LES (1,3)-β-D-GLUCANES DANS L'AIR DES LIEUX DE TRAVAIL : EVALUATION D'UNE METHODE EN CONDITIONS REELLES D'EXPOSITION

P. Duquenne*, X. Simon, C. Coulais, C. Dziurla

INRS, 1 rue du Morvan CS 60027, 54519 Vandœuvre-lès-Nancy Cedex
*philippe.duquenne@inrs.fr

TITLE

Airborne (1,3)-β-D-glucans at occupational settings : Field evaluation of a measurement method

RESUME

Une méthode de mesure des (1,3)-β-D-glucanes dans l'air, développée à l'INRS, a été évaluée en conditions réelles d'exposition dans deux centres de tri des déchets ménagers recyclables. Les résultats indiquent qu'un traitement combiné des échantillons (broyage avec billes de verre en présence de Tween 80) augmente la concentration en (1,3)-β-D-glucanes mesurée dans l'air de centres de tri. Ils suggèrent également qu'il est possible de conserver les échantillons à -20°C pendant une quinzaine de jours avant l'analyse. Les concentrations mesurées dans les deux centres de tri confirment l'applicabilité de la méthode développée dans ce secteur d'activité et la pertinence des résultats mesurés. Des essais complémentaires dans d'autres secteurs semblent nécessaires pour conforter ces résultats.

ABSTRACT

A method for the measurement of airborne (1,3)-β-D-glucans, developed in INRS laboratories, was evaluated in real exposure conditions in two household waste sorting plants. The results indicate that a combined treatment of the samples (grinding with glass beads in the presence of Tween 80) increases the concentration of (1,3)-β-D-glucans measured in the air of sorting plants. They also suggest that it is possible to store the samples at -20°C for about 15 days before analysis. The concentrations measured in the two sorting plants confirm the applicability of the developed method in this working sector and the relevance of the results. Further assays in other sectors seem necessary to reinforce these results.

MOTS-CLES: bioaérosols, (1,3)-β-D-glucanes, exposition professionnelle, méthode de mesure
KEYWORDS: bioaerosols, (1,3)-β-D-glucans, occupational exposure, measurement method

1. CONTEXTE ET OBJECTIF

Les (1,3)-β-D-glucanes sont des polysaccharides produits à la fois par les eucaryotes et les procaryotes et qui entrent dans la composition de la paroi cellulaire de la plupart des moisissures, des champignons supérieurs, des levures, des algues et de certaines bactéries. Les (1,3)-β-D-glucanes peuvent être mis en suspension dans l'air des lieux de travail lors de la manipulation ou la transformation de produits végétaux, des déchets ou de certains aliments. Les environnements typiquement peu contaminés présentent des concentrations en (1,3)-β-D-glucanes inférieures à 10 ng/m^3 (Madsen *et al.,* 2011). Plusieurs études rapportent des expositions parfois importantes (pouvant atteindre plusieurs centaines de microgrammes par mètre cube d'air) lors du tri des déchets (Wouters *et al.,* 2005), dans des cliniques vétérinaires (Samadi *et al.,* 2011), dans des élevages (Samadi *et al.,* 2009) et lors des récoltes agricoles (Halstensen *et al.,* 2007). L'exposition aux (1,3)-β-D-glucanes aéroportés a été associée à des irritations et des symptômes inflammatoires au niveau des voies supérieures respiratoires et à de la fatigue (Rylander and Lin, 2000 ; Douwes, 2005 ; Sigsgaard *et al.,* 2005). Les observations relatives aux effets de ces expositions restent toutefois contrastées et une hypothèse hygiéniste confère également des effets bénéfiques à l'inhalation de (1,3)-β-D-glucanes sur le développement du système immunitaire. En tout état de cause, la relation dose-réponse n'est pas définie et les données épidémiologiques sont encore trop peu nombreuses. Il n'y a pas de méthode disponible et publiée en France pour la mesure des (1,3)-β-D-glucanes dans l'air et les expositions des salariés sur le territoire Français ne sont pas documentées.
Une méthode a été développée à l'INRS pour la mesure des expositions aux (1,3)-β-D-glucanes et évaluée en conditions de laboratoire (Degois *et al.,* 2015). Les objectifs de la présente étude étaient *(i)* de compléter les travaux menés en laboratoire par des essais en conditions réelles d'exposition en vue d'étudier l'influence du protocole de traitement des échantillons et de leur conservation par congélation sur les résultats de mesure *(ii)* d'apporter les premières données de mesure des (1,3)-β-D-glucanes en France dans un centre de tri.

2. MATERIELS ET METHODES

DOI : 10.25576/ASFERA-CFA2020-19767 Cet article est publié sous la seule responsabilité de ses auteurs

2.1. Méthodes et stratégie de prélèvement des échantillons de bioaérosols

Les échantillons de bioaérosols ont été prélevés dans deux centres de tri des déchets ménagers recyclables situés en Auvergne (2014) et en Lorraine (2018). Le prélèvement des (1,3)-β-D-glucanes dans l'air a été effectué à poste fixe et à hauteur des voies respiratoires, à proximité des activités professionnelles caractéristiques de ces entreprises, au moyen de cassettes fermées à un débit de 2 L/min. Les cassettes, préalablement décontaminées, contenaient une membrane en polycarbonate (Nuclepore®, Millipore®, 37 mm, diamètre de pores 0,8 µm) et un filtre support en fibres de verre (Whatman® GF/B glass microfiber filter, traité 2 heures à 250°C). La durée de prélèvement était d'environ 5 heures puis les cassettes ont été rebouchées et transportées jusqu'au laboratoire dans un contenant réfrigéré.

2.2. Effet du traitement des échantillons sur la concentration mesurée en (1,3)-β-D-glucanes

Les (1,3)-β-D-glucanes prélevés dans les cassettes ont été extraits avec 10 mL de solution d'extraction (eau p.p.i. + Tween 80 0,1%) par agitation orbitale (2000 rpm) pendant 60 min à température ambiante. Une partie de l'extrait a été recueilli pour analyse sans traitement complémentaire. L'autre partie a été traitée avec un broyeur de cellules (Fastprep, MP Biomedicals) en présence de billes de verre décontaminées (lysing matrix C, mpbio); 5 cycles de broyage de 1 min à une vitesse de 4,0 m/s ont ainsi été réalisés. Le dosage des (1,3)-β-D-glucanes dans les extraits a été effectué avec le kit Glucatell® conformément aux indications données précédemment (Degois *et al.,* 2015).

2.3. Effet de la conservation des échantillons sur la concentration mesurée en (1,3)-β-D-glucanes

Lors des campagnes de terrain, certains prélèvements ont été doublés de manière à étudier l'influence d'une conservation des échantillons par congélation. Deux prélèvements simultanés ont été effectués et les cassettes ont été transportées vers le laboratoire à 4°C. L'une a été analysée à J+1 (conservation de courte durée à 4°C) et l'autre a été analysée à J+15 (±2 jours) après une conservation à -20°C. Les cassettes ont été extraites et traitées suivant les mêmes protocoles (section 2.2).

3. RESULTATS

3.1. Conditions de mesures et aperçus des concentrations mesurées

Les mesures ont été effectuées dans les conditions normales de fonctionnement de l'entreprise. La campagne de mesure a permis de collecter 38 échantillons pour l'étude relative au traitement des échantillons et 43 pour l'étude relative à la conservation des échantillons.

3.1. Effet du traitement des échantillons sur les concentrations en (1,3)-β-D-glucanes

Les résultats montrent que les concentrations en (1,3)-β-D-glucanes après traitement combiné (broyage + Tween) de l'échantillon sont toutes supérieures à celles mesurées sans traitement (Figure 1A). Le traitement étudié accroît la concentration en (1,3)-β-D-glucanes d'un facteur très variable, compris entre 1,1 et 15,1 (médiane = 2,3) par rapport aux échantillons non traités.

3.2. Influence de la conservation des échantillons sur les concentrations en (1,3)-β-D-glucanes

Les résultats obtenus sur des échantillons de terrain, montrent que les concentrations en (1,3)-β-D-glucanes mesurées après une conservation d'environ 15 jours à -20°C sont comparables à celles mesurées sans congélation (Figure 1B). La majorité des concentrations mesurées après la congélation des échantillons sont du même ordre de grandeur que celles mesurées avant congélation à ± 20%. Ces valeurs sont comparables à celles obtenues pour la répétabilité du dosage sans traitement (~ 12%) et avec traitement (~ 30%).

3.3. Concentrations en (1,3)-β-D-glucanes mesurées à différents postes de travail

Les mesures effectuées dans les centres de tri ont permis de documenter les niveaux de concentrations en (1,3)-β-D-glucanes dans les zones de travail des entreprises considérées.
Les concentrations en (1,3)-β-D-glucanes ont varié en fonction de la zone d'activité investiguée et les concentrations mesurées étaient comprises entre ~10 et ~1000 ng/m^3 (Figure 2). La cabine de pré-tri décartonnage, zone dans laquelle les travailleurs retirent les cartons les plus volumineux de l'ensemble des déchets, présentent les concentrations les plus élevées.

DOI : 10.25576/ASFERA-CFA2020-19767 Cet article est publié sous la seule responsabilité de ses auteurs

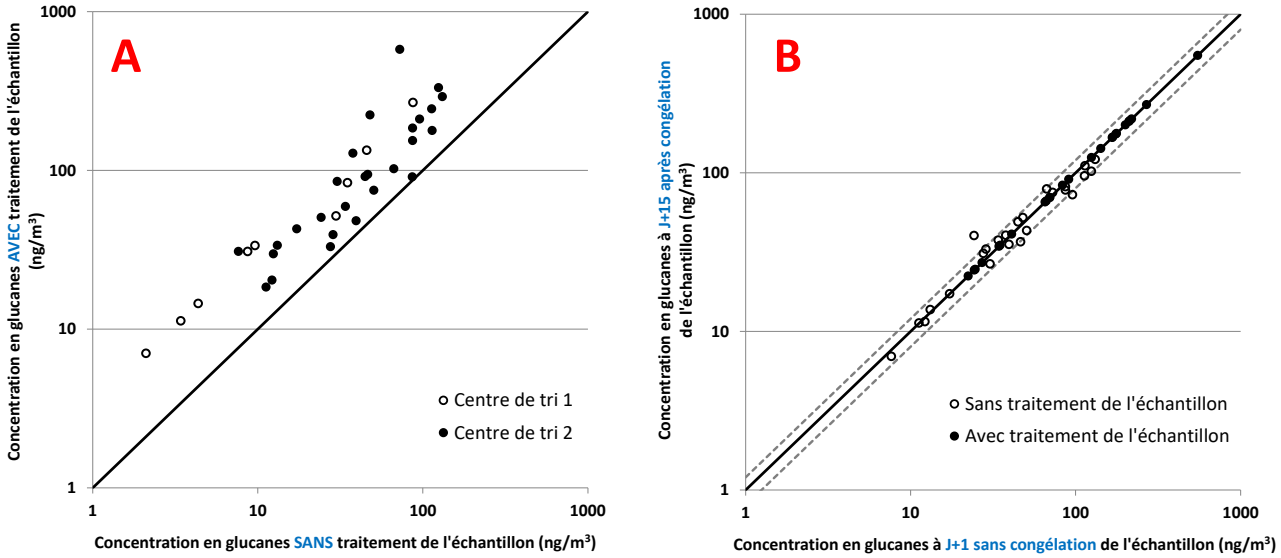

Figure 1 : Influence du traitement d'échantillons de bioaérosols sur les concentrations en (1,3)-β-D-glucanes mesurées dans l'air. Les échantillons ont été prélevés dans deux centres de tri des déchets ménagers recyclables. **A** : traitement combiné par « broyage + Tween » ; **B** : conservation des échantillons (congélation à -20°C) - les lignes en pointillé représentent les droites enveloppes à ± 20% de la ligne bissectrice.

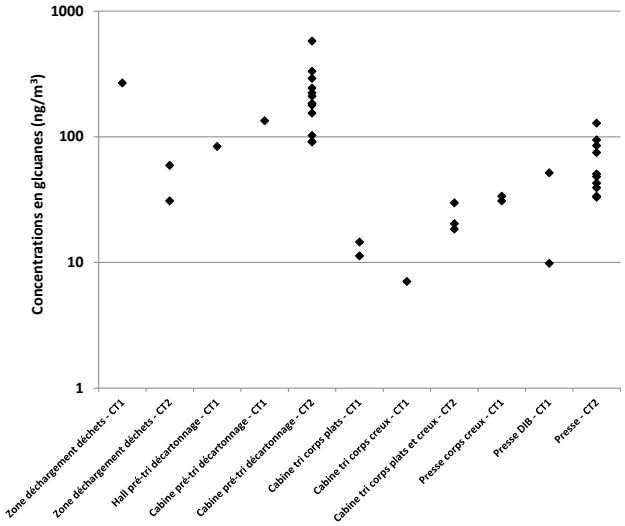

Figure 2 : Concentrations en (1,3)-β-D-glucanes mesurées à poste fixe dans différentes zones de travail de deux centres de tri des déchets ménagers recyclables. Les échantillons ont été analysés après un traitement combiné par « broyage + Tween ». Les zones de travail sont classées dans le sens de fonctionnement de la chaine de tri, de l'arrivée des déchets bruts et mélangés jusqu'à la fabrication de balles de déchets triés.

4. DISCUSSION

4.1. Influence d'un traitement combiné sur des échantillons de bioaérosols

L'essai mené à partir des échantillons de bioaérosol prélevés en conditions réelles d'exposition indique que le traitement combiné (broyage avec billes de verre en présence de Tween 80) augmente la concentration en (1,3)-β-D-glucanes mesurée dans l'air. Ces résultats confirment les tendances observées lors des essais menés au laboratoire avec des suspensions microbiennes et des solutions de glucanes (Degois *et al.,* 2015). Le traitement combiné favorise la libération des (1,3)-β-D-glucanes à partir des enveloppes cellulaires ou des particules collectées, améliore leur solubilité et, en conséquence, leur disponibilité vis-à-vis des réactifs lors du dosage. Ces résultats suggèrent que le traitement combiné testé est applicable à des échantillons de bioaérosol et permet un dosage plus efficace des (1,3)-β-D-glucanes présents dans l'échantillon. Toutefois, les essais ne permettent pas de déterminer si la totalité des (1,3)-β-D-glucanes a été dosée. Par ailleurs, le processus global de mesure (décontamination, prélèvement, extraction, traitement et dosage) apparait lourd et fastidieux. Pour des raisons d'organisation, les comparaisons avec d'autres types de traitement des

échantillons n'ont pas pu être réalisées. D'autres protocoles ont déjà été utilisés dans la littérature pour traiter des échantillons de bioaérosols ou de poussières prélevés dans des atmosphères professionnelles ou dans l'air intérieur : traitement par agitation avec ou sans un tensioactif (Alwis *et al.,* 1999 ; Samadi *et al.,* 2011), traitement alcalin (Foto *et al.,* 2004 ; Iossifova *et al.,* 2008, Madsen *et al.,* 2011, Hansen *et al.,* 2012, Kozajda *et al.,* 2017), traitement thermique (Douwes, *et al.,* 1996 ; Roy and Thorne, 2003 ; Wouters *et al.,* 2006 ; Samadi *et al.,* 2009 ; Noss *et al.,* 2010) ou traitement par ultrasons (Halstensen *et al.,* 2007, Adhikari *et al.,* 2010 and 2011 ; Lee and Liao, 2014), parfois combinés (et souvent en présence de Tween introduit au moment de l'extraction). Aucun d'entre eux ne parait plus simple à mettre en œuvre que celui utilisé dans notre étude.

4.2. Conservation des échantillons de bioaérosols

La conservation des échantillons de bioaérosols est une problématique importante pour la gestion des analyses. Les résultats indiquent que la conservation des échantillons à -20°C n'affecte pas les concentrations mesurées en (1,3)-β-D-glucanes. Même s'ils devront être confirmés dans d'autres environnements professionnels, ces résultats préliminaires concernant l'influence de la conservation sont encourageants et laissent présager une souplesse pour l'analyste quant à la prise en charge de ces échantillons.

4.3. Concentrations en (1,3)-β-D-glucanes mesurées en conditions réelles d'exposition

Les mesures effectuées dans les deux centres de tri ont permis de documenter des niveaux de concentrations en (1,3)-β-D-glucanes sur le territoire Français. Les concentrations mesurées étaient supérieures à celles des environnements typiquement peu contaminés, généralement inférieures à 10 ng/m^3 (Madsen *et al.,* 2011). Plusieurs études rapportent des expositions ou des concentrations, parfois importantes, lors de différentes activités professionnelles : secteur des déchets (très variables d'une activité à l'autre, <LQ – ~10^5 ng/m^3) (Douwes *et al.,* 1996 ; Gladding *et al.,* 2003 ; Heldal *et al.,* 2003 ; Wouters *et al.,* 2006 ; Kozajda *et al.,* 2017), cliniques vétérinaires (Samadi *et al.,* 2011), élevages (très variables d'une activité à l'autre, <LQ – ~10^5 ng/m^3) (Douwes *et al.,* 1996 ; Samadi *et al.,* 2009), travaux / récoltes agricoles (Roy et Thorne 2003; Halstensen *et al.,* 2007 ; Hansen *et al.,* 2012, Lee and Liao 2014;), cultures sous serres (Adhikari, *et al.,* 2011 ; Hansen *et al.,* 2012) , industrie du bois (Alwis *et al.,* 1999 ; Douwes *et al.,* 2000). Ces niveaux de concentrations, mesurés avec des dispositifs de prélèvement ou des traitements de l'échantillon souvent différents, restent néanmoins du même ordre de grandeur que ceux mesurés dans notre étude de terrain, surtout pour les activités de recyclage de déchets (~10 – ~1000 ng/m^3) (Gladding *et al.,* 2003 ; Heldal *et al.,* 2003 ; Wouters *et al.,* 2006 ; Kozajda *et al.,* 2017). Ce constat renforce l'applicabilité de la méthode développée sur des bioaérosols de terrain et la pertinence des résultats mesurés.

5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les résultats indiquent qu'un traitement combiné des échantillons (broyage avec billes de verre en présence de Tween 80) augmente la concentration en (1,3)-β-D-glucanes mesurée dans l'air de centres de tri. Ils suggèrent également qu'il est possible de conserver les échantillons à -20°C pendant une quinzaine de jours avant l'analyse. Les concentrations mesurées dans les deux centres de tri confirment l'applicabilité de la méthode développée dans ce secteur d'activité et la pertinence des résultats mesurés. Des essais complémentaires dans d'autres secteurs semblent nécessaires pour conforter ces résultats.

6. REFERENCES

Adhikari, A., Gupta J., Wilkins J.R., Olds R.L., Indugula R., Cho K.J., Li C., and M. Yermakov (2011). The Annals of Occupational Hygiene 55 (3): 272-285.

Adhikari, A., Lewis J.S., Reponen T., DeGrasse E.C., Grimsley L.F., Chew G.L., Iossifova Y. and S. A. Grinshpun (2010). Science of The Total Environment 408 (22): 5489-5498.

Alwis, K.U., Mandryk J. and A.D. Hocking (1999). Applied Occupational and Environmental Hygiene 14 (9): 598-608.

Degois, J., Duquenne P., Coulais C., Greff G., Simon X. and C. Laroche (2015). 30ème Congrès Français sur les aérosols (CFA 2015), Paris- 27 et 28 janvier 2015 ; FIAP Jean Monnet, 30 rue Cabanis, 75014 PARIS.

Douwes, J. (2005). Indoor Air 15(3): 160-169.

Douwes, J., Doekes G., Montijn R., Heederik D. and B. Brunekreef (1996). Applied and environmental microbiology 62(9): 3176-3182.

Douwes, J., McLean D., van der Maarl E., Heederik D. and N. Pearce (2000). American Journal of Industrial Medicine 38: 426-430.

Foto, M., Plett J., Berghout J. and J. D. Miller (2004). Analytical and Bioanalytical Chemistry 379(1): 156-162.

Gladding, T., Thorn J. and D. Stott (2003). American Journal of Industrial Medicine 43: 584-591.

Halstensen, A.S., Nordby K.C., Wouters I.M. and W. Eduard (2007). The Annals of Occupational Hygiene 51(7): 581-592.

Hansen, V.M., Meyling N.V., Winding A., Eilenberg J. and A.M. Madsen (2012). The Annals of Occupational Hygiene 56(2): 170-181.

Heldal, K.K., Halstensen A.S., Thorn J., Djupesland P., Wouters I., Eduard W. and T.S. Halstensen (2003). Occupational and Environmental Medicine 60 (6): 444-450.

Iossifova, Y., Reponen T., Daines M., Levin L. and G.K. Khurana Hershey (2008). The Open Allergy Journal 1: 26-34.

Kozajda, A., Jeżak K., Cyprowski M. and I. Szadkowska-Stańczyk (2017). Aerobiologia 33(4): 481-491.

Lee, S.A. and C.H. Liao (2014). Science of The Total Environment 466-467: 725-732.

Madsen, A.M., Frederiksen M.W., Allermann L. and J.H. Peitersen (2011). Aerobiologia 27(2): 173-179.

Noss, I., Doekes G., Sander I., Heederik D.J.J., Thorne P.S. and I.M. Wouters (2010). The Annals of Occupational Hygiene 54(6): 651-658.

Roy, C.J. and P.S. Thorne (2003). American Industrial Hygiene Association Journal 64(4): 487-495.

Rylander, R. and R.H. Lin (2000). Toxicology 152(1–3): 47-52.

Samadi, S., Rietbroek N.N.J., Dwars R.M., Jamshidifard A.R., Heederik D.J.J. and I.M. Wouters (2011). Journal of Environmental Monitoring 13: 3524-3261.

Samadi, S., Wouters I.M., Houben R., Jamshidifard A.R., Van Eerdenburg F. and D.J. Heederik (2009). The Annals of occupational hygiene 53(6): 595-603.

Sigsgaard, T., Bonefeld-Jorgensen E.C., Hoffmann H.J., Bonlokke J.and T. Kruger (2005). Toxicology and Applied Pharmacology 207(2, Supplement 1): 310-319.

Wouters et al., (2005). The Annals of Occupational Hygiene, 2005. 50(1): p. 39-53.

Wouters et al., (2006). The Annals of Occupational Hygiene, p. 1-15.

DOI : 10.25576/ASFERA-CFA2020-19767 Cet article est publié sous la seule responsabilité de ses auteurs