

Mémoire de Maîtrise en médecine No 849

Exposition aux endotoxines aéroportées et allergènes dans les animaleries et risques pour la santé

Etudiante

Schwery Marie

Tutrice

Oppliger Anne

Biologiste PD&MER et hygiéniste du travail
Institut universitaire romand de Santé au Travail

Expert

Prof. François Spertini
Service d'immunologie et d'allergie
CHUV

Lausanne, décembre 2014

Table des matières

Abstract	3
1. Introduction	4
<i>Les endotoxines</i>	4
<i>Les allergènes</i>	7
2. Méthodologie	8
<i>Prélèvements des micro-organismes par impaction</i>	8
<i>Prélèvements personnels pour les endotoxines et les allergènes</i>	8
<i>Analyse endotoxines et allergènes</i>	9
<i>Spirométries et questionnaires</i>	9
3. Résultats	10
<i>Bactéries et champignons cultivables</i>	10
<i>Analyse des endotoxines</i>	10
<i>Analyse des allergènes</i>	11
<i>Spirométries et questionnaires</i>	12
4. Discussion	15
<i>Bactéries et champignons cultivables</i>	15
<i>Endotoxines</i>	15
<i>Allergènes</i>	16
<i>Spirométries</i>	17
<i>Questionnaires</i>	18
5. Conclusion	18
6. Bibliographie	20
Annexe 1: questionnaire	22

Abstract

Contexte

L'exposition aux endotoxines peut présenter des effets bénéfiques sur la santé. En effet, plusieurs études démontrent leur importance dans la théorie hygiéniste ainsi que leur effet négatif sur la croissance de certaines tumeurs. Toutefois, dans divers secteurs professionnels, l'environnement de travail favorise la présence d'endotoxines aéroportées et peut exposer le personnel à des risques sanitaires. C'est le cas des animaleries, dans lesquelles les bactéries gram négatives présentes dans les excréments d'animaux favorisent des concentrations élevées d'endotoxines.

Associées à la présence d'allergènes, les endotoxines peuvent avoir un effet important sur la santé des travailleurs lors d'exposition de courte ou de longue durée.

Dans ce contexte, il paraît important de mesurer les concentrations d'endotoxines et d'allergènes pour permettre d'évaluer les risques d'une telle exposition professionnelle.

Objectifs

L'objectif de ce travail est d'estimer le niveau d'exposition du personnel des animaleries aux endotoxines aéroportées et allergènes, ainsi que de déterminer leurs divers effets sur la santé des travailleurs.

Méthodes

Deux séries de prélèvements seront réalisés au sein d'animaleries du canton de Vaud et permettront l'évaluation de l'exposition aux allergènes et aux endotoxines des travailleurs. Des prélèvements personnels (2 x 10 prélèvements) de 4 heures réalisés à l'aide de cassettes placées dans la zone de respiration des travailleurs seront effectués ainsi que des prélèvements de plus courte durée en poste fixe. La concentration des endotoxines et le dosage des allergènes seront ensuite analysés en laboratoire.

Un questionnaire médical ainsi que des tests de spirométrie seront effectués pour déterminer les divers effets de l'exposition professionnelle aux endotoxines et allergènes sur la santé.

Résultats escomptés

Déterminer ou exclure un lien entre les symptômes et divers facteurs comme des concentrations élevées d'endotoxines et allergènes, des expositions répétées, une longue durée d'exposition ainsi que l'influence de certains éléments comme l'âge, le sexe, le tabagisme...

Mots clés : Endotoxine, allergène, bioaérosol, allergie, spirométrie.

1. Introduction

Les individus travaillant dans les animaleries sont exposés quotidiennement à divers risques professionnels. En effet, l'exposition à des allergènes de rats et de souris, notamment présents dans l'urine des rongeurs, peut conduire à l'apparition d'allergies. De plus, les endotoxines présentes dans les excréments peuvent provoquer diverses réactions chez le personnel.

Les endotoxines

Les endotoxines sont des composants de la paroi des bactéries gram négatives. Elles sont composées d'un lipopolysaccharide (LPS) associé à d'autres composants de la paroi et sont principalement libérées lors de la lyse et de la multiplication des bactéries. Omniprésentes dans l'environnement, les bactéries se multiplient rapidement lorsque de la matière organique est présente. Les endotoxines sont solubles dans l'eau et résistantes à de nombreux agents physiques et chimiques (1). Elles sont également très résistantes à la chaleur : il est nécessaire de les exposer à des températures de 126°C pendant 7 heures ou de 145°C pendant 30 minutes dans le contexte de chaleur humide pour les détruire (1). En cas de chaleur sèche un traitement thermique de 170°C pendant 7 heures ou de 250°C pendant 30 minutes est recommandé (1).

L'exposition aux endotoxines dans le milieu du travail par voie aéroportée touche divers secteurs professionnels. Au sein des animaleries, les « animaliers » ou gardiens d'animaux ainsi que les techniciens travaillant dans les laveries peuvent être exposés à ces dernières. En effet, les bactéries gram négatives qui libèrent des endotoxines sont présentes en forte concentration dans les excréments d'animaux. Cependant, il est important de tenir en compte que la quantité d'excréments ne reflète pas forcément la concentration d'endotoxines aéroportées. Cette dernière dépend non seulement de la masse bactérienne mais également de l'agitation du milieu qui va créer des particules d'origine biologiques en suspension dans l'air que l'on appelle bioaérosols (2).

Les actions des endotoxines sur la santé sont principalement des atteintes respiratoires (2). Lorsque les gardiens d'animaux et les techniciens inhalent des endotoxines cela peut déclencher diverses réactions. L'exposition par voies aériennes est moins bien connue que l'injection de LPS par voie intraveineuse. De plus, les concentrations nécessaires pour l'apparition de symptômes sont 6 à 8 fois supérieures lors d'inhalation que lors d'injection (3-4).

Plusieurs moyens de défense sont présents au niveau des voies aériennes. Les cils ainsi que le mucus des voies aériennes supérieures forment une première barrière physique à l'entrée des endotoxines. Cependant, lorsque des endotoxines parviennent à atteindre les alvéoles, le surfactant joue un rôle important dans leur reconnaissance. Ce dernier est principalement composé de lipides et de protéines produites par les pneumocytes alvéolaires de type 2. Le SP-A et SP-D (surfactant proteins A et D) sont des protéines hydrophiles qui reconnaissent et fixent les phospholipides et les LPS. Le SP-C reconnaît également le LPS mais est hydrophobe. Une fois liée aux protéines du surfactant, le LPS va activer des récepteurs spécifiques au niveau des macrophages alvéolaires et des pneumocytes type 2. La liaison ligand-récepteur va influencer l'état d'activation cellulaire ainsi que le signaling par les macrophages (3-4).

Si le LPS est présent en grande quantité dans les alvéoles, les protéines du surfactant ne peuvent pas toutes les lier, les LPS ont alors un effet direct sur les cellules alvéolaires. Le LPS binding protein (LBP), présent dans le surfactant et appartenant à l'immunité innée, fixe alors le LPS et vient se lier au récepteur de surface des macrophages alvéolaires CD14 qui va former un complexe avec le corécepteur membranaire MD2 et toll-like receptor 4 (TLR4) (4-5). La dimérisation du récepteur transmembranaire TLR4 va initier une cascade de signaux

qui va déclencher une réaction inflammatoire via la sécrétion de cytokines et d'interleukines (IL) ainsi qu'en activant la sécrétion de chémokines par les pneumocytes de type 2 (4-5). Les cytokines suivantes sont sécrétées :

- Pro-inflammatoires : IL-1 β , IL-6, IL-8 (responsable du recrutement de neutrophiles), tumor necrosis factor alpha (TNF- α), macrophage inflammatory proteins 1 alpha (MIP-1 α), monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1)
- Anti-inflammatoire : IL-10

Les chémokines sécrétées par les pneumocytes type 2 ont pour effet de recruter des neutrophiles dans le poumon. Ces derniers vont sécréter divers médiateurs (des protéases, des leucotriènes, du monoxyde d'azote (NO) et du reactive oxygen species (ROS)) qui vont contribuer à la diminution de la qualité du surfactant ainsi qu'à des lésions de la barrière alvéolo-capillaire (4). Ce phénomène est renforcé par la libération de phospholipases A2 type IIA (sPLA2-IIA) par les macrophages alvéolaires, qui a pour effet d'hydrolyser le surfactant et d'altérer la membrane alvéolo-capillaire. Lors de cas extrêmes, on peut observer une augmentation de la perméabilité de la membrane avec l'apparition d'un œdème suivi d'une nécrose des cellules épithéliales ainsi que l'apparition de fibrine qui se traduit par un syndrome de détresse respiratoire aigüe dû à l'inflammation et l'hypoxémie (4).

De plus, le macrophage alvéolaire stimulé par le LPS va exprimer le récepteur CD40 à sa surface, qui, lorsqu'il se lie à son ligand CD154, participe à l'inflammation, à l'activité tumoricide et à l'augmentation de la survie cellulaire via la synthèse de nitric oxide synthase 2 (NOS2). Cela va permettre la sécrétion de monoxyde d'azote et de cytokines, dont IL-12 qui est impliquée dans la différenciation des cellules T vers les effecteurs T helper cell 1 (Th1) (4).

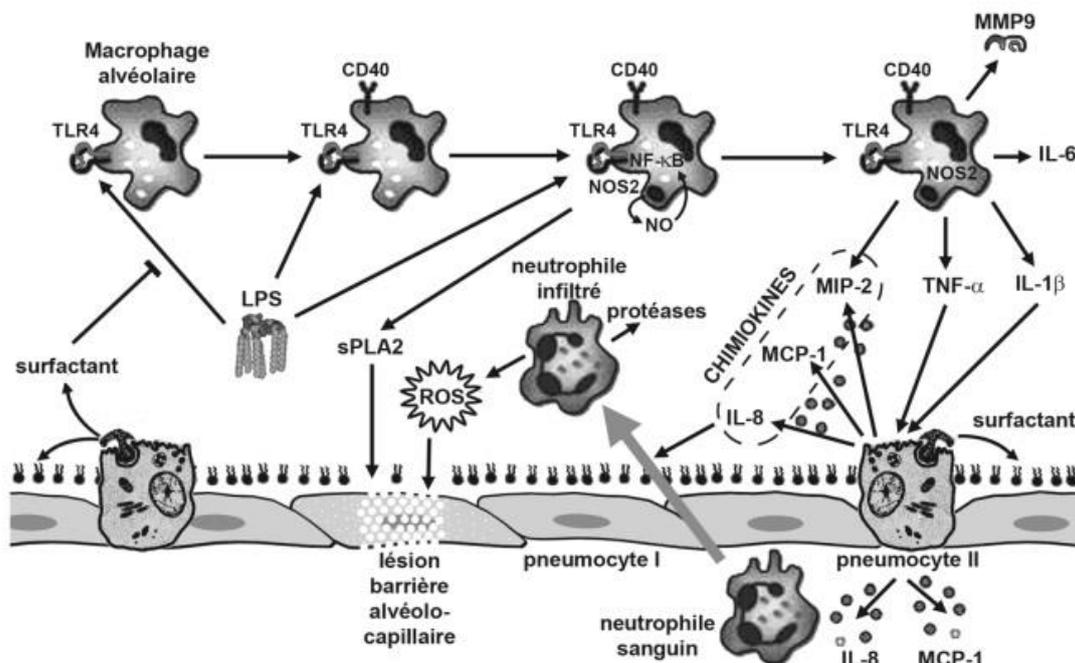


Figure 1 : Action des LPS sur les cellules pulmonaires et cascades d'activation de l'inflammation (5).

Cependant, en dehors de leurs effets néfastes, les endotoxines peuvent également présenter des effets bénéfiques pour la santé. Plusieurs études mettent en avant les possibles effets

favorables des endotoxines (1-3). Ces dernières joueraient un rôle important dans la théorie hygiéniste (1-3). Diverses études ont observé que lorsqu'un enfant est exposé quotidiennement dès son plus jeune âge à l'environnement d'une ferme (plus particulièrement des fermes avec des animaux) et qu'il consomme du lait non pasteurisé, il a moins de risque de souffrir par la suite d'asthme et d'allergie comparé à un enfant vivant en milieu urbain (1-3). Cela peut s'expliquer par le fait que dans un environnement rural, la présence d'animaux implique une concentration plus importante de bactéries et donc d'endotoxines. Leur rôle bénéfique pourrait être expliqué par la production d'IL-12 qui va favoriser le développement d'un profil Th1 dominant ou Th1-Th2 équilibré au détriment d'un profil Th2 (profil allergique) (1-3).

Les LPS ont également un rôle antitumoral qui a été mis en évidence dans diverses études réalisées dans le milieu du coton et agricole. Chez les travailleurs exposés aux endotoxines, l'incidence de la mortalité par cancer est significativement plus basse que dans la population générale (1-3). La diminution de cette incidence est d'autant plus marquée pour le cancer du poumon. Cet effet est dose et durée dépendant (3). Ce phénomène peut être expliqué par divers mécanismes induits par les LPS. La production de TNF- α est principalement responsable de leur effet antitumoral. Cependant, d'autres mécanismes ont été mis en évidence, comme l'activation de l'immunité innée via la stimulation des macrophages, la sécrétion de NO et de l'immunité acquise par l'induction d'interféron gamma (IFN- γ) (1-3).

La cascade immunitaire activée par l'inhalation d'endotoxines peut provoquer plusieurs symptômes, comme une hyperréactivité bronchique (1-2-3). Après une exposition aérienne à des endotoxines, on remarque une diminution du volume expiré maximal par seconde (VEMS) ainsi que la présence de cellules inflammatoires dans les crachats (1). Ces effets sont dose dépendants (7). Cependant, dans des affections telles que l'asthme et l'allergie, les LPS peuvent jouer à la fois un rôle délétère ou préventif, selon le moment d'exposition et la quantité d'endotoxines (4). Comme vu précédemment dans la théorie hygiéniste, lorsque l'inhalation d'un aéroallergène est associée à de fortes quantités d'endotoxines, cela va empêcher le développement d'un état de sensibilisation face à cet allergène, grâce à la production d'IL-12 par les cellules dendritiques. Par contre, lorsque qu'il n'y a que de faibles quantités d'endotoxines inhalées, les LPS vont engendrer une production de TNF- α sans IL-12, une inflammation pulmonaire va alors s'installer et faciliter l'attraction d'éosinophile dans le parenchyme pulmonaire et dans les voies aériennes supérieures. Cela contribue au développement de pathologies allergiques des voies aériennes supérieures (4).

L'attraction des éosinophiles pourrait être expliquée par une chémokine ayant une activité antimicrobienne dans le mucus pulmonaire, le CCL28. En effet, le récepteur CCR3, exprimé sur la surface des éosinophiles a comme ligand le CCL28. De plus, cette chémokine possède des régions moléculaires semblables à d'autres protéines capables de fixer le LPS (4). Ainsi, elle est probablement capable de neutraliser le LPS, puis d'attirer des éosinophiles via le CCR3 (4).

L'exposition à de grandes quantités d'endotoxines peut provoquer un symptôme pseudo grippal qui est accompagnée d'une leucocytose. A partir d'une exposition de 500-1000 ng/m³ d'endotoxines aéroportées, de la fièvre ainsi qu'une irritation des voies aériennes peuvent apparaître (8). Dans le cadre d'exposition professionnelle, ces symptômes apparaissent souvent lors de la reprise du travail, par exemple le lundi et diminue après 24h. Si l'exposition se fait sur le long terme, les travailleurs peuvent développer des oppressions thoraciques ainsi qu'une toux chronique (2).

Les allergènes

Les travailleurs en animalerie sont exposés quotidiennement à des allergènes de souris ou de rats. L'exposition peut se faire par contact direct des poils du rongeur avec la peau (très souvent limitée par le port de gants), lors de morsures avec inoculation de salive ou par inhalation (principalement d'allergènes urinaires de rats et de souris) (9-10). Les symptômes allergiques les plus fréquemment rencontrés lors d'exposition professionnelle en laboratoire sont les rhinites ainsi que les conjonctivites (9). Les réactions cutanées ainsi que l'asthme sont beaucoup plus rares. Il est estimé qu'environ 12-31% du personnel des animaleries développent des symptômes allergiques (11). Des symptômes peuvent apparaître en l'absence d'IgE spécifiques, il est alors indispensable de réaliser des tests immunologiques comme un Prick test cutané pour définir si un symptôme est allergique ou non (12). La présence de symptômes respiratoires peut alors être expliquée par une sensibilisation à la poussière ou l'exposition à des allergènes d'acariens ou d'endotoxines (13). La plupart du temps, une personne sensibilisée à un allergène le restera toute sa vie. Cependant, dans certains cas, si l'exposition à l'allergène est évitée dès l'apparition des premiers symptômes, la sensibilisation diminue, voir même n'est plus détectable par des tests cutanés (14).

Il est possible que la sensibilisation soit initialement asymptomatique, mais lorsqu'un individu est sensibilisé et que l'exposition à l'allergène incriminé continue, le risque de développer une allergie est élevé (12). Initialement, les symptômes allergiques peuvent être de faible intensité, mais si l'exposition continue, le risque est de voir l'intensité des symptômes augmenter et persister dans le temps. Ainsi, un asthme développé dans le cadre d'une exposition professionnelle à des allergènes peut perdurer plusieurs années après l'arrêt d'exposition aux allergènes incriminés (12). De ce fait, il est important de détecter précocement l'apparition des premiers symptômes allergiques et de cesser l'exposition le plus rapidement possible pour éviter le développement d'une chronicité.

Il est démontré que plus la concentration d'antigènes est élevée, plus la prévalence des symptômes allergiques sera augmentée (9). Cependant, la charge d'antigènes n'est pas forcément corrélée au développement des allergies. Une petite quantité d'allergènes peut être responsable d'une sensibilisation (9-15). Un individu atopique exposé à une faible quantité d'allergènes peut alors développer une allergie.

Diverses études reportent une relation entre les symptômes et des marqueurs d'exposition tels que les niveaux d'allergènes aéroportés, la manipulation d'un nombre élevé d'animaux, une durée et une fréquence d'exposition élevée (13). L'atopie et la sensibilisation ou l'allergie aux chats ou aux chiens sont définis comme des facteurs de risque indépendants, contrairement au tabac, à l'âge et au sexe (13).

Avant de développer une allergie, une phase de sensibilisation est nécessaire, elle dure en général entre 6 et 36 mois (9). Elle débute lorsque les cellules présentatrices d'antigène, se trouvant dans les poumons, captent l'allergène et le présente au lymphocyte T au niveau du ganglion de drainage. Pour activer le lymphocyte T plusieurs signaux sont nécessaires, la liaison entre le major histocompatibility complex class 2 (MHC-2) et le T-cell receptor (TCR) ainsi que divers co-stimulateurs dont le B7-CD28. Une fois activé, le lymphocyte T se réplique et devient une cellule T Th1 ou Th2. La production de cellules Th1 ou Th2 dépend essentiellement de la présence de cytokines : en présence d'IL-12, la production de Th1 est favorisée, alors qu'avec IL-4, Th2 prédomine et le risque allergique est augmenté. La sécrétion d'IL-4 et IL-13 favorise la production d'IgE, et au contraire l'IFN- γ , sécrété par les Th1 inhibe cette production.

Lors d'un nouveau contact ou d'une nouvelle inhalation de l'allergène, les IgE vont se lier via leur fraction Fc aux cellules mastoïdes et basophiles, qui vont principalement libérer de l'histamine. De plus, il y a une production de prostaglandines, de cytokines (TNF α , IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, IL-16) et de chémokines (MIP1 α et β , MCP-1). Les effets observés sont locaux et systémiques (bronchoconstriction, augmentation de l'œdème et de la sécrétion de mucus, éternuements et prurit).

Les réactions allergiques sont le plus souvent de types 1. Les réactions de type 1 sont des réactions immédiates avec un pic entre 4 et 8h et impliquent des IgE et sont principalement causées par la dégranulation des mastocytes qui provoque un relargage d'histamine. Les réactions retardées de type 1 sont médiées par les lymphocytes T ainsi que par les éosinophiles et les basophiles (via IL-5) (10).

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'exposition aux endotoxines aéroportées, aux allergènes de rats et de souris, aux champignons et à diverses bactéries ainsi que d'évaluer d'éventuels problèmes respiratoires ou allergiques chez les travailleurs en animaleries.

2. Méthodologie

Les analyses ont été réalisées dans des animaleries du canton de Vaud. Les secteurs SPF, CONV1 et CONV2 hébergent des souris et le CONV3 des rats. La laverie, commune à tous les secteurs, est divisée en deux parties, soit le côté « propre », où les cages propres sont remplies de sciure et préparées pour recevoir les rongeurs et la partie « sale », où les cages sont vidées, tapées pour enlever la sciure et les excréments d'animaux puis placées dans un tunnel de vapeur pour être nettoyées. Les différents secteurs se différencient selon leur statut sanitaire. Le secteur SPF est le lieu avec le plus de restrictions et est utilisé pour le maintien des lignées. En effet, seuls les animaliers ont accès aux locaux et aucune expérience ne peut être réalisée dans ce secteur, dans le but de limiter le risque de contamination. Le CONV1 et le CONV2 sont des secteurs conventionnels hébergeant des souris dans lesquels les chercheurs peuvent accéder et y réaliser des expériences. Le CONV3 est également un secteur conventionnel mais réservé aux rats. Pour le maintien du statut sanitaire de chaque secteur, des prélèvements dans des cages sentinelles sont réalisés plusieurs fois par année pour détecter les pathogènes présents.

Prélèvements des micro-organismes par impaction

Les prélèvements de 50 ou 100 litres d'air ont été effectués avec un impacteur sur des géloses nutritives. Pour la croissance des champignons, des géloses Sabouraud sont utilisées. Son milieu acide et sa forte concentration en glucose favorise la croissance des champignons. Un tel milieu est normalement défavorable à une croissance bactérienne, excepté pour certaines entérobactéries et pseudomonas qui sont résistantes à un certain degré d'acidité. Les géloses Tryptone Soja Agar (TSA), ont été utilisées pour la croissance de germes mésophiles.

De retour au laboratoire, ces géloses sont incubées à 25 °C pour les champignons et 30°C pour les bactéries afin d'observer leur croissance.

La croissance des champignons et des bactéries sur les différentes géloses a été vérifiée au jour 5 puis calculée en Colony Forming Unit /m³ (CFU/m³).

Une coloration de gram ainsi qu'un test à l'oxydase ont été réalisés au jour 5 sur les colonies isolées.

Prélèvements personnels pour les endotoxines et les allergènes

Les prélèvements individuels ont été réalisés durant les journées du 30 janvier et du 6 février 2014. Après une stérilisation du matériel, les pompes portables ont été fixées à l'aide d'une

ceinture. Ces pompes (débit d'environ 2L/min) étaient reliées par un petit tuyau à une cassette contenant un filtre et placées dans la zone de respiration du travailleur. Chaque collaborateur portait deux pompes, soit une pompe équipée d'une cassette avec un filtre de gélatine pour les allergènes et une seconde avec un filtre de polycarbonate pour les endotoxines. Le nombre de prélèvements effectués sur les deux journées s'élèvent à 18 pour les allergènes et 20 pour les endotoxines. Les cassettes ont ensuite été conservées à -20°C entre 11 et 18 jours. La durée des prélèvements est d'environ 2 à 4 heures.

Analyse endotoxines et allergènes

Les endotoxines présentes sur les filtres ont été extraites en plongeant ceux-ci dans 10ml d'eau stérile apyrogène (secouage vigoureux pendant 1 heure). Le dosage d'endotoxines a été réalisé par la méthode cinétique colorimétrique (Kinetic Chromogenic LAL Assays de Lonza) avec une endotoxine standard *E.Coli* 055 :B5. Les concentrations standards utilisées sont les suivantes : 50, 5, 0.5, 0.05 et 0.005 UE/ml. Les résultats sont exprimés en UE/ml puis calculés selon le débit moyen de chaque pompe et convertis en Unité d'Endotoxines/m³ (UE/m³) d'air.

Pour les allergènes, les filtres en gélatine ont été placés dans 1ml de tampon PBS dans un tube Eppendorf puis chauffés à 37°C jusqu'à dissolution du filtre. Le dosage des allergènes est fait à l'aide d'un kit ELISA (RUP-6 ;Rat n1) pour les allergènes de rat et d'un kit ELISA (nMus m 1) pour les allergènes de souris (Indoor biotechnologies, Wiltshire, UK).

Spirométries et questionnaires

Après une séance d'information, 30 travailleurs volontaires se sont inscrits afin de passer des entretiens entre le 18 et le 20 septembre 2013. Lors de ces entretiens, les animaliers et techniciens ont remplis un questionnaire (cf. annexe 1) qui a été réalisé par le service de médecine du travail du CHUV et utilisé avec leur accord. Il a été modifié et validé par un médecin du travail relié aux animaleries. Le document est principalement basé sur la présence de symptômes allergiques et irritatifs et comprend également des questions pour évaluer brièvement le temps d'exposition aux allergènes (ancienneté dans les animaleries, durée d'exposition journalière) ainsi que les habitudes de vie des travailleurs (tabac, médication). Une spirométrie est également réalisée lors de l'entretien. Le spiromètre utilisé (Easyone Spiromètre, NDD Medical Technologies) évalue la qualité des mesures effectuées en les notant entre A et F, seules les données de A à D ont été utilisées et analysées. Les questionnaires et les spirométries ont ensuite été anonymisés et analysés avec le logiciel Systat.

L'interprétation des données de spirométrie s'est fait selon les critères de Gold/Hardie. Les valeurs mesurées sont la capacité vitale forcée (CVF), le volume expiré maximal par seconde (VEMS), le rapport VEMS/CVF et le débit expiratoire de pointe (DEP).

Un VEMS/CVF < 0.7 correspond à une obstruction qui est ensuite classée selon le degré du trouble obstructif :

- Léger : VEMS > 80% de la valeur prédite
- Modéré : VEMS > 50 et ≤ 80% de la valeur prédite
- Sévère : VEMS > 30 et ≤ 50% de la valeur prédite
- Très sévère : VEMS ≤ 30% de la valeur prédite

La présence d'une possible restriction est définie par un CVF < Lower Limit of Normal (LLN) et un VEMS < LLN.

3. Résultats

Bactéries et champignons cultivables

Sur les 20 prélèvements réalisés pour évaluer l'exposition des travailleurs aux champignons cultivables, une seule colonie a poussé sur les géloses Sabouraud provenant d'un prélèvement fait dans la laverie propre.

Les résultats des impactions sur les géloses TSA pour évaluer l'exposition aux bactéries cultivables, sont résumés sur le tableau 1. Deux types de bactéries ont pu être distingués macroscopiquement. Au microscope et après coloration de gram, on distingue des cocci gram positifs et négatifs. Les moyennes de bactéries cultivables selon les lieux de prélèvements sont les suivantes : CONV3 83 CFU/m³ (0-300) et laverie sale 1491 CFU/m³ (0-11'060).

Tableau 1 : Résultats des impactions sur géloses pour les bactéries cultivables du 30.01.2014 et 06.02.2014

Lieu de prélèvement	Bactéries cultivables CFU/ m ³	
	30 janvier	6 février
Laverie Propre	30	-
SPF salle 716	10	-
CONV1	5	-
CONV2 salle 839	25	-
CONV3 salle 412	55	300
CONV3 salle 214	30	40
CONV3 salle 212	-	0
CONV3 salle 417	35	120
Laverie Sale	800 (tunnel vapeur) 375 (cage tapée)	11060 (cage tapée) 40 (cage tapée) 180 (cage tapée) 1840 (cage vidée) 60 (cage vidée) 180 (cage vidée) 370 (tunnel vapeur) 0 (tunnel vapeur)

Les géloses TSA impactées dans la laverie sale lors du prélèvement du 30 janvier au niveau des vapeurs dégagées par le tunnel de nettoyage ont révélé de fortes croissances bactériennes. Il s'agit majoritairement de bacilles gram négatifs oxydases positifs d'une seule espèce. Ces bactéries n'ont pas été mises en évidence lors du deuxième prélèvement.

Analyse des endotoxines

Les résultats des prélèvements d'endotoxines et les moyennes de chaque site sont résumés dans le tableau 2. Les volumes prélevés vont de 36.8 litre à 980 litres avec un volume moyen de 608,84 litres. La moyenne des valeurs du CONV3 est de 4.05 UE/m³ (0.84-15.49) et de la laverie sale de 7.77 UE/m³ (1.8-14.49). La moyenne des prélèvements réalisés dans les hébergements de souris est de 0.33 UE/m³ (0.16-0.67) et dans ceux des rats de 4.05 UE/m³ (0.84-15.49).

Tableau 2: Résultats des mesures d'endotoxines du 30.01.2014 et 6.02.2014 dans les divers secteurs des animaleries.

Prélèvements du 30.01.2014			Prélèvements du 06.02.2014			Moyenne des 2 jours [UE/m ³]
Lieu	Volume [L]	UE/m ³	Lieu	Volume [L]	UE/m ³	
CONV1	702	0.35	CONV1	893	0.25	0.30
SPF	889	0.67	SPF	980	0.17	0.42
CONV2	612	0.37	CONV2	630	0.16	0.27
Laverie propre	848	4.33	Laverie propre	729	3.17	3.75
Laverie sale	753	4.50	Laverie sale	589	1.80	7.77
	787	14.49		812	10.26	
CONV3	419	1.22	CONV3	193	15.49	4.05
	328	0.84		36.8	3.23	
	542	1.25		460	1.57	
	369	7.56		605	1.21	

Analyse des allergènes

Les résultats des prélèvements d'allergènes sont résumés dans le tableau 3. La moyenne des allergènes de rats dans le CONV3 s'élève à 6.71 ng/m³ (0.66-21.37), la moyenne des allergènes de souris dans la laverie sale est de 4.20 ng/m³ (2.5-6.25).

Tableau 3: Résultats des mesures d'allergènes (<LD = valeurs en dessous de la limite de détection). La limite de détection est de 0.2ng/ml pour les allergènes de rats et de 0.5ng/ml pour les allergènes de souris.

Lieu de prélèvement	Allergène Rat ng/m ³		Allergène Souris ng/m ³	
	30 janvier	6 février	30 janvier	6 février
Laverie Propre	<LD	-	<LD	<LD
SPF	-	-	3.50	<LD
CONV1	-	-	0.25	0.25
CONV2	-	-	1.01	<LD
CONV3	21.37	4.68	-	-
	1.23	0.66		
	5.91	6.37		
Laverie Sale	0.28	<LD	5.67	2.38
	0.24	<LD	6.25	2.50

Spirométries et questionnaires

30 personnes ont réalisé les spirométries et rempli les questionnaires, afin d'évaluer leur fonction pulmonaire ainsi que la présence de symptômes allergiques et irritatifs. 18 femmes (60%) et 12 hommes (40%) y ont participé. La taille moyenne est de 170 cm (160-191) avec 1.66 cm de moyenne pour les femmes et 1.77 cm pour les hommes. Le poids moyen est de 66.78 kg (48-105), dont 62.11 kg de moyenne pour les femmes et 80.42 kg pour les hommes. L'IMC moyen s'élève à 22.08kg/m². 46.67 % des travailleurs sont des fumeurs actifs, 43,34% sont non-fumeurs, et 9,99 % sont des anciens fumeurs. L'UPA moyen est de 9,71. Il n'existe pas de différence significative entre le pourcentage d'hommes et de femmes tabagiques.

Les valeurs mesurées sont la CVF en litre, le VEMS en litre, le rapport VEMS/CVF et le DEP en litre/seconde. Des valeurs théoriques basées sur la cohorte suisse Sapaldia sont calculées en fonction de la taille, du poids, de l'âge, de l'ethnie, de la présence ou non d'asthme et du statut tabagique. Les mesures réalisées avec le spiromètre sont ensuite comparées aux valeurs théoriques et exprimées en pourcentage. Les valeurs moyennes groupées selon le lieu de travail des animaliers et des techniciens sont résumées dans le tableau 4 et illustrées par les schémas de la page suivante. Il est également à noter qu'il n'existe aucune différence significative entre les moyennes de chaque groupe ($p > 0.05$).

Les lieux ont été séparés en 2 groupes, haute et basse exposition. Le CONV3 et la laverie sont les lieux où les travailleurs sont le plus exposés aux endotoxines et allergènes et sont ainsi regroupés dans le premier groupe qu'est la haute exposition. Le CONV3 est le seul lieu qui abrite des cages ouvertes et expose ainsi plus les travailleurs aux bactéries et allergènes. Les travaux comme le tapage et nettoyage des cages réalisés dans la laverie sale exposent également plus les collaborateurs. Le SPF, CONV1 et CONV2 ne contiennent que des cages fermées et sont rattachés au groupe basse exposition. Les valeurs moyennes des deux groupes sont résumées dans le tableau 4.

Sur les 30 spirométries effectuées, 5 n'ont pas pu être interprétées faute de qualité suffisante, 8 ont présenté une possible restriction, 2 une obstruction modérée et 15 une fonction pulmonaire normale.

Les symptômes les plus fréquemment cités lors de l'entretien sont le nez qui coule, les éternuements et le larmoiement. Le pourcentage de personnes qui présente ces symptômes s'élèvent respectivement à 43,3%, 40% et 40%. De plus, seuls 12,5% des travailleurs présentent ces symptômes exclusivement au travail, contre 25% en dehors du travail et 62,5% souffrent constamment de ces symptômes, que ce soit au travail ou en dehors. Ces données sont résumées dans la figure 2.

Tableau 4 : Résultats des mesures de spirométries réalisées du 18 au 20 septembre 2013 et groupés selon les lieux de travail des animaliers et techniciens.

Lieu	CVF [%]	VEMS [%]	VEMS/CVF	DEP [%]	N
SPF	85.33	84.33	99.17	74.33	6
CONV2	67.50	74.50	109.00	69.00	2
CONV1	92.25	85.25	93.25	94.75	4
CONV3	91.50	85.50	95.00	90.50	6
Laverie	89.67	89.33	99.00	87.00	7
Basse exposition	81.69	81.36	100.57	79.36	12
Haute exposition	90.59	87.42	97.00	88.75	13

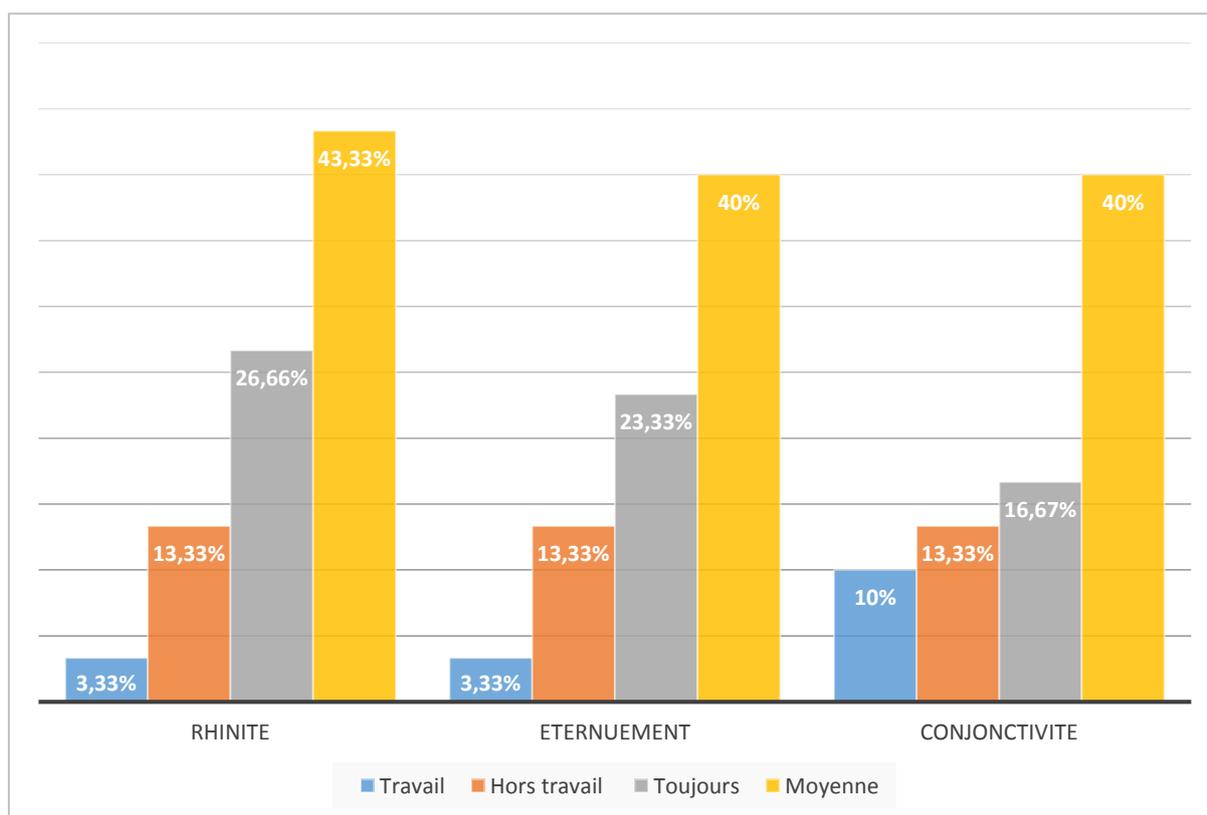
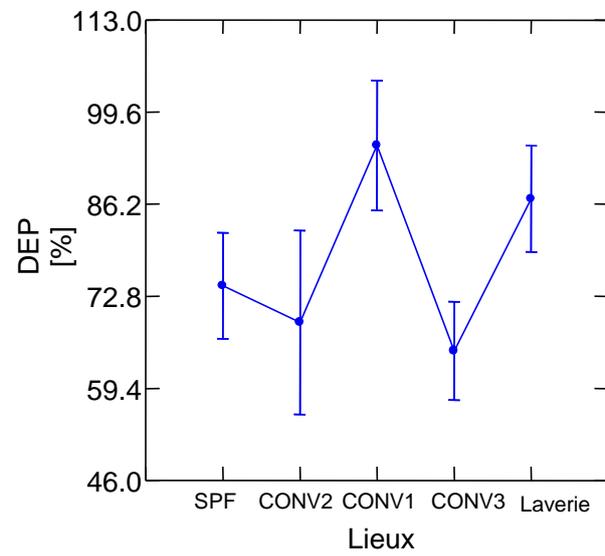
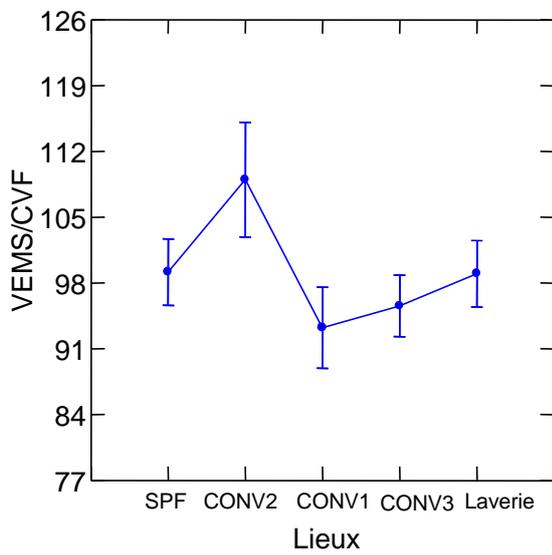
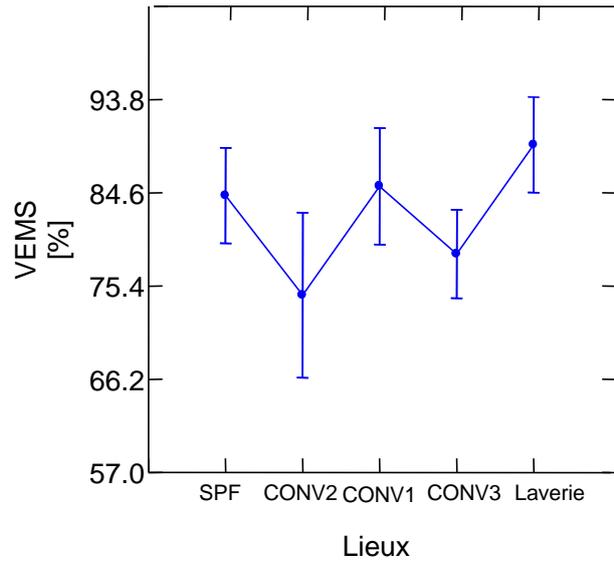
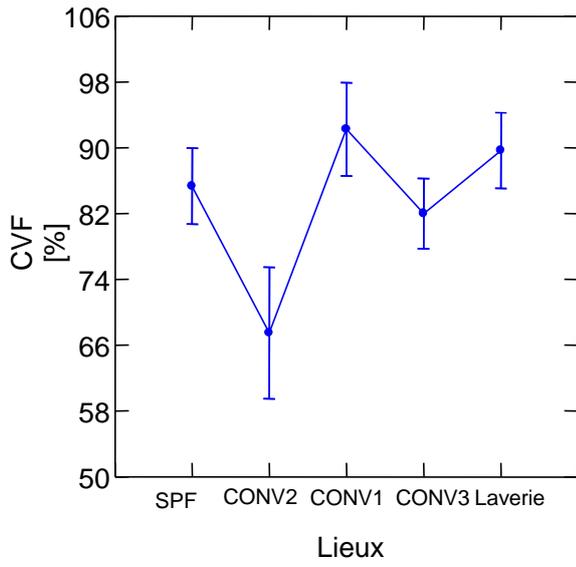


Figure 2: Pourcentage de personnes présentant les trois symptômes les plus fréquemment cités (rhinite, éternuement et conjonctivite) au travail, hors du travail, constamment ces symptômes ainsi que le pourcentage total des personnes souffrant de ces symptômes.



Figures 3 à 6 : Moyenne CVF, VEMS, VEMS/CVF et DEP selon le lieu des travailleurs ayant réalisé la spirométrie.

4. Discussion

La SUVA n'est pour l'instant pas en mesure de fixer des valeurs limites en ce qui concerne les bioaérosols tout comme de nombreux autres pays. En effet, contrairement à des produits chimiques dont la dose-effet peut être mesurée par des études épidémiologiques, les agents biologiques présents dans l'air sont multiples, ont une pathogénicité variée et dépendent également de la vulnérabilité individuelle (16). De plus, il n'existe actuellement aucune standardisation concernant les méthodes de prélèvement et d'analyse des échantillons. Toutefois, des recommandations sont données par la SUVA et doivent être prises en compte selon les conditions de travail, les méthodes de mesures et d'analyse ainsi que l'état de santé des travailleurs (16).

Bactéries et champignons cultivables

Les recommandations de la SUVA pour les bactéries cultivables sont de 10^3 CFU/m³ (16). Un seul des prélèvements réalisés dépasse cette valeur. Il a été réalisé lors de la 2^{ème} journée dans la laverie sale lors du tapage des cages. Tous les autres résultats sont bien en dessous de cette valeur.

Lors de la première journée de prélèvements, les géloses impactées au niveau du tunnel de nettoyage ont montré de fortes croissances de bacille gram négatif oxydase positif. De telles croissances bactériennes n'ont pas été mises en évidence lors de la deuxième journée de prélèvement. Cela peut s'expliquer par une contamination passagère de l'eau par un *Pseudomonas sp.*

Pour la croissance de champignons et moisissures, la SUVA recommande une limite d'exposition de 10^3 CFU/m³ (16). Aucune croissance de champignon n'a été mise en évidence, à l'exception d'un prélèvement réalisé en laverie propre lors du remplissage des cages avec de la sciure. Cette croissance bactérienne peut s'expliquer par une contamination extérieure par les copeaux de bois.

L'exposition aux bactéries et aux champignons cultivables est donc très faible et ne représente pas de risque pour la santé des travailleurs.

Endotoxines

La SUVA recommande de ne pas s'exposer à des valeurs supérieures à 10^4 UE/m³ (16), cependant, en Hollande, la valeur fixée par le conseil sanitaire est bien plus basse : elle est de 90 UE/m³ pour une journée de travail de 8 heures (17).

Les analyses montrant la plus haute concentration d'endotoxine se situent dans la laverie sale, la moyenne des deux jours de prélèvements s'élève à 7.77 UE/m³. Cela peut s'expliquer par les tâches effectuées par les techniciens. En effet, la manipulation des cages contenant les excréments des souris et des rats crée des aérosols et augmente donc la concentration d'endotoxines aéroportées. Cette exposition est limitée par la mise en place d'un système d'aspiration lors du tapage des cages. Les techniciens travaillant dans ces locaux portent un masque chirurgical, FFP1 ou FFP2, ce qui pourrait également contribuer à une diminution de l'inhalation d'endotoxines aéroportées selon le type de masque porté.

Les moyennes des valeurs mesurées dans le SPF, CONV1 et CONV2 sont toutes inférieures à 0,5 UE/m³. Cela est dû au fait que toutes les cages présentes dans ces locaux sont fermées, limitant ainsi la dispersion des endotoxines aéroportées. Le changement de cage se fait également sous flux laminaire dans ces locaux. De plus, la manipulation des souris se fait sous chapelle avec aspiration. Le CONV3, au contraire abrite des cages ouvertes contenant

des rats et seul la moitié des changements de cage se fait sous flux laminaire, les concentrations mesurées sont donc plus élevées dans ces locaux.

Toutes les valeurs mesurées lors des deux journées de prélèvements sont bien au-dessous des recommandations de la SUVA ainsi que celles indiquées par le conseil sanitaire néerlandais.

Les valeurs minimales et maximales mesurées lors des 2 jours de prélèvements sont de 0.16 UE/m³ et de 14.49 UE/m³. A titre de comparaison, une étude réalisée aux USA (Pacheco et al. 2006), rapporte des concentrations entre 0.46 UE/m³ et 6.78 UE/m³ (15). En Suède l'étude réalisée par Lieuter Colas et al montre des résultats similaires. En effet, les concentrations mesurées s'échelonnent entre 0.02 UE/m³ et 15.46 UE/m³ (18).

Allergènes

Les plus fortes concentrations d'allergènes de souris ont été retrouvées dans la laverie sale avec une moyenne de 4.2 ng/m³, contrairement aux allergènes de rats qui sont plus présents dans les locaux du CONV3 avec une moyenne de 6.71 ng/m³. Cela peut s'expliquer par le fait que lors des prélèvements, les cages nettoyées en laverie sale étaient principalement des cages de souris.

La moyenne totale des 2 jours de mesures de concentration d'allergènes de souris est de 1.83 ng/m³. Dans l'étude Glueck et al, la concentration moyenne s'élève à 3.3 ng/m³ (19). Les valeurs mesurées sont donc comparables. Cependant, une autre étude réalisée par Korpi et al révèle des valeurs bien plus élevées avec des maxima allant jusqu'à 376 ng/m³ (20) alors que la valeur maximale des prélèvements d'allergènes de souris réalisés est de 6.25 ng/m³.

Concernant les concentrations des allergènes de rats, la moyenne s'élève à 3.7 ng/m³, ce qui semble également comparable à la valeur moyenne de 1.5 ng/m³ de l'étude de Glueck et al. (19). Cependant une valeur moyenne plus élevée de 34 ng/m³ a été retrouvée dans l'étude de Lieuter Colas et al (18). De même, l'étude réalisée par Korpi et al montre des valeurs maximales de 545 ng/m³ (20) contre une valeur maximale de 21.37 ng/m³ pour les prélèvements d'allergènes de rats réalisés.

A ce jour, la SUVA n'a pour l'instant pas établi de valeur limite concernant les allergènes. En effet, fixer une limite d'exposition semble difficile sachant que la susceptibilité individuelle joue un rôle déterminant dans le développement des allergies. Ainsi, même l'exposition à de faibles quantités d'allergènes peut mener un individu atopique à développer une allergie.

Cependant, de nombreux moyens peuvent être mis en place pour limiter l'exposition aux allergènes et prévenir l'apparition d'allergies. Le Health and Safety Executive du Royaume-Uni a créé des guidelines concernant le contrôle des allergies aux animaux de laboratoire. Pour diminuer la quantité d'allergènes aéroportés la ventilation des pièces hébergeant les rongeurs est importante. Si elle contient des cages standards, l'air dans la pièce doit être changé entre 10 et 20 fois par heure selon les types d'animaux hébergés (21). Des cages ventilées peuvent également être mises en place. L'air de la cage est changé entre 20 et 30 fois par heure et directement connecté au système de ventilation ou filtré avant d'être rejeté dans la pièce.

La plus forte exposition aux allergènes se fait lors du nettoyage des cages. Il paraît donc indispensable que le nettoyage se fasse dans une pièce séparée de celles hébergeant les rongeurs. Une ventilation plus importante est également requise. Le vidage et nettoyage des cages doit également se faire avec un système d'aspiration permettant de limiter au maximum

la dispersion des aérosols créés. La manipulation des animaux doit également se faire sous chapelle avec aspiration (22).

Il est clair que l'accès aux animaleries doit être limité au personnel adéquatement équipé. Les collaborateurs doivent s'équiper d'une sur-blouse changée à chaque sortie des locaux, d'une charlotte, de gants, en évitant ceux en latex poudrés qui augmentent le risque allergique (9), ainsi que des masques préférentiellement de type FFP2 ou FFP3 (22).

Idéalement, un contrôle de santé devrait être possible pour les travailleurs. Cela impliquerait que tout nouveau travailleur embauché doive passer une consultation qui comprend un questionnaire sur l'éventuelle présence d'actuels ou d'anciens symptômes et la présence d'allergies confirmées ainsi qu'un test de ses fonctions pulmonaires. Cet entretien permettrait d'évaluer brièvement l'atopie et le risque de l'individu de développer une allergie aux animaux de laboratoire et donc de le placer à un poste adéquat. Les travailleurs devraient également être suivis régulièrement pour évaluer l'apparition de nouveaux symptômes allergiques.

Lorsqu'une allergie aux animaux de laboratoire se déclare chez un travailleur, il faudrait idéalement éviter toute exposition avec l'allergène incriminé, ce qui impliquerait un changement de poste. Si un individu est amené à continuer à être exposé à ces allergènes, l'équipement de protection doit être renforcé (par exemple avec la mise en place de lunette de protection) et un suivi médical rapproché doit être mis en place avec un traitement approprié (22).

La prise en charge d'une allergie peut également passer par une désensibilisation ou immunothérapie spécifique. Cette technique consiste à injecter par voie sous-cutanée des extraits d'allergènes à intervalles réguliers pendant plusieurs années pour permettre une normalisation de la réponse immunitaire face à l'allergène incriminé. Il est également possible de le faire par voie sublinguale, mais la dose et la durée du traitement ne sont pour l'instant pas standardisées et l'efficacité au long cours demeure à investiguer (23).

L'utilisation de l'immunothérapie spécifique dépend de plusieurs facteurs comme le type et la gravité des symptômes, l'identification de l'allergène incriminé ou l'âge. Il est à noter que la présence d'un asthme sévère et la médication par β -bloquant sont des contre-indications à initier la procédure. La décision revient à l'individu qui devra avoir une bonne compliance durant de nombreuses années pour obtenir une rémission prolongée de l'allergie. La désensibilisation reste à ce jour le seul moyen pour diminuer voire supprimer les symptômes allergiques et augmenter la qualité de vie (23).

Si la mise en place des mesures de prévention techniques paraît réalisable, les mesures de prévention personnelles sont plus difficilement applicables. C'est le cas par exemple du port de masque FFP2 ou FFP3 très pénible à porter 8 heures durant. Les contrôles de santé et les réorientations professionnelles paraissent également difficilement applicables d'un point de vue logistique.

Spirométries

La majorité des spirométries réalisées lors des entretiens révèle des capacités pulmonaires normales. Cependant, deux syndromes obstructifs ont été décelés. Les deux étiologies principales d'un tel syndrome sont l'asthme et la broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO). La distinction entre les deux étiologies demande un test de réversibilité avec un bronchodilatateur. Selon les critères de GOLD, si le VEMS est inférieur à 0.7 après le test de réversibilité, la cause de l'obstruction n'est probablement pas l'asthme. Les symptômes aident également à la différenciation des deux pathologies (23). Le DEP est particulièrement utilisé

dans le cadre du suivi de l'asthme et permet d'observer l'évolution de la maladie et ainsi d'adapter les traitements (24).

De plus, huit possibles syndromes restrictifs ressortent des tests de spirométrie. Toutefois, un diagnostic de trouble ventilatoire restrictif, défini par une diminution de la capacité pulmonaire totale, ne peut être posé en réalisant uniquement une spirométrie. Une pléthysmographie permet de calculer les volumes pulmonaires non mobilisables, dont la capacité pulmonaire totale et donc de poser le diagnostic d'un syndrome restrictif (24).

Il est également important de tenir compte que le type de repas, le fait de fumer ou d'utiliser un broncho-dilatateur avant de réaliser une spirométrie peut influencer les résultats.

Questionnaires

Comme cité dans les résultats, 43%, 40% et 40% des volontaires ont cités respectivement la présence de rhinite, conjonctivite et d'éternuements. Or, ces symptômes ne peuvent pas être catégorisés comme allergiques. En effet, une rhinite, une conjonctivite ou des éternuements peuvent avoir d'autres origines. La présence de poussière, de sciure et d'autres toxiques peuvent provoquer des symptômes similaires d'origine irritatifs. Il n'est donc pas possible de distinguer une origine allergique d'une origine irritative seulement avec un questionnaire. Un test cutané ou Prick-test est habituellement réalisé pour mettre en évidence les allergènes contre lesquels un individu est hypersensibilisé. Il est également possible de rechercher des IgE spécifiques sanguins. Ainsi, une hypersensibilité et la présence de symptômes lors de l'exposition à un allergène permet de poser le diagnostic d'allergie.

Il est également important de prendre en compte que les allergènes urinaires de rats et de souris ne sont pas les seuls allergènes auxquels les animaliers sont exposés et contre lesquels ils peuvent développer une allergie. De plus, la plupart des travailleurs présentent constamment ces symptômes. L'origine des symptômes peuvent donc également être extérieure : pollens, graminées, acariens...

5. Conclusion

La difficulté à introduire le matériel nécessaire dans les locaux des animaleries a limité le nombre de prélèvements. En effet, avant chaque prélèvement, tous les instruments sont décontaminés le jour précédent.

De plus, comme les prélèvements d'endotoxines et d'allergènes sont réalisés simultanément, le nombre de prélèvements est limité par les pompes disponibles. Cela explique le faible nombre de prélèvements réalisés dans divers secteurs, comme c'est le cas de certains secteurs conventionnels de souris dont la moyenne se base uniquement sur deux ou trois valeurs.

Ce problème a également été rencontré lors des entretiens. Certains secteurs nécessitent peu de personnel, comme c'est le cas du CONV2. La moyenne des valeurs de spirométrie de ce secteur se base donc uniquement sur deux valeurs. La validité de ces résultats est donc questionable.

Il aurait été intéressant de suivre sur plusieurs semaines l'évolution de la présence de *Pseudomonas sp* dans le tunnel vapeur de la laverie sale. En effet, comme les croissances de telles bactéries étaient importantes lors du premier prélèvement et nulle lors du second, il aurait fallu répéter ces prélèvements de manière hebdomadaire afin de déterminer si cette

contamination est fréquente ou non. Mais ce suivi n'a pas pu être réalisé pour des questions de logistique et par manque de temps.

Les concentrations d'endotoxines mesurées sont très basses, il en est de même pour les concentrations d'allergènes. Cependant il faut noter que les prélèvements ont été réalisés sur plusieurs heures et ne donnent qu'une moyenne. La concentration de base des aérosols est donc faible, mais il est impossible de déterminer si les travailleurs sont exposés à de fortes quantités d'aérosols sur une courte durée. Il faudrait pour cela cibler les activités les plus à risque et réaliser des prélèvements sur des durées plus courtes.

Les concentrations de tous les bioaérosols réalisés dans ces animaleries sont faibles. Ce qui peut s'expliquer par la récente rénovation de l'équipement des locaux, particulièrement de la ventilation, la mise en place de cages ventilées et de système d'aspiration pour le nettoyage des cages. Le personnel est entièrement équipé (sur-blouse, sur-chausse, charlotte, gants, masque) pour limiter toute contamination des rongeurs, mais il faut noter que les travailleurs sont également bénéficiaires de ces protections. En effet, grâce à cet équipement ils sont exposés à des quantités d'aérosols encore plus faibles que celles mesurées pour cette étude.

6. Bibliographie

1. Gehin D, Le Bâcle C. Endotoxines en milieu de travail, origine et propriétés toxiques des endotoxines. *Méтроlogie. Documents pour le médecin du Travail* 2011 ; 128 : 583-601
2. Gehin D, Le Bâcle C. Endotoxines en milieu de travail, Exposition, risques et prévention. *Documents pour le médecin du Travail* 2011 ; 128 : 583-601
3. Chaby Richard. Les deux types d'effets : bénéfiques et nocifs. In : Chaby Richard. *Des endotoxines aux Lipopolysaccharides*. Paris. Edition Tec et Doc Lavoisier 2010 : 449-472
4. Chaby Richard. Effets pulmonaires des Lypopolysaccharides. In : Chaby Richard. *Des endotoxines aux Lipopolysaccharides*. Paris. Edition Tec et Doc Lavoisier 2010 : 571-592
5. Liebers V, Raulf-Heimsoth M, Brüning T. Health effects due to endotoxin inhalation. *Arch Toxicol* 2008; 82: 203-210
6. Chaby Richard. Effets pulmonaires des Lypopolysaccharides. In : Chaby Richard. *Des endotoxines aux Lipopolysaccharides*. Paris. Edition Tec et Doc Lavoisier 2010 : 578
7. Loh L.C, Vyas B, Kanabar V, Kemeny DM, O'Connor BJ. Inhaled endotoxin in healthy human subjects: a dose-related study on systemic effects and peripheral CD4+ and CD8+ T cells. *Elsevier Respiratory Medicine* 2005; 100 : 519-528
8. Chaby Richard. Les Lipopolysaccharides dans notre environnement. In : Chaby Richard. *Des endotoxines aux Lipopolysaccharides*. Paris. Edition Tec et Doc Lavoisier 2010 : 397-408
9. Zysset F. *Allergie aux animaux de laboratoire*. Lausanne 2006
10. Bush R. Mechanism and Epidemiology of Laboratory Animal Allergy. *ILAR Journal* 2001; 42: 4-11
11. Bush R, Wood R, Eggleston PA. Laboratory Animal allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 1998; 102 : 99-108
12. Rijnkels JM, Smid T, Van den Aker EC. Prevention of work related airways allergies; summary of the advice from the Health council of Neatherland. *Allergy* 2008; 63: 1593-1596
13. Nicholson PJ, Mayho GV, Roomes D, Swan AB, Blackburn BS. Health surveillance of workers exposed to laboratory animal allergens. *Occupational Medicine* 2010; 60: 591-597
14. Merget R, Caspari C, Dierkes-Globisch A. Effectiveness of medical surveillance program for the prevention of occupational asthma caused by platinum salts: A nested case-control study. *Allergy clin immunology* 2001; 107: 707-712
15. Pacheco KA, McCammon C, Thorne PS, O'Neill EM. Characterization of endotoxin and mouse allergen exposures in mouse facilities and research laboratories. *Ann Occup Hyg* 2006 ; 50 : 563-572
16. SUVA. Protection de la santé au poste de travail. Valeurs limites d'exposition au poste de travail. *SUVApr* 2013
17. Health Council of the Netherlands. Endotoxins. Health-based recommended occupational exposure limit. The Hague: Health Council of the Netherlands 2010
18. Lieuter C, Meyer P. Difference in exposure to airborne major rat allergen (Rat n 1) and endotoxin in rat quarters according to tasks. *Clinical and experimental Allergy* 2001; 31: 1449-1456
19. Glueck TJ, Huneke RB. Exposure of laboratory animal care workers to airborne mouse and rat allergens. *J Am Assoc Lab Anim Science* 2012; 51: 554-560
20. Korpi A, Mantyjarvi R. Detection of mouse and rat urinary aeroallergens with an improved ELISA. *J Allergy Clinic Immunology* 2004; 113: 677-682

21. Home Office Animals. Code of practice for the housing and care of animals used in scientific procedures. Home Office 1989
22. Health and Safety Executive. Control of laboratory animal allergy. Environmental hygiene 2011: 1-10
23. Gaillard J, Bart PA, Leimgruber A, Spertini F. Désensibilisation: vers de nouvelles perspectives. Rev Med Suisse 2011 ; 7 : 850-855
24. Pasche A, Fitting JW. Interprétation des explorations fonctionnelles respiratoires. Forum Med Suisse 2012 ; 12 (26) : 525-529

Annexe 1: questionnaire

Questionnaire initial de dépistage des allergies aux animaux de laboratoire

Ce questionnaire vise à repérer et dépister d'éventuels problèmes allergiques chez les personnes qui travaillent avec ou au contact d'animaux de laboratoire.

Nom :

Prénom :

Date de naissance : / / Sexe : Taille : Poids : Ethnie :

Fonction (profession) :

Service :

N°	Questions :	Vos réponses :
1)	Depuis combien de temps travaillez-vous avec des animaux ? (<u>dans l'entreprise actuelle</u>) mois années
2)	Avec quels animaux travaillez-vous? (<u>dans l'entreprise actuelle</u>)	<input type="checkbox"/> souris <input type="checkbox"/> rats <input type="checkbox"/> lapins <input type="checkbox"/> autre, précisez :
2a)	Auparavant, avez-vous déjà travaillé avec des animaux ? (<u>dans d'autres entreprises ou universités</u>)	<input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/> oui Si oui, pendant combien de temps? mois années Précisez avec quels animaux :
Dans l'entreprise actuelle ou le poste actuel :		
3)	Quelle durée moyenne travaillez-vous au contact d'animaux (durée moyenne par jour, les jours où vous effectuez une activité au contact d'animaux) ?	<input type="checkbox"/> moins d'une heure/jour <input type="checkbox"/> moins de 2 heures/jour <input type="checkbox"/> plus de 2 heures/jour
4)	Quels types d'activité effectuez-vous ? (<i>plusieurs réponses possibles</i>)	<input type="checkbox"/> expérimentation animale <input type="checkbox"/> travaux dans l'animalerie <input type="checkbox"/> soins aux animaux <input type="checkbox"/> changement des litières, nettoyage des cages <input type="checkbox"/> autre, précisez :
5)	Est-ce que vous utilisez un ou plusieurs des moyens de protection suivants lorsque vous travaillez avec les animaux ? <ul style="list-style-type: none"> • Portez-vous des gants ? Si oui, précisez quels types de gants ? • Lavage des mains après l'activité avec les animaux ? • Portez-vous une blouse de travail ? 	<input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/> rarement <input type="checkbox"/> souvent <input type="checkbox"/> toujours <input type="checkbox"/> vinyle <input type="checkbox"/> nitrile <input type="checkbox"/> latex non poudrés <input type="checkbox"/> latex poudrés <input type="checkbox"/> autre, précisez :

Dans l'entreprise actuelle ou le poste actuel :	
	<p> <ul style="list-style-type: none"> • Portez-vous une blouse de travail ? <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/> rarement <input type="checkbox"/> souvent <input type="checkbox"/> toujours Si oui, précisez quel type de blouse ? <input type="checkbox"/> jetable <input type="checkbox"/> blouse du laboratoire à manches longues <input type="checkbox"/> blouse du laboratoire à manches courtes <p>À quelle fréquence changez-vous de blouse ? <input type="checkbox"/> après le travail avec les animaux <input type="checkbox"/> chaque semaine <input type="checkbox"/> chaque mois</p> <p> <ul style="list-style-type: none"> • Portez-vous des lunettes de protection ? <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/> rarement <input type="checkbox"/> souvent <input type="checkbox"/> toujours • Portez-vous un masque ? <input type="checkbox"/> non <input type="checkbox"/> rarement <input type="checkbox"/> souvent <input type="checkbox"/> toujours Si oui, précisez quel type de masque ? <input type="checkbox"/> chirurgical <input type="checkbox"/> masque de protection respiratoire (FFP2 ou FFP3) <input type="checkbox"/> autre, précisez :</p> </p>
6)	<p>Avez-vous des allergies connues ? <input type="checkbox"/> aucune <input type="checkbox"/> rat <input type="checkbox"/> souris <input type="checkbox"/> lapin <input type="checkbox"/> chat <input type="checkbox"/> chien <input type="checkbox"/> graminées <input type="checkbox"/> pollens d'arbres <input type="checkbox"/> autre, précisez :</p> <p>Si oui :</p> <p> <ul style="list-style-type: none"> • comment se manifestent ses allergies ? <input type="checkbox"/> asthme <input type="checkbox"/> eczéma <input type="checkbox"/> urticaire <input type="checkbox"/> rhino-conjonctivite <input type="checkbox"/> œdème de Quincke <input type="checkbox"/> autre, précisez : • quand avez-vous eu des symptômes pour la dernière fois ? • quel traitement prenez-vous ? Noms des médicaments : </p>

Habitudes

Médication :

7. prenez-vous régulièrement des médicaments ?

Oui

_____ depuis quand ? _____
_____ depuis quand ? _____
_____ depuis quand ? _____
_____ depuis quand ? _____

Non

Questions concernant le tabagisme :

8. Etes-vous fumeur ?

Oui

Ex-fumeur

Non

9. Combien de paquet(s) de 20 cigarettes/tabac par jour ?

_____ paquets cig./j.

_____ paquets tabac/j.

10. Depuis combien d'années fumez-vous ?

_____ années

_____ = _____ UPA

Nous vous remercions d'avoir pris le temps de remplir ce questionnaire.