

Exposition à des particules virales aéroportées potentiellement pathogènes dans des abattoirs et dans la filière du tri des déchets

Période : septembre 2013 à novembre 2013

Anne OPPLIGER | Anne.Opliger@hospvd.ch

Institut universitaire romand de Santé au Travail, Université de Lausanne – Epalinges-Lausanne – Suisse

Mots clés : Adénovirus, Entérovirus, Exposition professionnelle, Métagénomique, Norovirus, Papillomavirus, Polyomavirus, Rotavirus, Torque teno virus, Virus aéroporté

La caractérisation de l'exposition à des bioaérosols dans différents secteurs de travail a, durant de nombreuses années, été documentée principalement pour les microorganismes cultivables tels que les bactéries et les champignons. Puis, le développement des méthodes moléculaires d'analyse de l'ADN par amplification de séquences spécifiques ou universelles par PCR⁽¹⁾ a permis une caractérisation beaucoup plus réaliste des expositions en tenant compte, non seulement des bactéries et champignons cultivables, mais aussi des non-cultivables qui représentent l'immense majorité des microorganismes totaux présents dans l'air. Ainsi, depuis une dizaine d'années, nos connaissances sur les communautés bactériennes et fongiques aéroportées se sont élargies (1). Aujourd'hui, une nouvelle avancée est faite, grâce à la métagénomique⁽²⁾ qui permet d'identifier (après ou non amplification de l'ADN total) une grande part des séquences d'ADN présentes dans un environnement (2). L'utilisation de la PCR⁽¹⁾ et/ou de la métagénomique⁽²⁾, dans le domaine de la santé au travail, s'est jusqu'à présent limitée à la caractérisation de l'exposition aux bactéries et champignons laissant de côté les virus. Cependant, il s'avère que beaucoup de virus pathogènes se transmettent par voie aérienne et qu'un grand nombre de travailleurs manipulent des matières pouvant être contaminées. C'est le cas des employés des abattoirs, potentiellement exposés à des virus zoonotiques⁽³⁾ et des employés d'usines de tri des déchets ménagers solides. Cette note décrit deux études qui ont évalué, pour la première fois dans ces secteurs de travail, l'exposition professionnelle à des particules virales, la première en utilisant la métagénomique⁽²⁾ et la seconde en utilisant les méthodes PCR⁽¹⁾ classiques.

Détection de virus, par analyses métagénomiques, dans des prélèvements personnels de travailleurs des abattoirs

Hall RJ, Leblanc-Maridor M, Wang J, Ren X, Moore NE, Brooks CR, Peacey M, Douwes J, McLean DJ. Metagenomic detection of viruses in aerosol samples from workers in animal slaughterhouses. *PLOS One* 2013;8(8):e72226.

Résumé

Cette étude a été menée dans des abattoirs de bovins et d'ovins en Nouvelle-Zélande. Le but était de caractériser le profil des organismes aéroportés, y compris les virus, présents dans 18 prélèvements personnels⁽⁴⁾ effectués sur neuf travailleurs d'un abattoir de bovins et neuf travailleurs d'un abattoir d'ovins. Après extraction des acides nucléiques des prélèvements et une rétrotranscription (supposée car non décrite dans l'article) des ARN viraux en ADN, un mélange d'ADN constitué d'une fraction de chacun des 9 prélèvements « bovins » est réalisé afin d'obtenir une quantité d'ADN suffisante pour faire des analyses de séquençage à haut débit⁽⁵⁾. La même opération est effectuée pour les neuf prélèvements « ovins » pour n'obtenir au final que deux

résultats globaux de métagénomiques (1 métagénome « bovin » et 1 métagénome « ovin »). Puis, deux des virus identifiés dans ces métagénomiques ont été recherchés spécifiquement à l'aide d'analyses PCR⁽¹⁾ dans chacun des 18 prélèvements. Les résultats ont montré que la majorité des séquences d'ADN prélevées n'ont pu être assignées à un taxon (> 70% des séquences non-assignées). Parmi les séquences appartenant aux métazoaires (22 % des séquences), de l'ADN spécifique aux cellules bovines, ovines et humaines ont été retrouvées dans les deux métagénomiques avec une forte prédominance de l'ADN bovin (environ 50 %) même au sein de l'abattoir ovin. L'ADN de bactéries, de champignons et de virus était présent en plus grande proportion dans l'abattoir des bovins que celui des ovins (8 % contre 0,3 % des ADN totaux) avec une forte prédominance d'ADN bactérien (7,4 % et 0,27 %). Ainsi, l'ADN viral ne représentait que 0,005 % des ADN totaux des deux métagénomiques.

Parmi ces séquences virales répertoriées dans l'abattoir des bovins, la plus grande partie appartenait à des bactériophages (38 séquences de bactériophages, 8 de virus humain du papillome⁽⁶⁾ et 6 de virus du polyome WU⁽⁷⁾). Alors que dans l'abattoir des ovins, les rétrovirus⁽⁸⁾ étaient

majoritaires (123 séquences de rétrovirus d'origine inconnue et 22 bactériophages).

La recherche spécifique des virus du papillome 120⁽⁶⁾ et du polyome WU⁽⁷⁾ dans les 18 prélèvements personnels a montré que, respectivement 3 et 2 prélèvements du secteur bovin étaient contaminés.

La présence d'ADN bovin et ovin dans les prélèvements d'air est expliquée par le grand nombre de manipulations engendrant une aérosolisation de liquide biologique animal. La présence d'ADN humain est expliquée par le processus de prélèvement d'air qui échantillonne une partie de l'air exhalé par les travailleurs.

Commentaire

Le point fort de cette étude est l'utilisation d'une méthodologie de pointe qui est supposée pouvoir décrire la communauté virale aéroportée et plus spécifiquement l'exposition professionnelle à des virus. Malheureusement, les résultats obtenus sont décevants puisqu'aucun virus d'origine animale n'a été mis en évidence. Plusieurs faiblesses méthodologiques sont à souligner :

1) La mise en commun de tous les prélèvements personnels pour les analyses métagénomiques n'est pas optimale car toute l'information des expositions individuelles est alors perdue. Une augmentation des débits d'air prélevés ou des durées de prélèvements auraient sans doute pallié ce problème de quantité d'ADN insuffisante pour procéder aux analyses moléculaires.

2) L'absence de prélèvements issus d'une population contrôle, non exposée aux carcasses d'animaux, ne permet pas d'affirmer que les virus identifiés sont spécifiques à ce secteur de travail. En revanche, le fait de retrouver dans les prélèvements entre 11 et 16 % d'ADN humain, issu certainement de l'air exhalé ou de squames des travailleurs est intéressant. En effet, cela implique que dans ce genre d'études, les résultats des mesures de l'exposition incluent toujours une partie des microorganismes générés par les travailleurs eux-mêmes.

En résumé, cette étude met en évidence les limites et les problèmes méthodologiques de la métagénomique. Par exemple, il ressort qu'il est très difficile de retrouver précisément tous les génomes contenus dans un métagénome. De plus, la quantité d'ADN/ARN nécessaire est assez élevée, ce qui limite l'utilisation de cette approche à l'étude de milieux très contaminés.

Exposition professionnelle à des virus dans les usines de traitement des déchets solides

Carducci A, Federigi I, Verani M. Virus occupational exposure in solid waste processing facilities. *Ann Occup Hyg* 2013;57(9):1115-27.

Résumé

Cette étude, menée en Italie, avait pour objectif de déterminer l'exposition des employés manipulant des déchets solides, à cinq virus entériques spécifiques. Les torque teno virus⁽⁸⁾ (TTV), adénovirus humain (AdV), norovirus, rotavirus et enterovirus ont été recherchés par analyses PCR⁽⁹⁾ dans 46 prélèvements d'air et 37 prélèvements de surface. Ces 5 virus ont été choisis car ils sont

transmis par voie féco-orale. Différents points d'échantillonnage ont été choisis : dans une décharge (11 prélèvements d'air (PA) et 6 prélèvements de surface (PS)), dans une usine de recyclage (4 PA et 2 PS), une usine d'incinération (5 PA et 4 PS) et 6 prélèvements d'air contrôles. Les prélèvements ont été faits en 3 échantillons, en hiver et en été. Treize prélèvements de surface ont aussi été faits dans la cabine d'un véhicule de terrain en hiver uniquement. La viabilité des AdV a été ensuite testée sur des cultures de cellules. Les résultats principaux ont montré que 30 % des échantillons d'air et 13,5 % des échantillons de surface contenaient de l'AdV et/ou du TTV. Parmi les 12 échantillons d'air positifs, 5 étaient contaminés par du AdV, 6 par du TTV et 1 par les deux virus alors que 3 et 2 échantillons de surface étaient contaminés respectivement par du TTV et de l'AdV. La viabilité de l'AdV a pu être mise en évidence pour 6 des 8 échantillons positifs. La plupart des échantillons positifs étaient ceux de la décharge, où des différences saisonnières ont été observées avec la présence de TTV uniquement en été, et celle d'AdV principalement en hiver. Il est à noter que, dans l'usine d'incinération, aucun prélèvement d'air n'était positif et que seul un échantillon de surface était contaminé par les deux virus.

Commentaire

Les résultats de cette étude sont très intéressants car ils montrent que les travailleurs manipulant des déchets, principalement dans une décharge et, dans une moindre mesure, dans une usine de recyclage, sont effectivement exposés à des virus pathogènes viables que ce soit par inhalation ou par contact avec des surfaces contaminées. Parmi les deux virus isolés, les AdV, selon leur sérotype, peuvent être à l'origine de problèmes respiratoires, de gastroentérites ou de conjonctivites. La pathogénicité des TTV n'est pas clairement établie mais ce virus a été proposé comme indicateur de contamination fécale en raison de sa présence récurrente dans les selles.

La recherche des virus sur les surfaces est un point fort de l'étude, car très souvent, cette voie de contamination n'est pas étudiée. L'autre point fort de l'étude est l'évaluation de la viabilité et donc de l'infectiosité des virus. Ceci prouve que l'ADN viral retrouvé dans l'environnement appartient à des entités capables d'infecter des cellules et démontre aussi, indirectement, l'intérêt des techniques moléculaires beaucoup plus sensibles que les techniques culturales. Ce paramètre est très important pour l'évaluation des risques. Le point faible de l'étude est le nombre de prélèvements relativement restreint qui ne permet pas de généraliser ces observations. Cependant, l'état des lieux effectué est pionnier et montre qu'à l'avenir, les virus devraient faire partie des paramètres biologiques mesurés pour évaluer les risques sanitaires professionnels.

CONCLUSION GÉNÉRALE

Ces deux études avaient le même objectif, celui d'évaluer l'exposition professionnelle aux particules virales. En raison du choix de la méthodologie, seule la deuxième étude a atteint cet objectif et pu, non seulement, mettre en évidence des concentrations non négligeables de deux virus potentiellement pathogènes pour l'homme, mais a aussi testé la viabilité de l'un d'eux. L'approche métagénomique² utilisée dans l'autre étude n'a pas permis de mettre en évidence des virus spécifiques aux animaux. La recherche ciblée de ces virus par PCR⁽¹⁾ aurait sans doute été plus pertinente. Cependant, l'étude du métagénome viral aéroparté reste nécessaire pour comprendre l'écologie des communautés de microorganismes dans divers secteurs de travail. De plus, elle permettra de mieux comprendre le rôle des virus dans les pathologies respiratoires dont beaucoup restent d'étiologie inconnue.

GENERAL CONCLUSION

The aim of these two studies was to assess the occupational exposure to viruses. Due to the choice of the methodology, only one of them reached this goal and revealed a significant airborne level of two potentially pathogenic viruses. Moreover, infectivity of one of them was tested and confirmed. The metagenomic approach used in the other study did not allow evidence of animal associated viruses. The detection of specific viruses by PCR would have been more relevant. However, studies of airborne viral metagenome remain necessary to understand the ecology of the communities of microorganisms in various occupational sectors. Furthermore, this technique will enable better understanding of the role of viruses in respiratory diseases, many of which remain of unknown etiology.

Lexique

- (1) PCR: La PCR (Réaction en Chaîne par Polymérase) est une méthode qui permet d'amplifier (de multiplier) un petit fragment d'ADN afin de le mettre en évidence ou de le quantifier. Le processus peut s'appliquer pour amplifier une séquence d'ADN conservée au sein d'un taxon (on utilise alors des amorces dites universelles) ou pour amplifier une séquence spécifique à une espèce définie.
- (2) Métagénomique: La métagénomique vise à caractériser le contenu génétique d'un échantillon issu d'un environnement naturel complexe (air, dans le cas précis). Le séquençage direct de l'ADN présent dans l'échantillon permet de connaître le nombre et l'abondance de tous les génomes de l'échantillon.

- (3) Virus zoonotique: Virus pouvant se transmettre de l'animal à l'homme (virus de la grippe aviaire, par exemple).
- (4) Prélèvement personnel: En hygiène du travail, les prélèvements de polluants ou contaminants aéropartés se font à l'aide de filtres placés dans des petites cassettes attachées au col du vêtement du travailleur et prélevant l'air dans sa zone de respiration. Ces cassettes sont reliées à des petites pompes portables attachées à une ceinture. Ceci permet d'estimer l'exposition des travailleurs de manière beaucoup plus fiable qu'avec des prélèvements en poste fixes.
- (5) Séquençage à haut débit: Les méthodes de séquençage à haut débit (ou pyroséquençage ou séquençage de nouvelle génération) permettent de séquencer tous les fragments d'ADN présents dans un échantillon. Ces analyses génèrent beaucoup de données dont l'exploitation bioinformatique nécessite une grande expérience.
- (6) Virus du Papillome: Le virus du papillome humain (ou papillomavirus) cause des infections de la peau (verruces), des muqueuses ou des voies génitales. Il en existe plus de 120 types. Certains types peuvent provoquer un cancer du col de l'utérus, du vagin, de l'anus, de la bouche et de la gorge.
- (7) Virus du polyome WU: Virus découvert récemment dans les voies respiratoires d'enfants et qui est excrété dans les matières fécales. La pathogénicité de ce virus n'est pas clairement démontrée.
- (8) Torque teno virus: Virus humain dont la voie de transmission n'est pas clairement établie (liquide biologique, aérosols, voie féco-orale) et dont la pathogénicité n'est pas démontrée. Il se pourrait que les infections liées à ce virus soient asymptomatiques.

Publications de référence

- (1) Peccia J, Hernandez M. Incorporating polymerase chain reaction-based identification, population characterization, and quantification of microorganisms into aerosol science: A review. *Atm Env* 2006;40:3941-61.
- (2) Roux S, Debros D, Enault F, et al. Application of metagenomic approaches to the study of environmental viral diversity. *Virologie* 2013;17(4):229-42.

Autres publications identifiées

Madsen AM, Tendal K, Thilsing T, et al. Fungi, beta-glucan and bacteria in nasal lavage of greenhouse workers and their relation to occupational exposure. *Ann Occup Hyg* 2013;57(8):1030-40. *Étude très intéressante qui a utilisé une méthode novatrice de mesure de l'exposition aux bioaérosols par quantification des microorganismes dans les liquides de lavage nasal. Une différence de colonisation en fonction du sexe des travailleurs a été mise en évidence.*

Veillette M, Knibbs LD, Pelletier A, et al. Microbial contents of vacuum cleaner bag dust and emitted bioaerosols and their

implications for human exposure indoors. *Appl Environ Microbiol* 2013;**79**(29):6331-6.

Cette étude, très originale, a investigué, pour la première fois, les bioaérosols générés par les aspirateurs à poussière. Plusieurs types d'aspirateurs ont été testés et il ressort que certains remettent en suspension des quantités non-négligeables de microorganismes.

Dahlman-Hoglund A, Renstrom A, Acevedo F, et al. Exposure to parvalbumin allergen and aerosols among herring processing workers. *Ann Occup Hyg* 2013;**57**(8):1020-9

Le développement d'une méthode analytique pour mesurer les allergènes de hareng dans l'air d'usines de conditionnement a permis de mettre en évidence une forte exposition des travailleurs.

Basinas I, Schlunssen V, Takai H, et al. Exposure to inhalable dust and endotoxin among danish pig farmers affected by work tasks and stable characteristics. *Ann Occup Hyg* 2013;**57**(8):1005-19.

Le but de cette étude était d'identifier les caractéristiques des installations et les tâches professionnelles les plus exposantes à des poussières organiques et à des endotoxines dans des élevages de porcs. L'utilisation de méthodes statistiques pointues a permis de déterminer précisément les déterminants des expositions.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent :

- n'avoir aucun conflit d'intérêts;
- avoir un ou plusieurs conflits d'intérêts.