités humaines	22
Juliette LARBRE (BVS n° 11 de novembre 2010 – page 68)	
Effets des particules atmosphériques selon la taille et la composition chimique	25
Myriam BLANCHARD, Sophie LARRIÈRE, Édouard CHATIGNOUX et Christophe DECLERCQ (BVS n° 11 de novembre 2010 – page 18)	
Nanoparticules produites intentionnellement	29
Génotoxicité des nanoparticules	30
Mary-Line JUGAN et Marie CARRIÈRE (BVS n° 12 de février 2011 – page 6)	
Impact de nanoparticules sur des végétaux	33
Camille LARUE et Marie CARRIÈRE (BVS n° 12 de février 2011 – page 9)	
Recherche de biomarqueurs d'effet pour les nanomatériaux	37
Isabelle PASSAGNE et Béatrice L'AZOU (BVS n° 12 de février 2011 – page 13)	
La nanométrie pour l'évaluation des risques liés aux nanoparticules	42
Jean-Luc BOUDENNE et Bruno COULOMB (BVS n° 12 de février 2011 – page 18)	
Effets toxiques des nanoparticules TiO ₂ et des nanotubes de carbone chez la souris	47
Mary-Line JUGAN et Marie CARRIÈRE (BVS n° 11 de novembre 2010 – page 6)	
Exposition chimique au travail	51
Exposition professionnelle aux hydrocarbures aromatiques polycycliques	52
Mimoza MANIKA et Jean-Marc SOULAT (BVS n° 12 de février 2011 – page 108)	
Mise à jour d'une étude de cohorte sur le risque de cancer chez des travailleurs exposés aux fumées de bitume. Cancers pulmonaires : expositions professionnelles et types histologiques	56
Barbara CHARBOTEL et Amélie MASSARDIER-PILONCHERY (BVS n° 11 de novembre 2010 – page 94)	
Apport de biomarqueurs à la connaissance des expositions professionnelles aux pesticides	60
Isabelle BALDI (BVS n° 11 de novembre 2010 – page 118)	
Santé physique ou mentale au travail	63
Stress, souffrance physique et mentale au travail et consommation de substances psycho-actives	64
Marcel LOUREL, Arnaud VILLIEUX et Farida MOUDA (BVS n° 12 de février 2011 – page 112)	
Santé physique et psychique, stress et fatigue chronique chez les salariés	68
Marcel LOUREL, Arnaud VILLIEUX, Farida MOUDA et Maude PALTRIER (BVS n° 11 de novembre 2010 – page 98)	
Effets de la conciliation entre la vie au travail et la vie privée/familiale	70
Marcel LOUREL, Farida MOUDA, Arnaud VILLIEUX et Aude CONTAMINE de LATOUR (BVS n° 11 de novembre 2010 – page 122)	

anses

alimentation, environnement, travail



Bulletin de veille BVS scientifique

Édition scientifique • 10 mai 2011

Spécial Rencontres scientifiques
Des TMS aux nanoparticules, risques
d'aujourd'hui en santé environnement travail

Bioparticules

Qualité microbiologique de l'air des écuries et conséquences pour la santé des travailleurs du secteur équestre

Période : septembre 2009 à décembre 2009

Anne OPPLIGER

Institut universitaire romand de Santé au Travail – Université de Lausanne et Genève – Lausanne – Suisse

Mots clés : Bioaérosols, Cheval, Écurie, Élevage de chevaux, Endotoxine, Poussière organique, Risque biologique

Les sports équestres sont en plein développement en France où l'on compte plus d'un million de chevaux. Le nombre de cavaliers pratiquant en club ou chez eux est estimé à 600 000 et l'on dénombre plus de 68 000 emplois en France dans tous les domaines : agriculture, environnement, courses, loisirs, sports (www.haras-nationaux.fr). On trouve également dans les métiers du cheval les vétérinaires spécialisés ainsi que les maréchaux-ferrants. De plus, la France est un pays reconnu pour son activité d'élevage avec une production de chevaux de concours de très grande qualité.

Récemment, plusieurs études relatant les expositions professionnelles à la poussière des écuries ont paru dans les journaux scientifiques. Les résultats montrent que la poussière issue des écuries contient, entre autres, des concentrations relativement élevées d'endotoxines⁽¹⁾ et de $\beta(1-3)$ -glucan⁽²⁾ pouvant avoir des conséquences sur la santé respiratoire des travailleurs. En effet, des études précédentes ont montré que le fait de travailler ou de côtoyer des chevaux était associé avec une augmentation des risques de problèmes des voies respiratoires supérieures tels que des irritations du nez, de la toux (sèche et productive), de l'asthme, des bronchites chroniques et des épisodes d'« organic dust toxic syndrome⁽³⁾ » (Gallagher *et al.*, 2007; Mazan *et al.*, 2009).

Exposition à la poussière inhalable, aux endotoxines, aux bêta(1-3)-glucans et aux micro-organismes aéroportés dans les écuries

Samadi S, Wouters IM, Houben R *et al.* Exposure to inhalable dust, endotoxins, beta(1-3)-glucans, and airborne microorganisms in horse stables. *Ann. Occup. Hyg.* 2009; 53(6):595-603.

Analyse

Cette étude réalisée en Hollande par Samadi *et al.* (2009) a pour but d'évaluer les concentrations en poussière inhalable, endotoxines, $\beta(1-3)$ -glucan et bactéries cultivables aéroportées dans 4 écuries abritant chacune entre 4 et 50 boxes individuels et dans une forge. Des prélèvements d'air ont été effectués au printemps sur une période d'une semaine et à différentes périodes de la journée (matin, après-midi et soir), reflétant ainsi l'exposition spécifique à certaines tâches. En tout, 95 échantillons ont été analysés pour la poussière inhalable, 91 pour les endotoxines et 90 pour les $\beta(1-3)$ -glucans. Parmi ces échantillons, 42 ont été faits en prélèvements personnels (effectués dans la zone de respiration) sur les palefreniers de deux écuries (35 prélèvements dans une écurie, 3 dans l'autre et 4 dans la forge lors du ferrage des chevaux), 32 en prélèvements stationnaires dans les 4 écuries avec une grande majorité des prélèvements effectués que dans une écurie (25 prélèvements de la même écurie) et 21 dans la zone des naseaux des chevaux.

Les principaux résultats montrent que la moyenne de l'exposition personnelle des palefreniers est de 1,4 mg de poussière inhalable,

608 unités d'endotoxines et 9,5 μg de $\beta(1-3)$ -glucans par m^3 d'air. Les activités du matin et tout particulièrement l'activité de balayage des sols génèrent significativement plus de poussières, d'endotoxines et de $\beta(1-3)$ -glucans que les activités de l'après-midi et du soir. L'exposition aux $\beta(1-3)$ -glucans et aux endotoxines dans la zone de respiration des chevaux est très élevée lors du fourrage. Lorsque l'on regarde en détail les résultats, il apparaît que l'exposition personnelle à la poussière ne dépasse jamais la norme hollandaise en vigueur (10 mg/m^3), alors que 85,7 % des échantillons sont au-dessus de la norme proposée pour les endotoxines (200 unités). Les valeurs pour les $\beta(1-3)$ -glucans sont difficilement interprétables car il n'existe aucune recommandation à leur sujet. Les résultats des concentrations en bactéries et champignons aéroportés cultivables sont moins préoccupants puisqu'ils atteignent, en moyenne, des niveaux jugés acceptables (respectivement 3100 et 1900 unités formant colonie/ m^3). Aucune différence significative n'est observée entre les différentes périodes de la journée.

Commentaire

Cet article (Samadi *et al.*, 2009) très intéressant montre de manière indéniable que l'exposition aux endotoxines est très élevée dans les écuries investiguées. Cependant, l'étude souffre de quelques faiblesses : le texte ne précise pas si les 4 écuries investiguées appartiennent à une même structure équestre ou si elles proviennent de lieux géographiquement distincts. En outre, très peu de détails sont donnés concernant l'activité de cette ou ces structures équestres (centre de loisirs, centre vétérinaire, autres?).

Ceci est important pour savoir si les résultats sont représentatifs d'une structure équestre ou s'ils peuvent être généralisés à plusieurs structures. Il aurait aussi été souhaitable de connaître la manière dont sont nourris les chevaux et avec quel type de nourriture, puisqu'apparemment le fourrage des bêtes génère beaucoup de poussière comme l'attestent les mesures d'endotoxines faites dans la zone de respiration des animaux. Il serait aussi intéressant de voir l'évolution des concentrations de bioaérosols au cours des saisons. Un gros effort d'échantillonnage a été fait dans 1 seule des 4 écuries. Ce déséquilibre limite fortement la généralisation potentielle des résultats. Cette étude doit être considérée comme une première évaluation des dangers d'exposition aux bioaérosols des personnes impliquées dans l'entretien et la fréquentation des écuries.

Influence de l'environnement des écuries de chevaux sur les voies respiratoires des Hommes

Elfman L, Riihimäki M, Pringle J *et al.* Influence of horse stable environment on human airways. *J. Occup. Med. Toxicol.* 2009; 4:10. <http://www.occup-med.com/content/4/1/10>.

Analyse

Contrairement à l'article précédent, cette étude de Elfman *et al.* (2009) faite en Suède, ne se limite pas à une mesure de la qualité microbiologique de l'air mais associe aussi des investigations médicales de 13 palefreniers d'une même structure équestre à 3 périodes différentes de l'année (février et septembre 2004 et mars 2005). L'écurie abrite 18 chevaux en stalles individuelles. Les prélèvements stationnaires d'air ont tous été faits durant la matinée à trois endroits de l'allée centrale. Les paramètres suivants ont été mesurés : bactéries et champignons aéroportés totaux (par comptage microscopique), $\beta(1-3)$ -glucans, endotoxines, allergènes équins (dosés par test ELISA⁽⁴⁾), ammoniac et hydrogène sulfuré. La poussière totale et inhalable a été mesurée à l'aide de prélèvements personnels sur les palefreniers.

L'estimation des effets sur la santé a été faite par le biais d'un questionnaire axé sur les problèmes respiratoires, par le dosage, dans le liquide de lavage nasal des marqueurs biologiques d'inflammation suivant : ECP⁽⁵⁾, MPO⁽⁶⁾, lysozyme⁽⁷⁾ et albumine. D'autre part, des spirométries⁽⁸⁾ ont été réalisées 1 à 3 fois par jour durant 1 à 4 semaines sur 11 palefreniers. Seul 1 palefrenier a participé aux tests des trois périodes différentes.

Les résultats donnés sont tous des résultats descriptifs. Dès lors, la notion d'augmentation ou diminution des concentrations est très subjective et il est impossible de savoir si ces différences de concentrations sont significatives. Cependant, les résultats les plus intéressants sont les suivants : la concentration moyenne hivernale d'endotoxines lorsque l'écurie n'est pas aérée est de 310 unités/m³ (31 ng/m³) et cette valeur descend à 50 unités (5 ng/m³) lorsque les portes sont ouvertes. En automne, avec les portes ouvertes, le niveau moyen d'endotoxines est de 150 unités (15 ng/m³). Les concentrations moyennes en $\beta(1-3)$ -glucans varient de 0,3

à 0,02 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ et la concentration en allergènes atteint sa valeur la plus élevée en hiver avec 18 300 unités/m³. Les concentrations de bactéries et champignons aéroportés totaux (cultivables et non cultivables) sont respectivement d'environ 50x10⁵ et 10x10⁵ en automne et 20x10⁵ et 15x10⁵ unités formant colonies/m³ au printemps.

Pour ce qui concerne les données médicales, hélas il manque beaucoup de détails (sur la population de comparaison, sur les normes biologiques, sur les effets pour la santé, sur l'influence du sexe et de la fumée) et les résultats sont très difficilement interprétables. Cependant, il ressort que 2 marqueurs biologiques (MPO et lysozymes) semblent être augmentés chez 9 palefreniers et que ces marqueurs indiquent respectivement une augmentation de l'activité granulocytaire et une augmentation des sécrétions nasales.

Commentaire

Le fait de n'avoir investigué qu'une écurie limite à nouveau la généralisation des résultats. De plus, le nombre de prélèvements lors des 3 périodes d'échantillonnage n'est pas précisé. Bien que les résultats soient limités au cas bien spécifique d'une structure équestre, il est intéressant d'avoir les résultats météorologiques pour les différentes saisons, mais le problème majeur dans l'interprétation des résultats est qu'ils ne sont jamais validés par des tests statistiques. Ainsi, il est impossible de savoir si les différences des taux d'exposition signalées sont significatives. De même, il est précisé que certains marqueurs biologiques sont augmentés, mais la signification de cette augmentation et ses conséquences ne sont jamais évoquées. Les résultats microbiologiques ne sont pas comparables avec ceux de l'étude précédente car nous ne savons pas quelle est la proportion de germes cultivables parmi les germes totaux identifiés par dénombrements microscopiques.

L'analyse des données médicales est très succincte, rien n'est dit sur le contenu et les résultats du questionnaire. Le fait que seul 1 palefrenier a subi les tests biologiques à trois reprises limite aussi grandement la possibilité de généraliser les résultats. Rien n'est précisé sur les raisons qui ont poussé les 12 autres palefreniers à quitter leur emploi (effet du travailleur sain ?). Aucun commentaire n'est fait sur la signification de la concentration en allergènes.

Les résultats disponibles dans les annexes sont des résultats bruts, sans aucune explication et donc totalement inutiles. Ceci est dommage car il aurait été très intéressant d'exploiter davantage ces données et de les discuter de façon plus détaillée. Mais il ressort tout de même de cette étude que l'exposition aux endotoxines est importante et qu'il y a une variation saisonnière probable.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Jusqu'à présent, l'exposition à la poussière organique et ses effets sur la santé des travailleurs était bien documentée pour les élevages d'animaux de rente, notamment la volaille et les porcs. Pratiquement toutes les études sur l'exposition à la poussière dans les écuries provenaient d'études de médecine vétérinaire et étaient ciblées sur la santé des chevaux, qui apparemment souffrent aussi beaucoup de problèmes respiratoires liés à la présence d'endotoxines aéroportées. Ces deux études, bien que restreintes à très peu d'échantillonnages apportent donc de nouvelles données concernant le risque pour la santé des personnes travaillant avec les chevaux et mettent en évidence que les milieux aériens des écuries contiennent des quantités non négligeables de bioaérosols, en particulier des endotoxines connues pour leurs effets aigus tels que l'« organic dust toxic syndrom » et/ou chroniques tels qu'une altération des fonctions pulmonaires.

Des mesures de prévention assez simples pourraient être prises afin de diminuer la génération de poussière. Par exemple, lors du balayage des écuries, une humidification des sols éviterait la mise en suspension de poussières. L'utilisation de nourriture céréalière sous forme de pelletes ou flocons avec une humidification du foin distribué aux animaux diminuerait aussi fortement la poussière émise avec du foin sec et avec des céréales brutes. Le choix d'une litière dégageant peu de poussière et une bonne aération des locaux participeraient aussi à l'amélioration du taux d'empoussièrement des écuries. De plus, des études de plus grande envergure sont encore nécessaires afin de caractériser plus précisément les risques pour la santé et pour pouvoir généraliser les conclusions de ces études. Les influences du type de nourriture, du type de litière, du type de ventilation, de la manière dont sont soignés les animaux (brossage à la main ou à l'aspirateur) devraient notamment être testées.

Lexique

- (1) Endotoxine: ce sont des substances toxiques. Elles font partie de la membrane des bactéries Gram-négatives. Elles sont constituées de protéines, lipides et lipopolysaccharides (LPS, dont le lipide A principal responsable de la toxicité). Ces LPS sont responsables de la plupart des effets biologiques des endotoxines, notamment de la propriété immunogène (faculté d'être reconnu comme étranger par l'organisme, et de provoquer une réaction immunitaire). D'autre part, les endotoxines sont très connues pour leurs effets pyrogéniques (provoquant de la fièvre). Les endotoxines sont libérées lors de la multiplication des bactéries et lors de leur lyse. Une simple stérilisation qui tue les bactéries laissera intactes les endotoxines.
- (2) $\beta(1-3)$ -glucan: ce sont des polysaccharides présents dans les parois des plantes et de certains champignons et bactéries susceptibles d'engendrer une inflammation des voies respiratoires.
- (3) Organic dust toxic syndrome: ce syndrome de poussière organique toxique est caractérisé par l'apparition de symptômes grippaux de courte durée (fièvre, toux, douleurs musculaires) environ 24 heures après une exposition aux endotoxines.
- (4) ELISA: ELISA est l'acronyme d'un examen de laboratoire appelé (en anglais) Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay. C'est une technique biochimique, principalement utilisée en immunologie, mais pas uniquement, afin de détecter la présence d'un anticorps ou d'un antigène dans un échantillon.
- (5) ECP: la protéine cationique des éosinophiles (eosinophil cationic protein: ECP) est une protéine cytotoxique libérée par les granules intracytoplasmiques des polynucléaires éosinophiles activés dans la phase retardée de l'asthme. La concentration de l'ECP dans le sérum est un excellent reflet de l'inflammation bronchique lors d'une exposition allergénique, même en l'absence de signes cliniques. Dans l'asthme, elle permet de surveiller l'efficacité d'un traitement anti-inflammatoire, d'adapter sa posologie et de vérifier l'observance du patient, en complément des explorations fonctionnelles respiratoires.
- (6) MPO: la myéloperoxydase (MPO) est une enzyme hémique présente en concentrations importantes dans les granules primaires des cellules polymorphonucléaires neutrophiles. Les concentrations anormalement élevées en MPO dans le plasma, dans les liquides biologiques et dans les tissus indiquent une activation importante ou excessive des neutrophiles.
- (7) Lysozyme: le lysozyme est une hydrolase acide sécrétée par les granulocytes et les monocytes. Elle détruit la paroi bactérienne en catalysant l'hydrolyse des glycosaminoglycane la constituant. Cette propriété a incité certains auteurs à la qualifier d'antibiotique corporel.
- (8) Spirométrie: la spirométrie est un test médical pour contrôler la fonction ventilatoire des poumons. Elle est basée sur la mesure des volumes mobilisables et des débits. C'est une mesure dynamique effectuée au cours du temps grâce aux variations de volumes respiratoires mesurées à la bouche à l'aide d'un appareil appelé spiromètre. L'analyse de la courbe volume en fonction du temps obtenu permet la détermination de nombreux indicateurs fondamentaux. La spirométrie mesure entre autre la Capacité Vitale Forcée (CVF).

Publications de référence

Gallagher LM, Crane J, Fitzharris P et al. Occupational respiratory health of New Zealand horse trainers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 2007; 80(4):335-41.

Mazan MR, Svatek J, Maranda L et al. Questionnaire assessment of airway disease symptoms in equine barn personnel. *Occup. Med.(Lond).* 2009; 59(4):220-5.

Publications non sélectionnées

Dungan RS, Leytem AB. The effect of extraction, storage, and analysis techniques on the measurement of airborne endotoxin from a large dairy. *Aerobiologia.* 2009; 25(4):265-73.

Étude importante pour la méthodologie de l'analyse des endotoxines et de l'effet du délai de l'adjonction du dernier réactif le plus souvent utilisé.

Dungan RS, Leytem AB. Qualitative and quantitative methodologies for determination of airborne microorganisms at concentrated animal-feeding operations. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2009; 25(9):1505-18.

Très bonne revue sur les aspects techniques et méthodologiques de métrologie des bioaérosols.

Fallschissel K, Kämpfer P, Jäckel U. Direct detection of salmonella cells in the air of livestock stables by real-time PCR. *Ann. Occup. Hyg.* 2009; 53(8):859-68.

Étude intéressante montrant l'utilité des nouvelles méthodes de biologie moléculaire pour identifier des micro-organismes spécifiques dans l'air des élevages d'animaux.

Hessel EF, Garlipp F, Van den Weghe HFA. Generation of airborne particles from horses feeds depending on type and processing. *J. Equine Vet. Sci.* 2009; 29(9):665-74.

Cette étude très intéressante dans le contexte des facteurs d'empoussièrement des écuries montre que certains types de fourrage, notamment les flocons de céréales génèrent nettement moins de poussières que les céréales brutes non lavées.

Karakainen P, Rintala H, Vepsäläinen A et al. Microbial content of house dust samples determined with qPCR. *Sci. Total Environ.* 2009; 407(16):4673-80.

Encore une étude dédiée à l'utilisation des méthodes moléculaires pour quantifier les champignons dans la poussière.

O'Shaughnessy PT, Donham KJ, Peters TM et al. A task-specific assessment of Swine worker exposure to airborne dust. *J. Occup. Environ. Hyg.* 2010; 7(1):7-13.

Étude montrant les différences d'exposition à la poussière selon le type d'activité professionnelle et les saisons.

Rimac D, Macan J, Varnai VM et al. Exposure to poultry dust and health effects in poultry workers: impact of mould and mite allergens. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 2010; 83(1):9-19.

Étude qui mesure les taux de poussières, d'endotoxines et d'allergènes d'acariens dans les élevages de poulets, la mesure d'allergène d'acariens est assez nouvelle pour cette branche de travail.

Sikkeland LIB, Eduard W, Stangeland AM et al. Occupational exposure to bacterial single cell protein induces inflammation in lung and blood. *Inhal. Toxicol.* 2009; 21(8):674-81.

Article intéressant mais pas en rapport avec la présente note d'actualité scientifique.

Zhong Z, Chai T, Duan H et al. REP-PCR tracking of the origin and spread of airborne *Staphylococcus aureus* in and around chicken house. *Indoor Air.* 2009; 19(6):511-6.

*Étude novatrice, utilisant le génotypage des *Staphylococcus aureus* pour détecter leur source d'émission.*

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Bioaerosol, Endotoxin, Horse stable, Occupational health, Organic dust.

Transmission aérienne des virus respiratoires humains

Période : décembre 2008 à décembre 2009

Laurent ANDREOLETTI

CHU de Reims – Unité de Virologie Médicale et Moléculaire, EA4303 – Reims

Mots clés : Air, Dynamique de transmission, Génétique virale, Modèle expérimental, Pouvoir infectieux, Transmission, Virus

La transmission aérienne est l'une des différentes voies de transmission des agents infectieux. Elle permet l'acquisition le plus souvent par inhalation respiratoire ou par contact muqueux (muqueuse oculaire ou respiratoire) d'un agent infectieux présent dans l'air ambiant. L'agent infectieux transmis par voie aérienne peut avoir pour origine une source humaine ou environnementale. Pour la transmission des virus respiratoires et celle des virus influenza, l'agent viral peut être mis en suspension dans des gouttelettes (10-100 µm) et des aérosols (noyaux de condensation < 5 à 10 µm) émis lors de la toux, d'un crachat, des postillons ou d'un éternuement par un hôte infecté. Les aérosols qui sont les plus petites particules émises peuvent ainsi rester en suspension de manière prolongée (1 à 18 heures) dans l'air, selon les conditions de circulation de l'air, en particulier au sein de l'habitat ou de l'environnement hospitalier. Certains aérosols infectieux peuvent aussi se combiner à de la poussière émise du sol ou à des microparticules polluantes d'origine industrielle modifiant ainsi la dynamique de transmission des particules virales. La transmission du virus A/H1N1 variant pandémique (A/H1N1v)⁽¹⁾ se fait de la même manière que dans le cas d'une grippe saisonnière. Le virus peut se diffuser dans l'air dans les gouttelettes provoquées par la toux, des éternuements ou des postillons. L'étude des paramètres environnementaux, mais également des déterminants génétiques humains et viraux qui influencent ou modulent la transmission par voie aérienne des virus respiratoires tels que les virus influenza, est primordiale afin de pouvoir prédire et modéliser leur dynamique de transmission interhumaine dans une population donnée mais également afin d'établir des stratégies efficaces visant à diminuer voire à stopper ce mode de contamination interhumaine.

Utilisation de la technologie des gaz à plasma froids pour lutter contre la transmission aérienne des infections virales respiratoires

Terrier O, Essere B, Yver M *et al.* Cold oxygen plasma technology efficiency against different airborne respiratory viruses. *J. Clin. Virol.* 2009; 45(2):119-24.

Analyse

Dans le contexte actuel de pandémie par le virus A/H1N1v ainsi que dans le cadre de la réduction des infections nosocomiales, les systèmes qui sont capables de réduire voire de contrôler la transmission des agents infectieux par voie respiratoire présentent un intérêt majeur dans le contrôle de la dynamique des épidémies par des virus à transmission aérienne. Un nouveau système basé sur un principe physique de décontamination des surfaces et de l'air a été développé. Celui-ci utilise la technologie des gaz plasma froids générés à partir de l'air ambiant par une lumière UV profonde de très forte énergie (UV-C)⁽²⁾. Cette technologie a été évaluée en traitant des suspensions nébulisées du virus Influenza A, du virus humain para-influenza de type 3 et du Virus respiratoire syncytial (VRS)⁽³⁾. L'utilisation de ce système expérimental de traitement des « nébulisats » de suspensions virales, intégrant la nouvelle technologie des gaz plasma froids, a permis une réduction des titres infectieux

de 6,5 log₁₀ DICT₅₀/ml⁽⁴⁾ pour le virus humain *para influenza-3*, de 3,8 log₁₀ DICT₅₀/ml pour le VRS et de 4 log₁₀ DICT₅₀/ml pour le virus influenza aviaire A/H5N2. Ces résultats suggèrent que cette nouvelle technologie pourrait être efficace pour contrôler la dissémination des virus par voie aérienne et respiratoire et qu'elle pourrait donc être utilisée dans le contrôle des infections nosocomiales virales pédiatriques, ainsi que pour limiter la transmission des virus influenza en période épidémique voire pandémique au sein des consultations médicales et hospitalières.

Commentaire

Cette étude (Terrier *et al.*, 2009) montre qu'un système expérimental de traitement de l'air peut réduire les titres infectieux viraux de manière significative et que les UV-C semblent efficaces pour l'inactivation des virus respiratoires enveloppés et communément rencontrés en pathologie humaine (VRS, grippe et para-influenza virus). Cependant les variations de réduction des titres infectieux entre les 3 virus testés indiquent également que des conditions expérimentales précises doivent être déterminées pour chaque agent infectieux.

Les protéines HA et la sous-unité PB2 des virus influenza humains jouent un rôle dans la transmission aérienne inter-humaine aux virus influenza aviaires

Van Hoesen N, Pappas C, Belser JA *et al.* Human HA and polymerase subunit PB2 proteins confer transmission of an avian influenza virus through the air. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2009; 106(9):3366-71.

Analyse

Les gènes des virus influenza qui confèrent une transmission aérienne efficace des souches épidémiques et pandémiques n'ont pas encore été identifiés. Le virus de la grippe espagnole de 1918 (souche aviaire A/H1N1-1918) est un virus idéal pour l'étude du potentiel de transmissibilité par voie aérienne des souches d'influenza A. Au cours de cette étude (Van Hoesen *et al.*, 2009), une série de virus recombinants préparés à partir du virus aviaire A/H1N1 ont été produits afin d'identifier les déterminants génétiques viraux qui impactent sur la transmission aérienne des virus influenza. Cette étude démontre que le gène HA⁽⁵⁾ est nécessaire pour une transmission efficace par contact direct, mais qu'il ne permet pas la transmission inter-animale (modèle furet) de type gouttelettes d'un virus possédant la sous-unité PB2⁽⁶⁾ polymérase aviaire. La sous unité polymérase « PB2 » de la souche de 1918 est à la fois nécessaire et suffisante pour la transmission aérienne d'un virus aviaire exprimant les protéines HA et NA⁽⁷⁾ du virus de 1918. Par ailleurs la transmission aérienne des virus recombinants est optimale si les souches virales recombinantes obtenues sont capables de se répliquer en culture à 33 °C, température physiologique de l'arbre respiratoire humain. Ces données démontrent que l'adaptation des gènes HA et PB2 est critique pour l'émergence des souches influenza à potentiel pandémique et à transmission respiratoire. Ces résultats ouvrent aussi un champ d'investigation pour essayer de prédire et même d'estimer la transmissibilité par voie aérienne des souches influenza émergentes.

Commentaire

Le rôle de l'interaction de la protéine virale HA avec les récepteurs de type « acides sialiques alpha 2-3 et alpha 2-6⁽⁸⁾ » des cellules épithéliales respiratoires est connu pour induire respectivement la capacité d'une souche influenza à infecter les cellules de l'arbre respiratoire supérieur ou inférieur. Dans ce travail, les auteurs démontrent pour la première fois que la protéine PB2 joue un rôle essentiel dans la transmission aérienne du virus en modulant la capacité de réplication des virus influenza dans un modèle animal et *in vitro* dans des cellules rénales de chien (MDCK) en culture. De plus, les auteurs ont identifié une mutation en position 627 du gène BP2 qui serait impliquée dans la diminution de la capacité du virus à infecter les voies aériennes humaines. Des études complémentaires sur des cellules humaines primaires des voies respiratoires (comme les SAEC⁽⁹⁾) en culture permettront de vérifier cette hypothèse en testant différentes souches virales possédant ou non cette mutation, seule ou en association avec 9 autres mutations codantes qui ont été également identifiées.

Ces futurs résultats pourraient permettre le développement de tests génétiques ou phénotypiques viraux capables de prédire la capacité de transmission par voie aérienne des différents virus influenza émergents.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les travaux récemment publiés montrent l'intérêt de l'étude de la dynamique de la transmission aérienne des virus respiratoires humains. Ces études peuvent être à la fois technologique et expérimentale avec de nouveaux systèmes visant à diminuer et même à éradiquer la capacité infectieuse des agents viraux dans l'air ambiant. Cependant elles peuvent aussi être des études génétiques visant à déterminer et à prédire la transmissibilité aérienne des souches émergentes virales et à estimer avec des tests de séquençage de certains gènes viraux (protéine virale PB2 des virus influenza) la capacité de diffusion des virus influenza par voie aérienne.

Lexique

- (1) A/H1N1v: influenza A/H1N1 variant pandémique.
- (2) UV-C: ultra-violets de classe C.
- (3) VRS: virus respiratoire syncytial. Agent responsable de la bronchiolite du nourrisson.
- (4) DICT50/ml: dose infectieuse induisant 50 % de la destruction de la culture cellulaire.
- (5) HA: Hémagglutinine. Structure protéique de surface des virus influenza.
- (6) PB2: Sous unité polymérase PB2 virus influenza.
- (7) NA: Neuraminidase, structure protéique de surface des virus influenza.
- (8) Acides sialiques alpha 2-3 et alpha 2-6: structures biochimiques présentes à la surface des cellules de l'arbre respiratoire des mammifères et servant de récepteurs aux virus influenza.
- (9) SAEC: small airway epithelial cells.

Publications de référence

- Fabian P, McDevitt JJ, Houseman EA *et al.* Airborne influenza virus detection with four aerosol samplers using molecular and infectivity assays: considerations for a new infectious virus aerosol sampler. *Indoor Air.* 2009; 19(5):433-41.
- Hemmes JH, Winkler KC, Kool SM. Virus survival as a seasonal factor in influenza and poliomyelitis. *Nature* 1960; 188:430-1.
- Hui DS. Influenza A/H5N1 infection: other treatment options and issues. *Respirology.* 2008; 13 (S1):S22-S26.
- Lowen AC, Mubareka S, Stell J *et al.* Influenza virus transmission is dependent on relative humidity and temperature. *PLoS Pathog.* 2007; 3(10):1470-6.

McDevitt JJ, Milton DK, Rudnick SN *et al.* Inactivation of poxviruses by upper-room UVC light in a simulated hospital room environment. PLoS ONE. 2008; 3(9):e3186.

Revue de la littérature

Desenclos JC. Airborne transmission of infectious agents. Med. Mal. Infect. 2008; 38(8):449-51.

Tellier R. Aerosol transmission of influenza A virus: a review of new studies. J. R. Soc. Interface. 2009; 6 (S6):S783-S790.

Verreault D, Moineau S, Duchaine C. Methods for sampling of airborne viruses. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 2008; 72(3):413-44.

Weber TP, Stilianakis NI. Inactivation of influenza A viruses in the environment and modes of transmission: a critical review. J. Infect. 2008; 57(5):361-73.

Publications non sélectionnées

Han K, Zhu X, He F *et al.* Lack of airborne transmission during outbreak of pandemic (H1N1) 2009 among tour group members, China, June 2009. Emerging Infect. Dis. 2009; 15(10):1578-81.

Rapport épidémiologique sur la transmission du virus A/H1N1v dans un cas particulier en Chine.

Kretzschmar M, Mikolajczyk RT. Contact profiles in eight European countries and implications for modelling the spread of airborne infectious diseases. PLoS ONE. 2009; 4(6):e5931.

Publication épidémiologique avec uniquement une modélisation mathématique de la transmission des maladies infectieuses par voie aérienne dans 8 pays européens sans données cliniques ni virologiques

Pujol JM, Eisenberg JE, Haas CN *et al.* The effect of ongoing exposure dynamics in dose response relationships. PLoS Comput. Biol. 2009; 5(6):e1000399.

Publication épidémiologique avec uniquement des modélisations mathématiques de la transmission des maladies infectieuses par voie aérienne sans données cliniques ni virologiques

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Dynamique de transmission, Inactivation, Influenza, Modèles expérimentaux, Transmission aérienne, Virus, Virus respiratoire.

Exposition à des moisissures dans le milieu hospitalier et dans des usines de production de biogaz – Intérêt des protections individuelles et collectives

Période : avril 2009 à août 2009

Annie PFOHL-LESZKOWICZ

UMR CNRS/INPT/UPS 5503 – Département Bioprocédés et systèmes microbiens – Toulouse

Mots clés : **Aérosol, Air conditionné, *Aspergillus*, Champignons filamenteux, Inhalation, Moisissure, Mycotoxine, Penicillium**

Les champignons filamenteux se développent de manière ubiquitaire sur de nombreux substrats organiques. Les spores se retrouvent dans les poussières et sont souvent inhalables. De plus en plus de données scientifiques pointent l'inhalation de moisissures comme cause d'allergie respiratoire ou cutanée aussi bien dans l'environnement (maisons insalubres) que dans le milieu du travail, notamment dans les industries de compostage de matière organique ou de fabrication de bioéthanol. La contamination peut aussi avoir lieu *via* les systèmes d'air conditionné. Les spores par elles-mêmes engendrent des effets toxiques à l'origine d'allergie. De plus, elles produisent des toxines. Les risques de développement de moisissures dans l'air inspiré sont bien connus en milieu hospitalier et plus particulièrement chez les personnes immunodépressives. Néanmoins, la présence de ces éléments fongiques en milieu de travail est responsable de rhinites, toux et problèmes dermatologiques, chez les travailleurs non immunodéprimés. Notre note portera sur la contamination de l'air en milieu hospitalier et dans un laboratoire de mycologie ainsi que sur les risques liés à l'air conditionné. Le dernier article relatara les effets subis par les travailleurs lors du compostage et de la fabrication de bioéthanol.

Étude de la présence de microbes (dont les moisissures) dans différents endroits d'un hôpital

Ortiz G, Yagüe G, Segovia M *et al.* A study of air microbe levels in different areas of a hospital. *Curr. Microbiol.* 2009 ; 59(1):53-8.

Analyse

Le but l'article d'Ortiz *et al.* (2009) est d'analyser la flore aérobie totale dans 3 endroits de l'hôpital de Murcia en Espagne : (i) les salles d'opération, (ii) les salles d'accouchement et (iii) les chambres. Pendant deux ans des prélèvements d'air ont été réalisés : une fois par mois dans les salles d'opération, tous les 4 mois dans le service de maternité et dans les chambres. Pendant la période des deux ans de suivi, il y a eu une rénovation de l'hôpital qui a duré deux semaines. Le prélèvement de l'air a été réalisé suivant la norme ISO/CD 14698-1:2003. Le prélèvement a été réalisé sur 3 m³ d'air prélevé en 30 minutes en triplicata. Les prélèvements ont été réalisés après nettoyage des salles avant les opérations ou les accouchements entre 0 heure et 8 heures du matin. Le taux de moisissures est relativement faible au niveau des salles d'opération (0,05 CFU/m³) alors qu'on en dénombre 6,9 CFU/m³ dans les salles d'accouchement et 10,6 dans les chambres des patients. Il est à noter que 1,42 % des moisissures sont représentées par *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus flavus* qui sont connus respectivement pour être responsables de problèmes respiratoires tels que rhinites, bronchites allergiques.

Ces moisissures peuvent même se développer dans les cavités nasales. De plus, elles sont producteurs de mycotoxines extrêmement dangereuses comme les aflatoxines. La plus faible contamination en salle d'opération est directement corrélée à l'utilisation de filtre HEPA pour filtrer l'air associé à une pression positive. Le taux en moisissure est 200 fois moins élevé que dans les autres secteurs où l'air n'est pas filtré. Il n'y a pas de variation saisonnière, par contre le taux de contamination en moisissures a considérablement augmenté lors des 2 semaines de rénovation même au niveau des salles d'opération. Il y a eu surtout une augmentation de la présence d'*Aspergillii*.

Commentaire

Cet article montre clairement la présence de moisissures pouvant être dangereuses pour la santé des patients. La présence d'*Aspergillus flavus* met en avant un risque de contamination par les aflatoxines pouvant avoir un effet sur la fonction hépatique. Il est intéressant de noter que la contamination fongique est efficacement réduite par la filtration de l'air.

Analyse de la contamination fongique surfacique et dans l'air d'un laboratoire de mycologie hospitalier

Sautour M, Dalle F, Olivieri C *et al.* A prospective survey of air and surface fungal contamination in a medical mycology laboratory at a tertiary care university hospital. *Am. J. Infect. Control.* 2009; 37(3):189-94.

Analyse

Sautour *et al.* (2009) ont recherché pendant un an la présence de moisissures sur les surfaces de travail et dans l'air au niveau du laboratoire de mycologie de l'hôpital de Dijon en France. Le laboratoire a une superficie de 70 m² comprenant deux pièces communicantes. Le prélèvement d'air correspond à 0,5 m³ prélevé en 5 minutes en duplicata soit au total 1 m³. Le prélèvement a été réalisé à hauteur de travail. Les prélèvements ont été réalisés deux fois par semaines à 7 heures et 11 heures du matin. Il a été constaté que le taux de moisissures dans l'air est plus élevé (deux fois plus) en fin de matinée que le matin (2,27 CFU/m³ versus 4,36), par contre le taux sur les surfaces n'est pas différent. Le taux de moisissures dans l'air est moins important dans la période froide (octobre à mars) comparé à l'été (avril à septembre). Les *Aspergillii* représentent 53 % des isolats provenant des prélèvements réalisés au sein du laboratoire. On les retrouve peu dans les prélèvements réalisés à l'extérieur du laboratoire. Un taux particulièrement élevé d'*A. fumigatus* (22 CFU/m³) a été relevé le 9 mai 2007. Ceci était en fait dû à un problème sur le système de filtration de la hotte. Le remplacement du filtre a conduit au retour à des valeurs normales. Les auteurs ont établi un diagramme leur permettant le suivi de la contamination.

Commentaire

Cet article permet de mettre en évidence l'intérêt du suivi des moisissures dans l'air ambiant qui peut affecter la santé des travailleurs au niveau du laboratoire. L'analyse des moisissures dans l'air du laboratoire permet de contrôler le bon fonctionnement des systèmes de protection, notamment des filtres qui lorsqu'ils sont défectueux posent un problème de contamination dans le laboratoire. Il s'agit là d'une démarche prospective du suivi ayant permis la mise en place des diagrammes de Shewhart. Ces diagrammes permettent d'anticiper les problèmes.

Identification des moisissures allergisantes se trouvant dans les systèmes d'air conditionné

Khan AAH, Karuppaiyil SM, Manoharachary C *et al.* Isolation, identification and testing for allergenicity of fungi from air-conditioned indoor environments. *Aerobiologia.* 2009; 25(2):119-23.

Analyse

Khan *et al.* (2009) ont analysé la présence de moisissures dans l'air de différents endroits, équipés de systèmes d'air conditionné. Les moisissures isolées ont été testées sur 75 individus souffrant d'allergies (rhinites, toux, nez bouché, urticaire et asthme) pour leur capacité à provoquer des allergies. Parmi les 12 espèces de moisissures trouvées, sept types d'*Aspergillii* ont été identifiés: *A. niger*; *A. oryzae*, *A. fumigatus*, *A. terreus*, *A. nidulans*, *A. versicolor* et *A. parasiticus*. *A. niger* représentent 80 % des moisissures. D'autres champignons sont présents comme le *Penicillium citrinum*, *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma viride*, *Neurospora crassa* et le *Alternaria alternata*. C'est au niveau des salles informatiques qu'il y a le plus de contamination fongiques. Quant à *Neurospora*, il est surtout présent au niveau de l'hôpital. Trois moisissures trouvées sont allergènes: *A. fumigatus*; *A. niger* et *P. citrinum*. *A. fumigatus* est le plus fréquent dans les salles informatiques, les laboratoires hospitaliers, les salles d'opération, l'infirmierie et le scanner. D'autres moisissures non allergènes mais productrices de mycotoxines ont été répertoriées. Les *Fusaria* sont productrices de fumonisine et de zéaralénone; les *Alternaria* d'alternariol, d'altertoxine et d'acide ténuazonique responsables d'asthme et de rhinites allergiques. Les *Trichoderma* génèrent des trichothécènes et de la glioxine provoquant des dommages pulmonaires et des péritonites surtout chez les dialysés. Quant à *Penicillium citrinum*, il est associé à des infections urinaires vraisemblablement dues à la synthèse de citrinine. L'arrêt des systèmes de climatisation durant 6 à 12 heures pendant la nuit contribue à augmenter les risques de contamination en moisissures car cela entraîne une augmentation de l'humidité relative qui est favorable au développement des moisissures. D'autre part, il a aussi été montré que les filtres sont peu changés et constituent de ce fait un réservoir. Ceci confirme d'autres études (Wargocki *et al.*, 2002; Graudenz *et al.*, 2005; Seppänen *et al.*, 2004; Wu *et al.*, 2005; Philomenola *et al.*, 2003; Araujo *et al.*, 2008).

Commentaire

Cet article met en évidence les risques liés aux systèmes de climatisation qui constituent des réservoirs en moisissures toxigènes pouvant être à l'origine de phénomènes allergiques, voire d'effets toxiques plus graves. Les auteurs mettent en évidence que l'application de bonnes pratiques sanitaires est efficace pour réduire les risques, notamment l'utilisation en continu des systèmes d'air conditionné ainsi que l'entretien et le changement régulier des filtres.

Risque lié à l'exposition aux micro-organismes et produits chimiques dans un site de compostage des produits organiques

Nadal M, Inza I, Schuhmacher M *et al.* Health risks of the occupational exposure to microbiological and chemical pollutants in a municipal waste organic fraction treatment plant. *Int. J. Hyg. Environ. Health.* 2009; 212(6):661-9.

Analyse

Le compostage de produits organiques peut être source d'exposition aux bactéries et aux moisissures. Nadal *et al.* (2009) ont réalisé un suivi pendant 3 mois sur 4 secteurs d'une usine de compostage a été réalisé. Il s'agit d'un centre de compostage localisé en Espagne et traitant 240 000 tonnes de déchets par an. Le but ultime de cette entreprise est de produire du biogaz. L'air a été échantillonné au niveau du site de tri des déchets; à la réception des déchets, dans le local de digestion anaérobique et dans le tunnel de compostage. Deux zones externes au site ont été échantillonnées à 50 mètres de l'usine en zone abritée ou non du vent. Le dénombrement des colonies d'*Aspergillus* a été réalisé suivant la norme ISO 8199:2005. En plus des micro-organismes, les composés organiques volatils (COV) ont aussi été pris en compte. Il n'y a pas de contamination dans les deux zones externes à l'usine. Ceci s'explique par le fait que l'air de l'usine est filtré sur un double filtre avant d'être rejeté. C'est dans la zone de tri des déchets que les contaminations sont les plus importantes. À l'inverse, la contamination est la plus faible au niveau du site de méthanisation. Il y a aussi moins de moisissures dans le site de digestion anaérobique. Bien que le taux de bactéries augmente en été, il n'y a pas de variation du taux de moisissures en fonction de la température. Il a été mis en évidence que le port de masque et de gants permet de réduire considérablement l'exposition des travailleurs, notamment au niveau du site de tri. Ces méthodes de protection obligatoires à cet endroit devraient également être préconisées au niveau du site de réception des matières organiques ainsi qu'au niveau du compostage. Les auteurs indiquent aussi que l'exposition est réduite par l'humidification des déchets lors de la manipulation. L'installation de hottes aspirantes dans les zones à haut risque est aussi fortement conseillée.

Commentaire

Cet article met en évidence les risques d'exposition aux moisissures lors de la manipulation de déchets organiques en vue de la transformation en biogaz. L'évaluation du risque permet de donner des valeurs indicatives à ne pas dépasser: 100-1000 CFU/m³ et 1000 CFU/m³ pour la flore fongique totale et les particules dans l'air respectivement (Wargocki *et al.*, 2002; WHO and JRC Expert Task Force meeting, 2002). L'utilisation de protections individuelles (gant, masque) et d'une protection collective (hotte aspirante) est primordiale pour diminuer les risques.

CONCLUSION GÉNÉRALE

L'exposition aux moisissures responsables d'allergie et/ou productrices de mycotoxines peut survenir non seulement en milieu hospitalier mais aussi dans les laboratoires d'analyse mycologique ou dans des usines de production de biogaz. Les moisissures les plus dangereuses répertoriées sont *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus* élaborant l'aflatoxine ou *Aspergillus niger*. L'échantillonnage de l'air permet un suivi des contaminations. Dans toutes les études, il est clairement démontré que l'application de bonnes méthodes de nettoyage, d'utilisation de méthodes de protection individuelle par le port de masque et de gants et l'efficacité de système de filtration permet de limiter considérablement l'exposition des individus. À l'heure actuelle, il n'existe pas de méthodes de référence d'échantillonnage ni de normes mais toutes ces études contribuent à identifier les risques et affiner les méthodes d'évaluation des contaminations.

Revue de la littérature

- Krishnan S, Manavathu EK, Chandrasekar PH. *Aspergillus flavus*: an emerging non-fumigatus *Aspergillus* species of significance. *Mycoses.* 2009; 52(3):206-22.
- Pihet M, Carrere J, Cimon B *et al.* Occurrence and relevance of filamentous fungi in respiratory secretions of patients with cystic fibrosis--a review. *Med. Mycol.* 2009; 47(4):387-97.
- Rosenbaum PF, Crawford JA, Anagnost SE *et al.* Indoor airborne fungi and wheeze in the first year of life among a cohort of infants at risk for asthma. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 2009.
- Salo PM, Sever ML, Zeldin DC. Indoor allergens in school and day care environments. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009; 124(2):185-92, 192.
- Terr AI. Sick Building Syndrome: is mould the cause? *Med. Mycol.* 2009; 47(51):S217-22.

Publications de référence

- Araujo R, Cabral JP, Rodrigues AG. Air filtration systems and restrictive access conditions improve indoor air quality in clinical units: Penicillium as a general indicator of hospital indoor fungal levels. *Am. J. Infect. Control.* 2008; 36(2):129-34.
- Bluyssen PM, Cox C, Seppänen O *et al.* Why, when and how do HVAC-systems pollute the indoor environment and what to do about it? The European AIRLESS project. *Building Environ.* 2003; 38(2):209-25
- Graudenz GS, Oliveira CH, Tribess A *et al.* Association of air-conditioning with respiratory symptoms in office workers in tropical climate. *Indoor Air.* 2005; 15(1):62-6.

Seppänen OA, Fisk WJ. Summary of human responses to ventilation. *Indoor Air.* 2004; 14:102-18.

Wargocki P, Sundell J, Bischof W et al. Ventilation and health in non-industrial indoor environments: report from a European multidisciplinary scientific consensus meeting (EUROVEN). *Indoor Air.* 2002; 12(2):113-28.

WHO and JRC Expert Task Force meeting. Guidelines for concentration and exposure-response measurements of fine and ultra fine particulate matter for use in epidemiological studies. European Commission. World Health Organisation, Geneva. 2002.

Wu PC, Li YY, Chiang CM et al. Changing microbial concentrations are associated with ventilation performance in Taiwan's air-conditioned office buildings. *Indoor Air.* 2005; 15(1):19-26.

Publications non sélectionnées

Góra A, Mackiewicz B, Krawczyk P et al. Occupational exposure to organic dust, microorganisms, endotoxin and peptidoglycan among plants processing workers in Poland. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2009; 16(1):143-50.

Cette publication analyse l'exposition à divers micro-organismes dans le milieu agricole en focalisant principalement sur les bactéries.

Madsen AM, Schlünssen V, Olsen T et al. Airborne fungal and bacterial components in PM₁ dust from biofuel plants. *Ann. Occup. Hyg.* 2009; 53(7):749-57.

Cette publication met en évidence une corrélation entre des éléments fongiques de petites tailles (< 1 µm) dans les PM₁. Notamment l'identification de Nacétyl-glucosamidase est corrélés avec le taux de moisissure. L'article n'a pas été retenu car aucune corrélation n'est faite en fonction de l'exposition.

Magyar D, Frenguelli G, Bricchi E et al. The biodiversity of air spora in an Italian vineyard. *Aerobiologia.* 2009; 25(N2):99-109. *Cette publication présente un intérêt pour l'analyse des moisissures dans l'air en milieu viticole. Aucune relation entre l'exposition et des effets délétères n'est établie.*

Rao TA, Shaikh AH, Ahmed M. Airborne fungal flora of Karachi, Pakistan. *Pak. J. Bot.* 2009; 41(3):1421-28.

Cette publication n'a pas été retenue car elle évalue l'exposition à des moisissures en milieu urbain, sans établir de lien avec les causes de contamination.

Scheermeyer E, Agranovski IE. Design and evaluation of a new device for fungal spore aerosolization for laboratory applications. *J. Aerosol Sci.* 2009; 40(10):879-89.

Cette publication porte sur la mise au point de méthode d'échantillonnage et de mesures des contaminations fongiques. Sont prises en compte la vitesse de collecte, la taille des spores, etc.

Soto T, Lozano M, Vicente-Soler J et al. Microbiological survey of the aerial contamination in urban areas of the city of Murcia, Spain. *Anales de Biología.* 2009; 31:7-13.

Cette publication analyse l'exposition aux micro-organismes en milieu urbain et plus particulièrement aux bactéries.

Yao M, Zhangb H, Dong H et al. Comparison of electrostatic collection and liquid impinging methods when collecting airborne house dust allergens, endotoxin and (1,3)-β-d-glucans. *J. Aerosol Sci.* 2009; 40(6):492-502.

Le but de cette publication est de valider une méthode d'échantillonnage et d'analyse des contaminations fongiques.

Zhen S, Li K, Yin L et al. A comparison of the efficiencies of a portable BioStage impactor and a Reuter centrifugal sampler (RCS) High Flow for measuring airborne bacteria and fungi concentrations. *J. Aerosol Sci.* 2009; 40(6) 503-13.

Cette publication compare deux méthodes d'échantillonnage et de mesure des contaminations fongiques dans l'air.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Airborne, Bioaerosol, Inhalation, Fungi, Mycotoxin.

anses

alimentation, environnement, travail



Bulletin de veille BVS scientifique

Édition scientifique • 10 mai 2011

Spécial Rencontres scientifiques
Des TMS aux nanoparticules, risques
d'aujourd'hui en santé environnement travail

Particules

Particules en suspension et maladies cardio-vasculaires

Période : septembre 2009 à décembre 2009

Myriam BLANCHARD*, Édouard CHATIGNOUX** et Christophe DECLERCQ***

* Cire Haute-Normandie – Rouen

** ORS Île-de-France – Paris

*** InVS – Département Santé Environnement, Unité Air, Eau et Climat – Saint-Maurice

Mots clés : Particules en suspension, Pollution atmosphérique

De nombreux travaux épidémiologiques et toxicologiques récents (EPA, 2009) ont mis en évidence l'impact sanitaire des particules en suspension sur l'appareil cardiovasculaire, aussi bien à court terme, comme facteur d'aggravation de pathologies cardiovasculaires existantes, qu'à long terme, comme facteur de risque d'apparition et de développement de maladies cardiovasculaires chroniques, comme en témoignent les trois articles sélectionnés pour la présente note. **Tonne et al. (2009)** ont ainsi étudié l'impact de l'exposition aux particules sur l'incidence de l'infarctus du myocarde, en cherchant à analyser l'impact spécifique des particules en relation avec le trafic routier dans le cadre d'une étude cas-témoin aux États-Unis. **Kannan et al. (2010)** ont analysé les relations à court terme entre exposition aux $PM_{2,5}$ ⁽¹⁾ et tension artérielle, en s'intéressant notamment aux variations selon la présence ou non d'obésité, dans un échantillon d'adultes américains. **Pope et al. (2009)** ont réalisé une analyse très originale des données d'une grande cohorte américaine, combinée aux résultats d'autres études, afin d'étudier la forme de la relation entre dose inhalée de $PM_{2,5}$, par tabagisme actif et par exposition passive au tabac et aux $PM_{2,5}$ ambiantes.

Particules issues du trafic et infarctus du myocarde aigu : une analyse cas-témoin

Tonne C, Yanosky J, Gryparis A et al. Traffic particles and occurrence of acute myocardial infarction: a case-control analysis. *Occup. Environ. Med.* 2009; 66(12):797-804.

Analyse

Tonne et al. (2009) se sont intéressés à l'influence d'une exposition chronique aux particules fines émises par le trafic automobile sur la survenue d'un infarctus du myocarde. Pour cela, ils ont utilisé les données d'une étude cas-témoin mise en place à Worcester, dans le Massachussets, entre 1995 et 2003. Les 4565 cas ont été sélectionnés lors de leur première admission dans une unité de court séjour des hôpitaux de la ville pour un infarctus du myocarde confirmé, lors des années 1995, 1997, 1999, 2001 et 2003. Les témoins (deux par cas) ont été choisis parmi la population des 17 ans et plus de la ville, de manière à respecter la distribution marginale en âge, sexe et zone de résidence des cas.

L'exposition des sujets aux particules issues du trafic a été obtenue par modélisation à partir de données disponibles sur les covariations spatiales des concentrations en $PM_{2,5}$ (mesurées par réflectance, un bon indicateur du carbone élémentaire émis par le trafic) et en NO_2 , en faisant l'hypothèse que les variations des concentrations de NO_2 , bien corrélées aux $PM_{2,5}$, mesurées par réflectance, étaient en relation avec le trafic. Cela leur a permis d'utiliser un modèle de régression pour estimer les concentrations de particules en relation avec le trafic sur l'ensemble de leur domaine d'étude, le nombre de stations de mesure du NO_2 étant

plus important que celui des stations de mesure des $PM_{2,5}$ par réflectance. Des données sur l'environnement local des stations de mesure ont également été utilisées.

L'association entre l'indicateur d'exposition et le risque d'infarctus a été analysée à l'aide de modèles logistiques, stratifiés sur l'âge, le sexe et la zone de résidence et ajustés sur les concentrations en $PM_{2,5}$ issues de sources fixes, sur un indicateur local de densité du trafic dans un rayon de 100 mètres autour du domicile et sur des données sociodémographiques agrégées issues d'un recensement de la population. Plusieurs analyses de sensibilités ont également été conduites pour mesurer l'impact de la prise en compte de l'autocorrélation spatiale des observations sur les résultats.

Après ajustement sur l'ensemble des facteurs de confusion, une augmentation d'un interquartile de l'exposition chronique estimée aux particules issues du trafic était significativement associée à une augmentation du risque d'infarctus du myocarde ($OR^{(2)} = 1,09$ [IC à 95 % = 1,03-1,15]). Une association positive était également observée pour une augmentation d'un interquartile de l'indicateur de densité du trafic autour du lieu de résidence ($OR = 1,05$ [IC à 95 % = 1,02-1,07]). Lorsque les auteurs prenaient en compte la dépendance spatiale des observations à l'échelle des secteurs de recensement, l'effet des particules issues du trafic était fortement atténué ($RR = 1,01$ [IC à 95 % = 0,88-1,16]), alors que l'effet de l'indicateur de densité du trafic restait inchangé ($RR = 1,06$ [IC à 95 % = 1,03-1,10]).

Commentaire

Dans cette étude, **Tonne et al. (2009)** ont cherché, en utilisant une méthode innovante, à estimer l'effet des particules émises

par le trafic routier sur le risque d'infarctus du myocarde. Cependant, du fait d'un faible nombre de points de mesure, seuls des contrastes à grande échelle ont pu être exploités, ce qui limite fortement la portée des résultats. D'une part, les contrastes d'expositions aux polluants émis par le trafic (et donc de risque d'infarctus du myocarde) se situent surtout à une échelle spatiale fine, ce que semble confirmer la stabilité des résultats trouvés avec l'indicateur local de la densité de trafic. Par ailleurs, cette échelle géographique correspond à celle des secteurs de recensement, ce qui empêche de distinguer les effets spatiaux des effets de la pollution, ce d'autant plus en l'absence de contrôle sur les facteurs de confusion individuels (tabagisme, activité physique...). Cependant, les résultats viennent renforcer les données disponibles suggérant un impact des particules en relation avec le trafic routier sur l'incidence des maladies coronariennes (Health Effects Institute, 2009; *Tonne et al.*, 2009).

Exposition aux particules fines et effet à court terme sur la pression artérielle : modification de l'effet par l'obésité et la localisation

Kannan S, Dvonch JT, Schulz AJ et al. Exposure to fine particulate matter and acute effects on blood pressure: effect modification by measures of obesity and location. *J. Epidemiol. Community Health.* 2010; 64(1):68-74. Sous presse en 2009.

Analyse

Plusieurs études d'observation ou d'expérimentation contrôlée ont mis en évidence une augmentation de la tension artérielle suite à une exposition à des niveaux élevés de particules. Des augmentations de la mortalité, des admissions hospitalières, des visites aux urgences et des exacerbations de symptôme des patients atteints de maladies coronariennes ont été observées suite à une exposition aux particules. L'originalité du travail de **Kannan et al. (2010)** est de s'intéresser à l'effet des $PM_{2,5}$ sur la pression artérielle pulsée (PP) et en particulier d'examiner si cet effet est plus important chez les obèses, plusieurs travaux antérieurs ayant suggéré que l'obésité pourrait être un facteur de vulnérabilité aux effets des particules en suspension sur l'appareil cardiovasculaire.

Les auteurs ont utilisé les données de l'étude « Healthy Environments Partnership » (*Schulz et al.* 2005). Un échantillonnage aléatoire à deux degrés a été réalisé parmi les familles résidant dans 3 zones de Détroit, dans lesquelles la qualité de l'air était mesurée par des stations fixes. Pour 348 participants âgés en moyenne de 46 ans, des dosages de biomarqueurs, des mesures de pression artérielle et de caractéristiques physiques (poids, taille et tour de ceinture) ont été réalisées entre mai 2002 et avril 2003.

La pression artérielle systolique (PAS⁽³⁾) et diastolique (PAD⁽⁴⁾) ont été mesurées trois fois à 60 minutes d'intervalle, à l'aide d'un appareil portable agréé par l'association américaine d'instrumentation médicale et c'est la moyenne des 2 dernières mesures qui a été utilisée dans les analyses. La pression artérielle pulsée (PP⁽⁵⁾), c'est-à-dire la différence entre PAS et PAD et la

pression artérielle moyenne, soit la somme du 1/3 de la PAS et des 2/3 de la PAD, ont été calculées. L'indice de masse corporelle (IMC⁽⁶⁾) a été calculé à partir du poids et de la taille et a été utilisé pour définir l'obésité (IMC supérieur ou égal à 30 kg/m²). Les auteurs ont également utilisé une autre méthode de définition de l'obésité à partir d'une mesure du tour de taille au sommet de la crête iliaque à l'expiration (88 cm pour les femmes et 102 cm pour les hommes). Les mesures ont été réalisées entre mai 2002 et avril 2003.

L'exposition aux $PM_{2,5}$ a été estimée à l'aide des mesures par microbalances (TEOM) des stations de chacune des zones géographiques de la ville durant la période 2000-2003. Les participants à l'étude vivaient à moins de 5 km d'une station de mesure. Des données météorologiques (pression atmosphérique, température, humidité relative, direction et vitesse du vent) ont également été recueillies.

Les relations entre les niveaux de $PM_{2,5}$, mesurés à différents décalages temporels (moyenne de la veille, de l'avant-veille, des deux jours précédents, des trois jours précédents et jusqu'aux cinq jours précédents) et la tension artérielle ont été analysées par des modèles de régression linéaire prenant en compte le plan de sondage. Plusieurs modèles alternatifs ont été utilisés. Un premier modèle a été utilisé pour évaluer les variations de l'effet des $PM_{2,5}$ sur la pression artérielle selon la présence ou non d'obésité. Un deuxième modèle a été utilisé pour tester l'interaction entre exposition aux $PM_{2,5}$ et la zone géographique. Les analyses ont pris en compte les facteurs suivants : origine ethnique, revenu du ménage, niveau d'études, âge, sexe, habitudes tabagiques, consommation de sel, activité physique et état de santé (diabète, traitement pour l'hypertension).

Plus de la moitié des 348 participants étaient classés obèses par leur IMC et/ou par leur tour de taille. 44 % des participants souffraient d'hypertension artérielle et 24 % d'un état préhypertensif; 36 % d'entre eux avaient un taux de cholestérol élevé. Dans l'ensemble des trois zones étudiées, le niveau moyen de pollution atmosphérique particulaire était en moyenne de 15 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, avec des niveaux 20 % plus élevés dans le sud-ouest. La PP était en moyenne plus élevée chez les obèses quand le niveau de $PM_{2,5}$ deux ou trois jours avant la mesure de la PP était plus élevé. Les résultats étaient comparables quel que soit le critère de définition de l'obésité, IMC ou tour de taille. Après prise en compte de l'interaction entre zone géographique et niveau de $PM_{2,5}$, des effets significatifs des $PM_{2,5}$ sur la PAS chez les obèses et chez les non obèses étaient également observés à différents décalages temporels. La relation entre $PM_{2,5}$ et pression artérielle était également plus nette chez les résidents de la zone géographique où la pollution atmosphérique était la plus importante et ce, que les personnes soient obèses ou non, l'effet étant quand même plus net chez les obèses.

Commentaire

Cette étude apporte de nouveaux éléments dans la connaissance des effets de la pollution de l'air et notamment sur la vulnérabilité des obèses aux effets des particules sur l'appareil cardiovasculaire. Ses résultats sont suggestifs même s'ils paraissent un peu

fragiles (sensibilité au décalage temporel utilisé pour l'indicateur d'exposition et selon la méthode de modélisation). En particulier, l'exposition aux particules prend en compte à la fois des variations spatiales, dans trois zones géographiques et temporelles, selon le jour de réalisation des mesures de la pression artérielle. Les variations spatiales sont probablement également liées aux variations d'autres facteurs non pris en compte, ce que suggère d'ailleurs l'effet de la prise en compte d'un terme d'interaction entre $PM_{2,5}$ et zone géographique.

Mortalité cardiovasculaire et exposition aux particules fines et à la fumée de tabac : forme de la relation exposition-réponse

Pope CA, Burnett RT, Krewski D et al. Cardiovascular mortality and exposure to airborne fine particulate matter and cigarette smoke: shape of the exposure-response relationship. *Circulation*. 2009; 120(11):941-8.

Analyse

Pope et al. (2009) ont utilisé les données de la cohorte de l'American Cancer Society (ACS) pour analyser la forme de la relation entre exposition aux particules fines en relation avec la pollution atmosphérique, le tabagisme passif et le tabagisme actif. Plus d'un million de participants de 30 ans ou plus ont été recrutés en 1982, sur l'ensemble du territoire des États-Unis. Le statut vital a été obtenu par contact avec la famille jusqu'en 1988 et par liaison avec le fichier national des décès ensuite. Le codage des causes médicales a été réalisé à partir du certificat de décès jusqu'en 1995 et obtenu directement du fichier national de décès à partir de 1996.

L'exposition aux $PM_{2,5}$ dans l'air ambiant a été évaluée d'abord pour les années 1979-1983 à partir des données de campagnes de mesure de l'agence américaine de protection de l'environnement (EPA), ensuite pour les années 1999-2000 en utilisant les données de surveillance plus étendues disponibles. L'exposition aux $PM_{2,5}$ à l'échelle de l'aire de résidence a pu ainsi être estimée pour des sous-échantillons de taille variable (320 à 500 000 sujets) selon la période considérée.

L'effet de la consommation de tabac et de l'exposition aux $PM_{2,5}$ dans l'air ambiant sur la survie de la cohorte a été analysé à l'aide de modèles de régression de Cox, séparément pour les décès pour cardiopathie ischémique, pour maladies cardiovasculaires et pour maladies cardiorespiratoires. Ces modèles étaient stratifiés sur l'âge et prenaient en compte le niveau d'études, le statut marital, l'indice de masse corporelle, la consommation d'alcool, les expositions professionnelles et l'alimentation, en utilisant les données recueillies par questionnaire au moment du recrutement dans la cohorte. Les auteurs ont restreint l'analyse à la période 1982-1988, afin de limiter les erreurs de mesure de la consommation de tabac, cette donnée n'ayant été recueillie qu'au recrutement.

Enfin, les auteurs ont représenté graphiquement les risques relatifs ajustés pour différentes catégories d'exposition active et passive au tabac et d'exposition. Ils ont utilisé les résultats

de la présente analyse mais aussi ceux d'analyses antérieures de la même cohorte. Ils ont également présenté, à des fins de comparaison, les résultats de l'analyse de deux autres cohortes américaines d'adultes (cohorte des 6 villes et cohorte de la Women's Health Initiative) pour lesquelles des données sur l'exposition aux $PM_{2,5}$ ambiantes étaient disponibles, ainsi que ceux de l'étude cas-témoin internationale Interheart et les estimations de l'effet du tabagisme passif présentées dans un rapport de 2006 du Surgeon General des États-Unis.

Pour cet exercice, les auteurs ont converti les différentes métriques d'exposition en une estimation de la dose quotidienne de $PM_{2,5}$ inhalée par les poumons, en g/j, en multipliant la concentration de $PM_{2,5}$ ambiante mesurée par une estimation du taux d'inhalation moyen des adultes ($18 \text{ m}^3/\text{j}$) et en estimant la dose de $PM_{2,5}$ inhalée à 12 mg par cigarette. La concentration ambiante en $PM_{2,5}$ pour les sujets exposés passivement au tabac a été estimée sur la base des quelques travaux disponibles sur le sujet (de 20 à $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ selon les circonstances d'exposition). Les résultats permettent de constater que la dose estimée d'exposition aux $PM_{2,5}$ ambiantes (de l'ordre de 0,5 mg/j pour une concentration ambiante d'environ $25 \mu\text{g}/\text{m}^3$) ou en relation avec le tabagisme passif (de 0,3 à 1,15 mg/j selon le scénario) est extrêmement faible en comparaison avec la dose apportée par le tabagisme actif (240 mg/j pour une consommation de 20 cigarettes par jour). D'autre part, les risques relatifs par unité de dose de $PM_{2,5}$ inhalée sont nettement plus élevés pour le tabagisme actif que pour l'exposition passive au tabac ou l'exposition aux $PM_{2,5}$ ambiante mais la pente de la courbe est nettement plus faible aux fortes doses.

L'allure générale des données sur la relation entre dose inhalée de $PM_{2,5}$ et mortalité cardiovasculaire suggère donc une relation de type non linéaire, avec une diminution de la pente avec la dose, par exemple une augmentation linéaire du risque de mortalité avec une fonction puissance de la dose avec un exposant de l'ordre de 0,2. Cependant, le trou dans la plage de doses étudiée entre les doses faibles de l'exposition passive au tabac ou aux $PM_{2,5}$ ambiantes et celles de l'exposition active au tabac limite les possibilités de l'analyse. Des courbes similaires étaient observées pour les hommes et pour les femmes. Par contre, les risques relatifs étaient plus élevés pour les sujets âgés de 65 ans et plus.

Commentaire

Les auteurs ont utilisé de manière particulièrement astucieuse une analyse spécifique des riches données de la cohorte de l'American Cancer Society, combinée aux résultats d'autres cohortes, pour analyser les effets de l'inhalation d'une forte (tabagisme actif) et faible (exposition passive au tabac et aux $PM_{2,5}$ ambiantes) concentration en $PM_{2,5}$ sur la mortalité cardiovasculaire. Leur analyse montre que l'hypothèse d'une relation linéaire entre dose inhalée de $PM_{2,5}$ et mortalité cardiovasculaire n'est pas compatible avec les données analysées, qui suggèrent plutôt une relation non linéaire avec une pente diminuant avec la dose. Ces résultats sont peu sensibles aux paramètres utilisés pour quantifier la dose de $PM_{2,5}$ inhalée par exposition active ou passive au tabac. La cohérence des résultats

obtenus pour les faibles doses, par exposition passive au tabac ou aux $PM_{2,5}$ ambiantes est tout à fait remarquable de ce point de vue. Il faut bien sûr prendre en compte dans l'interprétation des résultats les limites de cette analyse, le trou entre faibles et fortes doses d'une part et la non prise en compte des différences de composition chimique des $PM_{2,5}$ qui pourraient jouer un rôle dans la toxicité des particules, même si les $PM_{2,5}$ étudiées ont en commun d'être produites par des combustions. Ces résultats incitent à chercher les mécanismes sous-jacents à cette relation non linéaire, pour mieux la comprendre.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les travaux analysés s'inscrivent dans un domaine de recherche très actif, celui de la connaissance et de la compréhension des effets de l'exposition aux particules en suspension sur l'appareil cardiovasculaire. Les résultats de **Tonne *et al.* (2009)** et de **Kannan *et al.* (2010)** viennent confirmer des travaux antérieurs qui ont étudié l'impact de l'exposition aux particules sur l'incidence de l'infarctus du myocarde et sur l'hypertension artérielle. Ces résultats sont très suggestifs, malgré les limites liées à l'évaluation de l'exposition. Le travail très intéressant de **Pope *et al.* (2009)** est un argument très concluant en faveur de la cohérence des effets sur la mortalité cardiovasculaire de l'exposition chronique aux particules ambiantes, par comparaison au tabagisme actif et passif.

Lexique

- (1) $PM_{2,5}$: Particules de diamètre aérodynamique inférieur à 2,5 microns.
- (2) OR : Odds-Ratio.
- (3) PAS : Pression artérielle systolique. C'est la pression mesurée lors de la contraction du ventricule gauche. C'est donc la valeur la plus haute relevée lors de la mesure de la pression artérielle.
- (4) PAD : Pression artérielle diastolique. C'est la pression mesurée lors de la relaxation du ventricule gauche. C'est donc la valeur la plus basse relevée lors de la mesure de la pression artérielle.
- (5) PP : Pression artérielle pulsée (ou pression artérielle différentielle (différence entre PAS et PAD)). Cette valeur dépend principalement du volume d'éjection systolique et de la rigidité artérielle.
- (6) IMC : Indice de masse corporelle, soit le rapport du poids sur la taille au carré (en kg/m^2).

Publications de référence

Centers for Disease Control and Prevention. The Health Consequences of Involuntary Exposure to Tobacco Smoke: A Report of the Surgeon General. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services. Coordinating Center for Health Promotion, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion. Office on Smoking and Health. 2006.

Schulz AJ, Kannan S, Dvonch JT *et al.* Social and physical environments and disparities in risk for cardiovascular disease: the healthy environments partnership conceptual model. *Environ. Health Perspect.* 2005; 113(12):1817-25.

Revue de la littérature

Bhaskaran K, Hajat S, Haines A *et al.* Effects of air pollution on the incidence of myocardial infarction. *Heart.* 2009; 95(21):1746-59.

Environmental Protection Agency. Integrated science assessment for particulate matter. Research Triangle Park, NC. 2009.

Health Effects Institute. HEI panel on the health effects of traffic-related air pollution. Traffic-related air pollution: a critical review of the literature on emissions, exposure and health effects. Boston, Massachusetts. 2009.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Air pollution, Particulate Matter.

Les particules ultrafines dans les environnements intérieurs : impact des activités humaines

Période : avril 2009 à août 2009

Juliette LARBRE

RSEIN / Ineris – Direction des Risques Chroniques – Verneuil-en-Halatte

Mots clés : Air Intérieur, Émissions, Particules, Ultra-fines

La problématique des particules nanomanufacturées est très présente dans l'actualité. Elle occulte une préoccupation importante et qui l'avait précédée : le risque lié aux particules « ultrafines », c'est-à-dire aux particules de même taille (diamètre < 100 nm), particules non-intentionnelles mais bien présentes dans notre quotidien.

Après des efforts notables sur le trafic - notamment les rejets diesel - un nombre croissant d'études s'intéresse aux sources domestiques. L'étude en chambre permet de manière très efficace de caractériser les sources notamment en termes de facteur d'émission.

Facteurs d'émission de particules durant des activités de cuisine

Buonanno G, Morawska L, Stabile L. Particle emission factors during cooking activities. *Atmospheric Environ.* 2009; 43(20):3235-42.

Analyse

La cuisson des aliments accroît de façon notable les concentrations particulaires et surtout de particules ultrafines (PUF) dans l'air intérieur.

La présente étude de Buonanno *et al.* (2009) évalue expérimentalement l'influence de la nature des aliments cuisinés et de l'huile utilisée, de la température, de l'énergie et du mode de cuisson (friture/grill) sur les émissions particulaires (surface, morphologie, nombre et granulométrie).

Différents aliments ont été grillés soit sur une gazinière soit sur une cuisinière électrique en faisant varier la température de cuisson. Ensuite, de façon à évaluer les émissions particulaires de la friture, des frites ont été plongées dans trois types d'huile chaude (olive, arachide, tournesol « spéciale friture ») sur la gazinière au maximum de sa puissance et dans une friteuse électrique fonctionnant à température constante (190 °C).

Durant ces activités, les mesures suivantes ont été réalisées : concentration, granulométrie et morphologie des particules ; température de cuisson. Le point de mesure était situé à 2 mètres des appareils de cuisson et tous les mesurages étaient en 3 étapes : mesure du bruit de fond, mesures durant l'activité, puis 30 à 40 minutes de mesures après l'arrêt de la cuisson.

Griller des aliments sur une gazinière génère plus de particules (en nombre) qu'à partir d'une cuisinière électrique ; le bruit de fond « hors cuisson » des particules émises par la gazinière étant déjà supérieur. Le taux d'émission particulaire augmente conjointement à la température de cuisson. 98 % des particules émises (en nombre) étaient des particules ultrafines, contribuant peu à la concentration en masse.

Par ailleurs, griller des aliments gras entraîne des facteurs d'émission (masse et surface spécifique) supérieurs à ceux liés aux grillades d'aliments pauvres en graisses (légumes).

Enfin, la friture à l'huile d'olive sur gazinière génère les facteurs d'émission (en nombre, masse et surface spécifique) les plus élevés. Les facteurs d'émissions les plus faibles sont obtenus avec la friteuse électrique probablement du fait de la température de friture relativement basse et stable.

La suite de l'étude présentera plus spécifiquement les résultats sur la morphologie et la composition chimique des particules afin d'étudier plus précisément les éventuels effets sanitaires des émissions générées par cette activité domestique.

Commentaires

Cette étude est très riche et très complète compte tenu des nombreux paramètres liés aux émissions particulaires mesurés, des multiples variables testées, et du support bibliographique riche. Elle participe indéniablement à l'enrichissement des connaissances des émissions particulaires dans l'air intérieur liées aux activités de cuisson quotidiennes.

Toutefois, certains paramètres expérimentaux ne sont pas renseignés comme la durée des temps de cuisson et l'influence du scénario de ventilation. Ces données pourraient pourtant permettre de travailler sur des scénarii d'exposition de la population générale.

Composition chimique et facteur d'émission (masse) lors de la combustion de bougies

Pagels J, Wierzbicka A, Nilsson E *et al.* Chemical composition and mass emission factors of candle smoke particle. *Aerosol Sci.* 2009; 4(3):193-208.

Analyse

Ce travail suédois (Pagelsa *et al.*, 2009) a pour objectif d'étudier la morphologie et la composition chimique des particules émises lors de la combustion de 2 types de bougies commerciales dans un environnement intérieur. Les bougies lors de leur combustion sont émettrices de particules ultra-fines, de $PM_{2,5}$ ⁽¹⁾ et de carbone élémentaire. L'une des bougies étudiée était de qualité supérieure et étiquetée comme peu émettrice de suie (cire pure à base de stéarine, bougie 1) alors que la deuxième était une bougie bon marché (coloration bleu foncée, cire à base d'un mélange de stéarine/paraffine, bougie 2). L'ensemble des tests ont été réalisés dans une chambre de 22 m³ avec un renouvellement d'air de 0,5 h⁻¹ ainsi qu'avec un ventilateur dans la pièce. Le brûlage des bougies a été étudié selon trois modes de fonctionnement : bougie protégée par un tube, bougie à l'air libre et extinction de la bougie.

L'analyse des concentrations en nombre de particules (16-1 000 nm) sont : 1,14.10⁶ pt/cm³ et 0,51.10⁶ pt/cm³ lorsque la bougie est protégée et de 0,89.10⁶ pt/cm³ et 0,27.10⁶ pt/cm³ à l'air libre, pour les bougies 1 et 2 respectivement. Le nombre de particules dont le diamètre est inférieur à 100 nm avec un mode entre 20 et 30 nm, est très important. Avec le temps, on voit apparaître un deuxième mode vers 270 nm. Celui-ci correspond à la coagulation des particules entre elles. Ce phénomène est plus important pour les bougies à l'air libre avec une flamme vacillante. L'analyse microscopique confirme ce mélange de particules unitaires et de particules agglomérées. Du point de vue de la composition chimique des particules ultra-fines lorsque la bougie est protégée et que la flamme est stable, c'est le carbone élémentaire qui domine la composition. En revanche, lors de la combustion avec une flamme vacillante les matières inorganiques dominent : pour la bougie 1, ce sont des phosphates d'ammonium (retardateur de flamme provenant de la mèche); pour la bougie 2, ce sont du potassium, du sodium, des nitrates ainsi que de nombreux métaux (cuivre, étain et cobalt) qui peuvent être soit des durcisseurs de mèche soit des pigments.

Commentaires

Les auteurs ont réalisé une étude très complète des émissions de bougies en utilisant de nombreux instruments de mesure. Ils mettent ainsi en valeur la détermination des concentrations en nombre ou de la surface spécifique qui sont dans certains cas plus pertinentes que la concentration massique.

Au-delà de la mesure des concentrations en masse et en nombre des particules, les auteurs se sont attachés à déterminer la composition chimique des particules ultra-fines. Cette analyse montre que la majorité des ultra-fines émises par les bougies est composée de sels solubles hygroscopiques dont l'absorption

d'eau augmente la taille et diminue ainsi la pénétration et la déposition dans le tractus respiratoire, de même qu'un fort taux d'agglomération. Toutefois, la présence de composés métalliques au sein des particules doit être prise en compte afin de mieux appréhender l'impact sanitaire de l'utilisation des bougies dans les environnements intérieurs.

Ces travaux sont d'autant plus importants à poursuivre que le marché de la bougie est en croissance régulière. La bougie est devenue un objet de décoration et parfumant. À ce titre, les fabricants sont innovants quant aux matières et aux senteurs utilisées dans la bougie. Or, lors de la combustion tous ces composants sont émis sous forme gazeuse ou particulaire dans l'environnement intérieur et le phénomène de combustion transforme beaucoup de ces composants. Pour les adeptes des bougies et des senteurs, la combustion en permanence dans le lieu de vie tient une part très importante de la pollution particulaire de l'air intérieur derrière les activités de cuisson.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Ces articles illustrent l'intérêt croissant qui est porté aux particules ultrafines dans les environnements intérieurs. Les travaux de recherche ne s'articulent plus uniquement autour des nanoparticules manufacturées. Les activités domestiques sont à l'origine d'émissions particulières de natures très diverses dont les particules ultrafines. Leur étude morphologique et chimique requière des technologies qui diffèrent de celles connues pour les particules fines. On se rend compte par exemple qu'il semble plus pertinent de déterminer leur concentration en nombre ou en surface spécifique et non plus en masse.

L'effet sanitaire est aujourd'hui encore mal défini mais comme pour les particules de taille microscopique le facteur taille est un point important tout comme leur composition chimique.

Lexique

(1) $PM_{2,5}$: particules de diamètre aérodynamique médian inférieur à 2,5 μm .

Revue de la littérature

Valavanidis A, Fiotakis K, Vlachogianni T. Airborne particulate matter and human health: toxicological assessment and importance of size and composition of particles for oxidative damage and carcinogenic mechanisms. *J. Environ. Sci. Health C Environ. Carcinog. Ecotoxicol. Rev.* 2008; 26(4):339-62.

Xia T, Li N, Nel AE. Potential health impact of nanoparticles. *Annu. Rev. Public Health.* 2009; 30:137-50.

Publications non sélectionnées

Karlsson HL, Gustafsson J, Cronholm P et al. Size-dependent toxicity of metal oxide particles--a comparison between nano- and micrometer size. *Toxicol. Lett.* 2009; 188(2):112-8.

Article centré sur les nanoparticules manufacturées mais approche intéressante sur les impacts sanitaires de particules métalliques en fonction de leur taille. Les nanoparticules ne sont pas systématiquement plus dangereuses.

Murr LE, Garza KM. Natural and anthropogenic environmental nanoparticulates: their microstructural characterization and respiratory health implications. *Atmos. Environ.* 2009; 43(17):2683-92.

Nanoparticules manufacturées des environnements intérieurs et extérieurs. Beaucoup de données météorologiques et essais biologiques pour plusieurs nanoparticules sur des cellules épithéliales de poumon.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Health, Particles, Ultrafine.

Effets des particules atmosphériques selon la taille et la composition chimique

Période : avril 2009 à août 2009

Myriam BLANCHARD*, Sophie LARRIEU**, Édouard CHATIGNOUX*** et Christophe DECLERCQ****

* CIRE Haute-Normandie – Rouen

** CIRE Aquitaine – Bordeaux

*** ORS Île-de-France – Paris

**** InVS – Département Santé environnement, Unité Air, eau et climat – Saint-Maurice

Mots clés : Particules en suspension, Pollution atmosphérique, santé

Les particules en suspension dans l'atmosphère constituent un mélange complexe de nombreux composants chimiques directement émis par les sources (combustion, érosion...) ou résultant de réactions chimiques secondaires. Depuis plusieurs années, de très nombreuses études toxicologiques (Chen, Lippmann, 2009 ; Mauderly, Chow, 2008 ; Schlessinger, 2007) et épidémiologiques (Brunekreef, Forsberg, 2005 ; Pope *et al.*, 2002) ont établi la nocivité des particules pour la santé. Cependant, le rôle joué par les différents éléments composant ce mélange de particules est encore mal connu.

Si les effets sanitaires des particules fines (de diamètre inférieur à 2,5 µm : PM_{2,5}⁽¹⁾) sont bien établis, ceux de la fraction grossière (de diamètre compris entre 2,5 et 10 µm : PM_{2,5-10}⁽²⁾) sont moins documentés et restent discutés. Dans ce contexte, l'étude de **Zanobetti et Schwartz (2009)** apporte un éclairage tout à fait intéressant sur les effets à court terme des particules sur la mortalité en fonction de leur taille. D'autre part, le rôle respectif joué par les différents composants (métalliques, organiques et inorganiques) des particules reste mal connu, alors qu'il s'agit d'un sujet d'investigation important pour mieux comprendre les effets des particules sur la santé et guider les politiques d'action vers les sources d'émissions de particules. C'est l'objet des études de **Bell *et al.* (2009)**, **Peng *et al.* (2009)** et **Von Klot *et al.* (2009)**.

Effet à court terme des particules fines et grossières sur la mortalité

Zanobetti A, Schwartz J. The effect of fine and coarse particulate air pollution on mortality: a national analysis. *Environ. Health Perspect.* 2009 ; 117(6):898-903.

Analyse

Zanobetti et Schwartz (2009) ont conduit une analyse écologique de séries temporelles sur un ensemble de grandes villes des États-Unis pour la période 1999-2005. Le nombre quotidien de décès toutes causes non accidentelles confondues et par causes spécifiques a été recueilli à l'échelle des comtés. Les données de concentrations journalières ambiantes en PM_{2,5} et en PM₁₀⁽³⁾ de l'Environmental Protection Agency (EPA) ont été utilisées pour calculer les niveaux moyens de ces deux fractions de particules et, par différence, le niveau moyen de PM_{2,5-10}. L'étude porte sur 112 villes pour l'analyse des effets des particules fines sur les variations journalières de la mortalité et sur 47 villes pour les particules grossières. Ces analyses ont été réalisées à l'aide de modèles de régression de Poisson pour chaque ville et chaque saison. Les résultats pour l'ensemble des villes ont ensuite été synthétisés au niveau national, en termes d'augmentation moyenne du nombre journalier de décès (excès de risque relatif ou ERR en %) pour une augmentation de 10 µg/m³ de la moyenne des concentrations en particules du jour et de la veille. Les auteurs ont également analysé les variations de l'effet des particules sur

la mortalité selon les caractéristiques climatiques des villes.

Le nombre journalier de décès pour l'ensemble des causes non accidentelles augmentait de manière significative avec le niveau de PM_{2,5} (ERR = 0,98 %, IC à 95 % = [0,75;1,22]) pour une augmentation de 10 µg/m³ et cette augmentation était encore plus nette pour les décès causés par des maladies cardiovasculaires (ERR = 0,85 % [0,46;1,24]), notamment les infarctus du myocarde (ERR = + 1,18 % [0,48;1,89]) et les accidents vasculaires cérébraux (ERR = + 1,78 % [0,96;2,62]), mais aussi pour les décès de cause respiratoire (ERR = + 1,68 % [1,04;2,33]).

En ce qui concerne les PM_{2,5-10}, les associations avec la mortalité étaient moins marquées mais également significatives, excepté pour les infarctus du myocarde. L'augmentation la plus marquée concernait la mortalité respiratoire (ERR = + 1,16 % [0,43 ; 1,89]). La prise en compte simultanée des deux polluants dans les modèles ne modifiait que très peu les associations observées. Pour les deux fractions de particules, les effets observés étaient plus élevés au printemps, ce qui pourrait suggérer une pénétration plus importante des particules à l'intérieur des locaux pour des températures moyennes, du fait notamment d'une aération plus fréquente. Enfin, la comparaison des risques relatifs estimés selon les caractéristiques climatiques des villes permettait d'observer une différence importante entre les deux fractions de particules. Pour les PM_{2,5}, les effets variaient peu, à part l'association moins marquée observée dans les villes situées dans des régions de climat de type méditerranéen. Ce dernier résultat s'explique sans doute en partie par des erreurs plus importantes dans la mesure

de l'exposition de la population aux particules, la région de climat de type méditerranéen incluant la Californie, où, du fait de la large étendue urbaine, une large partie de la population se trouve éloignée des capteurs. En revanche, les risques relatifs estimés pour les $PM_{2,5-10}$ variaient fortement avec un effet nettement plus marqué dans les villes à climat continental sec. Ce résultat suggère des variations locales importantes de la toxicité des particules grossières selon leur composition.

Commentaire

Cette étude est la première à analyser l'impact des niveaux de particules fines et de particules grossières avec un jeu de données aussi riche en termes de durée de la période de mesures et de nombre de villes étudiées. Ces résultats confirment les données disponibles sur l'impact des particules fines sur la mortalité, en particulier pour causes cardiovasculaires. Les auteurs indiquent que les particules grossières ont également un effet sur la mortalité qui ne doit pas être négligé. L'effet des particules grossières paraît moins robuste que celui observé pour les particules fines : les effets observés sont moins marqués et plus variables selon le contexte climatique local. Cela peut effectivement indiquer que l'effet des particules grossières varie en fonction de leur composition, comme les auteurs le suggèrent. Ces éléments ont pu contribuer à sous-estimer l'effet des particules grossières : le nombre de villes sur lesquelles l'effet des particules grossières était étudié était plus réduit ; la concentration moyenne de $PM_{2,5-10}$ n'était pas mesurée directement, mais calculée par différence entre les niveaux moyens de PM_{10} et de $PM_{2,5}$, ce qui additionne les erreurs de mesure ; enfin, il est raisonnable de penser que les variations des concentrations atmosphériques à l'intérieur des comtés sont plus fortes pour les particules grossières.

Exposition au carbone élémentaire et survie après un premier infarctus du myocarde

Von Klot S, Gryparis A, Tonne C *et al.* Elemental carbon exposure at residence and survival after acute myocardial infarction. *Epidemiology* 2009 ; 20(4):547-54.

Analyse

Von Klot *et al.* (2009) se sont intéressés aux effets à long terme sur la mortalité d'individus survivant à un premier infarctus du myocarde, de l'exposition chronique au carbone élémentaire, indicateur de la pollution particulaire liée au trafic. Leur étude a porté sur une cohorte de 3 895 patients résidant dans l'unité urbaine de Worcester, Massachusetts, hospitalisés pour un infarctus entre 1995 et 2003, dont 44 % sont décédés au cours du suivi. Pour chaque sujet, un indicateur d'exposition annuelle moyenne au carbone élémentaire, à l'adresse de résidence a été estimé à l'aide d'un modèle géostatistique, utilisant des mesures de $PM_{2,5}$, de réflectance⁽⁴⁾ et de carbone élémentaire, ainsi que des données sur les caractéristiques locales des points de mesure. L'association entre cet indicateur d'exposition et le risque de décès a été analysée à l'aide d'un modèle de Cox⁽⁵⁾, ajusté sur

les caractéristiques individuelles des patients (âge, sexe, ethnie, statut marital, antécédents médicaux et complications cliniques de l'infarctus), disponibles dans les dossiers médicaux, ainsi que sur des données sociodémographiques agrégées issues d'un recensement de la population.

Après ajustement sur les facteurs de confusion individuels une augmentation de l'exposition au carbone élémentaire était significativement associée à une augmentation du risque de mortalité toutes causes confondues (RR=1,15 IC à 95 % = [1,03 -1,29] pour une augmentation de 0,24 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ du niveau moyen annuel de carbone élémentaire) au-delà de deux ans de suivi. À l'inverse, aucune association n'était observée dans les deux années suivant l'infarctus. Lorsque les caractéristiques socioéconomiques du quartier de résidence des patients étaient incluses dans le modèle, l'association entre l'exposition au carbone élémentaire et la mortalité était atténuée.

Commentaire

L'étude de Von Klot *et al.* (2009) est extrêmement bien menée, notamment en ce qui concerne l'évaluation de l'exposition. Elle apporte des arguments en faveur d'un effet à long terme de la pollution particulaire liée au trafic sur la mortalité de patients survivant à un infarctus du myocarde et vient aussi corroborer les résultats de plusieurs travaux antérieurs (Pope *et al.*, 2002 ; Gehring *et al.*, 2006 ; Pope *et al.*, 2004). C'est la survie à long terme qui est diminuée, puisque l'effet observé n'est significatif qu'après deux ans de survie après l'infarctus. Les auteurs suggèrent que ce sont les caractéristiques cliniques de l'infarctus qui joueraient le rôle principal dans les mois qui suivent l'événement, où la mortalité est forte, l'effet de la pollution n'apparaissant qu'après cette période. De nombreuses analyses de sensibilité ont été menées et l'adéquation des modèles a été vérifiée, ce qui confère aux résultats une bonne fiabilité. On peut néanmoins regretter que les auteurs n'aient pu étudier de façon spécifique la mortalité cardiovasculaire et prendre en compte les différentes adresses de résidence des patients pour l'estimation de l'exposition.

Admissions hospitalières en urgence et composition chimique des $PM_{2,5}$

Bell ML, Ebisu K, Peng RD *et al.* Hospital admissions and chemical composition of fine particle air pollution. *Am J. Respir. Crit. Care Med.* 2009 ; 179(12):1115-20.

Peng RD, Bell ML, Geyh AS *et al.* Emergency admissions for cardiovascular and respiratory diseases and the chemical composition of fine particle air pollution. *Environ. Health Perspect.* 2009 ; 117(6):957-63.

Analyse

Dans le cadre d'une étude multicentrique américaine, Peng *et al.* (2009) ont examiné l'association entre les admissions hospitalières pour causes cardiovasculaires et respiratoires et les composants chimiques des $PM_{2,5}$ dans 119 comtés des États-Unis,

pendant la période 2000-2006. Les auteurs ont extrait de la base de données du régime d'assurance maladie Medicare, qui couvre plus de 12 millions de personnes de plus de 65 ans, les données quotidiennes d'admissions hospitalières en urgences pour des causes cardiovasculaires et respiratoires. Les données sur les niveaux ambiants de $PM_{2,5}$ et de leurs composants chimiques majeurs (sulfates, nitrates, silicium, carbone élémentaire, carbone organique, ions sodium et ammonium) ont été extraites de la base nationale de l'EPA. Ces mesures n'étaient réalisées qu'un jour sur 3 ou sur 6 tout au long de l'année. Les analyses ont été réalisées par comté en utilisant des modèles de régression de Poisson mono et multi-polluants ajustés sur la tendance et les facteurs de confusion comme la température. Les indicateurs de pollution ont été introduits avec différents délais de 0 à 3 jours. Les risques issus de ces modèles ont ensuite été combinés pour estimer l'effet moyen d'une augmentation journalière d'un interquartile du composant considéré sur les variations journalières du nombre d'hospitalisations.

Les auteurs ont observé une association positive et statistiquement significative entre les admissions pour causes cardiovasculaires et une augmentation le jour même des niveaux de nitrates, de carbone élémentaire, de carbone organique et d'ion ammonium. Dans les modèles multi-polluants, l'effet des différents composants était atténué, mais restait statistiquement significatif pour le carbone élémentaire et le carbone organique. Pour les admissions pour causes respiratoires, seul l'effet du carbone organique était significatif, avec ou sans ajustement sur les autres composants.

L'étude de **Bell et al. (2009)** s'est également intéressée à l'effet de la composition des particules sur les admissions hospitalières, mais en adoptant une stratégie d'analyse différente. Les auteurs ont cherché à analyser si les variations de l'effet à court terme des $PM_{2,5}$, selon le lieu et la saison, pouvaient être expliquées par des variations dans la composition chimique des particules. Ils ont donc analysé les relations entre d'une part les concentrations moyennes par comté et saison de différents composants chimiques des $PM_{2,5}$ et d'autre part l'augmentation du nombre journalier d'hospitalisations cardiovasculaires et respiratoires le jour même et la veille, en relation avec une augmentation de $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ du niveau journalier de $PM_{2,5}$, estimée pour la période 1999-2005 avec la même méthodologie que celle de **Peng et al. (2009)**. Ces analyses ont porté sur les 100 comtés des États-Unis pour lesquels les auteurs ont pu disposer de résultats de mesures des composants des $PM_{2,5}$ pour la période de 1999 à 2005.

Les auteurs ont observé que l'effet des $PM_{2,5}$ sur les hospitalisations pour causes cardiovasculaires et sur les hospitalisations pour causes respiratoires chez les plus de 65 ans était d'autant plus accentué que le contenu moyen des $PM_{2,5}$ en vanadium, en carbone élémentaire ou en nickel était élevé. Dans les modèles qui incluent les mesures de nickel et de vanadium, on observe une diminution de l'hétérogénéité de 37 % entre les comtés. Les auteurs avancent comme une des hypothèses possibles que ces éléments sont des marqueurs d'une pollution particulière générée par les combustions et/ou le trafic routier. Globalement, la relation entre les hospitalisations pour des maladies cardio-vasculaires et le nickel restait robuste

dans les modèles multi-polluants et après prise en compte des caractéristiques socioéconomiques des comtés.

Commentaire

Ces deux études ont été réalisées par la même équipe de grande qualité, qui a utilisé au mieux un jeu de données très riche sur la composition chimique des $PM_{2,5}$, malgré un certain nombre de limites, par exemple en termes de nombre de jours de mesure. Comme les quelques autres travaux (**Ostro et al., 2007**; **Lippmann et al., 2006**; **Lippmann, 2009**) qui ont cherché à analyser l'effet de la composition chimique des particules sur la morbidité ou la mortalité, les résultats de ces deux études apportent des arguments tout à fait convaincants pour montrer le rôle de la composition chimique des particules pour expliquer la variabilité des effets observés selon la saison ou selon les caractéristiques géographiques. Ils suggèrent que les particules liées aux combustions (trafic, industrie, combustion de bois) ont un effet plus marqué sur la morbidité.

CONCLUSION GÉNÉRALE

De nombreux mécanismes restent ainsi à élucider pour comprendre les effets des particules en fonction de leur taille et de leur composition. Les études analysées ici montrent pourtant qu'à condition de disposer des données adéquates, les épidémiologistes peuvent arriver à des résultats tout à fait intéressants. Ainsi, l'étude de **Zanobetti et Schwartz (2009)** montre, malgré les limites de leur estimation de l'exposition aux poussières grossières, que l'effet de celles-ci ne doit pas être négligé, alors que ces particules ne font actuellement l'objet d'aucune prescription réglementaire en matière de surveillance. Les résultats des trois autres études suggèrent, avec d'autres travaux et sans épuiser le sujet, un effet plus marqué des particules liées aux combustions, notamment celles du trafic routier. Ces résultats devraient encourager la mise en place de dispositifs de mesure de la composition chimique des particules, notamment en France, où les données disponibles sont encore trop peu nombreuses.

Lexique

- (1) $PM_{2,5}$: particules en suspension de diamètre aérodynamique inférieur à 2,5 microns (ou particules fines).
- (2) $PM_{2,5-10}$: particules en suspension de diamètre aérodynamique compris entre 2,5 et 10 microns (ou particules grossières).
- (3) PM_{10} : particules en suspension de diamètre aérodynamique inférieur à 10 microns.
- (4) Réflectance : proportion de la lumière incidente réfléchie.
- (5) Modèle de Cox : modèle permettant d'estimer l'influence de plusieurs facteurs sur la durée de survie.

Publications de référence

Brunekreef B, Forsberg B. Epidemiological evidence of effects of coarse airborne particles on health. *Eur. Respir. J.* 2005; 26(2): 309-18.

Chen LC, Lippmann M. Effects of metals within ambient air particulate matter (PM) on human health. *Inhal. Toxicol.* 2009; 21(1):1-31.

Gehring U, Heinrich J, Kramer U et al. Long-term exposure to ambient air pollution and cardiopulmonary mortality in women. *Epidemiology.* 2006; 17(5):545-51.

Lippmann M. Semi-continuous speciation analyses for ambient air particulate matter: an urgent need for health effects studies. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 2009; 19(3):235-47.

Lippmann M, Ito K, Hwang JS et al. Cardiovascular effects of nickel in ambient air. *Environ. Health Perspect.* 2006; 114(11): 1662-9.

Mauderly JL, Chow JC. Health effects of organic aerosols. *Inhal. Toxicol.* 2008; 20(3):257-88.

Pope CA, Burnett RT, Thun MJ et al. Lung cancer, cardiopulmonary mortality, and long-term exposure to fine particulate air pollution. *JAMA.* 2002; 287(9):1132-41.

Pope CA III, Burnett RT, Thurston GD et al. Cardiovascular mortality and long-term exposure to particulate air pollution: epidemiological evidence of general pathophysiological pathways of disease. *Circulation.* 2004; 109(1):71-7.

Ostro B, Feng WY, Broadwin R et al. The effects of components of fine particulate air pollution on mortality in California: results from CALFINE. *Environ. Health Perspect.* 2007; 115(1):13-9.

Schlesinger RB. The health impact of common inorganic components of fine particulate matter (PM_{2.5}) in ambient air: a critical review. *Inhal. Toxicol.* 2007; 19(10):811-32.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Air pollution, Particulate matter.

anses

alimentation, environnement, travail



Bulletin de veille BVS scientifique

Édition scientifique • 10 mai 2011

Spécial Rencontres scientifiques
Des TMS aux nanoparticules, risques
d'aujourd'hui en santé environnement travail

Nanoparticules produites intentionnellement

Génotoxicité des nanoparticules

Période : septembre 2009 à décembre 2009

Mary-Line JUGAN et Marie CARRIÈRE

CEA de Saclay – Laboratoire Pierre Süe, groupe de toxicologie humaine et environnementale – Gif-sur-Yvette

Mots clés : Barrières cellulaires, CoCr, Génotoxicité, *In vitro*, *In vivo*, TiO₂

Même si les publications dans le domaine de la nanotoxicologie sont en grande majorité focalisées sur l'étude de la capacité des nanomatériaux à promouvoir la mort des cellules, de plus en plus d'articles s'intéressent à des altérations plus subtiles de la cellule. L'exemple le plus présent dans la littérature récente est l'induction de dommages à l'ADN par certains nano-objets, dont l'une des conséquences directes est la cancérogenèse (pour revue, Singh *et al.*, 2009). Les deux articles sélectionnés montrent que des nanoparticules manufacturées à usage thérapeutique, ou présentes dans les produits de consommation courante, possèdent la capacité de provoquer des dommages à l'ADN sur des modèles de cellules et des souris.

Les nanoparticules peuvent provoquer des dommages à l'ADN à travers une barrière cellulaire

Bhabra G, Sood A, Fisher B *et al.* Nanoparticles can cause DNA damage across a cellular barrier. *Nat. Nanotechnol.* 2009; 4(12): 876-83.

Analyse

Plusieurs études réalisées *in vitro* ont montré que des cellules en culture exposées directement à des nanoparticules pouvaient subir différents types de dommages cellulaires (pour revue, Kroll *et al.*, 2009). En revanche, l'effet des nanoparticules (NP) sur des cellules indirectement exposées n'a jamais été exploré. Bhabra *et al.* (2009) ont étudié l'hypothèse qu'une barrière cellulaire, formée par une couche confluyente de cellules, pourrait protéger des fibroblastes⁽¹⁾ humains des dommages provoqués par des NP constituées d'un alliage cobalt-chrome (CoCr), NP qui entrent dans la constitution de prothèses orthopédiques. Ces travaux utilisent un tapis de cellules de choriocarcinome trophoblastique⁽²⁾ pour modéliser une barrière biologique de type placentaire. Ces cellules, les cellules Bewo, sont cultivées sur des inserts poreux, au-dessus d'un puits dans lequel sont cultivés des fibroblastes. Les cellules Bewo forment ainsi une barrière et les NP peuvent être insérées en dessous ou au-dessus de cette barrière pour une exposition respectivement directe ou indirecte des fibroblastes. Les auteurs ont exposé des fibroblastes, de façon directe ou indirecte, à une suspension de NP CoCr de 29,5 nm de diamètre. Une exposition directe ou indirecte des fibroblastes pendant 24 heures a provoqué des dommages à l'ADN significatifs, en présence de 0,036 mg/cm² de NP. La quantité de dommages est équivalente avec les deux protocoles d'exposition. Ces dommages ont été mesurés par la technique de l'essai des comètes⁽³⁾ en conditions alcalines, qui permet de détecter les cassures simple et double brin de l'ADN, ainsi que les sites abasiques⁽⁴⁾ et par marquage des histones γ -H2AX⁽⁵⁾, typiquement présents lors de cassures double brin de l'ADN. Les auteurs ont également observé que les dommages à l'ADN induits par les NP en présence

de la barrière de Bewo sont plus nombreux que les dommages observés en absence de cette couche cellulaire, suggérant que la barrière cellulaire contribue au processus qui génère les dommages. Des observations en microscopie électronique à transmission mettent en évidence une internalisation des NP par les cellules Bewo, bien que les NP ne traversent pas la barrière, et restent localisées dans la partie superficielle des cellules. Les auteurs ont donc exploré l'hypothèse que les dommages à l'ADN des fibroblastes seraient liés à une voie de signalisation intercellulaire associée aux cellules Bewo. Les résultats ont montré que le blocage des jonctions communicantes⁽⁶⁾ avec un inhibiteur permet de diminuer les dommages à l'ADN, qui deviennent non significatifs. Ces jonctions, connues pour être un outil de communication intercellulaire, sont donc impliquées dans les dommages. Cette communication médiée par les jonctions communicantes est dépendante de plusieurs métabolites, notamment l'ATP, qui participe à la communication intercellulaire par l'intermédiaire de récepteurs transmembranaires appelés récepteurs purinergiques P2. Les auteurs ont donc mis les fibroblastes en contact avec de l'ATP par une exposition directe, et ont observé une augmentation des dommages à l'ADN. De plus, les dommages liés à une exposition indirecte à des NP de CoCr sont réduits en présence de molécules qui hydrolysent l'ATP, d'inhibiteurs de transfert d'ATP, ou d'inhibiteurs des récepteurs purinergiques P2. Ces résultats montrent que l'exposition de cellules Bewo à de faibles doses de NP active une voie de signalisation au sein de la barrière. Cette voie implique les jonctions communicantes *via* une libération d'ATP. L'ATP est libérée depuis la couche supérieure vers la couche inférieure de la barrière et pourrait contribuer aux dommages à l'ADN des fibroblastes.

Commentaire

À l'heure du débat public sur les nanotechnologies, cette étude a été largement relayée par les journaux généralistes et a fait l'objet d'une médiation alarmiste. La majorité des cellules de

mammifères communiquent entre elles par l'intermédiaire de ces jonctions et cette interaction est critique pour le développement et le fonctionnement normal des organismes pluricellulaires. L'idée qu'une exposition indirecte aux NP puisse produire des effets délétères par l'intermédiaire des jonctions communicantes est nouvelle et nécessite d'être approfondie. Même si la barrière cellulaire Bewo modélise une barrière placentaire, ce modèle est très simplifié et ne permet pas de déduire qu'il existe un risque lié à l'exposition fœtale aux NP à travers le placenta. Ces résultats présentent surtout des implications utiles aux démarches d'évaluation de la toxicité des NP et notamment que l'évaluation du risque ne dépend pas uniquement de la faculté des nanoparticules à traverser des barrières biologiques. Il apparaît donc important d'intégrer l'étude des effets liés à une exposition indirecte aux NP dans les approches toxicologiques. Il est à noter que dans cette étude les NP sont peu caractérisées. De plus, les auteurs ont constaté la libération d'ions Cr ou Co dans le milieu de culture suite à une dissolution des NP, mais la discussion sur une potentielle contribution de ces ions aux dommages observés aurait mérité d'être approfondie.

Les nanoparticules de TiO₂ induisent des dommages à l'ADN chez la souris

Trouiller B, Reliene R, Westbrook A *et al.* Titanium dioxide nanoparticles induce DNA damage and genetic instability *in vivo* in mice. *Cancer Res.* 2009; 69(22):8784-9.

Analyse

Les auteurs Trouiller *et al.* (2009) ont exploré les effets d'une exposition de souris à des NP de TiO₂ par voie orale, en particulier l'apparition de dommages à l'ADN et d'une inflammation. Pour ce faire, les souris ont été exposées à des nanoparticules de TiO₂ de 25 nm, *via* l'eau de boisson. D'une part, des souris mâles adultes ont été exposées pendant 5 jours à des concentrations de 60 à 600 µg/mL. D'autre part, les effets des expositions fœtales ont été étudiés par l'exposition de souris gravides *via* l'eau de boisson, pendant 10 jours, à une concentration de 500 µg/mL. Dans les cellules de la moelle osseuse des souris exposées, les auteurs ont quantifié les foci de γ-H2AX⁽⁵⁾, typiquement présents au niveau des cassures double brin de l'ADN. La quantité de cassure augmente avec la dose à laquelle les souris sont exposées, de 10 %, 20 %, 25 % et 30 % à la suite d'une exposition à 50, 250, 500 mg/kg de NP, respectivement. Le test des comètes⁽³⁾ en version alcaline met également en évidence que les NP-TiO₂ augmentent de 34 % la quantité de cassures simple et double brins de l'ADN présent dans les cellules sanguines de souris exposées à 500 mg/kg de TiO₂. À cette concentration, les NP de TiO₂ multiplient également par deux la fréquence des micronoyaux⁽⁷⁾ dans les cellules sanguines de souris, ce qui signe la présence de dommages chromosomiques. De plus, des cytokines⁽⁸⁾ pro- et anti-inflammatoires ont été dosées dans le sang des souris exposées et les résultats montrent que les NP de TiO₂ induisent une réponse proinflammatoire, mais pas

de réponse anti-inflammatoire. Les auteurs ont aussi examiné le degré de dommages oxydants de l'ADN, en mesurant les concentrations de 8-oxo-7,8-dihydroguanine (8-oxo-dG)⁽⁹⁾ dans l'ADN de foie des souris exposées. La quantité de 8-oxo-dG est 1,5 fois plus élevée dans le foie des souris exposées à 500 mg/kg de NP, suggérant que les NP induisent des dommages oxydants dans le foie. Enfin, les auteurs montrent qu'une exposition maternelle à 500 mg/kg TiO₂ durant la gestation provoquait des délétions dans l'ADN des fœtus.

Commentaire

Cette étude est la première à démontrer qu'après une exposition orale, les TiO₂ induisent des cassures et des dommages oxydants de l'ADN, des dommages chromosomiques, et l'inflammation chez la souris adulte et chez le fœtus. Ces effets sont source d'instabilité génétique, et pourraient donc potentiellement augmenter le risque de développement de cancers. La mise en évidence de ces effets dans différents compartiments (foie, moelle osseuse et sang) suggère un effet systémique des NP, et pose la question d'un danger potentiel de ces nanoparticules sur d'autres organes. La voie d'exposition orale est pertinente, étant donné la présence de TiO₂ dans plusieurs produits de consommation courante, tels que les dentifrices ou les colorants alimentaires. Même si ces dommages apparaissent après une exposition d'au moins 5 jours à des doses élevées chez la souris, cette étude démontre l'importance de considérer le risque potentiel de désordres génétiques et de développement de cancers liés à l'ingestion de NP de TiO₂ chez l'Homme.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Ces deux études montrent que certaines NP utilisées à des fins thérapeutiques ou dans des produits de consommation courante peuvent générer des dommages à l'ADN sur des modèles *in vitro* et *in vivo*. Les dommages causés à l'ADN peuvent avoir des conséquences graves s'ils ne sont pas réparés. Les approches utilisées mettent en évidence un risque potentiel lié à l'exposition à des NP spécifiques, mais ne permettent pas de conclure quant à un risque lié à une exposition de l'Homme à ces NP dans les conditions « réelles », telles que l'ingestion de nanoparticules présentes dans des produits de consommation, les doses auxquelles les personnes sont exposées étant méconnues. Il apparaît nécessaire de favoriser ce type de recherches sur l'Homme, en développant notamment des études d'expologie, indispensables pour démontrer de façon pertinente un lien éventuel entre l'exposition aux nanoparticules et une incidence accrue de cancer.

Lexique

- (1) Fibroblaste : cellules principales du tissu conjonctif.
- (2) Choriocarcinome trophoblastique : tumeur épithéliale maligne qui dérive des cellules trophoblastiques, le trophoblaste correspondant à la couche cellulaire continue formée de fibroblastes qui limite l'œuf au 5^e jour après la fécondation.
- (3) Test des comètes : technique d'électrophorèse sur gel d'agarose permettant de détecter des fragmentations de l'ADN de cellules individualisées.
- (4) Sites abasiques : dégâts subits par l'ADN de type altération des sucres ou perte de bases.
- (5) γ -H2AX : marqueur qui permet de détecter les cassures double brin de l'ADN.
- (6) Jonctions communicantes : canaux qui traversent les membranes cellulaires et jouent un rôle crucial dans la communication entre les cellules.
- (7) Micronoyaux : entités présentes dans le cytoplasme des cellules, et qui proviennent de la perte de fragments chromosomiques, voire de chromosomes.
- (8) Cytokines : substances solubles de communication synthétisées par les cellules du système immunitaire ou par d'autres cellules et/ou tissus, agissant à distance sur d'autres cellules pour en réguler l'activité et la fonction.
- (9) 8oxodG : lésion de l'ADN par oxydation de la base guanine, liée à un stress oxydant, et mutagène.

Publications de référence

Singh N, Manshian B, Jenkins GJS et al. NanoGenotoxicology: the DNA damaging potential of engineered nanomaterials. *Biomaterials* 2009 ; 30(23-24):3891-914.

Kroll A, Pillukat MH, Hahn D et al. Current *in vitro* methods in nanoparticle risk assessment: Limitations and challenges. *Eur J Pharm Biopharm.* 2009 ; 72 : 370-377.

Reuves de la littérature

Gonzalez L, Lison D, Kirsch-Volders M. Genotoxicity of engineered nanomaterials: A critical review. *Nanotoxicology.* 2008 ; 252-273

Landsiedel R, Kapp MD, Schulz M et al. Genotoxicity investigations on nanomaterials: methods, preparation and characterization of test material, potential artifacts and limitations--many questions, some answers. *Mutat. Res.* 2009 ; 681(2-3):241-58.

Lindberg HK, Falck GCM, Suhonen S et al. Genotoxicity of nanomaterials: DNA damage and micronuclei induced by carbon nanotubes and graphite nanofibres in human bronchial epithelial cells *in vitro*. *Toxicol. Lett.* 2009 ; 186(3):166-73.

Robbens J, Vanparys C, Nobels I et al. Eco-, geno- and human toxicology of bio-active nanoparticles for biomedical applications. *Toxicology.* 2010 ; 269(2-3):170-81.

Publications non sélectionnées

Huang S, Chueh PJ, Lin YW et al. Disturbed mitotic progression and genome segregation are involved in cell transformation mediated by nano-TiO₂ long-term exposure. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2009 ; 241(2):182-94.

Les auteurs n'évoquent nulle part la caractérisation de leurs nanoparticules.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

DNA damage, Genetic alteration, Nanogenotoxicity, Nanotoxicity, Oxidative stress.

Impact de nanoparticules sur des végétaux

Période : septembre 2009 à décembre 2009

Camille LARUE et Marie CARRIÈRE

CEA de Saclay – Laboratoire Pierre Süe, groupe de toxicologie humaine et environnementale – Gif-sur-Yvette

Mots clés : Cellules, Écotoxicité, Génotoxicité, Nanoparticules, Nanotubes, Plantes

L'incorporation de nanomatériaux (nanoparticules, nanotubes...) dans les biens de consommation courante (crèmes solaires, pneus, emballages alimentaires...) entraîne, à terme, leur dissémination dans l'environnement soit par l'usure normale des produits soit à cause d'un mauvais recyclage. D'autre part, des nanoparticules entreraient dans la formulation de certains produits phytosanitaires, leur utilisation conduirait donc à une dissémination volontaire de nanoparticules. Ainsi, les différents compartiments de l'environnement (eau, sol, air) ainsi que les différentes espèces y vivant (bactéries, animaux, végétaux...) pourraient être contaminés. Les végétaux représentent un point d'entrée potentiel dans la chaîne alimentaire, puisqu'ils constituent une part essentielle de l'alimentation animale et humaine. Il est donc important d'évaluer leur contamination par les nanoparticules.

Les premières études relatant l'impact des nanoparticules sur les végétaux ont été publiées en 2007. Les résultats présentés sont souvent contradictoires. Certains constatent une activation du métabolisme de l'épinard par des TiO₂ (Su *et al.*, 2009) quand d'autres observent des inhibitions d'élongation racinaire ou de la photosynthèse (Racuciu *et al.*, 2009). Une équipe met en évidence l'internalisation racinaire, le transfert aux parties aériennes et la transmission de nanoparticules de carbone d'une génération à l'autre chez le riz (Lin *et al.*, 2009). Les articles commentés dans cette note précisent certains mécanismes conduisant à ces effets.

Les nanotubes de carbone pénètrent l'enveloppe des graines et affectent leur germination et leur croissance

Khodakovskaya M, Dervishi E, Mahmood M *et al.* Carbon nanotubes are able to penetrate plant seed coat and dramatically affect seed germination and plant growth. *ACS Nano*. 2009; 3(10):3221-7.

Analyse

Khodakovskaya *et al.* (2009) réalisent une étude sur la pénétration et les effets des nanotubes de carbone multi-parois (MWCNT) sur des graines de tomate.

Les expositions sont faites dans un gel contenant des concentrations de 10, 20 et 40 mg/L de MWCNT. Cette exposition entraîne une germination plus rapide (en 3 jours) et plus efficace. Ainsi, après 12 jours d'exposition, 32 % des graines témoin, non exposées, germent, contre 74 et 82 % des graines exposées respectivement à 10 et 40 mg/L de MWCNT. La biomasse totale est 2,5 fois plus importante et la tige plus longue lorsque les graines sont exposées aux MWCNT. En revanche, le système racinaire n'est pas modifié. Une hypothèse des auteurs pour expliquer ces effets est que les MWCNT permettraient une meilleure imbibition⁽¹⁾ de la graine. L'humidité des graines a alors été évaluée : 38,9 % pour les témoins et 57,6 % pour les graines exposées après 2 jours. Une étude par spectroscopie Raman⁽²⁾ permet d'observer ces nanotubes à l'intérieur de la graine. Ils sont également visibles en Microscopie Électronique à Transmission (MET) dans les racines issues de ces graines germées. Les MWCNT peuvent donc pénétrer l'enveloppe de la racine et augmenter son imbibition d'où une germination et une croissance accrues.

Les auteurs supposent que les MWCNT agissent soit en créant des pores dans l'enveloppe de la graine, permettant le passage de l'eau ou qu'ils régulent l'action d'aquaporines⁽³⁾ comme c'est le cas lors d'un stress anoxique ou de l'exposition à certains métaux lourds.

Commentaire

L'originalité de cet article réside dans le modèle d'étude : aucune étude, à notre connaissance, ne relate les effets des nanomatériaux sur les graines des végétaux. Si la méthode employée pour la production des MWCNT est bien décrite, la caractérisation (taille, état d'agglomération, présence de résidus de catalyseurs de synthèse...) n'est pas étudiée. Pourtant, ces caractéristiques peuvent jouer un rôle très important dans les effets observés, c'est le cas par exemple de la présence de métaux lourds, souvent employés comme catalyseurs de synthèse et dont des résidus contaminent souvent le lot de nanotubes produits. Les auteurs soulignent que les résultats mis en évidence paraissent intéressants dans le cadre de l'utilisation des nanomatériaux en agriculture : ces derniers augmenteraient le rendement de germination des graines. Néanmoins, les nanotubes pénétreraient ensuite dans les racines de la plante. Dans l'état actuel des connaissances de la toxicologie de ces objets, il paraît donc inadéquat de les utiliser à cet effet, car ils pourraient contaminer les végétaux produits.

L'état d'agglomération des nanotubes de carbone conditionne leur toxicité sur une suspension de cellules d'*Arabidopsis* T87

Lin C, Fugetsu B, Su Y *et al.* Studies on toxicity of multi-walled carbon nanotubes on *Arabidopsis* T87 suspension cells. J. Hazard. Mater. 2009; 170(2-3):578-83.

Analyse

Lin *et al.* (2009) évaluent dans cet article l'impact de nanotubes de carbone multi-parois (MWCNT) et de fibres d'amiante sur des cellules isolées d'*Arabidopsis thaliana*. Les cellules sont exposées à des MWCNT mis en suspension dans de l'eau déionisée dans des états d'agglomération différents. Dans le premier cas, aucun traitement supplémentaire n'est adjoint à la préparation : les MWCNT sont agglomérés et le diamètre moyen des agglomérats est de quelques centaines de μm . Dans le second cas, ils sont sonifiés pendant 6 heures et le diamètre des agglomérats est alors réduit à quelques dizaines de μm . Le nanotube individuel a été caractérisé avant sonification (9,5 nm de diamètre, 1,5 μm de long). Une analyse par ICP-MS⁽⁴⁾ révèle la teneur en métaux résiduels des nanotubes avant et après sonification. La pureté des nanotubes passe ainsi de 94,7 % de carbone à 95,2 % après sonification.

Après exposition des cellules à ces nano-objets, à raison de 10 mg/L, seules les fibres d'amiante entraînent une modification de la morphologie des cellules. En Microscopie Électronique à Transmission (MET), aucun nanotube n'est observé à l'intérieur des cellules. La masse sèche des cellules est peu modifiée après exposition aux MWCNT agglomérés, cependant elle diminue drastiquement après exposition aux fibres d'amiante et aux MWCNT faiblement agglomérés, traduisant une mortalité cellulaire. Ces mêmes effets sont observés sur la viabilité cellulaire, après 7 jours d'exposition à 10-600 mg/L de MWCNT. Celle-ci diminue lorsque la concentration en MWCNT augmente. D'autre part, la teneur en chlorophylle est plus faible lorsque les cellules sont exposées aux MWCNT que lorsqu'elles sont non exposées ou exposées aux fibres d'amiante. Enfin, une diminution de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD⁽⁵⁾) est constatée uniquement lorsque les cellules sont exposées aux MWCNT faiblement agglomérés. Ce paramètre atteste d'un stress oxydant dans les cellules exposées. L'amiante n'a pas d'effet sur ce paramètre.

Ainsi, la taille des agglomérats conditionne fortement la toxicité des MWCNT envers les cellules végétales. Fortement agglomérés, ils sont peu toxiques alors que faiblement agglomérés, ils sont hautement toxiques. Leur toxicité est alors supérieure à celle des fibres d'amiante. Les auteurs ne peuvent pas exclure que cette plus forte toxicité soit liée à la différence de teneur d'éléments sous forme de traces. Une hypothèse avancée est que du fait de leur plus faible taille les MWCNT faiblement agglomérés peuvent pénétrer à l'intérieur d'un amas de cellules, s'y accumuler et déclencher une réponse d'hypersensibilité de même qu'elles le feraient pour un agent pathogène, ce qui à terme mène à la mort de la cellule.

Commentaire

Cette étude met en évidence les effets toxiques pour les cellules végétales de MWCNT agglomérés, en rapport avec la taille des agglomérats. Malgré la toxicité des MWCNT, il est rassurant de constater que les nanotubes fortement agglomérés (non sonifiés) sont peu toxiques, car il est fort probable que ce soit leur état en cas de dissémination dans l'environnement. De plus, l'article précise la taille des agglomérats mais on ne sait pas si cette dernière a été mesurée dans l'eau ou dans un milieu biologique, dans lequel les nanomatériaux ont encore plus tendance à s'agglomérer.

Les nanoparticules d'argent sont génotoxiques pour l'oignon (*Allium cepa*)

Kumari M, Mukherjee A, Chandrasekaran N. Genotoxicity of silver nanoparticles in *Allium cepa*. Sci. Total Environ. 2009; 407(19):5243-6.

Analyse

La publication de Kumari, Mukherjee, Chandrasekaran (2009) a pour but d'élucider les effets génotoxiques⁽⁶⁾ de nanoparticules d'argent sur des cellules du méristème apical⁽⁷⁾ d'oignon.

Le diamètre moyen des nanoparticules est inférieur à 100 nm, elles sont dispersées par sonification à haute puissance pendant 30 min dans de l'eau. L'exposition est réalisée sur des racines de plante entière qui sont ensuite analysées par microscopie.

L'observation microscopique indique que l'index mitotique⁽⁸⁾ après 4 heures d'exposition diminue graduellement lorsque la concentration en nanoparticules augmente de 25 à 100 $\mu\text{g/L}$. Il passe ainsi de 60,3 % pour les cellules de racines non exposées à 27,6 % pour les cellules exposées à 100 $\mu\text{g/L}$. De plus, les cellules qui se divisent semblent bloquées en prophase⁽⁹⁾ puisqu'on passe de 97,6 % cellules en prophase chez les témoins à 99,6 % pour les racines exposées à 100 $\mu\text{g/L}$ de nanoparticules d'argent. Enfin, le taux d'aberrations chromosomiques varie selon la concentration en nanoparticules. À 25 $\mu\text{g/L}$, il n'y a pas de différence significative par rapport au témoin. À 50 $\mu\text{g/L}$, des dérèglements lors de la métaphase⁽¹⁰⁾, des pontages dans l'ADN et des phénomènes d'adhérence sont observés. Dès 75 $\mu\text{g/L}$ apparaissent des cassures chromosomiques et enfin à 100 $\mu\text{g/L}$, les auteurs constatent une importante cytotoxicité, qui se traduit par une désintégration complète des parois de nombreuses cellules.

En conclusion, les nanoparticules d'argent sont cyto et génotoxiques pour les cellules de méristème apical d'oignon avec une diminution de l'index mitotique et l'apparition de nombreux dommages à l'ADN lors de la mitose⁽¹¹⁾.

Commentaire

Peu d'études relatent jusqu'à présent des effets génotoxiques de nanoparticules sur des cellules de plantes. Le modèle utilisé dans cet article est très pertinent puisqu'utilisé dans le cadre du programme international de sécurité chimique de l'OMS.

De plus, les cellules de méristème sont semblables aux cellules souches humaines, c'est-à-dire peu différenciées. Quant aux nanoparticules d'argent, elles sont largement utilisées pour leurs propriétés antibactériennes et incluses dans la composition de nombreux produits de consommation courante, donc fortement susceptibles de se retrouver dans l'environnement.

Malheureusement, cette étude se contente de la caractérisation physico-chimique des nanoparticules affichée par le fournisseur qui stipule uniquement un diamètre inférieur à 100 nm. Leur taille réelle, leur possible dissolution et leur état d'agglomération ne sont pas identifiés, autant de critères jugés importants pour évaluer la toxicité de nanoparticules. En particulier, il est reconnu que les nanoparticules d'argent ont fortement tendance à se dissoudre (Pal *et al.*, 1997), les effets observés pourraient donc être uniquement dus aux ions argent dissous. Néanmoins, si les effets observés sont réellement liés à la présence de nanoparticules, les résultats présentés sont préoccupants: si la prolifération cellulaire est bloquée au niveau des méristèmes, la plante ne sera plus approvisionnée en nouvelles cellules et ne pourra plus croître, c'est ainsi l'équilibre des écosystèmes qui serait menacé à terme.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Ces études montrent que le consensus n'est toujours pas atteint concernant la phytotoxicité des nanomatériaux. Alors que l'on sait maintenant que les caractéristiques de ces derniers sont primordiales pour déterminer leur potentielle toxicité, il reste encore trop d'études où leurs caractéristiques physico-chimiques ne sont pas détaillées. Il est donc impossible d'attribuer de façon certaine les effets notés (génotoxicité par exemple) à la présence de nanomatériaux. Néanmoins, on peut dégager deux faits importants pour la sécurité sanitaire et de l'environnement. Les nanomatériaux pourraient pénétrer dans les organismes végétaux, s'y accumuler et ainsi entrer dans la chaîne alimentaire. Toutefois, il semble que ces nanomatériaux sous forme agglomérée soient beaucoup moins toxiques que sous forme dispersée, or il est très probable qu'en contact avec leur environnement elles s'agglomèrent.

Lexique

- (1) Imbibition: phase au cours de laquelle la graine s'imbibe d'eau avant de reprendre son métabolisme.
- (2) Spectroscopie Raman: technique de spectroscopie dont le principe est d'envoyer une lumière monochromatique sur un échantillon et à analyser la lumière diffusée.
- (3) Aquaporine: classe de protéines membranaires qui forment des pores perméables aux molécules d'eau dans les membranes biologiques.
- (4) ICP-MS: pour Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry, technique qui permet de mesurer la quantité d'éléments traces dans des échantillons.
- (5) SOD: superoxide dismutase, enzyme impliquée dans les processus de régulation du stress oxydant des cellules.
- (6) Génotoxique: qui induit des dommages à l'ADN.
- (7) Méristème apical: zone de forte division cellulaire située à l'extrémité de la racine.
- (8) Index mitotique: il correspond au nombre de cellule en division, c'est-à-dire en mitose.
- (9) Prophase: c'est la première étape de la division cellulaire (mitose) pendant laquelle la chromatine se condense pour former les chromosomes.
- (10) Métaphase: la métaphase est la deuxième phase de la mitose. C'est le rassemblement des chromosomes à l'équateur de la cellule avant d'être séparés dans les deux cellules filles.
- (11) Mitose: elle désigne les événements chromosomiques de la division cellulaire. Ce phénomène permet aux cellules de se multiplier en plusieurs phases successives: prophase, métaphase, anaphase et télophase. Pendant ces phases, le matériel génétique est dupliqué puis réparti dans deux cellules filles.

Publications de référence

- Lin S, Reppert J, Hu Q *et al.* Uptake, translocation, and transmission of carbon nanomaterials in rice plants. *Small*. 2009; 5(10):1128-32.
- Pal T, Sau TK, Jana NR. Reversible formation and dissolution of silver nanoparticles in aqueous surfactant media. *Langmuir*. 1997; 13(6):1481-85.
- Racuciu M, Creanga D, Olteanu Z. Water based magnetic fluid impact on young plants growing. *Romanian Reports in Physics*. 2009; 61(2):259-68.
- Su M, Liu H, Liu C *et al.* Promotion of nano-anatase TiO₂ on the spectral responses and photochemical activities of D1/D2/Cyt b559 complex of spinach. *Spectrochimica acta. Part A: Molecular and biomolecular spectroscopy*. 2009; 72(5): 1112-6.

Revue de la littérature

- Mishra VK, Kumar A. Impact of metal nanoparticles on the plant growth promoting Rhizobacteria. *Digest J. nanometer. Biostructures*. 2009; 4 (3):587-92.
- Ruffini Castiglione M, Cremonini R. Nanoparticles and higher plants. *Caryologia*. 2009; 62(2):161-5.

Publications non sélectionnées

- Ahamed M, Posgai R, Gorey TJ *et al.* Silver nanoparticles induced heat shock protein 70, oxidative stress and apoptosis in *Drosophila melanogaster*. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2010; 242(3):263-9. Cette publication concerne un insecte et non une plante, sujet de cette note.

Laban G, Nies LF, Turco RF et al. The effects of silver nanoparticles on fathead minnow (*Pimephales promelas*) embryos. *Ecotoxicology*. 2010; 19(1):185-95.

Cette publication concerne un poisson et non une plante, sujet de cette note.

Miao AJ, Schwehr KA, Xu C et al. The algal toxicity of silver engineered nanoparticles and detoxification by exopolymeric substances. *Environ. Pollut.* 2009; 157(11):3034-41.

Cette publication concerne une algue et non une plante, sujet de cette note.

Tan XM, Lin C, Fugetsu B. Studies on toxicity of multi-walled carbon nanotubes on suspension rice cells. *Carbon*. 2009; 47(15):3479-87.

Cet article a été écrit par la même équipe que celle concernant les cellules d'Arabidopsis qui a été détaillée dans cette note.

Simon-Deckers AI, Loo S, Mayne-L'hermite M et al. Size-, composition- and shape-dependent toxicological impact of metal oxide nanoparticles and carbon nanotubes toward bacteria. *Environ. Sci. Technol.* 2009; 43(21):8423-9.

Cette publication concerne les bactéries qui ne sont pas l'objet de cette note.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Algae, Bacteria, Ecotoxicology, Fish, Plant, Soil, Surface water, Toxicology.

Recherche de biomarqueurs d'effet pour les nanomatériaux

Période : juillet 2009 à décembre 2009

Isabelle PASSAGNE et Béatrice L'AZOU

Université Victor Segalen Bordeaux 2 – Laboratoire Santé, Travail, Environnement EA3672 ISPED – Bordeaux

Mots clés : Biomarqueurs, Expression génique, Nanomatériaux, Monoparticules, Protéomique, Toxicité

Les nanomatériaux, de par leur taille et leurs propriétés physico-chimiques particulières, vont prendre une place importante dans de nombreuses applications industrielles, laissant envisager une exposition des travailleurs et de la population générale. D'après les premiers résultats obtenus *in vivo*, ces nanomatériaux se distribuent dans l'organisme et s'accumulent dans certains organes cibles. Devant l'urgence d'obtenir des données sur leur toxicologie, de nombreuses études, notamment *in vitro*, ont été entreprises. Ces travaux suggèrent que les nanomatériaux induisent une toxicité différente de celle des particules plus volumineuses de composition chimique identique. Leur potentiel toxique découle de facteurs spécifiques dépendants du nanomatériau lui-même. En effet, la structure du cœur du nanomatériau mais également leur fonctionnalisation, leur enrobage ou leur charge de surface modifient cette toxicité en jouant notamment sur leur solubilité. Les études *in vitro* permettent également d'obtenir des informations sur les mécanismes de toxicité impliqués. Une grande partie de leurs effets résulte du stress oxydant induit *via* une production excessive d'espèces réactives de l'oxygène et de la réponse inflammatoire. Actuellement se pose la question d'identifier des biomarqueurs pertinents, notamment sanguins, afin de prédire la toxicité faisant suite à une exposition à ces nanomatériaux. L'utilisation de biomarqueurs, tels que des protéines ou des gènes impliqués dans la réponse au stress ou l'inflammation, peut donc représenter une piste intéressante en servant d'indicateurs précoces d'une réponse systémique.

Biomarqueurs potentiels d'effets systémiques après exposition à des nanomatériaux

Simeonova PP, Erdely A. Engineered nanoparticle respiratory exposure and potential risks for cardiovascular toxicity: predictive tests and biomarkers. *Inhal. Toxicol.* 2009; 21(51):68-73.

Analyse

Suite à un phénomène de translocation à travers la barrière épithéliale pulmonaire, les nanomatériaux peuvent transiter dans le sang et exercent une réactivité biologique au niveau de certains organes, comme le cœur, organe clé de la circulation sanguine. Les effets systémiques induisent ou modifient des troubles préexistants comme les désordres cardiovasculaires. D'autres organes impliqués dans la détoxification et l'élimination (foie, rein) de ces nanomatériaux sont également les cibles des nanomatériaux. Dans leur review, Simeonova et Erdely (2009) cherchent à identifier les biomarqueurs pouvant traduire les principaux effets systémiques induits suite à une exposition pulmonaire aux nanomatériaux. Des effets sur le système cardiovasculaire sont majoritairement observés, même pour une exposition à court terme et avec un impact taille-dépendant des nanomatériaux. De plus, la présence d'impuretés modifie cette réponse biologique aux nanotubes de carbone avec modifications oxydatives des lipoprotéines de type LDL (low-density lipoprotein). Ces modifications biologiques peuvent prédire un risque d'athérosclérose.

Le NTP ou National Toxicology Program ayant pour approche d'évaluer la toxicité de produits chimiques *via* l'utilisation

de modèles prédictifs basés sur l'observation du mécanisme biologique, les auteurs portent une attention particulière aux biomarqueurs. Dans cette optique, deux études menées par cette équipe, ont été décrites. La première étude (Erdely *et al.*, 2007), met en évidence une réponse inflammatoire tissulaire au niveau pulmonaire et cardiaque, après injection intra-péritonéal de LPS⁽¹⁾, un contaminant possible des particules ultrafines. Nous nous attarderons surtout sur les résultats de la deuxième étude. Certains médiateurs de l'inflammation ayant été également retrouvés au niveau sanguin, la deuxième étude vise à déterminer plus précisément les biomarqueurs tissulaires et sanguins, d'exposition aux nanomatériaux carbonés (Erdely *et al.*, 2009). Pour ce faire, le niveau d'expression de certains gènes cellulaires ou de protéines solubles relarguées dans la circulation sanguine, est évalué après exposition. Toutes sur- ou sous-expressions géniques ou protéiques signent l'identification d'un biomarqueur potentiel. Cette étude est réalisée *in vivo* chez la souris exposée, par aspiration pharyngée, à de faibles doses de nanomatériaux : UFCB⁽²⁾ (14 nm de diamètre), SWCNT⁽³⁾ (0,8-1,2 nm de diamètre, 0,1-1 µm de long), MWCNT⁽⁴⁾ (80 nm de diamètre, 10-20 µm de long). Le sang et divers organes sont ensuite collectés (poumon, cœur, aorte foie, rein) pour analyse des profils géniques et protéiques. Le niveau d'expression des ARNm⁽⁵⁾ cellulaires est évalué par TaqMan array. Cette technologie d'analyse haut débit des profils d'expression, permet la réalisation de 384 réactions PCR⁽⁶⁾ simultanées en temps réel sur des gènes sélectionnés par le fabricant (gènes de l'inflammation, du stress oxydant, de la croissance cellulaire...).

L'exposition à chacun de ces nanomatériaux conduit à une

augmentation importante de l'expression pulmonaire de certains gènes et notamment de ceux jouant un rôle dans l'inflammation. Les MWCNT possédant une forte activité LDH⁽⁷⁾ (marqueur de cytotoxicité) dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire, sont les nanotubes de carbone qui induisent le plus grand nombre de gènes (IL1 β ⁽⁸⁾, IL-5, IL-6, IL8r β , IL10, CXCL1⁽⁹⁾, CXCL2, CCL11⁽¹⁰⁾, CCL22, MMP9⁽¹¹⁾, Arg II⁽¹²⁾). Pour exemple, 38 gènes ont vu leur expression modifiée après exposition aux MWCNT contre 25 pour les SWCNT dont 24 sont communs aux MWCNT. Majoritairement, l'induction de l'expression est plus importante avec les MWCNT, possédant un effet toxique élevé, qu'avec les SWCNT.

Cette augmentation significative de l'expression génique est associée à une forte élévation des protéines circulantes correspondantes. Pour exception, les taux sanguins de CXCL2 et de IL1 β restent inchangés. Pour les auteurs, la détection de ces biomarqueurs sanguins est le reflet de dommages épithéliaux, au niveau des alvéoles pulmonaires du fait de leur relarguage dans la circulation. La protéine pro-coagulante PAI-1⁽¹³⁾ étant fortement augmentée avec Les MWCNT, un tel biomarqueur sert d'indicateur d'un risque potentiel cardiovasculaire.

Par contre, la majorité des gènes induits au niveau pulmonaire ne sont pas surexprimés dans les cellules sanguines. Seulement 15 gènes sont augmentés après exposition aux MWCNT et 9 correspondent à des gènes induits pour le poumon (MMP9, CXCL2, IL1 β , IL8r β , S100a8⁽¹⁴⁾, MT1⁽¹⁵⁾, Hif3 α ⁽¹⁶⁾, Arg II). De façon intéressante, le gène MMP9 est à la fois un biomarqueur des cellules sanguines et pulmonaires mais également un biomarqueur protéique au niveau de la circulation sanguine après exposition aux nanomatériaux. Certains gènes sont uniquement exprimés au niveau des cellules sanguines : CSF-1⁽¹⁷⁾, IGF-1R⁽¹⁸⁾, c-Fos⁽¹⁹⁾, TIMP-2⁽²⁰⁾, HO-1⁽²¹⁾ ainsi que l'ostéopontine, un marqueur de l'activation des macrophages.

Pour l'aorte, les sélectines E, molécules d'adhésion cellulaire, se dégagent comme un biomarqueur du recrutement des leucocytes à travers la paroi vasculaire. Ce phénomène est le signe précoce de dysfonctionnements endothéliaux susceptibles de conduire à des athéroscléroses. L'élévation du gène S100a8 traduit également une réponse pro-inflammatoire des cellules aortiques, réponse présente également au niveau du cœur, du foie et du rein après exposition aux MWCNT. D'autres gènes sont modifiés au niveau de ces différents organes, comme le facteur de transcription Hif3 α et les métallothionéines, MT1 et MT2, indicateurs respectivement d'une hypoxie et d'une réponse adaptative au stress oxydant. L'exposition aux SWCNT entraîne uniquement des modifications traduisant l'hypoxie via l'élévation de Hif3 α en ce qui concerne le cœur, le foie et le rein. En complément, l'expression de l'Arg II est modifiée au niveau pulmonaire, des cellules circulantes, de l'aorte, du cœur mais pas au niveau du foie et du rein. Cette enzyme dégrade l'arginine qui normalement joue un rôle dans la prévention de l'artériosclérose.

Commentaire

Cette étude réalisée chez l'animal, consiste à déterminer quels biomarqueurs peuvent être représentatifs d'une exposition

pulmonaire à des nanomatériaux carbonés (Ederly *et al.*, 2009). Elle fait apparaître que la détermination de certains gènes permet d'apprécier précocement les effets systémiques engendrés comme l'apparition d'un dysfonctionnement épithélial ou d'un effet cardiovasculaire. Cette étude montre cependant toute la difficulté d'identifier un biomarqueur tissulaire pertinent, commun à différents organes et à plusieurs nanomatériaux. Il en ressort que le suivi de gènes inflammatoires, comme les interleukines, peut être un indicateur intéressant d'une réponse pulmonaire. Pour les autres organes cibles comme le cœur, le foie ou le rein, il s'agirait plutôt d'autres types de biomarqueurs comme ceux impliqués dans les systèmes de défense cellulaire (MT1 et MT2) ou témoins d'une hypoxie (Hif3 α). De façon complémentaire, la recherche de biomarqueurs protéiques dans les prélèvements sanguins semble refléter correctement la réponse biologique systémique induite par l'exposition aux nanomatériaux. Notamment, les nanomatériaux conduisent à des modifications importantes au niveau protéique d'un marqueur la MMP9. Il s'agit du seul biomarqueur pour lequel, des modifications géniques sont observées dans les cellules de types pulmonaires et sanguines, en parallèle des variations protéiques. Ces métalloprotéases, générées en partie par les neutrophiles, signent une réponse inflammatoire. Ce type de biomarqueurs sanguins peut donc présenter un grand intérêt, notamment en milieu professionnel, pour permettre le suivi des travailleurs.

La protéomique, une aide pour l'identification de biomarqueurs

Haniu H, Matsuda Y, Takeuchi K *et al.* Proteomics-based safety evaluation of multi-walled carbon nanotubes. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2010 ; 242(3):256-62. Sous presse en 2009.

Analyse

L'évaluation de la sécurité basée sur des méthodes classiques *in vitro* rend compte uniquement de la toxicité aiguë. Néanmoins, les composés chimiques à très faibles doses induisent une réponse biologique, visible avant l'apparition de troubles cliniques, notamment par des modifications de l'expression de certaines protéines. Dans cette optique, Haniu *et al.* (2010) proposent d'identifier *in vitro* des biomarqueurs protéiques afin d'évaluer un effet toxique retardé ou chronique en prenant en considération le risque de développement de maladies.

Ces travaux sur cellules U937 (human monoblastic leucemic cell lines) consistent à repérer les modifications de profils protéiques obtenues après exposition aux nanotubes de carbone *via* une méthode protéomique. Cette technologie associe une technique de séparation des protéines par électrophorèse bidimensionnelle (2-DE) et une technique d'analyse des spots protéiques par MALDI-TOF⁽²²⁾. Les nanomatériaux testés sont des nanotubes de carbones MWCNT ayant subi préalablement, un process thermique pendant 30 min à 1800 °C ou 2800 °C en vue de dégrader les impuretés. Les nanomatériaux obtenus sont nommés respectivement HTT1800⁽²³⁾ et HTT2800⁽²⁴⁾. Le chauffage thermique réduit fortement la quantité d'impureté avec un contenu en fer de

80ppm pour HTT1800 et inférieur à 20 ppm pour HTT2800 contre 12000 ppm pour les MWCNT non purifiés. L'analyse du profil protéique est effectuée sur cellules exposées à une faible dose (0,1 mg/ml) de HTT1800 et de HTT2800.

Les auteurs identifient 45 protéines dont le niveau d'expression varie suite à l'exposition. Les protéines identifiées sont impliquées dans la transduction du signal, la réponse au stress, la différenciation cellulaire ainsi que le cycle cellulaire. Les nanotubes carbonés les plus purs ou HTT2800, sont les moins toxiques et modifient l'expression d'un plus petit nombre de protéines par rapport au HTT1800. En effet, ces modifications d'expression protéique sont significatives et d'au moins un facteur 2, pour 35 et 16 des protéines, respectivement avec HTT1800 et HTT2800. Des modifications communes aux deux nanomatériaux sont observées pour 14 de ces protéines. Ces protéines jouent un rôle notamment dans les phénomènes de stress ou dommages cellulaires (protéasome 1 β ⁽²⁵⁾, HSP1 β ⁽²⁶⁾, Msh2⁽²⁷⁾), dans les processus de synthèse cellulaire (ribonucléoprotéines nucléaire hétérogène A2/B1⁽²⁸⁾, 1 δ -pyrroline 5 carboxylate synthétase⁽²⁹⁾), dans la signalisation cellulaire (phosphatidylethanolamine-binding protein 1⁽³⁰⁾, 14-3-3 protéine γ ⁽³¹⁾, serine/threonine protein phosphatase PP1⁽³²⁾) et dans le métabolisme des hydrates de carbone (trioséphosphate isomérase⁽³³⁾, phosphoglycérate mutase⁽³⁴⁾, malate déshydrogénase⁽³⁵⁾, α -cétoglutarate déshydrogénase⁽³⁶⁾, α glucosidase AB⁽³⁷⁾). L'ensemble de ces protéines étant modifié après exposition aux nanomatériaux, elles peuvent servir de biomarqueur d'effet.

La comparaison des résultats à ceux obtenus par Witzmann et Monteiro-Rivière en 2006 sur des cellules de kératinocytes exposées à des MWCNT tend à confirmer les résultats. 7 des protéines identifiées par cette étude antérieure ont été retrouvées avec HTT1800. Leur fonction est associée notamment au déclenchement d'une réponse au stress ou de la mort cellulaire. Une des protéines également modifiée est la protéine DJ-1, molécule protectrice contre le stress oxydant et la mort cellulaire. Cette protéine est utilisée comme biomarqueur des désordres parkinsoniens, mais la fonction exacte de Dj-1 dans la cellule U987 (human monoblastic leucemic cell lines) n'est pas connue à l'heure actuelle. Son éventuelle utilisation en tant que biomarqueur reste donc à étudier.

Commentaire

Le taux d'une protéine peut être abondant sans pour autant que son taux d'ARN soit simultanément modifié de façon proportionnelle; il paraît donc important de s'intéresser au profil protéique obtenu après exposition à des nanomatériaux. Un des grands intérêts de cette étude est que les modifications de profils protéiques sont étudiées à l'aide d'un modèle cellulaire *in vitro* contrairement à la grande majorité des études qui utilise l'expérimentation animale pour ce faire. Les modèles cellulaires d'origine humaine sont largement utilisés dans les études mécanistiques et peuvent en complément mettre sur la piste d'un biomarqueur humain pouvant éventuellement être spécifique d'un organe. L'utilisation de la protéomique dans cette

étude de toxicologie permet de dégager certains biomarqueurs traduisant surtout des désordres fonctionnels, notamment en termes de métabolisme et de synthèse cellulaire. Contrairement à l'étude précédente, des marqueurs inflammatoires n'ont pas été détectés. On peut envisager le fait que la perturbation du métabolisme cellulaire est un phénomène plus précoce que la réponse inflammatoire. De plus, les modifications protéiques semblent fonction des nanomatériaux mais également d'autres facteurs comme le temps d'exposition et la dose. Les deux études n'étant pas réalisées dans des conditions de dose d'exposition comparables, l'identification de biomarqueurs de types différents pourrait donc s'expliquer.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Un biomarqueur d'effet doit permettre de mesurer le niveau de réponse de l'organisme faisant suite à une exposition à un toxique. Ces biomarqueurs permettent de détecter de façon précoce les effets biologiques, avant la survenue de pathologies. Contrairement aux biomarqueurs d'exposition qui consistent en la recherche de la substance ou de ces métabolites, ils ne sont pas spécifiques d'un toxique mais plutôt de son mécanisme d'action. Ces deux travaux réalisés sur des modèles *in vivo* et *in vitro* montrent que les nanomatériaux testés, induisent même à très faibles doses, des réponses biologiques visibles par des modifications en termes de profil d'expression de certains gènes ou de protéines. De nouvelles techniques comme la métabolomique peuvent également être utiles en nanotoxicologie car elles ciblent d'autres types de biomarqueurs issus des voies de synthèse ou des voies métaboliques cellulaires. Aujourd'hui, l'identification de biomarqueurs d'effet reste néanmoins difficile. En effet, pour valider un biomarqueur, il faut établir le lien de causalité entre l'apparition d'une réponse biologique et le nanomatériau. Le choix d'un biomarqueur d'effet est donc souvent dépendant du mécanisme de toxicité du nanomatériau. Les marqueurs les plus intéressants sont ceux de la réponse inflammatoire ou du stress oxydant. L'étude de Huang *et al.* (2009) a d'ailleurs montré qu'une exposition à des nanoparticules d'oxyde de zinc augmente l'expression de gènes impliqués dans la réponse au stress oxydant (thiorédoxine peroxydase⁽³⁸⁾, thiorédoxine réductase⁽³⁹⁾). Une avancée des travaux sur les biomarqueurs par le développement de tests prédictifs à haut débit, comme le suggèrent Simeonova et Erdely (2009), permettra de trouver une application en clinique. Au long terme, ces biomarqueurs sanguins pourraient devenir des précieux outils pour évaluer les risques professionnels, tout en abordant la question de déceler quels types d'individus sont les plus sensibles. Une meilleure connaissance des mécanismes d'action devrait permettre d'identifier plus rapidement ces biomarqueurs.

Lexique

- (1) LPS: lipopolysaccharide, composant essentiel de la paroi de bactéries, correspond à une endotoxine.
- (2) UFCB: ultrafine carbon black ou particules ultrafines de noir de carbone.
- (3) SWCNT: nanotubes de carbone mono-feuillets.
- (4) MWCNT: nanotubes de carbone multi-feuillets.
- (5) ARNm: acide ribonucléique messenger correspond à une copie de l'ADN utilisé pour la traduction en protéine par les ribosomes.
- (6) PCR: polymérase Chain Reaction, une technique d'analyse de l'expression génique.
- (7) LDH: lactate deshydrogénase, enzyme permettant la conversion réversible du pyruvate en lactate.
- (8) IL: interleukines, groupe de cytokines impliquées dans la régulation du système immunitaire, dans la formation des cellules sanguines ou au début de la réaction inflammatoire comme les IL1, IL6 et IL8.
- (9) CXCL: petites cytokines de la famille des chimiokines qui jouent un rôle dans différents processus et notamment celui inflammatoire.
- (10) CCL: chimiokines avec un rôle de recrutement des éosinophiles, cellules à réponse inflammatoire. CCL22 est dépendant de la libération du facteur activateur des plaquettes (PAF) et de CCL11.
- (11) MMP9: matrix metalloproteinases, groupe de peptidases impliquées dans la dégradation de la matrice extracellulaire.
- (12) Arg II: angiotensine II, protéine ayant un rôle important dans le maintien de la pression artérielle et accélérant le processus de l'athérosclérose *via* la synthèse de PAI-1⁽¹³⁾.
- (13) PAI-1: plasminogen activator inhibitor-1, PAI-1 joue un rôle important, lors du processus inflammatoire, dans la progression vers une fibrose et dans l'athérosclérose.
- (14) S100a8: protéines régulatrices de différents processus cellulaires comme la différenciation et la progression du cycle
- (15) MT: métallothionéines (MT1, MT2), protéines de détoxification riche en résidus cystéines capables de capturer certaines espèces réactives de l'oxygène comme l'anion superoxyde et les radicaux hydroxyles.
- (16) Hif-3 α : Human Hypoxia-inducible factor, facteurs de transcription qui répond aux modifications en oxygène disponible au niveau tissulaire.
- (17) CSF-1: colony stimulating factor 1, facteur de prolifération et de différenciation des précurseurs monocytaires.
- (18) IGF-1R: insulin-like growth factor type 1 receptor, récepteur activé par les facteurs de croissance IGF-1 et avec un rôle d'inhibition de l'apoptose.
- (19) c-Fos: facteur de transcription nucléaire qui augmente fortement en présence de nombreux stimuli comme le stress ou les facteurs de croissance.
- (20) TIMP-2: tissue inhibitor of metalloproteinases, membre de la famille des gènes TIMP qui sont des inhibiteurs naturels des métalloprotéases et qui possèdent une capacité à supprimer la prolifération des cellules endothéliales.
- (21) HO-1: Hème-oxygénase, enzyme dégradant l'hème, produite en réponse à un stress de différentes natures comme un stress oxydant, une hypoxie ou la sécrétion de cytokines.
- (22) MALDI-TOF: technique d'analyse protéique utilisant un spectromètre de masse couplant une source d'ionisation laser (MALDI, Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionisation) et un analyseur (TOF, time-of-flight mass spectrometry) avec détermination de la masse d'un ion en fonction du temps que met cet ion pour arriver jusqu'au détecteur.
- (23) HTT1800: nanotubes de carbones multi-feuillets ayant subi un chauffage pendant 30 min à 1800 °C.
- (24) HTT2800: nanotubes de carbones multi-feuillets ayant subi un chauffage pendant 30 min à 2800 °C.
- (25) Protéasome: complexe protéique dégradant les protéines mal repliées ou dénaturées.
- (26) HSP1 β : Heat Shock Proteins ou protéines de choc thermique possédant un rôle crucial dans la protection et la régulation des fonctions de certaines protéines.
- (27) Msh2: Protéine impliquée dans le mécanisme de réparation des mésappariements de l'ADN.
- (28) Ribonucléoprotéines nucléaire hétérogène (hnRNPs): protéine de liaison des acides nucléiques impliqués dans la plupart des étapes du métabolisme des ARNm.
- (29) 1 δ pyrroline 5 carboxylate synthétase: enzyme catalysant les deux premières étapes de la biosynthèse de la proline, un acide aminé.
- (30) Phosphatidylethanolamine-binding protein 1 (PEPB1): protéine jouant dans la signalisation cellulaire des Mapkinases.
- (31) 14-3-3 protéines γ : protéine impliquée dans signalisation, pouvant se lier à de nombreuses protéines comme des kinases, des phosphatases et des récepteurs transmembranaires.
- (32) Serine/threonine protein phosphatase PP1: phosphatase qui contrôle la survie des cellules.
- (33) Trioséphosphate isomérase: enzyme jouant un rôle dans la glycolyse et donc permettant l'assimilation du glucose et la production d'énergie.
- (34) Phosphoglycérate mutase: enzyme intervenant dans la récupération d'énergie pendant la glycolyse.
- (35) Malate déshydrogénase: enzyme participant à la gluconéogenèse en oxydant le malate issu de la mitochondrie.
- (36) α -cétoglutarate déshydrogénase: complexe multi-enzymatique responsable de la conversion d' α -cétoglutarate pour succinyl-CoA servant dans le cycle de Krebs et dans la production d'énergie.
- (37) α glucosidase AB: enzyme jouant un rôle dans le métabolisme des hydrates de carbone.
- (38) Thiorédoxine peroxydase: enzyme permettant la dégradation des peroxydes lipidiques et du peroxyde d'hydrogène en conduisant à l'oxydation de la thiorédoxine.
- (39) Thiorédoxine peroxydase: enzyme permettant la réduction de la thiorédoxine oxydée.

Publications de référence

Erdely A, Hulderman T, Salmen R et al. Cross-talk between lung and systemic circulation during carbon nanotube respiratory exposure. Potential biomarkers. *Nano Lett.* 2009; 9(1):36-43.

Erdely A, Salmen R, Chapman R et al. Lung inflammation and cardiovascular outcomes—whole blood gene expression studies in a lipopolysaccharide (LPS) pharyngeal aspiration mouse model. *Toxicologists.* 2007; 96(1):68.

Huang CC, Aronstam RS, Chen DR et al. Oxidative stress, calcium homeostasis, and altered gene expression in human lung epithelial cells exposed to ZnO nanoparticles. *Toxicol. In Vitro.* 2010; 24(1):45-55. Sous presse en 2009.

Witzmann FA, Monteiro-Riviere NA. Multi-walled carbon nanotube exposure alters protein expression in human keratinocytes. *Nanomedicine.* 2006; 2(3):158-68.

Revue de la littérature

Fowler BA. Monitoring of human populations for early markers of cadmium toxicity: a review. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2009; 238(3):294-300.

Revue abordant brièvement l'intérêt des biomarqueurs pour les nanoparticules de cadmium.

Poma A, Di Giorgio ML. Toxicogenomics to improve comprehension of the mechanisms underlying responses of *in vitro* and *in vivo* systems to nanomaterials: a review. *Curr. Genomics.* 2008; 9(8):571-85.

Publications non sélectionnées

Ahamed M, Posgai R, Gorey TJ et al. Silver nanoparticles induced heat shock protein 70, oxidative stress and apoptosis in *Drosophila melanogaster*. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2010; 242(3):263-9.

Article intéressant sur la recherche de biomarqueurs mais chez la drosophile.

Chae YJ, Pham CH, Lee J et al. Evaluation of the toxic impact of silver nanoparticles on Japanese medaka (*Oryzias latipes*). *Aquat. Toxicol.* 2009; 94(4):320-7.

Article intéressant mais réalisé sur des organismes aquatiques.

Cho WS, Kim S, Han BS et al. Comparison of gene expression profiles in mice liver following intravenous injection of 4 and 100 nm-sized PEG-coated gold nanoparticles. *Toxicol. Lett.* 2009; 191(1):96-102.

Article mettant en évidence l'intérêt des gènes de l'inflammation déjà discuté dans la note d'actualité scientifique.

Fowler BA, Conner EA, Yamauchi H. Proteomic and metabolomic biomarkers for III-V semiconductors: and prospects for application to nano-materials. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2008; 233(1):110-5.

Article non inclus dans la période veille bibliographique.

Haniu H, Matsuda Y, Takeuchi K. Potential of a novel safety evaluation of nanomaterials using a proteomic approach. *J. Health Sci.* 2009; 55(3):428-34.

Article décrivant surtout la méthodologie de protéomique pour déterminer des biomarqueurs.

Klaper R, Crago J, Barr J et al. Toxicity biomarker expression in daphnids exposed to manufactured nanoparticles: changes in toxicity with functionalization. *Environ. Pollut.* 2009; 157(4):1152-6.

Article intéressant sur la recherche de biomarqueurs pour évaluer la toxicité au niveau d'organismes aquatiques.

Papis E, Gornati R, Prati M et al. Gene expression in nanotoxicology research: analysis by differential display in BALB3T3 fibroblasts exposed to cobalt particles and ions. *Toxicol. Lett.* 2007; 170(3):185-92.

Article non inclus dans la période veille bibliographique.

Zollanvari A, Cunningham MJ, Braga-Neto U et al. Analysis and modeling of time-course gene-expression profiles from nanomaterial-exposed primary human epidermal keratinocytes. *BMC Bioinformatics.* 2009; 10(S11):S10.

Article ciblé sur l'utilisation de modèle bioinformatique dans la détermination de biomarqueurs.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Biomarker, Marker, Nanomaterial, Nanoparticle, Proteomic.

La nanométrie pour l'évaluation des risques liés aux nanoparticules

Période : septembre 2009 à décembre 2009

Jean-Luc BOUDENNE et Bruno COULOMB

Université de Provence/CNRS – Laboratoire Chimie Provence, UMR6264, Chimie de l'environnement continental – Marseille

Mots clés : Dioxyde de titane, Fullerènes, Métrologie, Nanoparticules, Tests de toxicité

Les nanoparticules⁽¹⁾ retrouvées dans l'environnement sont en général classifiées, dans un premier temps, par leur source (Farré *et al.*, 2009) : anthropogénique, anthropique non intentionnelle, anthropique intentionnelle (industries de la nanotechnologie).

Les nanoparticules d'origine naturelle sont présentes dans les couches géologiques de la Terre (silice amorphe, certains aluminosilicates, certaines argiles comme l'halloysite⁽²⁾, certains oxydes comme l'hématite⁽³⁾ et la magnétite⁽⁴⁾), dans l'atmosphère (fullerènes⁽⁵⁾, aérosols résultant de l'oxydation du dioxyde de soufre (SO₂) et de divers composés organiques) et dans les milieux aquatiques (complexes polynucléaires et nanoclusters⁽⁶⁾ d'aluminium (Al₁₃ et Al₃₀) et de sulfures (Cu₄S₆). Les phénomènes naturels d'érosion, de combustion, de lixiviation, mais également divers processus microbiologiques, peuvent amener ces nanoparticules à migrer entre les différents compartiments de l'environnement.

Les nanoparticules d'origine anthropique, non intentionnelle, résultent de la combustion d'énergies fossiles ou de l'exploitation minière, tandis que les nanoparticules émises dans l'environnement de façon « intentionnelle » résultent des industries nanotechnologiques : nanoparticules de titane (peintures, cosmétiques), nanoparticules de silice (lubrifiants), nanoparticules à base de protéines (savons, détergents), nanoparticules métalliques (réhabilitation des eaux et des sols), nanoparticules de tout genre (industries électroniques et pharmaceutiques (Woodrow Wilson Institute, 2010).

Cette production et cette utilisation croissante de nanomatériaux conduisent inévitablement à leur accumulation dans l'environnement, et sont susceptibles de générer des effets majeurs sur la santé humaine (Crosera *et al.*, 2009 ; Elder *et al.*, 2009) et sur l'environnement. Afin d'évaluer les risques liés à l'exposition à ces composés, de nombreux auteurs ont proposé des méthodes pour classifier les nanomatériaux en fonction de leurs risques associés : approche mono-critère basée sur le comportement des nanomatériaux dans l'environnement (Lowry et Casman, 2009), approche multi-critères -MCDA⁽⁷⁾ - (Linkov *et al.*, 2009), approche du « Control-Banding⁽⁸⁾ » (Zalk *et al.*, 2009).

Quelle que soit la méthode d'évaluation des risques utilisée, il est nécessaire de connaître la dose d'exposition, ce qui implique de pouvoir quantifier les nanoparticules dans l'environnement, en fonction des sources émettrices. La nanométrie (Simonet et Valcarcel, 2009) est la science qui rassemble toutes les techniques analytiques qui peuvent être utilisées pour quantifier les niveaux de contamination des milieux, étape nécessaire à l'estimation de doses d'exposition. Cette note d'actualité scientifique se focalise sur deux articles portant sur les méthodes de mesures de nanoparticules dans l'eau, et sur un troisième portant sur la toxicité de ces nanoparticules dans les milieux aquatiques.

Détermination fiable de la taille des nanoparticules par diffusion dynamique de la lumière afin d'évaluer leur toxicité *in vitro*

Kato H, Suzuki M, Fujita K *et al.* Reliable size determination of nanoparticles using dynamic light scattering method for *in vitro* toxicology assessment. *Toxicol In Vitro*. 2009 ; 23(5):927-34.

Analyse

Le comportement des nanoparticules dans l'environnement et leurs propriétés physico-chimiques spécifiques ne facilitent pas l'évaluation des risques sanitaires et environnementaux. Ainsi, les critères de solubilité⁽⁹⁾ ou de coefficient de partage octanol/eau⁽¹⁰⁾ classiquement utiles pour décrire le devenir des composés chimiques traditionnels, ne permettent pas de traduire le devenir des nanoparticules (Lowry et Casman, 2009).

C'est pourquoi, il est communément admis que la toxicité des nanoparticules est directement liée, en premier lieu, à leur morphologie, c'est-à-dire à leur taille et à leur forme (Simonet et Valcarcel, 2009). Les techniques reconnues jusqu'à aujourd'hui combinent des outils de comptage (nombre de particules reliées à la courbe de distribution de tailles de particules) et de caractérisation (composition chimique des particules). On peut citer la spectrométrie à mobilité électrique (FMPS⁽¹¹⁾), combinée à un compteur de noyaux de condensation assurant la détection de particules entre 5 et 600 nm et la Microscopie Electronique à Balayage (MEB⁽¹²⁾) pour l'étude de la morphologie, couplée à une analyse dispersive en énergie (EDS⁽¹³⁾) pour l'étude de l'analyse élémentaire (Campbell, 2009). Toutefois, si ces techniques semblent efficaces pour déterminer la taille des particules dans l'air ou sur support solide et faire l'objet d'un consensus dans les publications scientifiques, celles utilisées lors des tests de toxicité

menés en solution, *in vitro*, ne sont pas encore standardisées et aboutissent, de ce fait, à des résultats contradictoires quant à la toxicité des nanoparticules étudiées (Murdock *et al.*, 2008). À cette absence de technique standardisée, s'ajoute également l'absence d'une harmonisation dans la préparation du milieu de culture et enfin, des définitions différentes pour le paramètre « diamètre hydrodynamique moyen » des nanoparticules, alors que c'est à partir de celui-ci que va être déterminée la toxicité relative des nanoparticules.

Dans la publication analysée (Kato *et al.*, 2009), les auteurs proposent un protocole optimisé pour la détermination des tailles de nanoparticules pour les évaluations de toxicité *in vitro*. La technique analytique utilisée est la mesure de la Diffusion Dynamique de Lumière (DDL⁽¹⁴⁾); elle est reconnue comme pouvant déterminer des particules de taille comprise entre 1 et 3 µm, et comme étant apte à déterminer *in situ* la taille des nanoparticules originelles (nanoparticules primaires) et des nanoparticules secondaires (résultant soit de l'agrégation des nanoparticules entre elles, soit des interactions entre les protéines du milieu de culture et ces nanoparticules). Ce sont les tailles de ces deux types de nanoparticules qui constituent les paramètres caractéristiques de la cytotoxicité *in vitro*.

Trois instruments types permettant la mesure de la DDL ont été testés (caractérisés par des puissances de laser, des longueurs d'onde de mesure, des sensibilités des détecteurs et des angles de mesure différents). Les résultats donnés par ces mesures (diamètre hydrodynamique moyen) ont été comparés aux mesures de taille de trois types de nanoparticules de dioxyde de titane (TiO₂). Des mesures de répétabilité ont permis de valider le protocole analytique.

Les propriétés intrinsèques des particules en suspension ont également été suivies au cours des tests de toxicité *in vitro* (d'une durée moyenne d'une semaine): sédimentation, agglomération, diffusion, qui sont des modes de transport qui influent directement sur la nanotoxicité.

Un milieu de culture type est également proposé pour réaliser ces tests (DMEM⁽¹⁵⁾ avec 10 % de sérum de veau fœtal inactivé, 100 unités/mL de pénicilline, 100 µg/mL de streptomycine et 250 ng/mL d'amphotéricine B). À ce milieu de culture, il est fortement conseillé de ne pas ajouter de surfactant au milieu de culture comme c'est généralement pratiqué pour améliorer la dispersion des nanoparticules dans le milieu de culture. Pour les auteurs, cet ajout de surfactant biaise les résultats.

Commentaire

L'harmonisation des techniques utilisées pour déterminer la taille des nanoparticules durant les tests de toxicité *in vitro* est nécessaire, comme le montrent les résultats contradictoires obtenus par certains auteurs. Le mérite du protocole pratique présenté par les auteurs (Kato *et al.*, 2009) est d'orienter cette harmonisation. Le choix des caractéristiques analytiques de la DDL a été ici validé statistiquement et la distinction des différents modes de transport permet d'éviter les mauvaises interprétations quant à l'évaluation de la toxicité *in vitro*. Une validation du protocole proposé sur d'autres types de

nanoparticules, ainsi que la prise en compte non seulement de la taille mais également de la forme des nanoparticules permettrait de compléter ce protocole.

Quantification de nanoparticules de fullerène en suspension dans l'eau basée sur la diffusion optique

Sene JA, Pinheiro McVB, Krambrock K *et al.* Quantification of fullerene nanoparticles suspensions in water based on optical scattering. *Talanta*. 2009; 78(4-5):1503-7.

Analyse

Les fullerènes sont des nanoparticules qui existent naturellement dans l'environnement, à l'origine, mais qui sont aujourd'hui synthétisées en quantités importantes pour des applications en science des matériaux en électronique ou en biomédecine.

Parmi ces fullerènes, le C₆₀ (buckminsterfullerène) présente une stabilité chimique très importante, même en présence d'acides ou de bases, ce qui induit une biodégradation très faible dans l'environnement.

La plupart des méthodes analytiques de dosage de C₆₀ consiste en une étape d'extraction par solvant suivi d'une analyse directe par spectrophotométrie UV-Visible, ou précédée d'une séparation par chromatographie liquide haute performance ou chromatographie sur couche mince. Dans le domaine de l'UV-Visible, le C₆₀ présente des bandes d'absorption caractéristiques à 208, 252 et 380 nm dans l'hexane.

Dans leur étude (Sene *et al.*, 2009), les auteurs proposent une méthode analytique basée sur la néphélométrie, c'est-à-dire basée sur la mesure de la diffraction de la lumière. Le protocole développé consiste à mettre en suspension les nanoparticules de C₆₀ (diamètre 17 ± 2 nm) dans du toluène puis à évaporer partiellement le solvant durant 1 heure, avant d'ajouter de l'eau. La solution résultante est ensuite analysée dans un spectrofluorimètre, en faisant un balayage en longueur d'onde entre 220 et 900 nm, tout en mesurant la lumière diffractée à un angle de 90°.

La méthode développée permet de mesurer le C₆₀ dans une gamme 0,007-0,360 mg/L, avec une limite de détection de 0,0090 mg/L (± 0,0008) et une limite de quantification de 0,017 mg/L (± 0,004).

Commentaire

Les auteurs de cet article (Sene *et al.*, 2009) proposent effectivement une méthode analytique de quantification rapide qui permet d'éviter des étapes de préparation de l'échantillon qui peuvent induire des biais dans les résultats (extraction séquentielle par différents solvants, par exemple) et l'utilisation d'outils analytiques coûteux (spectrométrie de masse, électrophorèse capillaire...). Toutefois, les auteurs ne montrent pas la sélectivité de leur méthode vis-à-vis des nanoparticules de C₆₀; en effet, aucune étude sur les effets de matrices et la présence d'autres nanoparticules n'a été menée.

Évaluation de la toxicité aquatique de nanoparticules d'oxyde de titane (TiO₂) produites à partir des boues issues de l'étape de floculation d'eaux usées et d'eau de mer réalisée avec du tétrachlorure de titane (TiCl₄)

Lee BC, Kim S, Shon HK *et al.* Aquatic toxicity evaluation of TiO₂ nanoparticle produced from sludge of TiCl₄ flocculation of wastewater and seawater. *J. Nanopart. Res.* 2009; 11(8):2087-96.

Analyse

La floculation est une étape du traitement des eaux potables et des eaux usées qui permet de diminuer la turbidité de l'eau en facilitant la décantation des matières en suspension. Les coagulants/floculants les plus utilisés sont des sels d'aluminium et de fer. Toutefois, il a été montré que l'utilisation de sels de titane, et plus particulièrement le tétrachlorure de titane (TiCl₄), permettait d'obtenir d'aussi bons rendements tout en minimisant la quantité finale de boues produites. De plus, en incinérant les boues produites (à 600 °C), il est possible de générer du dioxyde de titane (TiO₂) à partir des résiduels de TiCl₄ présents dans les boues; ce TiO₂ pouvant ensuite être utilisé dans de nombreuses applications.

Si les niveaux de risque liés à l'inhalation de TiCl₄ sont connus pour l'Homme (LOEC de 0,01 mg/m³ pour une exposition intermédiaire - 15 à 364 jours - par inhalation et de 0,0001 mg/m³ pour une exposition chronique par inhalation - plus de 365 jours) (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1997), les auteurs (Lee *et al.*, 2009) déclarent qu'il n'existe pas de données pour les risques liés au titane sous forme ionique (Ti⁴⁺) dans les eaux pour l'être humain. La toxicité de TiO₂ a déjà été évaluée par des bioessais en utilisant *D. magna* et *V. fischeri*, comme organisme cibles. Ainsi Lovern et Klaper (2006) ont montré que le TiO₂ sous forme agrégée ne présentait aucune toxicité, alors que les particules de TiO₂ filtrées à 0,22 µm présentaient une DL₅₀⁽¹⁶⁾ de 5,5 mg/L et 100 % de mortalité à 10 mg/L.

Dans leur étude, Lee *et al.* (2009) ont testé, la floculation par TiCl₄ sur des eaux usées artificielles ainsi que sur de l'eau de mer. Le TiO₂ produit à partir des boues a été caractérisé par diffraction des rayons X (DRX), par détermination de la surface spécifique, par ses capacités photocatalytiques et par EDS. La toxicité des ions résiduels de TiCl₄ et celle des nanoparticules de TiO₂ a été évaluée en terme de DL₅₀ et de mortalité sur *D. magna* et la EC₅₀⁽¹⁷⁾ par des tests Microtox[®]. Les valeurs de NOEC⁽¹⁸⁾ et de LOEC⁽¹⁹⁾ ont également été déterminées pour *D. magna* et *V. fischeri*.

La taille des nanoparticules de TiO₂ obtenues par ce procédé est de 6 nm pour les boues issues de la floculation de l'eau usée et de 40 nm pour celles issues du traitement de l'eau de mer. La NOEC et la LOEC du TiCl₄ envers *D. magna* ont été trouvées égales à 100 et 150 mg/L, respectivement. Aucune valeur n'a pu être établie pour les nanoparticules de TiO₂. Les tests Microtox[®] ont permis d'établir la EC₅₀ à 739,4 mg/L pour TiCl₄ et à 650,6 mg/L pour le TiO₂, produit à partir des boues issues du traitement des eaux usées.

Commentaire

L'utilisation de sels de titane pour la floculation des eaux n'est pas une pratique courante en Europe puisque ce sont majoritairement les sels d'aluminium et les sels de fer qui sont utilisés. Si l'on ne peut remettre en cause leur efficacité dans le processus de floculation, rien ne permet d'affirmer qu'il n'y pas de risques environnementaux et sanitaires dans l'utilisation de sels de titane pour la floculation des eaux usées et *a fortiori* pour celle des eaux potables. L'utilisation de ces sels de titane doit encore être validée par des tests complémentaires car, comme l'ont signalé les deux publications précédentes, l'évaluation des risques liés aux nanoparticules passent par des étapes de caractérisation qui vont bien plus loin que les simples tests Microtox[®]. Cette publication (Lee *et al.*, 2009) ne peut donc être prise que comme une ébauche d'évaluation des risques.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Dans la première publication analysée (Kato *et al.*, 2009), les auteurs ont développé un test de toxicité *in vitro* basé sur la mesure de la dynamique de diffusion de la lumière qui permet d'accéder aux propriétés de sédimentation, d'agglomération et de diffusion des nanoparticules. L'accès à ces propriétés permet de prédire la toxicité des nanoparticules; toutefois, le protocole mis au point devrait être couplé à l'étude morphologique de ces nanoparticules pour prendre en compte l'ensemble des paramètres qui régissent la toxicité de ces composés.

La deuxième publication (Sene *et al.*, 2009) utilise elle aussi la diffraction de lumière, mais comme outil de quantification des nanoparticules. Les avantages du protocole analytique mis au point reposent sur l'absence d'extractions séquentielles par solvant et sur le seuil de quantification assez bas de la méthode (17 µg.L⁻¹). Toutefois, le protocole mis au point ne concerne que la détection du C₆₀, soit un seul des composés de la famille des fullerènes.

Enfin, la dernière publication (Lee *et al.*, 2009) étudie la toxicité des nanoparticules de TiCl₄ utilisés comme agent de floculation pour le traitement des eaux usées et celui de l'eau de mer. Les tests Microtox[®] ont permis d'établir la EC₅₀ à 739,4 mg/L pour TiCl₄ et à 650,6 mg/L pour le TiO₂.

La présence de nanoparticules dans l'environnement peut avoir des implications importantes à la fois pour l'environnement et pour la santé humaine. Les nanosciences et les nanotechnologies sont une source potentielle de progrès dans de nombreux domaines. Toutefois, les nanotechnologies sont également une source potentielle de risques. L'utilisation croissante de nanoparticules conduira inévitablement à l'accroissement de leur présence dans l'environnement. Évaluer (de façon précise) les risques environnementaux relatifs aux nanoparticules requiert des méthodes

analytiques quantitatives fiables pour déterminer leur mobilité, leur réactivité, leur écotoxicité et leur persistance. Les articles analysés dans cette note d'étape montre les progrès accomplis dans ce domaine, et traduisent le fait que seules des techniques couplées permettront d'établir l'innocuité sanitaire et environnementale des nanoparticules dans l'environnement.

Lexique

- (1) Nanoparticule : particule de dimension inférieure à 100 nm ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$).
- (2) Halloysite : Composé minéral de formule $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, présent naturellement dans toutes les formations argileuses.
- (3) Hématite : composé minéral de formule Fe_2O_3 .
- (4) Magnétite : composé minéral de formule Fe_3O_4 .
- (5) Fullerènes : famille de molécules composées uniquement de carbone, se présentant sous forme de sphère, d'ellipsoïde, de tube ou d'anneau. Le plus petit fullerène connu a pour formule C_{20} , le plus répandu est le C_{60} .
- (6) Nanocluster : agglomérat d'atomes constituant une nanoparticule.
- (7) MCDA : Multi-Criteria Decision Analysis.
- (8) Control-Banding : analyse des risques par élaboration de zones (ou bandes) de dangers en fonction des propriétés physico-chimiques et toxicologiques spécifiques des composés ciblés.
- (9) Solubilité : quantité maximale d'un composé capable de se dissoudre dans un solvant donné.
- (10) Coefficient de partage octanol/eau : rapport entre la concentration à l'équilibre d'une substance chimique dans l'octanol et la concentration en cette même substance dans l'eau. L'octanol représente le comportement des lipides. Plus ce coefficient est élevé, plus le composé aura tendance à s'accumuler dans les êtres vivants.
- (11) FMPS : Fast Mobility Particle Sizer. Spectromètre à mobilité électrique permettant d'obtenir la distribution de tailles de particules présentes dans un volume donné.
- (12) MEB : Microscopie Electronique à Balayage (terme anglais : SEM = Scanning Electron Microscopy). Technique de microscopie électronique capable de produire des images en haute résolution de la surface d'un échantillon.
- (13) EDS : Energy Dispersive Spectroscopy = Analyse Dispersive en Energie. Technique consistant à étudier les rayonnements X des atomes constituant l'échantillon analysé.
- (14) DLS/DDL : Dynamic Light Scattering = Diffusion Dynamique de la Lumière. Cette technique mesure des fluctuations d'intensité en fonction du temps qui apparaissent lorsque les particules sont soumises au mouvement brownien. L'analyse de ces fluctuations d'intensité permet la détermination d'une distribution de coefficient des particules qui sont converties en distribution à l'aide de théories établies.

- (15) DMEM : Dubelcco's Modified Eagle Medium. Milieu de culture constitué d'eau, de sels organiques, de source de carbone et d'énergie (glucose), de sources d'azote (acides aminés) et de facteurs de croissance (vitamines, acides gras).
- (16) DL_{50} : Cet indicateur donne la concentration d'un composé chimique causant la mort de 50 % d'une population donnée. Il est associé à une durée d'exposition.
- (17) EC_{50} : Concentration d'un composé chimique diminuant de 50 % la luminescence de *V. fischeri* dans le test Microtox®.
- (18) NOEC : No Observed Effect Concentration.
- (19) LOEC : Lowest Observed Effect Concentration.

Publications de référence

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry.** Toxicological profile for titanium tetrachloride. 1997. (<http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp101.pdf>).
- Campbell TA.** Measuring the nano-world. *Nanotoday*. 2009 ; 4(5):380-1
- Farré M, Gajda-Schranz K, Kantiani L et al.** Ecotoxicity and analysis of nanomaterials in the aquatic environment. *Anal. Bioanal. Chem.* 2009 ; 393(1):81-95.
- Lovern SB, Klaper R.** Daphnia magna mortality when exposed to titanium dioxide and fullerene (C_{60}) nanoparticles. *Environ. Toxicol. Chem.* 2006 ; 25(4):1132-7.
- Murdock RC, Braydich-Stolle L, Schrand AM et al.** Characterization of nanomaterial dispersion in solution prior to *in vitro* exposure using dynamic light scattering technique. *Toxicol. Sci.* 2008 ; 101(2):239-53.
- Woodrow Wilson International Center for Scholars:** <http://www.nanotechproject.org/inventories/consumer/>
- Zalk DM, Paik SY, Swuste P.** Evaluating the Control Banding Nanotool: a qualitative risk assessment method for controlling nanoparticle exposures. *J. Nanopart. Res.* 2009 ; 11(7):1685-704.

Revue de la littérature

- Crosera M, Bovenzi M, Maina G et al.** Nanoparticle dermal absorption and toxicity: a review of the literature. *Int Arch. Occup. Environ. Health.* 2009.
- Elder A, Lynch I, Grieger K et al.** Human health risks of engineered nanomaterials: Critical knowledge gaps in nanomaterials risk assessment. *Nanomaterials: Risks and Benefits*, Linkov I and Steevens J (eds.). NATO Sci. for Peace and Security Series C: Environ. Security. 2009 ; 3-29.
- Linkov I, Steevens J, Chappell M et al.** Classifying nanomaterial risks using multi-criteria decision: Analysis. *Nanomaterials: Risks and Benefits*, Linkov I and Steevens J (eds.). NATO Sci. for Peace and Security Series C: Environ. Security. 2009 ; 179-91.
- Lowry GV, Casman EA.** Nanomaterial transport, transformation, and fate in the environment: A Risk-Based Perspective on Research Needs. *Nanomaterials: Risks and Benefits*, Linkov I and Steevens J (eds.). NATO Sci. for Peace and Security Series C: Environ. Security. 2009 ; 125-37.

Simonet BM, Valcárcel M. Monitoring nanoparticles in the environment. Anal. Bioanal. Chem. 2009; 393(1):17-21.

Publication non sélectionnée

Tsai SJ, Ada E, Isaacs JA *et al.* Airborne nanoparticle exposures associated with the manual handling of nanoalumina and nanosilver in fume hoods. J. Nanopart. Res. 2009; 11(1):147-61.

Cette publication n'a pas été retenue car elle traite des nanopoudres dans l'air et non pas dans l'eau. Pourtant cette publication est très pertinente du point de vue évaluation des risques professionnels; elle s'intéresse en effet à l'environnement de travail des manipulateurs de nanoparticules solides et des exigences réglementaires ayant trait aux sorbonnes et hottes aspirantes, afin d'éviter le risque « inhalation » pour les manipulateurs.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Bioessais, Eau, Évaluation des risques, Exposition, Milieu aquatique, Métrologie, Nanomatériaux, Nanotechnologie, Nanoparticule, Toxicité.

Effets toxiques des nanoparticules TiO₂ et des nanotubes de carbone chez la souris

Période : avril 2009 à août 2009

Mary-Line JUGAN et Marie CARRIÈRE

CEA de Saclay – Laboratoire Pierre Süe, groupe de toxicologie humaine et environnementale – Gif-sur-Yvette

Mots clés : Distribution des nanoparticules, Dioxyde de titane, Immunotoxicité, Nanotubes de carbone, Souris

Les effets d'une exposition aux nanoparticules (NP) suscitent un grand intérêt, du fait des nombreuses applications commerciales dans lesquelles elles sont utilisées. Les conclusions des études toxicologiques réalisées *in vivo* sont souvent divergentes, dans la mesure où les effets dépendent fortement de la voie d'exposition et des caractéristiques physicochimiques des NP. Les effets les plus fréquemment évoqués dans la littérature concernent l'inflammation, l'apparition de fibroses et la suppression des fonctions immunitaires au niveau des poumons, en lien avec une exposition aux nanotubes de carbone, notamment après une instillation intratrachéale (Stern et McNeil, 2008). Les mécanismes d'action impliqués dans les effets toxiques des NP sont aujourd'hui mal connus et peu documentés. La première publication sélectionnée élucide l'un des mécanismes d'action impliqués dans la toxicité de nanotubes de carbone multifeuillets chez la souris par inhalation (Mitchell *et al.*, 2009). Un autre aspect peu investigué dans les études toxicologiques *in vivo* réside en l'accumulation des NP dans les tissus des organismes exposés. La seconde étude apporte des données sur l'accumulation de NP de TiO₂ dans les organes de souris après administration par voie intrapéritonéale.

Mécanisme d'action impliqué dans l'effet immunosuppresseur des nanotubes de carbone chez la souris

Mitchell LA, Lauer FT, Burchiel SW *et al.* Mechanisms for how inhaled multiwalled carbon nanotubes suppress systemic immune function in mice. *Nat. Nanotechnol.* 2009; 4(7):451-6.

Analyse

L'équipe de Mitchell *et al.* (2009) a récemment publié une étude *in vivo* sur les conséquences d'une exposition par inhalation de nanotubes de carbone multifeuillets (MWNT, pour multi-walled nanotubes). L'aspect mécanistique de la perturbation du système immunitaire y est exploré. Des souris mâles adultes ont été exposées 6 heures par jour pendant 14 jours à une atmosphère contenant de 0,3 à 1 mg/m³ de MWNT, dont la taille moyenne est de 94,5 nm. La quantité de MWNT déposée dans les poumons est estimée respectivement à 0,15 mg/kg et 0,5 mg/kg (estimation en fonction de la surface pulmonaire et de la capacité respiratoire des souris). En premier lieu, l'étude des lymphocytes T, cellules fortement impliquées dans la réponse immunitaire, a confirmé qu'une exposition des souris à 1 mg/m³ de MWNT engendre une diminution de la réponse immunitaire. En effet, les nanotubes de carbone inhalés provoquent une diminution de la prolifération des lymphocytes T en réponse aux mitogènes⁽¹⁾, cette diminution étant dépendante de la dose de MWNT. Cet effet persiste plus de 30 jours après l'inhalation.

L'équipe a ensuite exploré les mécanismes potentiellement impliqués dans la suppression de la réponse immunitaire, et notamment la voie des cyclooxygénases⁽²⁾ de type 2 (COX-2), enzymes clés du contrôle des processus inflammatoires. Il apparaît que l'expression des cyclooxygénases est accrue dans la

rate des souris exposées à 1 mg/m³ de MWNT, comparativement aux souris témoins, exposées dans les mêmes conditions à de l'air ne contenant pas de MWNT. De plus, l'expérience a été réalisée après traitement de certains animaux par l'ibuprofène, un inhibiteur pharmacologique de COX-2. Ce blocage de la transmission du signal provoque une disparition partielle des effets immunosuppresseurs des MWNT. Enfin, la même expérience a été menée sur des souris mutantes, déficientes pour le gène codant COX-2. Dans ce cas, l'effet de l'exposition aux MWNT disparaît chez les souris mutantes exposées à 1 mg/m³ de MWNT pendant 14 jours. Ces résultats démontrent l'implication de COX-2 dans les effets des MWNT.

Les auteurs ont également réalisé des études histologiques sur la rate des souris exposées et pointent l'absence de MWNT dans celle-ci, suggérant un effet indirect des MWNT. Pour étudier celui-ci, du liquide de lavage broncho-alvéolaire (LLBA) a été prélevé chez les souris exposées ou non aux MWNT et mis en contact avec des cultures de splénocytes⁽³⁾, extraites de la rate des souris mutantes n'exprimant pas le gène COX-2, ou de la rate de souris sauvages. Alors que le LLBA des souris non exposées n'a aucun effet sur les cellules de rates, celui des animaux exposés aux MWNT induit une inhibition de la prolifération des lymphocytes T dans des splénocytes isolées des souris de phénotype sauvage. Cet effet n'est pas observé chez les souris mutantes n'exprimant pas COX-2. Un mécanisme pulmonaire est donc suggéré comme étant à l'origine de l'activation des cyclooxygénases dans la rate, phénomène qui mène à un dysfonctionnement des lymphocytes T.

Commentaire

L'étude de Mitchell *et al.* (2009) a permis de démontrer l'effet

immunosuppresseur des MWNT. D'autre part, l'altération de l'immunité consécutive à l'exposition par inhalation de nanotubes de carbone multifeuilletés était initiée par un signal pulmonaire. L'utilisation de modèles de souris mutantes n'exprimant pas la cyclooxygénase 2 et l'association de techniques *in vitro* utilisant les cellules extraites de souris est une approche originale qui a permis une démonstration stricte de l'effet des MWNT. Cette étude fournit de précieuses informations sur les conséquences probables sur la santé d'une exposition répétée aux nanotubes de carbone, même si les conséquences à long terme d'un effet dépresseur sur les lymphocytes T sont aujourd'hui mal connues. En revanche les auteurs ne précisent pas l'état d'agglomération des nanotubes après exposition des animaux. Une étude fine de leur état d'agglomération et de leur distribution pulmonaire serait nécessaire.

Distribution et effets histopathologiques du dioxyde de titane TiO₂ chez les souris après administration intrapéritonéale

Chen J, Dong X, Zhao J *et al.* *In vivo* acute toxicity of titanium dioxide nanoparticles to mice after intraperitoneal injection. *J. Appl. Toxicol.* 2009; 29(4):330-7.

Analyse

Chen *et al.* (2009) ont réalisé une étude des effets aigus liés à l'exposition de souris aux nanoparticules de titane (TiO₂). Les auteurs se sont particulièrement intéressés à la distribution des nanoparticules et aux altérations histopathologiques qui découlent de l'exposition. Les souris ont subi une injection intrapéritonéale avec différentes doses de TiO₂ (0, 324, 648, 972, 1296, 1944, 2592 mg/kg). Les effets de ces injections ont été évalués 2 heures, 48 heures, 7 jours et 14 jours après injection. Deux jours après l'injection, toutes les souris présentent des symptômes relatifs à une toxicité aiguë, tels que des tremblements, la perte d'appétit et la léthargie. Ces effets semblent moins prononcés chez les souris exposées aux plus faibles doses; celles exposées aux deux doses les plus fortes présentent également des symptômes d'anorexie et de diarrhée. Les tissus de rate, cœur, poumon, rein et foie ont été collectés à différents temps après l'exposition; le titane a été dosé dans ces organes par spectroscopie de masse couplée à une torche à plasma (ICP-MS). Du titane a été détecté dans le foie, les reins et les poumons, avec une accumulation particulièrement élevée dans la rate. Après 24 heures d'exposition, le titane est accumulé en majorité dans la rate, et sa concentration diminue après 48 heures, au profit du foie, des reins et des poumons. 7 jours et 14 jours après exposition, la rate est l'organe qui contient le plus de titane, à des concentrations équivalentes à celles mesurées après 48 heures d'exposition. Chez les animaux les plus exposés, les concentrations de titane dans la rate sont de l'ordre du microgramme de titane par gramme de tissu. Enfin, aucune accumulation n'est observée dans le cœur.

Les analyses histopathologiques ont par ailleurs retenu des fibroses hépatiques, des lésions sévères de la rate et des thromboses du système vasculaire pulmonaire. De nombreux

neutrophiles⁽⁴⁾ sont présents dans la rate, le foie, et les poumons, suggérant une réaction inflammatoire importante. Ces effets sont observés chez les animaux les plus exposés (1944 et 2592 mg/kg) et sont faibles ou inexistantes pour les plus faibles doses. Il est à noter qu'aux deux doses les plus élevées, correspondant à deux groupes de 10 souris, cinq souris sont mortes une semaine après l'exposition. Les paramètres biochimiques sanguins ont également été mesurés, incluant l'urée sanguine, les transaminases (aspartate et alanine aminotransférases: ASAT et ALAT) et la phosphatase alcaline. Le suivi de ces paramètres a mis en évidence des niveaux élevés d'ASAT et d'ALAT, témoignant d'un dysfonctionnement hépatique. L'urée sanguine, utilisée comme marqueur du bon fonctionnement rénal, n'est pas significativement modifiée par la présence de NP. L'étude de Chen *et al.* (2009) démontre donc qu'une partie des NP de TiO₂ injectées par voie intrapéritonéale chez les souris est excrétée par le rein et que la néphrotoxicité exercée par ces NP est moindre par rapport à la toxicité exercée sur le foie.

Commentaire

Chen *et al.* (2009) ont mis en évidence qu'à la suite d'une injection péritonéale chez des souris, les nanoparticules de TiO₂ sont accumulées dans plusieurs organes, incluant la rate, le foie, les poumons et le rein. Des altérations des paramètres biochimiques et de l'état des organes sont observées pour les doses d'exposition les plus élevées. Les auteurs ont réalisé une caractérisation rigoureuse de la taille et de la forme cristalline des nanoparticules de TiO₂ au moment de l'injection, deux caractéristiques connues pour exercer une influence la fois la distribution et la toxicité des NP (Warheit *et al.*, 2008, cf. *Bulletin de veille scientifique* n° 10, juin 2010). En revanche, une caractérisation précise de l'état d'agglomération des nanoparticules dans les différents organes manque à cette étude. La quantité de titane dans les différents organes est ensuite dosée par ICP-MS, technique qui ne permet pas d'affirmer que le titane dosé provient des nanoparticules de TiO₂ ou du titane dissout à partir de ces nanoparticules. Les auteurs ont donc choisi d'y associer une analyse par microscopie, réalisée sur des coupes d'organes, approche qui permet de valider la présence des nanoparticules dans les organes. Cette association du suivi des paramètres biochimiques, avec des observations microscopiques et appuyée par des mesures des concentrations de TiO₂ fait toute l'originalité de cette étude, qui fournit une démonstration des effets néfastes liés à une exposition à ces nanoparticules. La voie d'exposition étudiée (injection intrapéritonéale) n'est néanmoins pas représentative des conditions réelles d'exposition.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les deux études décrites utilisent différentes voies d'exposition des souris aux nanoparticules : l'inhalation et l'injection péritonéale. L'utilisation d'une technologie d'aérosol dans l'étude de **Mitchell et al. (2009)** est particulièrement intéressante, car celle-ci est représentative d'une exposition pulmonaire. Même s'il existe trois voies d'exposition potentielle aux nanotubes de carbone incluant l'inhalation, l'ingestion et le contact cutané, l'appareil respiratoire constitue la voie majeure de pénétration dans l'organisme humain. La méthode d'exposition par inhalation est donc pertinente par rapport à une exposition dans des conditions « réelles ». Les expositions par inhalation, si elles sont associées à une caractérisation physico-chimique rigoureuse des nanoparticules, constituent assurément la technique de choix pour l'étude des effets pulmonaires des nanoparticules. En revanche, l'injection dans le péritoine utilisée dans l'étude de **Chen et al. (2009)** est moins représentative et il est probable que la distribution tissulaire des NP pourrait être différente chez la souris exposée par inhalation, par voie orale ou par contact cutané. Il apparaît important de prendre en compte les applications des NP testées pour utiliser une méthode d'exposition pertinente.

Même si l'immunotoxicité des nanotubes de carbone et l'un des mécanismes mis en jeu ont été démontrés sur les souris, des questions majeures restent en suspens. Les résultats, aussi bien ceux concernant la distribution tissulaire que les effets mis en évidence et les mécanismes inhérents, sont-ils applicables à tous les types de nanotubes de carbone et de nanoparticules de TiO₂ ? La question de l'extrapolation à l'Homme se pose également et les investigations mécanistiques paraissent être un bon moyen de mettre en évidence des marqueurs de la nanotoxicité potentiellement exploitables chez l'Homme. Enfin, il existe aujourd'hui peu d'information sur les doses réelles d'exposition de l'Homme aux nanoparticules et la question de la représentativité des doses par rapport à une exposition professionnelle reste sans réponse.

Lexique

- (1) Mitogènes : substances favorisant la division cellulaire.
- (2) Cyclooxygénases : enzymes clés impliquées dans le processus inflammatoire.
- (3) Splénocytes : cellules de la rate.
- (4) Neutrophiles : cellules sanguines qui jouent un rôle primordial dans l'élimination des cellules étrangères ou infectées.

Publications de référence

Stern ST et McNeil SE. Nanotechnology safety concerns revisited. *Toxicol. Sci.* 2008 ; 101(1):4-21.

Warheit DB, Sayes CM, Reed KL et al. Health effects related to nanoparticle exposures: environmental, health and safety considerations for assessing hazards and risks. *Pharmacol. Ther.* 2008 ; 120(1):35-42.

Publications non sélectionnées

Liu H, Ma L, Zhao J et al. Biochemical toxicity of nano-anatase TiO₂ particles in mice. *Biol. Trace Elem. Res.* 2009;129(1-3):170-80. *Cet article n'a pas été sélectionné, même s'il affiche en partie les mêmes objectifs que l'article de Chen et al., 2009, à savoir l'effet des TiO₂ sur les organes de souris. Les techniques utilisées pour démontrer la toxicité des TiO₂ sont en effet restreintes à l'étude des paramètres biochimiques des animaux, alors que Chen et al., 2009 utilisent un panel de techniques complémentaires qui illustrent mieux l'effet lié à une exposition aux nanoparticules.*

Koeneman BA, Zhang Y, Hristovski K et al. Experimental approach for an *in vitro* toxicity assay with non-aggregated quantum dots. *Toxicol. In Vitro.* 2009 ; 23(5):955-62.

Cette étude a été réalisée in vitro et ne correspond pas à la thématique de notre article, focalisé sur les résultats obtenus in vivo.

Park EJ, Yoon J, Choi K et al. Induction of chronic inflammation in mice treated with titanium dioxide nanoparticles by intratracheal instillation. *Toxicology.* 2009 ; 260(1-3):37-46.

Rahman MF, Wang J, Patterson TA et al. Expression of genes related to oxidative stress in the mouse brain after exposure to silver-25 nanoparticles. *Toxicol. Lett.* 2009 ; 187(1):15-21.

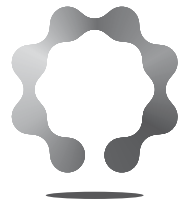
Les deux publications ci-dessous utilisent des approches transcriptomiques pour étudier la toxicité de nanomatériaux. Nous avons préféré centrer la présente note sur des approches toxicologiques plus classiques. La toxicogénomique est en effet une discipline émergente de la nanotoxicologie. Il s'agit d'une thématique qui mériterait une note d'actualité dédiée.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Carbon nanotubes, Distribution, Immunotoxicity, Metallic oxides, Nanotoxicity.

anses

alimentation, environnement, travail



Bulletin de veille BVS scientifique

Édition scientifique • 10 mai 2011

Spécial Rencontres scientifiques
Des TMS aux nanoparticules, risques
d'aujourd'hui en santé environnement travail

Exposition chimique au travail

Exposition professionnelle aux hydrocarbures aromatiques polycycliques

Période : septembre 2009 à décembre 2009

Mimoza MANIKA et Jean-Marc SOULAT

CHU de Toulouse – Service des Maladies professionnelles et environnementales, INSERM U 558 – Toulouse

Mots clés : **Benzo[a]pyrene, Cancer broncho-pulmonaire, Cancer de la vessie, Exposition professionnelle, Facteur de risque, Hydrocarbure aromatique polycyclique, Modelisation statistique, Mutation fgfr3**

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP⁽¹⁾) sont une famille de composés chimiques constitués d'atomes de carbone et d'hydrogène dont la structure moléculaire comprend au moins deux cycles aromatiques condensés.

Ils sont obtenus par la combustion incomplète ou la pyrolyse des matériaux organiques.

Les sources d'exposition environnementales aux HAP sont la pollution urbaine, la pollution domestique (le tabac principalement, l'alimentation – aliments grillés ou fumés) et le chauffage au bois.

Des expositions professionnelles élevées sont fréquentes dans certains procédés industriels comme la production de coke, la distillation de la houille à températures élevées et l'utilisation des produits dérivés comme les goudrons ou les brais de houille.

Sur la base des études expérimentales, le principal effet constaté après l'exposition par inhalation est l'excès de risque de cancer pulmonaire. La responsabilité de certains HAP a pu être documentée pour d'autres cancers tels que le cancer du rein (ou adénocarcinome ou carcinome à cellules claires), le cancer de la vessie ou le cancer du larynx.

Beaucoup de travaux ont été publiés mais il reste encore une large part d'inconnue sur les mécanismes en cause et la part réelle des expositions professionnelles.

Relation dose-réponse entre l'exposition aux hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et le cancer du poumon

Armstrong BG, Gibbs G. Exposure-response relationship between lung cancer and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Occup. Environ. Med.* 2009; 66(11):740-6.

Analyse

Cette publication (Armstrong et Gibbs, 2009) a tenté d'étudier l'impact de l'exposition professionnelle aux hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) combinée à la consommation de tabac sur l'apparition d'un cancer pulmonaire.

Le but a été d'estimer la relation exposition aux HAP – effet en termes de cancer de poumon sous forme d'une fonction probabiliste en tenant compte également de la consommation tabagique.

La mortalité, l'exposition professionnelle et la consommation tabagique ont été étudiées sur une cohorte de 16 431 travailleurs de l'aluminium québécois (15 703 hommes, 728 femmes), qui ont travaillé dans l'une des 4 fonderies du Québec entre 1955 et 1999. L'exposition aux HAP a été quantifiée en $\mu\text{g}/\text{m}^3$ de Benzo[a]pyrène pour chaque année d'exposition et en exposition cumulée à partir d'une matrice emploi – exposition.

L'exposition ainsi estimée a été intégrée dans un modèle associant les décès par cancer du poumon, l'âge, la latence de l'exposition, la durée de la carrière professionnelle et l'estimation de la consommation de tabac.

Par régression de poisson, plusieurs modèles linéaires prédictifs ont été testés. Le modèle le plus adapté était une fonction polynomiale de type « two-knot cubic spline ». Le modèle additif consommation tabagique – exposition professionnelle est apparu à peu près équivalent au modèle multiplicatif.

Résultats : 677 cas de décès de cancers pulmonaires ont été enregistrés dans la cohorte.

La courbe exposition – l'effet est linéaire, ensuite pour de fortes expositions cumulatives la pente baisse. L'explication pourrait être la saturation des sites de liaison des métabolites des HAP.

Le résultat est ambigu sur l'association de l'exposition professionnelle et du tabac, malgré l'excès de risque dans cette cohorte.

Commentaire

Les auteurs (Armstrong et Gibbs, 2009) ont voulu répondre à deux questions, d'une part quelle est la forme de la courbe exposition aux HAP – survenue d'un cancer du poumon; d'autre part, quels sont les risques d'une exposition combinée HAP et tabac. Les auteurs reconnaissent eux-mêmes que leurs résultats sont ambigus. Toutes les études épidémiologiques se heurtent à la difficulté d'évidence d'exposition professionnelle cumulée aux HAP. Il faut tenir compte des sources d'expositions environnementales telles que la fumée de tabac. Dans cette étude, le recueil rétrospectif des informations a entraîné des approximations. La modélisation de l'exposition professionnelle aux HAP est réduite à une estimation cumulée au Benzo[a]pyrène.

Ce dernier est un cancérigène bien connu mais toujours associé à d'autres cancérigènes potentiels dans le mélange de HAP. Les auteurs de la publication signalent que la concentration de BaP est généralement très bien corrélée avec les concentrations des autres HAP cancérigènes, même si cette corrélation n'est pas parfaite. Ce n'est pas le fait de choisir le BaP comme traceur qui atténue les corrélations mais plutôt les problèmes de mesurage en général (stratégie de prélèvement, incertitudes dues aux techniques analytiques, etc.). La population étudiée est assez hétérogène en termes de latence d'exposition, ce qui introduit une imprécision du modèle retenu. Les auteurs retiennent qu'il existe une relation linéaire entre l'exposition aux HAP et le cancer du poumon et qu'elle est probablement plus importante dans les fonderies d'aluminium que dans d'autres types d'industries.

L'exposition professionnelle aux hydrocarbures aromatiques polycycliques n'influence ni la fréquence ni le spectre des mutations FGFR3⁽²⁾ des carcinomes urothéliales de la vessie

Bakkar AA, Allory Y, Iwatsubo Y *et al.* Occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons influenced neither the frequency nor the spectrum of FGFR3 mutations in bladder urothelial carcinoma. *Mol. Carcinog.* 2010; 49(1):25-31. Sous presse en 2009.

Analyse

L'exposition professionnelle aux hydrocarbures aromatiques polycycliques est associée à une augmentation du risque de carcinome de l'épithélium urinaire.

Plusieurs études ont montré que les mutations de l'oncogène FGFR3 conduisent à l'activation du récepteur et jouent un rôle oncogénique dans les carcinomes de l'épithélium urinaire.

L'étude a été menée chez 170 hommes de type caucasien ayant développé une tumeur de la vessie (1998-2005). Le but a été d'étudier si l'exposition professionnelle aux HAP influence les mutations de FGFR3 et si des tumeurs sont induites *via* les voies alternatives.

L'âge moyen de la population étudiée a été de 64 ans (30-83).

Le grade de la tumeur a été déterminé à partir de la classification OMS 2004⁽⁴⁾.

Le guide TNM 2002⁽⁵⁾ (TNM Classification of malignant tumors) a été utilisé pour qualifier le stade (degré d'extension) de la tumeur.

L'histoire professionnelle de chaque sujet a été reconstituée à partir d'un questionnaire détaillé. À partir de là, un groupe d'experts a quantifié l'exposition professionnelle pour chaque période de travail d'au moins six mois. Cette quantification a été déterminée en tenant compte de la probabilité, de l'intensité et de la fréquence de l'exposition. Les caractéristiques histologiques et moléculaires des tumeurs ont été analysées en aveugle par les experts.

La consommation de tabac a été prise en considération pour ajuster les analyses statistiques avec cette donnée: 48,2 % des patients ont été classés fumeurs, 45,3 % ex-fumeurs et 6,5 % non-fumeurs. Le cumul en paquet-année a été calculé pour les fumeurs et les ex-fumeurs.

Aucune association significative n'a été trouvée entre l'exposition professionnelle aux HAP et le stade, le grade ou le type histologique des tumeurs.

Des mutations du récepteur FGFR3 ont été trouvées chez 66 sujets (39 % de tumeurs étudiées).

L'association exposition aux HAP - mutations de FGFR3 en prenant en considération la probabilité d'exposition (probablement exposés et exposés *versus* les non exposés et exposés possibles, OR = 1,10 [IC 95 % = 0,78-1,52]) ne s'est pas révélée significative. Les mutations de FGFR3 n'ont pas été influencées par l'exposition combinée HAP - tabac.

Commentaire

Cette étude (Bakkar *et al.* 2010) ne montre pas de lien entre l'exposition professionnelle aux HAP et la prévalence des mutations FGFR3 dans les carcinomes de la vessie.

Les facteurs d'exposition professionnelle aux HAP ne semblent pas influencer la fréquence des mutations du récepteur 3 des gènes FGFR3. Des mutations du récepteur 3 des FGFs (fibroblast growth factors) sont identifiées dans la tumeur de la vessie. Il a été démontré que les mutations FGFR3 sont fortement associées avec les tumeurs de bas grade et de faible stade; les mutations TP53⁽³⁾ sont plus fréquemment retrouvées dans les carcinomes agressifs de haut grade. L'étude de ces 2 marqueurs moléculaires et des profils phénotypiques conséquents trouve une grande importance dans l'évaluation du risque de récurrence ainsi que dans la stratégie thérapeutique de la prise en charge du carcinome urothélial de la vessie.

La consommation de tabac est un facteur de risque majeur dans le carcinome urothélial de la vessie. L'influence de la consommation du tabac sur les mutations FGFR3 et TP53 dans la tumeur de la vessie a été étudiée; aucune influence n'a été mise en évidence ni sur la fréquence ni sur les caractéristiques des mutations FGFR3. La consommation de tabac associée à des carcinomes des cellules urothéliales de la vessie invasives de haut grade influence les mutations TP53.

D'autres études sont nécessaires, d'un côté pour élucider le mécanisme par lequel l'exposition professionnelle aux HAP influence la transformation maligne des cellules urothéliales et de l'autre pour définir un marqueur moléculaire qui permettra de diagnostiquer les cancers de la vessie dus à l'exposition professionnelle.

CONCLUSION GÉNÉRALE

La qualification et la quantification des expositions professionnelles aux HAP responsables de cancers de poumons ou de la vessie sont techniquement possibles mais l'estimation de la relation dose-effet reste mal connue. Que ce soit sur le plan des méthodes statistiques ou sur la mesure des marqueurs d'effets, beaucoup d'incertitudes subsistent.

L'association des expositions professionnelles avec l'existence de nombreux facteurs environnementaux tels que le tabac et l'alimentation complique sérieusement la mise en place des études nécessaires et l'obtention de résultats solides.

Lexique

- (1) HAP: hydrocarbure aromatique polycyclique (ou PAH en anglais).
- (2) FGFR3: Fibroblast Growth Factor R3 (gène du récepteur R3).
- (3) Mutation TP53: Mutation Tumor Protein P53.
- (4) Classification OMS 2004: classification 2004 de l'Organisation Mondiale de la Santé des tumeurs de la vessie.
- (5) TNM 2002: classification of urinary bladder tumors. Créée par l'Union Internationale Contre le Cancer (UICC).

Publications de référence

- Bernard-Pierrot I, Brams A, Dunois-Lardé C et al.** Oncogenic properties of the mutated forms of fibroblast growth factor receptor 3b. *Carcinogenesis*. 2006; 27(4):740-7.
- Burstyn I, Kromhout H, Johansen C et al.** Bladder cancer incidence and exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons among asphalt pavers. *Occup. Environ. Med.* 2007; 64(8):520-6.
- Cheng L, Zhang S, Davidson DD et al.** Molecular determinants of tumor recurrence in the urinary bladder. *Future Oncol.* 2009; 5(6):843-57.
- Cordon-Cardo C.** Molecular alterations associated with bladder cancer initiation and progression. *Scand. J. Urol. Nephrol. Suppl* 2008; (218):154-65.
- Hazra A, Grossman HB, Zhu Y et al.** Benzo[a]pyrene diol epoxide-induced 9p21 aberrations associated with genetic predisposition to bladder cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 2004; 41(4):330-8.
- Kirkeleit J, Riise T, Bjørge T et al.** Increased risk of oesophageal adenocarcinoma among upstream petroleum workers. *Occup. Environ. Med.* 2010; 67(5):335-40. Sous presse en 2009.
- Knowles MA.** Role of FGFR3 in urothelial cell carcinoma: biomarker and potential therapeutic target. *World J. Urol.* 2007; 25(6):581-93.
- Kobrosly RW, Meliker JR, Nriagu JO.** Automobile industry occupations and bladder cancer: a population-based case-control study in southeastern Michigan, USA. *Occup. Environ. Med.* 2009; 66(10):650-6.

Kogevinas M, 't Mannetje A, Cordier S et al. Occupation and bladder cancer among men in Western Europe. *Cancer Causes Control*. 2003; 14(10):907-14.

Marsit CJ, Karagas MR, Danaee H et al. Carcinogen exposure and gene promoter hypermethylation in bladder cancer. *Carcinogenesis*. 2006; 27(1):112-6.

Marsit CJ, Karagas MR, Schned A et al. Carcinogen exposure and epigenetic silencing in bladder cancer. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2006; 1076:810-21.

Mastrangelo G, Fadda E, Marzia V. Polycyclic aromatic hydrocarbons and cancer in man. *Environ. Health Perspect.* 1996; 104(11):1166-70.

Wallerand H, Bakkar AA, de Medina SG et al. Mutations in TP53, but not FGFR3, in urothelial cell carcinoma of bladder are influenced by smoking: contribution of exogenous versus endogenous carcinogens. *Carcinogenesis*. 2005; 26(1):177-84.

Revue de la littérature

IARC (International Agency for Research on Cancer). Evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. Polynuclear aromatic compounds, part 2, carbon black, mineral oils (lubricant base oils and derived products) and some nitroarenes. Monograph 33. 1984.

IARC (International Agency for Research on Cancer). IARC monograph on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. Polynuclear aromatic compounds, Part 3, industrial exposures to aluminium production, coal gasification, coke production, and iron and steel founding. Monograph 34. 1984.

IARC (International Agency for Research on Cancer). Evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. Polynuclear aromatic compounds, Part 4, bitumens, coal-tars and derived products, shale oils and soots. Monograph 35. 1985.

IARC (International Agency for Research on Cancer). Evaluation of carcinogenic risk to humans. Overall evaluations of carcinogenicity: an updating of IARC monographs 1-42. Supplement 7. 1987.

IARC (International Agency for Research on Cancer). Polycyclic aromatic hydrocarbons. In: Air Pollution, Part 1, Some Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Industrial Exposures. Monograph 92. 2008.

WHO (World Health Organisation Regional Office for Europe). Polycyclic aromatic hydrocarbons ((PAHs). In: Air quality guidelines. 2nd edition. Copenhagen, Denmark. 2000; 1-24

Publications non sélectionnées

Barregard L, Holmberg E, Sallsten G. Leukaemia incidence in people living close to an oil refinery. *Environ. Res.* 2009; 109(8):985-90.

L'exposition est définie uniquement en composés organiques volatils. Le critère principal est environnemental (proximité d'une raffinerie).

Friesen MC, Fritschi L, Del Monaco A et al. Relationships between alumina and bauxite dust exposure and cancer, respiratory and circulatory disease. *Occup. Environ. Med.* 2009; 66(9):615-8.

Étude préliminaire qui ne montre pas d'excès de risque et qui s'intéresse à des pathologies multiples.

Kaufman DW, Anderson TE, Issaragrisil S. Risk factors for leukemia in Thailand. *Ann. Hematol.* 2009; 88(11):1079-88.

Une étude cas-témoin prenant en compte de nombreux facteurs professionnels sans qualification satisfaisante de l'exposition.

Lundin JI, Alexander BH, Olsen GW et al. Ammonium perfluorooctanoate production and occupational mortality. *Epidemiology.* 2009; 20(6):921-8.

Étude intéressante mais le champ d'application est très restreint et les résultats sont préliminaires.

Lynch SM, Mahajan R, Beane Freeman LE et al. Cancer incidence among pesticide applicators exposed to butylate in the Agricultural Health Study (AHS). *Environ. Res.* 2009; 109(7):860-8.

Étude bien menée avec une bonne méthodologie. Les résultats sont limités et il n'y a pas d'autres publications associées pour la période concernée.

Takkouche B, Regueira-Méndez C, Montes-Martínez A. Risk of cancer among hairdressers and related workers: a meta-analysis. *Int. J. Epidemiol.* 2009; 38(6):1512-31.

Publication isolée dans une population très particulière. Les résultats portent sur le risque de cancer en général.

Zeeb H, Hammer GIP, Langner I et al. Cancer mortality among German aircrew: second follow-up. *Radiat. Environ. Biophys.* 2010; 49(2):187-94. Sous presse en 2009.

Cette publication porte sur l'augmentation du risque de cancer en général. Elle ne met pas en évidence un excès de risque de cancer associé classiquement aux rayonnements.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Cancer, Hydrocarbure Aromatique Polycyclique (PAH), Lung cancer, Mutation, Occupational exposure, Risk factor, Urinary bladder tumors.

Mise à jour d'une étude de cohorte sur le risque de cancer chez des travailleurs exposés aux fumées de bitume.

Cancers pulmonaires : expositions professionnelles et types histologiques

Période : avril 2009 à août 2009

Barbara CHARBOTEL et Amélie MASSARDIER-PILONCHERY

Université Lyon 1 – UMRESTTE – Lyon

Mots clés : Cancer, Exposition, Fumées de bitume, Histologie, Poumon, Profession

Une étude française sur le cancer du poumon s'est focalisée sur l'association entre certaines expositions professionnelles et le type histologique de cancer. Cette étude fait l'objet de deux publications récentes, l'une sur le lien entre les adénocarcinomes pulmonaires et le sexe, l'âge, le tabagisme et les facteurs professionnels ; l'autre est ciblée sur les caractéristiques des cancers pulmonaires chez les patients n'ayant jamais fumé. Une équipe allemande publie une mise à jour d'une cohorte de salariés du secteur du bâtiment dans le but d'apporter de nouveaux éléments scientifiques sur le lien entre les expositions aux fumées de bitume et le risque de cancer.

Expositions professionnelles plus souvent associées à certains types histologiques de cancers pulmonaires

Paris C, Clement-Duchene C, Vignaud JM *et al.* Relationships between lung adenocarcinoma and gender, age, smoking and occupational risk factors: A case-case study. *Lung Cancer*. 2009 ; 68(2):146-53.

Analyse

Il existe différents types histologiques de cancer broncho-pulmonaire. Des études ont montré que les carcinomes à cellules épidermoïdes et les carcinomes à petites cellules étaient plus fortement associés au tabagisme que les adénocarcinomes. Paris *et al.* (2009) publie une étude de type cas-cas comparant les caractéristiques générales et professionnelles de 1493 sujets porteurs d'un cancer du poumon en fonction du type histologique de ces cancers (adénocarcinomes *versus* carcinomes épidermoïdes, carcinomes à petites cellules, carcinomes indifférenciés à grandes cellules, autres cancers). Parmi ces patients, 489 (32,8 %) étaient porteurs d'un adénocarcinome. Les adénocarcinomes étaient le type de cancer bronchopulmonaire significativement prédominants chez les femmes (OR = 1,51 [I.C. (1) 95 % = 1,11-2,06]) et chez les sujets n'ayant jamais fumé (OR = 2,54 [I.C. 95 % = 1,54-4,20]). La fréquence des adénocarcinomes diminuait avec l'augmentation du tabagisme quantifié en paquets-années. Les auteurs rapportent également une association significative entre certaines expositions professionnelles et le risque que le cancer soit un adénocarcinome. La plupart des cancérrogènes pulmonaires professionnels connus (amiante, hydrocarbures aromatiques polycycliques, silices, fumées de diesel, fumées de

soudage, chrome, radiations ionisantes par inhalation) ont été étudiés. Les résultats ne mettent pas en évidence de relation claire entre les types histologiques et les expositions professionnelles. Seule l'exposition aux fumées de soudage est significativement corrélée à l'adénocarcinome (OR = 1,62 [I.C. 95 % = 1,14-2,31]). Pour l'amiante l'odds ratio est de 1,03 [I.C. 95 % = 0,82-1,30]. Après prise en compte du sexe, de l'âge et du tabagisme, le risque de développer un adénocarcinome est significativement associé avec une exposition à la silice et aux fumées de soudage, odds ratios respectivement de 1,75 [I.C. 95 % = 1,05-2,90] et 1,84 [I.C. 95 % = 1,27-2,66].

Commentaire

Cette étude permet d'émettre l'hypothèse que les différents types de cancers pulmonaires pourraient être induits par des mécanismes différents. Des études complémentaires mécanistiques sont nécessaires pour vérifier cette hypothèse et préciser les mécanismes impliqués. Dès lors, il paraît prématuré d'utiliser ces résultats pour faire évoluer les modalités d'indemnisation des cancers pulmonaires actuellement en vigueur en France.

Chez les patients non-fumeurs atteints d'un cancer pulmonaire, la fréquence des expositions au tabagisme passif et à des cancérogènes professionnels varie en fonction du sexe

Clément-Duchêne C, Vignaud JM, Stoufflet A *et al.* Characteristics of never smoker lung cancer including environmental and occupational risk factors. *Lung Cancer*. 2009; 67(2):144-50.

Analyse

La population d'étude de Clément-Duchêne *et al.* (2009) est la même que celle présentée par Paris *et al.* (2009). Parmi les 1493 patients traités pour un cancer pulmonaire, seulement 67 étaient non-fumeurs, 35 hommes (soit 2,7 % des hommes inclus dans l'étude) et 32 femmes (soit 16,8 % des femmes incluses). Dans ce groupe de patients non-fumeurs, les femmes ont plus souvent été exposées au tabagisme passif que les hommes, respectivement 68,8 % et 17,1 %; 14 hommes (40 %) et 3 (9,4 %) femmes ont été exposées à l'amiante; 4 (11,4 %) hommes ont été exposés à d'autres cancérogènes pulmonaires. Au total, une exposition professionnelle à un ou plusieurs cancérogènes pulmonaires a été identifiée chez 48,6 % (n = 17) des hommes et 9,4 % (n = 3) des femmes. Aucune exposition professionnelle ou environnementale à un agent ayant des effets cancérogènes pulmonaires connus n'a été observée chez 40 % (14) des hommes et 31 % (10) des femmes.

Commentaire

L'effectif étudié de sujets n'ayant jamais fumé est faible ce qui rend l'interprétation des résultats difficile. Ce type d'étude (Clément-Duchêne *et al.*, 2009) est néanmoins utile pour identifier des facteurs de risques du cancer du poumon chez les non-fumeurs. On note que, parmi les hommes, la fréquence d'une exposition à l'amiante est similaire chez les fumeurs et chez les non-fumeurs autour de 40 %.

Risque accru de cancers du poumon, de la tête et du cou et de la vessie, dans une cohorte allemande de travailleurs exposés aux fumées de bitume

Behrens T, Schill W, Ahrens W. Elevated cancer mortality in a German cohort of bitumen workers: extended follow-up through 2004. *J. Occup Environ. Hyg.* 2009; 6(9):555-61.

Analyse

En 2003, une étude de cohorte internationale regroupant des salariés du secteur de la construction de huit pays avait mis en évidence un risque accru de décès par cancer pulmonaire chez les travailleurs exposés aux fumées de bitume (Boffetta *et al.*, 2003), SMR⁽²⁾ = 1,17 [I.C. 95 % = 1,04-1,30]. Dans cette étude les comparaisons internes à la cohorte entre les travailleurs exposés aux fumées de bitume et des travailleurs du secteur de la

construction non exposés aux fumées de bitume, montraient un risque relatif faible et non significatif RR = 1,09 [I.C. 95 % = 0,89-1,34]. Le suivi de cette cohorte internationale qui incluait au total près de 80 000 travailleurs masculins, avait été interrompu en 2000.

Behrens *et al.*, (2009) présentent une mise à jour de la partie allemande de cette cohorte avec un suivi jusqu'en 2004 pour 7 919 travailleurs (132 205 personnes années⁽³⁾). Pendant la période de suivi, 835 décès sont survenus. Plusieurs groupes d'exposition ont été comparés : des travailleurs exposés aux fumées de bitume sans exposition aux goudrons de houille (39 282 personnes années), des travailleurs potentiellement exposés aux goudrons de houille (16 858 personnes années), des travailleurs dont les expositions aux fumées de bitume n'étaient pas connues (30 317 personnes années) et des travailleurs non exposés (45 748 personnes années). Les analyses sur l'ensemble de la cohorte mettent en évidence des SMR augmentés pour les décès toutes causes confondues (SMR = 1,27 [I.C. 95 % = 1,19-1,36]), les décès par cancers tous types confondus (SMR = 1,37 [I.C. 95 % = 1,22-1,55]) et pour le cancer du poumon (SMR = 1,77 [I.C. 95 % = 1,46-2,16]), les cancers ORL (oropharynx et larynx : SMR de respectivement 1,82 [I.C. 95 % = 1,19-2,79] et 3,74 [I.C. 95 % = 2,21-6,31]), le cancer de l'œsophage (SMR = 2,43 [I.C. 95 % = 1,57-3,76]) et le cancer de la vessie (SMR = 3,29 [I.C. 95 % = 1,95-5,55]). Un risque accru de décès est également décrit en lien avec des pathologies respiratoires (SMR = 1,40 [I.C. 95 % = 1,03-1,90]), des pathologies liées à la consommation chronique d'alcool (SMR = 1,83 [I.C. 95 % = 1,23-2,70]), et des causes accidentelles ou volontaires (SMR = 1,42 [I.C. 95 % = 1,18-1,71]). Cependant les SMR varient peu en fonction des groupes d'exposition. Ainsi, le SMR pour le cancer du poumon est de 1,72 [I.C. 95 % = 1,04-2,86] dans le groupe des travailleurs potentiellement exposés aux goudrons de houille, 2,08 [I.C. 95 % = 1,48-2,93] dans le groupe exposé aux fumées de bitume uniquement, 1,28 [I.C. 95 % = 0,76-2,16] lorsque l'exposition est inconnue et 1,82 [I.C. 95 % = 1,33-2,49] chez les non exposés. Pour le cancer de vessie les SMR dans ces différents groupes sont respectivement 1,50 [I.C. 95 % = 0,21-10,64], 4,41 [I.C. 95 % = 1,84-10,59], 2,72 [I.C. 95 % = 0,68-10,87] et 3,49 [I.C. 95 % = 1,57-7,76] et pour le cancer du larynx 1,75 [I.C. 95 % = 0,25-12,44], 4,73 [I.C. 95 % = 1,97-11,37], 4,0 [I.C. 95 % = 1,29-12,39] et 3,65 [I.C. 95 % = 1,52-8,77]. En revanche la surmortalité par cancer de l'oropharynx est liée à l'exposition, le SMR étant de 2,90 [I.C. 95 % = 1,21-6,97] parmi les sujets potentiellement exposés aux goudrons de houille, 2,12 [I.C. 95 % = 1,01-4,45] dans le groupe exposé aux fumées de bitume, 2,49 [I.C. 95 % = 1,12-5,53] lorsque l'exposition n'est pas renseignée et 0,73 [I.C. 95 % = 0,24-2,26] dans le groupe non exposé. Ces résultats soulèvent la question des facteurs de risques extraprofessionnels qui peuvent être à l'origine de sur-risques dans cette population par rapport à la population générale. Les comparaisons internes à la cohorte permettent de s'affranchir en partie de ces facteurs de confusion, si l'on considère que les modes de vie des travailleurs constituant les différents groupes de cette étude sont peu différents. Ici les comparaisons internes (les groupes exposés étant comparés aux sujets non exposés) montrent un risque relatif pour le cancer du poumon atteignant 1,15 [I.C. 95 % = 0,72-1,84]

chez les sujets ayant été exposés aux fumées de bitume et de 1,08 [I.C. 95 % = 0,64-1,83] chez les sujets exposés aux goudrons de houille comme asphalteurs. Il existe également un risque accru non significatif de 1,80 [I.C. 95 % = 0,74-4,42] pour les cancers ORL (oropharynx et larynx) chez les travailleurs exposés aux fumées de bitume. Cette comparaison interne réduit certainement l'influence de facteurs de confusion tels que les consommations d'alcool et de tabac, mais elle ne permet pas de s'en abstraire et il est possible qu'ils expliquent tout ou partie des résultats observés.

Commentaire

L'objectif principal de l'étude internationale était d'explorer les effets cancérigènes des fumées de bitume. Ces produits contiennent beaucoup moins d'hydrocarbures aromatiques polycycliques que les dérivés des goudrons de houille historiquement utilisés pour la construction des routes et dans certains matériaux d'étanchéité. L'interprétation des résultats de la partie allemande de la cohorte comme ceux de la partie internationale de l'étude est rendue difficile par plusieurs facteurs de confusion. Tout d'abord les facteurs de risques professionnels présents dans le secteur du bâtiment et en premier lieu la persistance de l'utilisation de goudrons de houille au début de la période de suivi (62,3 % des entreprises de la cohorte déclaraient avoir utilisé des goudrons de houille au cours de la période d'étude). Dans la partie allemande de l'étude ce facteur a pu être pris en compte et un excès de risque de plusieurs cancers est identifié chez les travailleurs exclusivement exposés aux fumées de bitume. Dans le secteur de la construction d'autres expositions professionnelles peuvent être à l'origine de pathologies respiratoires ou de cancers pulmonaires ou ORL (par ex. poussières de silice, amiante...). L'autre facteur de confusion important est le tabagisme. Dans la partie néerlandaise de la cohorte, le tabagisme était plus fréquent chez les sujets ayant été exposés aux fumées de bitume (79 % de fumeurs sevrés ou non) que dans le groupe des sujets non exposés (72 %) (Hooiveld *et al.*, 2003). L'ensemble de la cohorte pourrait donc être plus exposée au tabagisme que la population générale ce qui pourrait, en partie, expliquer les taux élevés de mortalité par cancers et par pathologies respiratoires par rapport à la population générale. Les analyses internes peuvent permettre de s'affranchir de ce facteur de confusion. Les résultats publiés par **Behrens *et al.* (2009)** montrent une augmentation faible et non significative du risque de cancer du poumon et de cancers ORL chez les sujets exposés aux fumées de bitume. Ces résultats devront être confirmés par d'autres études évaluant mieux les autres facteurs de risques des pathologies considérées, notamment les éventuels facteurs de risques professionnels. Ces résultats posent également la question d'un « Unhealthy worker effect » assez inhabituel dans les études de cohorte. En effet, la population étudiée, est plus à risque que la population générale pour différentes pathologies.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Paris *et al.* (2009) décrivent une association entre certains types histologiques de cancers du poumon et les expositions professionnelles à des cancérigènes pulmonaires. Après prise en compte du sexe, de l'âge et du tabagisme, le risque de développer un adénocarcinome est significativement associé avec une exposition à la silice et aux fumées de soudage. Dans le même groupe de patients, **Clément-Duchêne *et al.* (2009)** décrivent les caractéristiques des 67 sujets non-fumeurs et montrent que les femmes ont plus souvent été exposées au tabagisme passif que les hommes. On note par ailleurs que, parmi les hommes (n = 1303), la fréquence d'une exposition à l'amiante est similaire chez les fumeurs et chez les non-fumeurs, autour de 40 %. Les études épidémiologiques comparant les caractéristiques de plusieurs groupes de patients se sont développées au cours des dernières années. Ce type d'approche permet de formuler des hypothèses sur les mécanismes d'action des cancérigènes et d'orienter la recherche moléculaire. Ces méthodes pourraient être utilisées pour d'autres cancers pour lesquels une origine professionnelle est suspectée, notamment les lymphomes.

Behrens *et al.* (2009) présentent une mise à jour de la partie allemande d'une cohorte internationale regroupant des salariés du secteur de la construction avec un suivi jusqu'en 2004 pour 7919 travailleurs et montrent une augmentation faible et non significative du risque de cancer du poumon et de cancers ORL chez les sujets exposés aux fumées de bitume. Ces résultats devront être confirmés par d'autres études évaluant mieux les autres facteurs de risques. Ces résultats posent également la question d'un effet travailleur « non sain » assez inhabituel dans les études de cohorte. Les travailleurs inclus dans cette cohorte, issus du secteur du bâtiment, semble être plus à risque que la population générale pour différentes pathologies. Une vigilance particulière paraît justifiée sur les expositions et la santé dans ce secteur d'activité.

Lexique

- (1) I.C. : intervalle de confiance.
- (2) SMR (ratio standardisé de mortalité) : comparaison de la mortalité dans la cohorte par cancer du poumon à celle de la population générale en tenant compte de l'âge.
- (3) Personnes années : nombre de sujets suivi dans la cohorte multiplié pour chaque sujet par le nombre d'années de suivi.

Revue de la littérature

Gilbert ES. Ionising radiation and cancer risks: what have we learned from epidemiology? *Int. J. Radiat. Biol.* 2009; 85(6): 467-82.

Hammer GP, Blettner M, Zeeb H. Epidemiological studies of cancer in aircrew. *Radiat. Prot. Dosimetry.* 2009; 136(4):232-9.

Jacob P, Rühm W, Walsh L et al. Is cancer risk of radiation workers larger than expected? *Occup. Environ. Medicine.* 2009; 66(12):789-96.

Straif K, Benbrahim-Tallaa L, Baan R et al. A review of human carcinogens—Part C: metals, arsenic, dusts, and fibres. *Lancet Oncol.* 2009; 10(5):453-4.

Rogel A, Joly K, Metz-Flamant C et al. [Mortality in nuclear workers of the French electricity company: period 1968-2003]. *Rev. Epidemiol. Sante Publique.* 2009; 57(4):257-65.

Étude montrant un déficit de mortalité par cancer dans une cohorte de travailleurs du nucléaire salariés d'EDF. Il existe un effet travailleur sain majeur dans cette étude n'incluant pas les salariés des entreprises sous-traitantes du secteur nucléaire.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Cancer, Exposure, Occupation, Occupational, Work.

Publications de référence

Boffetta P, Burstyn I, Partanen T et al. Cancer mortality among European asphalt workers: an international epidemiological study. I. Results of the analysis based on job titles. *Am. J. Ind. Med.* 2003; 43(1):18-27.

Hooiveld M, Spee T, Burstyn I et al. Lung cancer mortality in a Dutch cohort of asphalt workers: evaluation of possible confounding by smoking. *Am. J. Ind. Med.* 2003; 43(1):79-87.

Publications non sélectionnées

Hosseini M, Naghan PA, Karimi S et al. Environmental risk factors for lung cancer in Iran: a case-control study. *Int. J. Epidemiol.* 2009; 38(4):989-96.

Cet article n'apporte pas d'élément nouveau par rapport aux connaissances scientifiques actuelles sur les facteurs de risques du cancer pulmonaire.

Levy PS, Roth HD, Deubner DC. Exposure to beryllium and occurrence of lung cancer: findings from a cox proportional hazards analysis of data from a retrospective cohort mortality study. *J. Occup. Environ. Med.* 2009; 51(4):480-6.

Cet article propose une nouvelle analyse des données ayant conduit le centre international de recherche sur le cancer à classer le Béryllium comme cancérigène certain (groupe 1). Les choix méthodologiques sont discutables. De plus, le béryllium a fait l'objet d'une nouvelle évaluation par le CIRC en 2009 qui a confirmé l'effet cancérigène certain pour le poumon en s'appuyant notamment sur des effets biologiques (aberrations chromosomiques, aneuploïdie, dommages sur l'ADN) (Cf. Straif et al., 2009).

Nicholas JS, Swearingen CJ, Kilmer JB. Predictors of skin cancer in commercial airline pilots. *Occup. Med. (Lond)* 2009; 59(6):434-6.
Article intéressant mais ne correspondant pas au sujet choisi pour cette note.

Apport de biomarqueurs à la connaissance des expositions professionnelles aux pesticides

Période : septembre 2008 à juin 2009

Isabelle BALDI

Université Victor Segalen Bordeaux 2 – Laboratoire Santé Travail Environnement – Inserm – UMR 897
EA3672 ISPED – Bordeaux

Mots clés : Biomarqueur d'exposition, Profession

Les études épidémiologiques relatives aux effets des pesticides sur la santé peuvent s'enrichir des connaissances apportées par des approches métrologiques. Pour certaines substances ou groupes de substances, des biomarqueurs ont été proposés afin de caractériser les expositions : c'est le cas de l'éthylène-thiouree (ETU) pour l'exposition aux éthylène-bis-dithiocarbamates (EBDC) : l'article de **Fustinoni et al. (2008)** présente des données européennes multicentriques sur cette question. De la même manière les métabolites urinaires des organophosphorés (OP) et des pyréthriinoïdes ont été fréquemment proposés comme marqueurs d'exposition de ces insecticides : l'étude de **Kimata et al. (2009)** recherche un lien entre la concentration de ces métabolites et la durée des expositions professionnelles.

Un lien entre l'activité exposant aux éthylène-bis-dithiocarbamates et le niveau en l'éthylène thio-urée

Fustinoni S, Campo L, Liesivuori J et al. Biological monitoring and questionnaire for assessing exposure to ethylenebisdithiocarbamates in a multicenter European field study. *Hum. Exp. Toxicol.* 2008; 27(9):681-91.

Analyse

Devant les insecticides et les herbicides, les fongicides constituent la classe de pesticides la plus utilisée en Europe, et parmi eux les éthylène-bis-dithiocarbamates (EBDC) occupent le second rang après le soufre inorganique. Le mancozèbe et le zinèbe sont les plus utilisés des EBDC, en raison de leur action à large spectre sur les moisissures de diverses cultures, et comme traitement des semences, ainsi qu'en raison de leur faible persistance dans l'environnement et de leur faible toxicité aiguë. D'éventuels effets d'expositions chroniques sont cependant suspectés, notamment par une action sur l'immuno-modulation : soit des molécules elles-mêmes, soit de leur métabolite commun, l'éthylène thio-urée (ETU).

L'objectif de l'étude de **Fustinoni et al. (2008)** est de fournir une image de différentes tâches impliquant des EBDC dans plusieurs pays européens, en s'appuyant sur des auto-questionnaires et des mesures urinaires d'ETU. Cette étude s'inscrit dans un projet européen EUROPIT impliquant la Bulgarie, la Finlande, l'Italie et les Pays-Bas et dont l'objectif global est d'étudier l'effet des pesticides sur le système immunitaire.

La population d'étude comprenait des travailleurs en serres de maraîchage (Bulgarie), des ouvriers d'une usine de production de zinèbe (Bulgarie), des viticulteurs italiens, des cultivateurs de

potatoes (Finlande), des ouvriers horticoles (Pays-Bas). Chaque groupe comprenait entre 40 et 60 personnes exposées aux EBDC et un nombre comparable de témoins, soit un total de 248 exposés et 228 non exposés. Les données ont été collectées à deux temps : (i) avant la saison de traitement ou de production des EBDC, par questionnaire (facteurs démographiques, antécédents médicaux, habitudes de vie, historique d'utilisation des pesticides dans les deux ans précédant l'étude) et recueil d'urine pour rechercher l'ETU, puis (ii) après 30 jours d'exposition où les mêmes données étaient collectées.

Le même protocole a été appliqué à des témoins non exposés, à l'exception des ouvriers de l'usine et des viticulteurs. La limite de détection de l'ETU dans les urines était de 0,6 microgrammes par litre, et les niveaux ont été ajustés sur la créatinine urinaire. Certaines particularités existaient dans les caractéristiques des populations de l'étude, dans les conditions d'utilisation des EBDC : absence de port d'équipement de protection dans les serres bulgares et port limité dans l'usine de production de zinèbe, différences dans le matériel utilisé (pulvérisateurs à dos dans les serres et en partie en Finlande pour les pommes de terre), plus grande fréquence de tâches de réentrée en horticulture, etc. Avant exposition professionnelle, les niveaux moyens d'ETU urinaires variaient entre moins de 0,5 et 34,8 µg/g de créatinine (niveaux les plus élevés observés chez les ouvriers de l'usine bulgare) et après 30 jours d'exposition entre 1,1 (ouvriers horticoles hollandais) et 182 µg/g de créatinine. Les ouvriers des serres bulgares présentaient les niveaux les plus élevés, devant les ouvriers de l'usine de production, les viticulteurs italiens, les cultivateurs de pommes de terre puis les ouvriers horticoles hollandais. Les valeurs chez les témoins étaient plus basses que dans la population exposée (à l'exception des témoins des serres bulgares qui présentaient des niveaux relativement élevés), et

restaient globalement stables au 30^e jour. La variation avant et après exposition n'était pas significative chez les ouvriers horticoles hollandais.

Les auteurs mettent en avant les difficultés rencontrées avec les questionnaires : manque de fiabilité concernant les questions sur les équipements de protection individuels, données incomplètes sur les traitements pour les ouvriers concernés par la réentrée dans les champs. Les auteurs discutent l'apport des mesures biologiques, qui intègrent les différentes voies de pénétration, et qui sont considérées comme le Gold Standard. Cependant ils soulignent la nécessité d'identifier un index dont la concentration dans les milieux biologiques serait corrélée à la contamination externe, et dont on connaîtrait également la valeur dans les populations « non exposées » et la cinétique d'élimination. L'ETU représente un bon marqueur pour les EBDC, mais ne reflète que des expositions à court terme. Les résultats obtenus montrent que les EBDC pénètrent dans l'organisme à l'occasion de diverses tâches, y compris dans les étapes de production de la molécule (même pour les témoins qui travaillent dans l'usine à d'autres tâches), à des niveaux assez comparables chez des viticulteurs et des producteurs de pommes de terre, et à des niveaux plus élevés sous serres en maraîchage. Des essais de comparaison avec le modèle allemand utilisé pour l'homologation ont montré une absence de corrélation entre les niveaux prédits par le modèle et les niveaux observés.

Commentaire

Cet article souligne l'apport des mesures de terrain et de paramètres biologiques pour la compréhension des expositions professionnelles aux pesticides. L'étude met en lumière toute la complexité des paramètres d'exposition, les limites inhérentes aux questionnaires auto-administrés, l'intérêt des vêtements de protection.

Lien entre la durée des expositions aux insecticides et le niveau en biomarqueurs urinaires

Kimata A, Kondo T, Ueyama J *et al.* Relationship between urinary pesticide metabolites and pest control operation among occupational pesticide sprayers. *J. Occup. Health.* 2009; 51(1):100-5.

Analyse

Suite à l'interdiction des organochlorés, les organophosphorés et les pyréthrinoïdes sont devenus les principaux insecticides aujourd'hui utilisés. Leurs effets neuro-toxiques chez l'homme restent une préoccupation. La quantification de ces substances dans les milieux biologiques (notamment dans l'urine) a été réalisée dans divers contextes, soit pour surveiller des expositions individuelles, soit pour évaluer le métabolisme de ces substances. L'étude de Kimata *et al.* (2009) vise à vérifier si le niveau des métabolites urinaires reflète la durée des opérations de traitement en milieu professionnel.

Soixante-cinq volontaires (dont 10 femmes), en charge

d'opérations de désinsectisation au Japon, ont accepté une prise de sang et un recueil d'urine, ainsi que l'administration d'un questionnaire concernant les tâches d'application dans la semaine précédant les prélèvements. L'activité de l'acétylcholinestérase érythrocytaire et les métabolites urinaires des OP (DAP⁽¹⁾, DMP⁽²⁾, DEP⁽³⁾) et des pyréthrinoïdes (3 PBA⁽⁴⁾) (le lendemain du dernier traitement) ont été dosés par GC-MS et corrigés en fonction de la concentration en créatinine dans l'urine. Les volontaires ont été classés en non-applicateurs et en applicateurs (OP ou pyréthrinoïdes appliqués dans la semaine précédente, en distinguant ceux qui appliquaient plus et moins de 8 heures par semaine). Des variables de confusion ont été prises en compte : âge, sexe, consommation d'alcool, corpulence. Trois individus ayant déclaré plus de 30 heures de traitement par semaine ont été exclus, l'analyse a porté sur 17 non-applicateurs et 45 applicateurs. Une corrélation nette a été observée entre la durée d'application et le taux de métabolites urinaire. Les niveaux des métabolites étaient multipliés par un facteur de 16,0 à 34,2 chez les individus ayant appliqué plus de 8 heures par semaine et par un facteur de 1,2 à 10,9 chez ceux ayant appliqué moins de huit heures, par rapport aux volontaires n'ayant pas appliqué d'insecticides. En revanche aucune relation n'a été mise en évidence entre l'activité acétylcholinestérasique érythrocytaire et la durée des tâches. Concernant ce dernier résultat, les auteurs remettent en question la sensibilité de cet indicateur comme marqueur d'exposition aux OP et préconisent la répétition des mesures pré-exposition pour définir un niveau de base. Concernant les OP, la mesure de DAP et de DMP+DEP urinaires est apparue reliée à l'exposition, de même que le 3-PBA pour les pyréthrinoïdes. Dans cette population, le seuil de 8 heures de travail par semaine se traduisait par une nette augmentation des biomarqueurs urinaires.

Commentaire

Les auteurs soulignent l'intérêt de la mesure de ces biomarqueurs ce qui n'avait pas été démontré jusque-là en population japonaise. Néanmoins la limite de cette approche, basée sur un paramètre frustré (la durée de travail par semaine) est l'absence de prise en compte de la cinétique des substances (en particulier leur demi-vie), des doses d'utilisation, des modes d'application, des équipements de protection...

CONCLUSION GÉNÉRALE

Ces deux études avaient pour objectif de valider la pertinence de certains biomarqueurs (déjà bien identifiés par ailleurs) pour la caractérisation d'expositions professionnelles aux pesticides. Les deux études ont montré une relation entre le niveau de biomarqueurs et une exposition récente. De plus elles ont mis en évidence des variations de ces niveaux en fonction de certaines caractéristiques des tâches (notamment le type d'activité et le mode d'application dans l'étude de **Fustinoni et al. (2008)**, la durée des tâches dans la semaine passée dans l'étude de **Kimata et al. (2009)**). Elles soulignent toutes deux l'utilité et la pertinence d'études en conditions réelles d'utilisation pour mieux caractériser les expositions professionnelles aux pesticides. Cependant, elles s'appuient l'une et l'autre sur des marqueurs déjà bien identifiés et ne proposent pas de pistes pour de nouvelles molécules. De plus, les paramètres d'exposition restent assez sommaires, ne permettant pas d'argumenter solidement des déterminants de l'exposition. Enfin, compte tenu de la cinétique d'élimination des molécules considérées, ces biomarqueurs ne s'appliquent qu'à des expositions récentes.

Ruder AM, Butler MA, Sanderson WT et al. The NIOSH Retrospective Pesticide Reference Database. *J. Agric. Saf. Health.* 2009; 15(2):143-56.

Shayeghi M, Nasirian H, Nourjah N et al. Cholinesterase activity among spray workers in Iran. *Pak. J. Biol. Sci.* 2009; 12(9):696-701. *Ces articles n'ont pas été retenus car ils n'entrent pas dans le thème choisi pour cette note (apport de biomarqueurs à la connaissance des expositions professionnelles aux pesticides)*

**Mots clés utilisés
pour la recherche bibliographique**

Exposition, Exposure/Pesticides, Pesticides, Occupation.

Lexique

- (1) DAP: Dialkylphosphate
- (2) DMP: Diméthylphosphate
- (3) DEP: Diéthylphosphate
- (4) 3PBA: Acide 3 phénoxybenzoïque

Publications non sélectionnées

Jintana S, Sming K, Krongtong Y et al. Cholinesterase activity, pesticide exposure and health impact in a population exposed to organophosphates. *Int. Arch. Occup. Environ. Health.* 2009; 82(7):833-42.

Khan DA, Hashmi I, Mahjabeen W et al. Monitoring health implications of pesticide exposure in factory workers in Pakistan. *Environ. Monit. Assess.* 2010; 168(1-4):231-40

Machera K, Tsakirakis A, Charistou A et al. Dermal exposure of pesticide applicators as a measure of coverall performance under field conditions. *Ann. Occup. Hyg.* 2009; 53(6):573-84.

Plianbangchang P, Jetiyanon K, Wittaya-Areekul S. Pesticide use patterns among small-scale farmers: a case study from Phitsanulok, Thailand. *Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health.* 2009; 40(2):401-10.

Protano C, Guidotti M, Vitali M. Performance of different work clothing types for reducing skin exposure to pesticides during open field treatment. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2009; 83(1):115-9.

anses

alimentation, environnement, travail



Bulletin de veille BVS scientifique

Édition scientifique • 10 mai 2011

Spécial Rencontres scientifiques
Des TMS aux nanoparticules, risques
d'aujourd'hui en santé environnement travail

Santé physique ou mentale au travail

Stress, souffrance physique et mentale au travail et consommation de substances psycho-actives

Période : septembre 2009 à décembre 2009

Marcel LOUREL*, Arnaud VILLIEUX** et Farida MOUDA*

* Université de Rouen – Laboratoire Psychologie et Neurosciences de la Cognition et de l'affectivité, EA 4306 – Mont-Saint-Aignan

** INRETS – Laboratoire LPC – Versailles

Mots clés : **Consommation de substances psycho-actives, Environnement de travail, Épuisement émotionnel, Implication au travail, Souffrance au travail, Stress**

Les nombreux changements imposés par un environnement professionnel toujours plus concurrentiel ainsi que les évolutions des conditions de travail au cours de cette dernière décennie ne sont pas sans conséquences sur le bien-être et la santé physique et mentale des employés.

Dans cette note d'actualité scientifique, nous présenterons un ensemble de travaux qui traite d'une problématique majeure en matière de santé au travail. Selon Freudenberger (1974), le burnout désigne « un état de fatigue ou de frustration lié à l'engagement pour une cause, un type de vie ou une relation qui n'a pas apporté la gratification attendue ». Les recherches sélectionnées dans cette note apportent un éclairage sur les relations entre l'épuisement émotionnel/physique (ou « burnout ») et la douleur corporelle ou encore entre le risque psychosocial au travail et la consommation de substances psycho-actives.

L'épuisement professionnel est-il prédictif des changements dans la tolérance à la douleur chez les femmes ? Le cas d'une étude longitudinale en Suède

Grossi G, Thomten J, Fandino-Losada A *et al.* Does burnout predict changes in pain experiences among women living in Sweden? A longitudinal study. *Stress and Health*. 2009; 25(4):297-311.

Analyse

Relations entre épuisement émotionnel/physique et douleurs physiques

La première étude analysée est une étude longitudinale⁽¹⁾ menée en Suède par Grossi *et al.* (2009). Elle a pour objectif principal d'examiner l'impact du burnout⁽²⁾ sur la douleur physique et l'évolution de cet impact durant une année. L'étude porte sur un échantillon important (N = 2300) composé de femmes sélectionnées au hasard et habitant la ville de Stockholm. Sur le plan méthodologique, un même questionnaire, auto-administré, a été présenté à ces femmes à deux reprises (temps T1 et temps T2 à un an d'intervalle). Il comportait plusieurs parties permettant de mesurer notamment le burnout, la perception d'une douleur (intensité, fréquence, partie du corps concerné, gêne occasionnée), la détresse psychologique, les pressions ressenties sur le lieu de travail, le bien-être physique, la consommation de tabac ainsi que des variables sociodémographiques.

Les résultats des analyses de régression logistique montrent que la douleur généralisée enregistrée au temps T1, le burnout enregistré au temps T1 et son indice d'évolution (obtenu en

soustrayant la mesure effectuée en T2 à celle en T1) sont les prédicteurs qui rendent compte de la plus grande part de variance expliquée de la douleur généralisée en T2 avec respectivement des odds ratio (OR) de 1,70 ($p < 0,001$) et 1,63 ($p < 0,0001$) et dans les deux cas un intervalle de confiance (IC) de 95 %. Après la douleur ressentie au niveau du cou et des épaules enregistrée en T1, le burnout en T1 et son indice d'évolution sont à nouveau les variables qui expliquent la plus grande part de variance pour ce type de douleur en T2 (OR = 1,64 à $p < 0,01$ pour le burnout en T1 et OR = 1,63 à $p < 0,0001$ pour le burnout indicé T2-T1 avec IC = 95 % dans les deux cas). Les résultats sont identiques pour les douleurs dorsales en T2, puisqu'après leur mesure au temps T1, le burnout recueilli en T1 et son indice d'évolution en T2-T1 contribue à expliquer la plus grande part de variance (OR = 1,49 à $p < 0,0001$ et IC = 95 % pour les deux variables).

Trois modèles de régressions linéaires ont ensuite été testés afin de prédire le handicap consécutif à la douleur, puis l'intensité et la fréquence de la douleur éprouvée chez les femmes souffrant de douleurs un an après (soit au temps T2). Le premier modèle qui vise à prédire le handicap consécutif à la douleur en T2 retient 10 prédicteurs significatifs, lesquels expliquent près de 70 % de la variance totale. Les cinq meilleurs prédicteurs sont : le handicap consécutif à la douleur recueilli au temps T1 (Bêta = 0,41; $p < 0,0001$), le burnout en T1 (Bêta = 0,23; $p < 0,0001$), l'évolution de l'intensité de la douleur en T2-T1 (Bêta = 0,21; $p < 0,001$), l'intensité de la douleur en T1 (Bêta = 0,20; $p < 0,001$) et l'évolution du burnout (Bêta = 0,19; $p < 0,0001$). Le second modèle porte sur la prédiction de l'intensité de la douleur en T2. Six prédicteurs significatifs sont retenus, ils rendent compte ensemble de 28 %

de la variance totale expliquée. Les trois meilleurs prédicteurs sont : l'intensité de la douleur enregistrée en T1 (Bêta = 0,27; $p < 0,0001$), soit près de la moitié de la variance, suivi des problèmes de santé fréquents (Bêta = 0,12; $p < 0,05$) et de la consommation élevée de tabac (Bêta = 0,11; $p < 0,01$).

Arrive ensuite le troisième et dernier modèle de régression testé qui vise à prédire la fréquence d'apparition d'épisodes douloureux en T2. Celui-ci extrait huit prédicteurs significatifs qui expliquent 36 % de la variance totale. Les quatre meilleurs prédicteurs sont la fréquence des douleurs enregistrée en T1 (Bêta = 0,37; $p < 0,0001$), la variable « formation » évaluée à jamais (Bêta = 0,16; $p < 0,0001$) et avant (Bêta = 0,12; $p < 0,01$), puis la variable « contrôle » en T1 (Bêta = 0,12; $p < 0,05$).

Commentaire

L'étude de **Grossi et al. (2009)** est particulièrement intéressante car, à notre connaissance, il s'agit de la seule recherche longitudinale publiée qui examine les relations entre le burnout et la douleur physique perçue tout en prenant en compte leur évolution. Elle s'appuie sur une méthodologie de qualité (large échantillon, approche longitudinale, validité des mesures...) et montre que si les meilleurs prédicteurs de la douleur (générale ou localisée), de son intensité, sa fréquence et du handicap qui en résulte, sont sans grande surprise leur mesure un an auparavant, le burnout enregistré au temps T1 et son évolution calculée en T2 demeurent les prédicteurs longitudinaux les plus pertinents de la douleur générale, de celle localisée dans la région cou/épaules et de la douleur dorsale. Elle démontre également que les principaux symptômes du burnout (épuisement émotionnel, épuisement physique et difficultés cognitives) ont un impact non négligeable sur le déclenchement, le maintien et l'évolution de la douleur physique. De plus, ces résultats permettent d'envisager de nouvelles perspectives sur le plan des interventions en suggérant notamment qu'un dépistage préalable du burnout s'avère essentiel à toutes actions préventives ou thérapeutiques contre la douleur physique perçue. Des interventions davantage ciblées sur les éléments constitutifs de la douleur et du stress permettraient de limiter voire stopper leur influence mutuelle/réciproque.

Tracas professionnels, stress et consommation d'alcool : effets modérateurs du névrosisme et l'implication au travail

Liu S, Wang M, Zhan Y et al. Daily work stress and alcohol use: Testing the cross-level moderation effects of neuroticism and job involvement. *Personnel Psychology*. 2009; 62(3):575-97.

Analyse

Stress au travail, différences interindividuelles et consommation régulière d'alcool

La deuxième étude que nous avons retenue est une étude chinoise dirigée par **Liu et al. (2009)**. Elle porte sur un échantillon composé de 37 employés (32 hommes et 5 femmes) travaillant à temps plein dans des entreprises situées à Beijing et déclarant consommer de

l'alcool quotidiennement après le travail. En moyenne, ils sont âgés de 31 ans (écart type = 8,01), occupent leur poste actuel depuis 5 ans (écart type = 6,26) et aucun d'eux ne dépasse les critères diagnostiques du test de dépistage de l'alcoolisme Brief MAST (The Brief Michigan Alcoholism Screening Test). Dans un premier temps, les participants remplissaient un questionnaire enregistrant plusieurs variables sociodémographiques, puis deux variables individuelles : le névrosisme⁽³⁾ et l'implication dans le travail. Ils devaient ensuite contacter tous les jours par téléphone, entre 16 heures et 19 heures durant 5 semaines consécutives, un interviewer. Celui-ci leur demandait alors d'estimer le stress perçu dans la journée, leur envie de consommer de l'alcool une fois le lieu de travail quitté ainsi que le type de boisson alcoolisée consommée la veille avec la quantité absorbée.

Les résultats de l'analyse des intercorrélations montrent que le stress perçu au travail est positivement corrélé avec l'âge des participants ($r = 0,35$; $p < 0,05$) mais surtout que celui-ci entretient des corrélations positives avec la consommation d'alcool ($r = 0,17$; $p < 0,01$) et l'envie de boire ($r = 0,27$; $p < 0,01$). En outre, les résultats indiquent que l'implication dans le travail est fortement et positivement corrélé avec la consommation d'alcool ($r = 0,36$; $p < 0,01$).

Des analyses secondaires viennent confirmer les résultats précédents en indiquant que chaque événement au travail qui engendre un stress vient augmenter la consommation d'alcool dans la soirée ainsi que l'envie de boire. De plus, les résultats montrent que chez les personnes qui ont un niveau de névrosisme élevé, comparé à celles qui ont un niveau plus bas, la relation entre le stress au travail, la consommation d'alcool et l'envie de boire est plus marquée. De même, chez les personnes qui sont plus impliquées dans leur travail, comparé à celles qui le sont moins, la relation entre le stress au travail, la consommation d'alcool et l'envie de boire est plus marquée. Enfin, les résultats suggèrent que les variables névrosisme et implication dans le travail semblent expliquer à elles deux 55 % de la variance du lien entre stress au travail et envie de boire. Cependant, on restera prudent pour l'interprétation de ce résultat.

Commentaire

Bien que menée auprès d'un échantillon très restreint de travailleurs, l'étude de **Liu et al. (2009)** n'en demeure pas moins une étude originale et particulièrement riche sur le plan de la compréhension des relations entre stress au travail, consommation d'alcool et leur médiation par des variables portant sur la personnalité et les attitudes comme le névrosisme et l'implication dans le travail. Les auteurs montrent ainsi que des variations intra-individuelles existent dans la consommation d'alcool et que les épisodes de consommation importante sont fortement corrélés au stress éprouvé au travail. Leurs résultats suggèrent également que le névrosisme et l'implication au travail sont des variables modératrices capables de prédire l'importance de la relation entre stress et alcool, ce qui supporte l'utilité d'une approche interactionniste (prenant en compte aussi bien la spécificité de l'environnement que les caractéristiques individuelles) dans la compréhension des stratégies de coping

inadaptatives comme celles visant à palier le stress éprouvé au travail *via* la consommation d'alcool.

L'environnement psychosocial, les violences interpersonnelles au travail et la consommation de produits psycho-actifs chez les gardiens de prison

Lavigne E, Bourbonnais R. Psychosocial work environment, interpersonal violence at work and psychotropic drug use among correctional officers. *Int. J. Law Psychiatry*. 2010; 33(2):122-9. Sous presse en 2009.

Analyse

Environnement psychosocial, violence au travail et consommation de substances psychotropes⁽⁴⁾/médicaments

La dernière étude choisie pour cette note d'actualité scientifique a été conduite par deux chercheurs canadiens, Lavigne et Bourbonnais (2010) de l'université de Laval. Elle a été menée par questionnaire auprès de 1275 surveillants homme et femme de l'administration pénitentiaire (gardiens de prison) du Québec. L'étude poursuit trois principaux objectifs: (i) déterminer la prévalence de la consommation de substances psychotropes dans cette population, (ii) mesurer les relations entre les pressions qu'ils ressentent au travail, le déséquilibre perçu entre effort et récompense et la consommation de substances et (iii) tester dans quelle mesure le soutien social au travail, l'engagement excessif dans le travail et le genre influence ces relations. Les participants complétaient le questionnaire (auto-administré) directement sur leur lieu de travail. Celui-ci mesurait: la consommation de substances (tranquillisants, sédatifs et/ou antidépresseurs) au cours du mois écoulé, les trois facteurs (latitude de décision, exigences du travail, soutien social) du modèle DCS (Demand-control-support) de Karasek (1979), le déséquilibre perçu entre effort et récompense, l'engagement excessif dans le travail, l'exposition à la violence interpersonnelle (mesurée par deux indicateurs: l'intimidation et le harcèlement psychologique) au cours des 12 derniers mois, la consommation de cigarettes, d'alcool, l'activité physique pratiquée, le soutien social au travail et hors du travail et des variables sociodémographiques.

Les résultats montrent l'existence de plusieurs relations significatives (à $p \leq 0,05$) entre les variables mesurées. Tout d'abord, la prévalence concernant la consommation de substances psychotropes au cours du dernier mois est plus élevée chez les femmes (18,7 %) que chez les hommes (11,8 %). Le taux de prévalence (TP) des femmes comparées aux hommes est de 1,6 avec un intervalle de confiance (IC) de 95 %. Parmi les associations positives observées, un faible soutien social hors du travail (TP = 1,5), le fait de travailler à mi-temps (TP = 0,5), le stress consécutif à des événements ayant eu lieu lors des 12 derniers mois (TP = 1,9) ainsi que le fait d'être un fumeur régulier (TP = 1,5) sont tous liés à la consommation de substances psychotropes. Lorsque les variables « âge » et « genre » sont placées en co-variance, les résultats indiquent qu'un faible soutien social au travail (PT = 1,7), de faibles récompenses (PT = 1,5) ainsi que le harcèlement

psychologique (PT = 1,5) sont associés à la consommation de substances. Le déséquilibre entre effort et récompense est associé à la consommation de substances et cela même lorsque les variables « âge » et « genre » ne sont pas mises en co-variance. Enfin, les tests de médiation pratiqués, ne permettent pas de conclure que le harcèlement psychologique au travail soit une variable médiatrice dans la relation entre le déséquilibre efforts/récompenses et la consommation de substances psychotropes.

Commentaire

L'étude de Lavigne et Bourbonnais (2010) fait partie des très rares recherches à avoir pu recueillir des données relatives à la consommation de substances psychotropes déclarée dans un milieu professionnel relativement peu accessible qui est celui des personnels de l'administration pénitentiaire. Ce travail attire l'attention sur les conséquences encore mal connues du déséquilibre que perçoivent les employés entre les efforts qu'ils fournissent dans leur travail et les récompenses qu'ils en retirent sur l'adoption de comportements à risque comme la consommation de substances psychotropes dans le cas présent. Par ailleurs, le fait d'exercer le métier de gardien de prison à mi-temps à un effet « protecteur » sur les personnes du fait d'une moindre exposition à des facteurs de risque psychosociaux. Cela en dit long sur l'impact que peuvent avoir les conditions de travail dans ce type de milieu professionnel bien particulier sur la santé mentale des employés.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Les trois recherches empiriques sélectionnées pour cette note, en ciblant des thématiques encore relativement peu explorées par les chercheurs, contribuent toutes trois à une meilleure compréhension des facteurs et des processus psychologiques qui peuvent expliquer la souffrance (physique ou mentale) des employés et son évolution. Ces travaux montrent que si cette souffrance au travail est fonction de certains environnements professionnels plus anxiogènes/stressants que d'autres elle dépend aussi des ressources individuelles que réussissent à mobiliser les employés exposés au stress. Lorsque les stratégies d'adaptation visant à palier cette souffrance ne suffisent plus, on voit comment certains facteurs amènent les employés à recourir à la consommation de substances psychoactives tel que l'alcool ou certains médicaments.

Lexique

- (1) Étude longitudinale: étude qui permet de mesurer un événement chez un groupe d'individus à différents moments dans le temps.

- (2) Burnout ou épuisement professionnel : selon Freudenberger (1974), cité par Laurel, Guéguen et Mouda (2007), le burnout renvoie à « un état de fatigue ou de frustration lié à l'engagement pour une cause, un type de vie ou une relation qui n'a pas apporté la gratification attendue ».
- (3) Névrosisme : le névrosisme est une dimension de personnalité classique intégrée dans la plupart des modèles et notamment celui en 5 facteurs (dit des « Big five »). Le névrosisme rend compte des différences individuelles de prédisposition à construire, à percevoir et à ressentir la réalité comme problématique, menaçante et pénible (soucis, inquiétudes, dévalorisation de soi...) et à ressentir des émotions négatives (peur, honte, colère...).
- (4) Psychotrope : substance qui agit sur le psychisme en modifiant le fonctionnement mental, entraînant des changements dans les perceptions, l'humeur, la conscience, le comportement et diverses fonctions psychologiques et organiques. Le terme psychotrope signifie littéralement « qui agit, qui donne une direction (*trope*) à l'esprit ou au comportement (*psycho*) ». De manière spécifique, un psychotrope réfère aux médicaments utilisés dans le traitement de désordres mentaux, tels les neuroleptiques, les anxiolytiques, etc.

Publications de référence

Freudenberger HJ. Staff burn-out. *J. Soc. Issues.* 1974; 30(1):159-65.
Laurel M, Guéguen N, Mouda F. L'évaluation du burnout de Pines: adaptation et validation en version française de l'instrument *Burnout Measure Short version (BMS-10)*. *Prat. Psychol.* 2007; 13(3):353-64.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Alcohol use, Burnout, Health, Psychotropic use, Work.

Santé physique et psychique, stress et fatigue chronique chez les salariés

Période : avril 2009 à août 2009

Marcel LOUREL*, Arnaud VILLIEUX**, Farida MOUDA* et Maude PALTRIER***

* Université de Rouen – Laboratoire Psychologie et Neurosciences de la Cognition et de l’Affectivité – EA 4306 – Mont-Saint-Aignan

** Korea Transportation Safety Authority – Transportation Safety Research and Education Institute Safety Research Office – Corée

*** Université d’Amiens – Laboratoire de psychologie – Amiens

Mots clés : **Conditions de travail, Fatigue chronique causée par le travail, Santé physique, Santé psychique, Troubles musculo-squelettiques (TMS)**

L’objectif de cette note est de présenter une sélection de travaux ayant pour point commun l’identification de certaines répercussions physiques/psychiques du travail sur le salarié. Face à l’importance des études sur le sujet, il nous a semblé indispensable de circonscrire notre analyse aux atteintes de type troubles musculo-squelettiques (TMS) et celles causées par la fatigue importante liée au travail. Tout d’abord, les travaux **Lin et al. (2009)** seront présentés, puis ceux de **Chang et al. (2009)** et enfin, nous terminerons par l’étude de **Janwantanakul et al. (2009)**.

Inconfort physique et psychologique, stress professionnel dans un échantillon de téléopérateurs (hommes et femmes) dans les centres d’appels à Taiwan

Lin YH, Chen CY, Lu SY. Physical discomfort and psychosocial job stress among male and female operators at telecommunication call centers in Taiwan. *Appl. Ergon.* 2009 ; 40(4):561-8.

Analyse

Conditions de travail chez les télé-conseillers taiwanais
L’étude de **Lin et al. (2009)** permet de découvrir des données importantes ayant trait à un échantillon de 1023 télé-conseillers (155 hommes et 868 femmes) qui exercent leur activité en centres d’appel à Taiwan. Une part considérable des répondants exprime des douleurs au niveau de la gorge (80,3 % des femmes et 63,9 % des hommes), un inconfort lié à la posture causé par des TMS (78,3 % des femmes et 58,7 % des hommes) ainsi que d’importantes douleurs oculaires (75,6 % des femmes et 60,6 % des hommes). Il s’agit là des plaintes le plus souvent rapportées par ces salariés après une journée de travail. En ce qui concerne la souffrance psychique, il apparaît que le facteur de stress au travail le plus couramment manifesté par les téléconseillers correspond aux relations avec les clients difficiles. Les chercheurs montrent également qu’une ancienneté en centre d’appel supérieure à 4 ans est associée significativement ($p < 0,005$) à des douleurs dans toutes régions du corps tant chez les femmes que chez les hommes. De plus, cette étude révèle qu’un niveau élevé de stress perçu chez ces salariés est associé, de manière significative ($p < 0,005$), à une augmentation du risque de troubles pour la santé tels que des acouphènes, de la fatigue oculaire, des TMS, des douleurs dans la gorge ou la voix rauque, une toux chronique, des douleurs dans la poitrine, des ulcères gastroduodénaux ou encore des mictions fréquentes.

Commentaire

Cette étude est intéressante à plus d’un titre. En effet, elle montre que l’exposition du sujet à des contextes spécifiques de travail contribue à une détérioration rapide de l’état de santé (4 ans d’ancienneté). On constate également que l’intensification du travail est hélas ressentie *in situ*. Pour autant, celle-ci est rapportée après une journée de travail. Ce point spécifique questionne d’emblée les débordements de la vie au travail sur la vie privée/familiale et leurs effets sur la conciliation des domaines de vie. Cependant, on peut regretter dans cette étude l’absence de démarche longitudinale. Une approche dynamique aurait permis de mieux cerner le vécu du salarié, ainsi que les stratégies mises en œuvre par ce dernier pour faire face aux contraintes organisationnelles.

Fatigue au travail et symptômes physiques dans une cohorte de salariés des chantiers de construction à haute altitude

Chang FL, Sun YM, Chuang KH et al. Work fatigue and physiological symptoms in different occupations of high-elevation construction workers. *Appl. Ergon.* 2009 ; 40(4):591-6.

Analyse

Fatigue chronique dans une cohorte de travailleurs du bâtiment taiwanais
L’étude de **Chang et al. (2009)** est tout à fait intéressante. En effet, elle examine le lien entre l’exercice du travail et la fatigue physique et psychique auprès d’une cohorte de travailleurs ($n = 302$) qui exercent sur des chantiers de construction à haute altitude (secteur du bâtiment, à une hauteur supérieure à 24 mètres). Selon les sous-groupes de métiers, l’âge des participants

varie entre 28,3 ans (SD: 5) et 51,5 ans (SD: 15,9). Les métiers visés sont, pour les principaux, ceux de la plomberie, de l'électricité, de la fixation d'acier et du bétonnage. Les chercheurs ont utilisé un outil de mesure censé évaluer 30 symptômes de fatigue associés au travail et régulièrement identifiés par les services de santé au travail japonais (the Research Committee on Industrial Fatigue of Japan Society for Occupational Health). Ce questionnaire isole trois grandes familles de troubles liés: 1) à la somnolence/fatigue physique; 2) à la concentration et à la fatigue psychique; 3) aux déficiences physiques. Les données montrent que les principaux symptômes de fatigue rapportés par les salariés concernent (à $p < .005$): une sensation de fatigue généralisée du corps, des bouffées de chaleur diffuses, une envie de dormir, des difficultés de concentration, une perte de patience, des douleurs au niveau de la taille/bassin, des spasmes des paupières, le sentiment d'avoir soif et d'avoir la voix rauque.

Commentaire

Bien sûr dans cette étude, on retrouve un ensemble de symptômes régulièrement décrits dans la littérature scientifique. On pourrait reprocher à cette étude de se situer dans une lignée trop traditionnelle de l'analyse en santé au travail. Pour autant, le travail est intéressant car il éclaire une catégorie de salariés relativement peu étudiée d'un point de vue scientifique. Cette lacune doit être soulignée à l'heure où des questions lancinantes et d'actualité font état de la pénibilité de certaines professions.

Facteurs biopsychosociaux et prévalence des TMS des membres inférieurs dans un échantillon d'employés de bureau

Janwantanakul P, Pensri P, Jiamjarasrangsi W *et al.* Biopsychosocial Factors Are Associated with High Prevalence of Self-reported Musculoskeletal Symptoms in the Lower Extremities Among Office Workers. *Arch. Med. Res.* 2009; 40(3):216-22.

Analyse

TMS chez les employés de bureau thaïlandais
L'étude de Janwantanakul *et al.* (2009) est intéressante dans la mesure où elle s'intéresse à des employés de bureau, population relativement peu étudiée. L'originalité de cette étude réside dans le fait qu'elle examine la relation entre la prévalence des TMS des membres inférieurs (hanche, genou, cheville, pied) liés au travail avec certains facteurs physiques et psychosociaux. Pour cela, un échantillon de 2 000 employés de bureau issu de 54 entreprises différentes à Bangkok (Thaïlande) a été contacté par l'intermédiaire du service national de sécurité sociale. Sur un total de 1428 questionnaires revenus, 1185 ont pu être exploités par les chercheurs (taux de retour: 71%; 378 hommes et 807 femmes; âge moyen: 35,2 ans, SD: 8.4). Les auteurs montrent, à l'aide d'une régression logistique, que les exigences mentales et la répétitivité du travail sont significativement liées (à $p < .005$) à des symptômes au niveau de la hanche. Ils rapportent également une liaison significative (à $p < .005$) entre la prévalence de douleurs au genou et le nombre

d'heures de travail par jour, l'altération du sommeil, l'environnement physique de travail (air conditionné dans les bureaux). La perception, par le salarié, d'une mauvaise ergonomie du bureau (taille des espaces de travail) est associée à des troubles du sommeil, de la frustration au cours des 4 semaines précédentes et à la prévalence de symptômes au niveau de la cheville/pied (à $p < .005$).

Commentaire

Peu d'études s'attellent à cette population et le corpus des travaux est timide en matière d'analyse de la prévalence des TMS des membres inférieurs. Bien sûr, on peut reprocher à cette étude son caractère un peu statique. Par exemple, il eut été intéressant de procéder à des comparaisons intra-groupes. Les caractères et la taille de l'échantillon s'y prêtaient. Cependant, le travail présenté par Janwantanakul *et al.* (2009) est pertinent dans la mesure où il est à large spectre. Cette étude démontre que la répétitivité des tâches altère de manière significative des zones corporelles, qui, de prime abord, semblent peu sollicitées par cet échantillon. Elle plaide donc pour une prise en compte globale de la santé du salarié. C'est le cas l'approche ergonomique. Dans ce sens, il importe de mettre l'accent sur les initiatives et les prises de conscience institutionnelle notamment en matière d'amélioration du poste de travail.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Cette note avait pour objectif de pointer certaines atteintes en matière de santé dans des populations relativement peu investiguées. Il est clair que ces trois études démontrent avec force, que le travail réalisé par le salarié tant dans le secteur tertiaire (bureautique/relation client à distance) que secondaire (bâtiment) altère sévèrement, et durablement la santé physique et psychique de l'individu. Ces études questionnent la nature du travail réel et du travail prescrit autrement dit, ce qui doit être fait et ce qui est réellement effectué par l'acteur. Par exemple pour Clot (1999), la souffrance vécue par le salarié survient lorsque l'activité de travail ou le développement du salarié sont bridés. Plus largement, ces travaux posent donc la question du sens accordé au travail par le salarié et de la possibilité, pour lui, d'y développer des habilités et des compétences susceptibles de renforcer son pouvoir d'agir. Les travaux sélectionnés dans cette note attirent notre attention sur la nécessité absolue de repenser la nature du travail dans l'intérêt du salarié.

Publication de référence

Clot Y. La fonction psychologique du travail. Paris: PUF.1999.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Health complaints, Musculoskeletal symptoms, Workplace.

Effets de la conciliation entre la vie au travail et la vie privée/familiale

Période : avril 2009 à août 2009

Marcel LOUREL*, Farida MOUDA*, Arnaud VILLIEUX** et Aude CONTAMINE de LATOUR***

* Université de Rouen – Laboratoire Psychologie et Neurosciences de la Cognition et de l’Affectivité – EA 4306
Mont-Saint-Aignan

** Korea Transportation Safety Authority – Transportation Safety Research and Education Institute Safety
Research Office – Corée

*** Université de Rouen – Mont-Saint-Aignan

Mots clés : **Conciliation des domaines de vie, Méta-analyse, Relations au travail, Vie au travail/Vie hors travail, Vie familiale**

L’objectif de cette note est de mettre en avant un aspect de la relation sociale au travail relativement novateur. Il s’agit des modalités de la relation entre la vie au travail et hors travail de l’individu. Même si cette problématique est très développée outre-Atlantique (Lourel, 2009), il n’en est pas de même en France. C’est pourquoi il nous a semblé pertinent d’adopter une perspective large par l’entremise de deux méta-analyses denses et de haute qualité scientifique.

Présentation de plusieurs modèles et examen critique des liens entre domaines de vie au travail et hors travail

Michel JS, Mitchelson JK, Kotrba LM *et al.* A comparative test of work-family conflict models and critical examination of work-family linkages. *J. Vocat. Behav.* 2009; 74(2):199-218.

Analyse

Michel *et al.* (2009a) présentent une méta-analyse ou revue quantitative de la littérature qui couvre une période de 20 ans de recherches sur les relations entre vie au travail et vie hors travail. L’objectif de cette étude est de comprendre quelles sont les variables susceptibles d’expliquer le lien entre vie au travail, vie hors travail et trois types de satisfaction : professionnelle, familiale et de vie. Les bases de données exploitées sont ABI/INFORM, PsychINFO ainsi que Dissertation Abstracts, connues pour leur recensement des travaux et publications scientifiques en sciences humaines et sociales. Cette méta-analyse intègre 211 études avec 263 échantillons et une taille de l’effet « effect size⁽¹⁾ » de l’ordre de 2060. Une série d’analyses par régressions a été pratiquée afin d’obtenir le meilleur modèle explicatif de la relation entre vie au travail et vie hors travail.

Le modèle en question permet d’identifier et d’agrèger un corpus de treize variables : 1 et 2) conflit et ambiguïté des rôles au travail ; 3) l’engagement au travail ; 4 et 5) conflit et ambiguïté des rôles familiaux ; 6) l’engagement familial ; 7) exigences du travail ; 8) exigences familiales 9) interférences de la vie au travail sur la vie privée/familiale (VT/VP-F) ; 10) interférences de la vie privée/familiale sur la vie au travail (VP-F/VT) ; 11) la satisfaction au travail ; 12) la satisfaction au niveau de la vie familiale et enfin 13) la satisfaction de vie.

D’un point de vue statistique, il semble que le meilleur modèle soit

celui qui fait l’hypothèse que VT/VP-F et VP-F/VT font la jonction entre les variables 1-8 et les variables 11-13 ci-dessus. Autrement dit, les interférences vie privée/familiale sur la vie au travail et inversement relient statistiquement et significativement les groupes de variables 1-8 et 11-13 ($X^2(20) = 272,42$, $GFI^{(2)} = .98$, $CFI^{(3)} = .97$, $NFI = .97$, $RMSEA^{(4)} = .08$ pour $n = 2119$). L’importance de ce résultat réside dans la haute signification (d’un point de vue mathématique) du modèle statistique éprouvé par les chercheurs. Les liaisons observées sont donc dues à autre chose que le simple « fait du hasard ».

Ce modèle (liaisons marquées significativement à $p < 0,05$) montre que le conflit des rôles au travail prédit VT/VP-F ($b = 0,20$) et la satisfaction au travail ($b = -0,16$), le conflit des rôles⁽⁵⁾ familiaux prédit VP-F/VT ($b = 0,13$) et dans une moindre mesure la satisfaction familiale ($b = -0,28$). Ces résultats statistiques illustrent le fait que les conflits de rôles affectent directement et significativement la satisfaction au travail et celle liée à la vie familiale. On constate que l’engagement au travail et l’engagement familial prédisent très faiblement VT/VP-F et VP-F/VT (respectivement : $b = 0,05$ n. s et $b = 0,02$ n. s). Ce résultat statistique signifie que l’engagement de l’individu vis-à-vis de son travail ou de sa famille, n’est pas un facteur explicatif des interférences entre les sphères de vie. L’ambiguïté des rôles au travail modère la satisfaction au travail ($b = -0,28$) et entretient une relation très faible avec VT/VP-F ($b = 0,06$, n. s). Autrement dit, l’ambiguïté des rôles au travail est à l’origine de l’insatisfaction au travail qui est exprimée par le salarié. Les exigences du travail prédisent VT-VP/F ($b = 0,20$) mais pas la satisfaction professionnelle ($b = 0,06$ n. s). L’ambiguïté des rôles familiaux est reliée à VP-F/VT ($b = 0,19$) et à la satisfaction familiale ($b = -0,14$). Dans l’ensemble, ce modèle est puissant dans mesure où il explique 40 % de la variance imputable à la variable « satisfaction au travail », 38 % au niveau de la satisfaction

familiale et 35 % de la satisfaction de vie.

Commentaire

Ce travail consistant démontre le lien entre satisfaction et interférences entre les domaines de vie. Le principal apport de cette étude réside dans le fait qu'elle couvre 20 ans de travaux scientifiques et touche plus de 200 études. Les rédacteurs de la note s'accordent à dire qu'il est difficile de critiquer un travail d'aussi bonne qualité. Il est possible d'affirmer que cette revue quantitative de la littérature est hautement fiable d'un point de vue scientifique. Rares sont les méta-analyses qui traitent de cette problématique. Cette étude est originale, riche d'enseignements et mérite donc une attention particulière de la part des lecteurs concernés par la gestion des temps de vie.

Une étude à propos des relations entre le soutien social⁽⁶⁾ et le conflit et l'ambiguïté des rôles sociaux

Michel JS, Mitchelson JK, Pichler S *et al.* Clarifying relationships among work and family social support, stressors, and work-family conflict. *J. Vocat. Behav.* 2010; 76(1):91-4.

Analyse

L'étude de Michel *et al.* (2009b) a pour objectif d'analyser les relations entre VP-F/VT, VT/VP-F, le conflit et l'ambiguïté de rôles (au travail et familiaux), les exigences de temps et le soutien social de nature professionnelle ou familiale. Elle repose sur un corpus de 129 études et 156 échantillons et une taille de l'effet de l'ordre de 528 (bases de données exploitées : ABI/INFORM, PsychINFO). Les chercheurs ont utilisé la technique des équations structurales afin d'estimer la puissance de deux modèles explicatifs : 1) l'un concerne les variables susceptibles d'expliquer les interférences vie au travail/vie privée-familiale (VT/VP-F) ; 2) l'autre celles censées expliquer les interférences vie privée-familiale/vie au travail (VP-F/VT).

Le premier modèle ($\chi^2(2) = 62,32$, $p = 0,001$, $GFI = 1,00$, $CFI = 0,99$, $RMSEA = 0,09$ pour $n = 3922$) indique que l'engagement au travail est fortement et significativement relié aux exigences de temps ($b = .30$, $p < .05$) et dans une moindre mesure au conflit et à l'ambiguïté des rôles (respectivement : $b = .08$, $p < .05$ et $b = -.04$, $p < .05$). Autrement dit, l'engagement du sujet accroît sa perception des exigences liées au travail et réduit celle relative à la survenue du conflit et de l'ambiguïté des rôles occupés. Le soutien social au travail atténue fortement le conflit et l'ambiguïté des rôles au travail (respectivement $b = -.46$, $p < .05$, $b = -.28$, $p < .05$) ainsi que les exigences liées au temps ($b = -.10$, $p < .05$). Ce résultat illustre le fait que le soutien social qui est reçu par l'individu « le protégé » de certains facteurs nocifs tels que conflit et l'ambiguïté des rôles au travail. Le conflit et l'ambiguïté des rôles prédisent VT/VP-F (respectivement $b = .39$, $p < .05$, $b = .03$, $p < .05$), au même titre que les exigences de temps ($b = .21$, $p < .05$). On notera que le conflit des rôles, les exigences liées au temps et l'ambiguïté des rôles expliquent respectivement

20,0 %, 8,6 % et 23,8 % de la variance imputable à la variable VT/VP-F. Dans l'ensemble, le modèle complet explique 23,8 % de la variance de VT/VP-F. La robustesse de ce modèle permet de dire que le conflit et l'ambiguïté des rôles sont à l'origine des interférences entre les sphères de vie privée et professionnelle. Dans le second modèle dont la robustesse est équivalente au premier ($\chi^2(2) = 5,05$, $p = .008$, $GFI = 1,00$, $CFI = .99$, $RMSEA = .04$ pour $n = 1129$), on peut observer que l'engagement du sujet vis-à-vis de sa famille ne semble pas entretenir de significatif avec le conflit des rôles au niveau de la cellule familiale ($b = .02$, $n. s$). Il en va de même avec les exigences de temps familial et l'ambiguïté des rôles familiaux. À ce niveau, on constate que les liaisons statistiques demeurent relativement modestes ($b = .07$, $p < .05$ et $b = -.10$, $p < .05$). Le soutien social de nature familiale n'entretient aucune liaison significative avec le conflit des rôles familiaux ($b = -.03$, $n. s$). En revanche, ce même soutien prédit fortement et négativement la survenue de conflits ou d'ambiguïté des rôles au niveau de la famille (respectivement $b = -.43$, $p < .05$, $b = -.33$, $p < .05$). À l'instar du premier modèle, ces résultats statistiques signifient que le soutien social réduit la prévalence des conflits et de l'ambiguïté des rôles dans la sphère familiale. Le conflit et l'ambiguïté des rôles prédisent une VP-F/VT ($b = .22$, $p < .05$, $b = .24$, $p < .05$), tout comme les exigences liées à la gestion du temps ($b = .10$, $p < .05$). Toutefois, pour cette dernière variable, le poids de la relation statistique est moindre. Dans l'ensemble, le conflit des rôles, les exigences liées à la gestion et l'ambiguïté des rôles expliquent, respectivement, 18, 5 %, 0,5 % et 23,8 % de la variance relative à la variable VP-F/VT. Dans l'ensemble, le modèle complet explique 15,5 % de la variance ayant trait à VP-F/VT.

Commentaire

D'un point de vue général, ce travail nous permet d'affirmer que le conflit et l'ambiguïté sont, au même titre que les exigences liées au temps, des éléments fondamentaux à prendre en considération dans la construction des parcours professionnels. Cette étude nous semble importante dans la mesure où elle est susceptible de mobiliser le lectorat sensible à la gestion des carrières en particulier pour les femmes salariées. Bien sûr, on pourrait reprocher à ce travail son caractère synthétique. En effet, l'une des principales limites de celui-ci réside dans le fait qu'il n'illustre pas les stratégies individuelles et/ou sociales mises en œuvre par les personnes et qui ont pour objet de faire coïncider les différents rôles sociaux occupés par les sujets. Pour autant, l'apport des travaux de Michel *et al.* (2009b) est incontestable. Il nous permet, par l'entremise de deux modèles, de distinguer clairement les effets relatifs de certaines variables tantôt sur la sphère privée, tantôt sur la sphère professionnelle. Il s'agit donc d'une perspective bidirectionnelle de la relation entre les domaines de vie.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Cette note avait pour objectif d'étudier une facette de la relation entre le travail et la sphère privée/familiale. Ces travaux, deux méta-analyses dont la portée est considérable aux plans scientifique et pratique, montrent combien la perméabilité entre les différences sphères de vie peut avoir des répercussions majeures sur les rôles sociaux du sujet. On peut dire que la puissance des méthodes statistiques utilisées et les résultats qui en découlent plaident en faveur d'une implication des acteurs sociaux en matière de gestion des temps de vie. La frontière entre les sphères de vie est mince en particulier chez les salariés soumis à la flexibilité du temps de travail y compris dominical. Cela est d'autant plus marqué dans des populations déjà vulnérables socialement et/ou en situation de monoparentalité. Sans être intrusive, une attention particulière doit être portée aux dispositifs institutionnels en faveur de la conciliation des domaines de vie. Il en va de l'équilibre social, individuel et même organisationnel à l'heure où une dérégulation du temps de travail hebdomadaire est susceptible d'altérer gravement ce fragile équilibre.

Lexique

- (1) Taille de l'effet « effect size » : il s'agit de la différence des moyennes standardisées de deux groupes rapportée sur l'écart-type commun. « Effect size » offre une appréciation de l'importance de la taille de l'effet observé.
- (2) GFI (Goodness of Fit) : cet indice exprime la part de variance/covariance observée et expliquée par le modèle. Sa proximité avec la valeur 1 indique un bon ajustement du modèle théorique au modèle empirique. Il est peu sensible à la taille de l'échantillon. Toutefois, il est sensible à la complexité du modèle éprouvé par le chercheur.
- (3) CFI (Comparative Fit Index) : il permet de comparer l'ajustement du modèle empirique au modèle théorique dans une situation où il n'existe pas de covariance entre les variables. Plus sa valeur est proche de 1, meilleur est l'ajustement.
- (4) RMSEA (Root Mean Square Error of Approximation) : cet indice permet d'estimer la proximité entre la matrice théorique et la matrice observée. Plus sa valeur est proche de zéro, meilleur est l'ajustement des modèles de mesure des données.
- (5) Conflit des rôles : « les pressions simultanées et opposées entre la sphère privée et la sphère professionnelle affectent l'équilibre de l'individu de sorte que les difficultés à participer au rôle familial ou au rôle professionnel sont causées par la participation à l'autre rôle. » (Lourel, 2008 ; p. 64).

- (6) Soutien social : « il s'agit d'un concept multidimensionnel qui réfère aux caractéristiques et aux fonctions des relations sociales ; aux ressources matérielles et psychologiques disponibles pour les individus au travers de leurs relations interpersonnelles » (Rodriguez et Cohen, 1998, p. 535).

Revue de la littérature

Lourel M. La conciliation des domaines de vie privée-vie professionnelle. *Pratiques Psychologiques*. 2009 ; 15(2):151-53.

Publications de référence

Lourel M. Domaines de vie au travail, hors travail et parcours de vie de l'individu : Une approche psychosociale de la santé. Habilitation à Diriger des Recherches. Université Nancy 2. 2008 ; 64.

Rodriguez M, Cohen S. Social support. In H. Friedman (Ed.), *Encyclopedia of Mental Health*. New York: Academic Press. 2008 ; 535.

Mots clés utilisés pour la recherche bibliographique

Interférences vie au travail, vie privée/familiale, Méta-analyse.

Le Bulletin de veille scientifique Santé / Environnement / Travail
Spécial Rencontres scientifiques est réalisé avec

ADEME



Agence de l'Environnement
et de la Maîtrise de l'Énergie



Agence française de sécurité sanitaire
des produits de santé



Sciences, eaux & territoires



le futur en construction



ÉCOLE DES HAUTES ÉTUDES
DE SANTÉ PUBLIQUE
EHESP



École nationale vétérinaire d'Alfort



Ifremer



INSTITUT
NATIONAL
DU CANCER



INRS
Institut National de Recherche et de Sécurité



INRA



INERIS



INSTITUT
DE RADIOPROTECTION
ET DE SÛRETÉ NUCLÉAIRE



INVS
INSTITUT
DE VEILLE SANITAIRE



RSEIN

Collège
des enseignants
de médecine
du travail



Collège
universitaire
des enseignants
de santé publique (CUESP)



Agence nationale de sécurité sanitaire
de l'alimentation, de l'environnement et du travail
27-31 avenue du général Leclerc
94701 Maisons-Alfort Cedex
www.anses.fr