

Notes techniques

VALEURS GUIDES ENDOTOXINES – INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS DE MÉTROLOGIE DES BIOAÉROSOLS

ISABELLE
BALTY,
NICOLAS
BERTRAND,
CHRISTINE
DAVID,
INRS,
département
Expertise
et conseil
technique

SARAH
BURZONI,
FRÉDÉRIC
CLERC,
PHILIPPE
DUQUENNE,
XAVIER
SIMON,
INRS,
département
Métrologie
des polluants

VÉRONIQUE
CARON
INRS,
département
Études et
assistance
médicales

BRIGITTE
FACON,
VALÉRIE
RENEVOT
Cramif

Les endotoxines sont des constituants de certaines bactéries qui peuvent entraîner des effets sur la santé en milieu professionnel. Ces molécules peuvent être mesurées dans l'atmosphère de travail, mais aucune valeur limite d'exposition n'est disponible à ce jour. Après analyse des mesures d'endotoxines réalisées par le réseau Assurance maladie – Risques professionnels, cet article propose des valeurs guides aidant à l'interprétation des résultats et à la mise en place de mesures de prévention.

Les endotoxines sont des molécules (lipopolysaccharides) constituant la paroi de certaines bactéries, dites à Gram négatif. Elles se détachent de la paroi lorsque celle-ci se brise, au moment de la mort ou de la division bactérienne. Les bactéries Gram négatif et les endotoxines sont retrouvées dans une multitude de réservoirs présents dans les environnements

professionnels. Ces réservoirs contiennent généralement de la matière organique dans des supports solides (poussières, déchets ménagers, boues de station d'épuration, composts, végétaux...) et liquides (eaux usées, fluides de coupe, eaux de procédés...). Les bactéries Gram négatif et les endotoxines sont mises en suspension dans l'air à partir de ces réservoirs lors de certaines opérations générant des aérosols.

RÉSUMÉ

Les endotoxines sont des molécules de la paroi des bactéries Gram négatif. Elles peuvent entraîner des inflammations des voies respiratoires. Les endotoxines ont été mesurées dans l'atmosphère de travail de nombreux

secteurs professionnels, or il n'existe aucune valeur limite d'exposition. En s'appuyant sur les mesures d'endotoxines déjà effectuées, le réseau Assurance maladie – Risques professionnels propose deux valeurs guides (200 et 1 000 UE/m³),

permettant d'harmoniser l'interprétation des résultats et de définir les actions de prévention à engager. Ces valeurs seront reconsidérées régulièrement, en fonction des avancées des études toxicologiques et des résultats de mesures.

Endotoxin guideline values – Interpretation of the results of bioaerosol metrology

Endotoxins are molecules of the cell wall of Gram negative bacteria. They can cause inflammation of the respiratory tracts. Endotoxins have been measured in the working atmosphere of numerous occupational sectors, and yet there is no exposure limit value. Based

on the measurements of endotoxins already taken, the Assurance Maladie – Risques Professionnels (French Health Insurance – Occupational Risks) network is proposing two guideline values (200 and 1000 EU/m³), making it possible to harmonise the interpretation of the

results and to define the prevention actions to be instigated. These values will be reconsidered regularly depending on the progress of the toxicological studies and on the results of measurements.

Elles peuvent alors être inhalées par les salariés [1]. Les endotoxines se retrouvent aux mêmes endroits que les bactéries Gram négatif et persistent même si ces dernières sont détruites. Les bactéries étant présentes partout où se trouvent de l'humidité et de la matière organique ou inorganique, les endotoxines ont été détectées dans de nombreux secteurs professionnels (Cf. Encadré 1).

Effets sur la santé

Depuis les années 1960, des symptômes respiratoires associés à des symptômes généraux ont été attribués à des expositions professionnelles aux endotoxines. Dès les années 1980, des études en laboratoire ont tenté de démontrer ce lien entre expositions et effets sur la santé. Ainsi, Rylander *et al.* [2] montrent que la fonction respiratoire est altérée par l'exposition à des endotoxines et la diminution du volume expiratoire maximal par seconde (VEMS) peut être, dans certaines conditions, corrélée à la concentration d'endotoxines dans l'air [2,3]. À noter qu'il s'agit d'un phénomène inflammatoire et non pas allergique.

Des études en milieu professionnel mettent en évidence, entre le début et la fin du poste de travail, une hyperréactivité bronchique non spécifique (HRBNS) ou une augmentation des taux de marqueurs spécifiques de l'inflammation dans le sang ou le liquide de lavage broncho-alvéolaire [4]. D'autres études montrent que la prévalence des signes cliniques tels que toux, essoufflement et oppression thoracique est plus élevée dans les milieux les plus contaminés par des endotoxines [5-7]. Par ailleurs, il est très difficile d'établir une concentration d'endotoxines en-dessous de laquelle il n'est pas décrit de signes cliniques.

Une exposition massive à des poussières organiques contaminées par des endotoxines est associée au syndrome toxique des poussières organiques (ODTS), qui se traduit par une réaction générale (fièvre, malaises, douleurs diffuses) et respiratoire (gêne thoracique, toux). Ces signes sont attribués à une réaction inflammatoire intense survenant à la fois dans le tissu pulmonaire et dans l'organisme entier. La guérison est rapide et sans séquelles.

Toutefois, la répétition des expositions et des phénomènes inflammatoires est à l'origine de troubles respiratoires plus marqués de type bronchite. Ces symptômes peuvent être objectivés par la mise en évidence d'une perturbation des fonctions respiratoires entre le début et la fin de poste (notamment diminution du VEMS).

En cas d'exposition prolongée, ces affections prennent la forme d'une bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO).

En outre, la coexposition à des agents biologiques et chimiques est la situation la plus fréquemment rencontrée en milieu professionnel. Or, l'exposition à ces agents peut renforcer les effets des endotoxines.

ENCADRÉ 1

EXEMPLES DE SECTEURS PROFESSIONNELS OÙ ONT ÉTÉ RETROUVÉES DES ENDOTOXINES.

- **Travail en milieu agricole:**
 - culture, conduite d'engins agricoles...;
 - élevages d'animaux (volailles, porcins, bovins...).
- **Abattage d'animaux.**
- **Centres d'équarrissage.**
- **Travail en industrie:**
 - transport et stockage de produits animaux ou végétaux (laine, coton, céréales, tabac, fruits...);
 - transformation de produits animaux ou végétaux: filature, tissage de fibres naturelles (lin, chanvre...);
 - papeterie...
- **Assainissement, déchets:**
 - centres de tri de déchets;
 - centres de compostage;
 - stations d'épuration;
 - entretien, maintenance, nettoyage, dans tous les secteurs où ont été identifiées des endotoxines.

Par exemple, il a été constaté que des travailleurs en porcherie exposés de façon chronique à l'ammoniac et aux détergents peuvent déclencher des inflammations du tractus respiratoire en présence de faibles concentrations d'endotoxines [8].

Les atmosphères de travail étant différentes d'une entreprise à l'autre, les effets observés à une concentration donnée d'endotoxines dans une entreprise ne peuvent être extrapolés aux autres entreprises.

En conclusion, il est difficile de relier des concentrations d'endotoxines à des symptômes définis. Toutefois, plus les concentrations ou la fréquence d'exposition sont élevées, plus le risque d'effets sur la santé est grand.

Il est donc important de mesurer les concentrations d'endotoxines aux postes de travail pour estimer l'exposition des salariés et, le cas échéant, mettre en place des mesures de prévention adéquates afin de réduire de façon significative leur niveau d'exposition.

Mesurage des endotoxines

La détection d'endotoxines aéroportées témoigne de la présence de bactéries Gram négatif dans l'environnement investigué, à un moment donné. En revanche, elle ne donne aucune information sur la viabilité des bactéries et n'est pas systématiquement corrélée aux mesures de concentration des bactéries dans l'air.

Les endotoxines sont mesurées selon la procédure décrite dans la fiche MétroPol 089 de l'INRS [9]. Le prélèvement s'effectue à l'aide de cassettes porte-filtre fermées comportant trois pièces. Les cassettes sont assemblées avec un médium de collecte constitué d'un filtre en fibres de verre



SECTEUR D'ACTIVITÉ	NOMBRE DE PRÉLÈVEMENTS	VALEUR MINIMALE	VALEUR MAXIMALE	MOYENNE ARITHMÉTIQUE	ÉCART TYPE	MOYENNE GÉOMÉTRIQUE	ÉCART TYPE GÉOMÉTRIQUE
Compostage des déchets	625	0,0	27 561,2	492,5	2 145,9	25,2	13,7
Incinération des déchets	94	0,0	933,3	60,6	126,6	12,4	7,6
Collecte des déchets non dangereux	58	0,6	1 406,7	126,0	281,0	23,2	7,4
Transformation du thé et du café	33	0,3	2 542,6	306,9	577,1	56,2	9,2
Fabrication d'aliments pour animaux de ferme	25	2,8	14 845,2	1 937,0	3 451,9	199,9	15,1
Déchetterie	25	0,4	10 673,2	664,4	2 169,3	68,4	9,6
Fabrication de papier et de carton	23	0,3	663,8	106,2	187,7	19,4	7,7
Fabrication d'autres produits alimentaires n.c.a.	22	0,3	7 871,9	888,0	1 799,1	37,9	29,4
Affinage des fromages	21	1,2	357,3	64,0	99,3	20,6	5,5
Administration publique générale	15	0,5	5 073,7	366,5	1 302,8	19,1	9,0
Commerce de gros (commerce interentreprises) de céréales, de tabac non manufacturé, de semences et d'aliments pour le bétail	13	40,0	14 539,0	3 458,5	4 135,2	994,2	8,6
Collecte et traitement des eaux usées	12	1,1	6 824,0	1 862,3	2 483,7	195,3	25,2
Captage, traitement et distribution d'eau	11	9,5	2 183,1	710,8	797,2	291,7	5,4
Fabrication de carton ondulé	10	21,2	2 718,4	820,7	1 046,0	210,6	7,2
Traitement et élimination des déchets non dangereux	10	0,7	3 643,0	443,2	1 130,5	45,7	12,4
Transformation et conservation de la viande de volaille	10	34,0	9 435,0	4 805,9	2 561,3	3 043,2	5,0
Autres services personnels	9	0,4	144,9	46,8	43,9	24,7	5,4
Fabrication de vêtements de dessus	8	0,2	2,2	0,9	0,6	0,8	2,1
Commerce de détail de viandes et de produits à base de viande en magasin spécialisé	7	0,2	30,0	6,7	10,7	2,0	5,9
Transformation et conservation de pommes de terre	6	57,0	484,9	192,3	166,6	142,3	2,3
Fabrication de machines agricoles et forestières	5	0,4	277,5	64,2	119,8	7,7	15,6
Autre imprimerie	2	1,9	180,5	91,2	126,3	18,5	25,0
Tous secteurs	1044	0,0	27 561,2	540,3	1 997,6	29,5	13,7
Tous secteurs (prélèvements d'ambiance)	914	0,0	27 561,2	529,4	2 026,5	26,3	14,6
Tous secteurs (prélèvements individuels)	130	3,70	10 673,20	617,23	1 786,05	66,44	6,97

TABEAU 1 ↑
Répartition des concentrations en endotoxines par secteur d'activité (valeurs exprimées en UE/m³).

apryogène (exempt d'endotoxines) et d'un filtre support de même nature. Les filtres doivent être préalablement décontaminés par chauffage (250 °C pendant 120 min) et les cassettes sont fermées à l'aide d'une presse pneumatique afin d'éviter les fuites. Des précautions sont prises lors des manipulations afin d'éviter la contamination des parois intérieures des cassettes par des endotoxines exogènes. Lors du prélèvement, les cassettes fermées sont chacune connectées à une pompe individuelle assurant

un débit nominal moyen de 2 l/min. Dans ces conditions, l'aérosol échantillonné est proche de la fraction inhalable et la durée de prélèvement peut s'étendre sur une période de référence correspondant à la durée du poste de travail (8 h). L'échantillonnage individuel doit être privilégié pour évaluer l'exposition aux endotoxines sur les lieux de travail, car il permet de prendre en compte les déplacements et les différentes tâches de l'opérateur dans l'entreprise. L'échantillonnage d'ambiance, ou à poste fixe, peut

être utilisé pour identifier les sources d'exposition ou pour établir une cartographie des niveaux de concentration dans un espace de travail.

Les échantillons sont acheminés le plus rapidement possible vers le laboratoire d'analyses dans un emballage réfrigéré (à environ 4°C). Les filtres doivent être transportés dans les cassettes de prélèvement. Celles-ci doivent être correctement fermées et, si possible, maintenues en position verticale pour diminuer le transfert de particules du filtre vers les parois de la cassette. Les échantillons sont analysés dans les 24 h suivant le prélèvement. Pour ce faire, le filtre est retiré de la cassette d'échantillonnage, puis transféré dans un tube stérile et apyrogène contenant de l'eau stérile et apyrogène. Le tube contenant le filtre contaminé est ensuite agité (60 min à 2000 rpm) et centrifugé (10 min à 2000 g). Le dosage des endotoxines dans les extraits est effectué immédiatement après l'extraction par la méthode cinétique et chromogénique au lysat d'amœbocytes de limule (LAL), avec un kit de dosage spécifique. Les étapes analytiques sont réalisées selon les indications données dans la fiche MétroPol 089 de l'INRS. La quantité d'endotoxines mesurées dans l'air est exprimée en unités endotoxines (UE) par mètre cube d'air prélevé.

L'exposition des salariés sur 8h est ensuite calculée sur la moyenne pondérée par les durées de prélèvement. Par exemple, si un salarié travaille le matin 3h sur un procédé qui l'expose à 120 UE/m³, qu'il fait ensuite une pause dans une atmosphère saine et qu'il travaille enfin 4 h l'après-midi sur une tâche qui l'expose à 200 UE/m³, son exposition sur 8h est égale à :

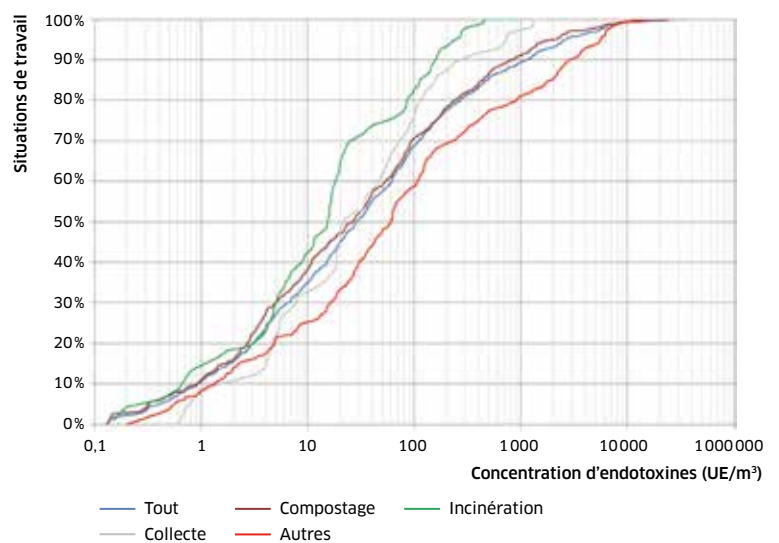
$$\frac{3 \times 120 + 4 \times 200}{8} = 145 \text{ UE/m}^3$$

Cette valeur moyenne a vocation à être comparée à des valeurs limites d'exposition professionnelle (VLEP) sur 8h. Or il n'existe ni VLEP, ni valeur guide pour l'exposition des salariés aux endotoxines.

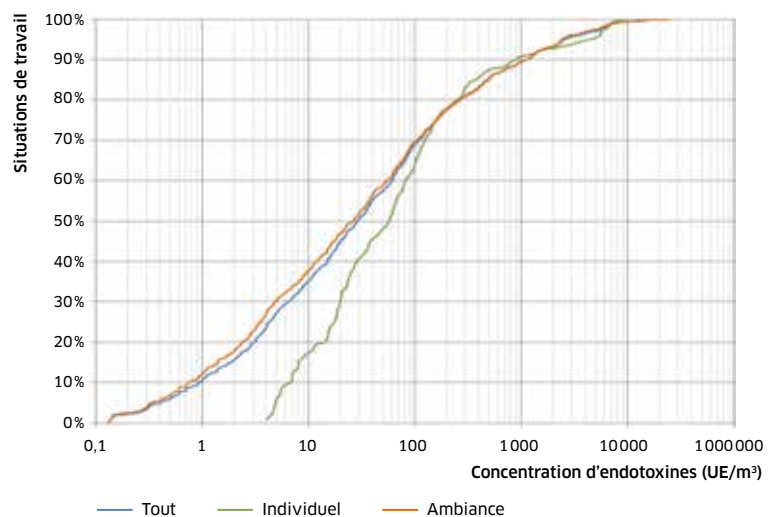
Évaluer des expositions aux endotoxines nécessite au moins des valeurs guides. Face au manque de robustesse des données toxicologiques et épidémiologiques qui ne permettent pas d'établir de seuils fondés sur les effets sanitaires des endotoxines, le réseau Assurance maladie-Risques professionnels¹ a décidé d'établir des valeurs « pragmatiques » de prévention basées sur des résultats de mesures effectuées en atmosphère de travail.

Choix de valeurs guides pour les endotoxines

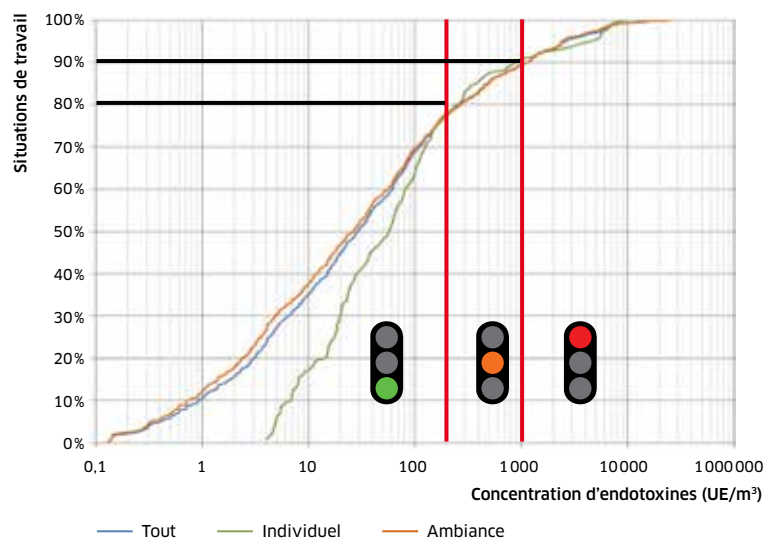
Une base de données Endotoxines a été créée à partir des 1044 mesures réalisées par l'INRS, les Carsat et la Cramif entre 2007 et 2013, dont 130 prélèvements individuels et 914 prélèvements ambiants (Cf. Tableau 1). Ces mesures ont été effectuées dans de nombreux secteurs d'activité, mais surtout dans celui du compostage



↑FIGURE 1: Distribution des concentrations en endotoxines mesurées par secteur professionnel (compostage, incinération, collecte) ou par regroupement de secteurs professionnels (autres, tout).



↑FIGURE 2: Distribution des concentrations en endotoxines par type de prélèvement (individuel et d'ambiance).



↑FIGURE 3: Positionnement des valeurs guides d'exposition aux endotoxines.

EXPOSITION INDIVIDUELLE SUR 8 H	DIAGNOSTIC	ACTIONS À ENGAGER
< 200 UE/m ³	Situation de travail acceptable faisant partie des 80% des situations de travail les moins exposantes.	 Pas de mesure spécifique. Établir un suivi des niveaux d'exposition.
Entre 200 UE/m ³ et 1 000 UE/m ³	Situation de travail non satisfaisante faisant partie des 10% des situations de travail intermédiaires.	 Des mesures de prévention sont à planifier. Pour les situations les plus exposantes, elles doivent être mises en place rapidement.
> 1 000 UE/m ³	Situation de travail non acceptable faisant partie des 10% des situations les plus exposantes.	 Mettre en place immédiatement des mesures de prévention.

TABEAU 2 ↑
Interprétation des résultats de mesures d'endotoxines dans l'atmosphère de travail des entreprises françaises.

qui a fait l'objet d'études approfondies. Le compostage compte à lui seul 60% des données de la base, ce qui constitue un réel biais. Viennent ensuite l'incinération des déchets, la collecte des déchets non dangereux, la transformation du thé et du café, la fabrication d'aliments pour animaux de ferme...

Les autres secteurs ont été regroupés dans la catégorie « Autres » pour obtenir suffisamment de données (Cf. Figure 1).

Cette analyse révèle que le secteur de l'incinération apparaît comme le moins exposant, suivi de la collecte des déchets ménagers, du compostage et de la catégorie regroupant l'ensemble des autres secteurs. Le compostage a un profil intermédiaire par rapport à l'ensemble des secteurs.

L'analyse des résultats de mesures selon le type de prélèvement (individuel ou ambiance) met en évidence des différences significatives. En effet, les opérateurs sont souvent proches de la source d'émission des endotoxines, ce qui conduit généralement à des concentrations d'endotoxines plus importantes pour les prélèvements individuels que pour ceux d'ambiance (Cf. Figure 2). Cependant, les profils d'exposition observés deviennent similaires pour les concentrations supérieures à 150 UE/m³.

Ce positionnement revient à classer les situations de travail en trois groupes sur la base des mesures de terrain déjà réalisées : les 80% de situations de travail les moins exposantes (feu vert), les 10% de

situations de travail les plus exposantes (feu rouge) et les 10% des situations de travail intermédiaires, dont les expositions sont comprises entre le 80^e et le 90^e percentile (feu orange).

L'objectif visé est d'améliorer les 20% des situations les plus exposantes.

Ainsi, les valeurs retenues pour l'interprétation des résultats sont :

- 200 UE/m³ (80^e percentile) : valeur au-dessus de laquelle les situations de travail font partie des 20% les plus exposantes ;
- 1 000 UE/m³ (90^e percentile) : valeur au-dessus de laquelle les situations de travail font partie des 10% les plus exposantes.

Il est donc proposé d'effectuer, sans tenir compte d'un éventuel effet sur la santé, l'interprétation des mesures d'exposition aux endotoxines sur 8 h à l'aide de ces deux valeurs, comme le décrit le tableau 2, ce qui permet d'apprécier une situation de travail et de définir les actions de prévention à engager.

Les deux valeurs guides (200 et 1 000 UE/m³) définies par le réseau Assurance maladie-Risques professionnels permettent d'harmoniser l'interprétation des résultats d'exposition aux endotoxines. Ces valeurs seront reconsidérées régulièrement en fonction des avancées des études toxicologiques et des résultats de mesures qui alimentent la base de données Endotoxines. ●

1. Le Réseau Assurance maladie-Risques professionnels est constitué de l'INRS, des Carsat, Cramif et CGSS.

BIBLIOGRAPHIE

[1] CARON V., LE BACLE C. *Endotoxines en milieu de travail*. INRS, ED 4412, 2013, 4 p.

[2] RYLANDER R., HAGLIND P., LUNDHOLM M. Endotoxin in cotton dust and respiratory function decrement among cotton workers in an experimental cardroom. *The American Review of Respiratory Disease*. 1985; 131(2): 209-213.

[3] CASTELLAN R.M., OLENCHOCK S.A., KINSLEY K.B., HANKINSON J.L. Inhaled endotoxin and decreased spirometric values. An exposure-response relation for cotton dust. *New England Journal of Medicine*. 1987; 317(10):605-610.

[4] PARIS C. Syndrome toxique des poussières organiques. INRS, *Référence en Santé au Travail*, TR 57, 2014; 16 p.

[5] HEEDERIK D., BROUNER R., BIERSTEKER K. ET AL. Relationship of airborne endotoxin and bacteria levels in pigs farms with the lung function and respiratory symptoms of farmers. *International Archives of Occupational and Environmental Health*. 1991; 62: 595-601.

[6] SMIT L.A., SPAAN S., HEEDERIK D. Endotoxin exposure and symptoms in wastewater treatment workers. *American Journal of Industrial Medicine*. 2005; 48 (I): 30-39.

[7] DONHAM K., HAGLIND P., PETERSEN Y., RYLANDER R., BELIN L. Environmental and Health Studies of Farm Workers in Swedish Swine Confinement Buildings. *British Journal of Industrial Medicine*. 1989, 46: 31-37.

[8] LIEBERS V. ET AL. Occupational endotoxin exposure and possible health effects on humans. *American Journal of Industrial Medicine*. 2006, 49: 474-491.

[9] Fiche METROPOL Endotoxines 089. INRS, 2010, 12 p. [www.inrs.fr/inrs-pub/inrs01.Nsf/2D771F4B09B91B69C1256FFC0045EF63/\\$File/089.pdf](http://www.inrs.fr/inrs-pub/inrs01.Nsf/2D771F4B09B91B69C1256FFC0045EF63/$File/089.pdf)



De nouvelles étiquettes pour tous vos produits chimiques



**Pour connaître et appliquer le nouveau système
de classification et d'étiquetage,
retrouvez toutes nos informations sur le site de l'INRS.**

www.inrs.fr/CLP