

Effets pulmonaires des poussières organiques

R. Rylander et Marie-Claire Snella

Institut de médecine sociale et préventive (Prof. O. Jeanneret), Université de Genève

1. Introduction

Une grande variété de poussières organiques est connue pour provoquer des maladies pulmonaires chez l'homme. Ce sont entre autres les poussières provoquées par le traitement industriel du coton, de la bagasse (fibre de canne à sucre), du chanvre, etc. Les symptômes cliniques observés sont remarquablement similaires, bien que les agents responsables aient des origines diverses. On peut remarquer que la gravité des symptômes est accentuée si le patient est fumeur.

De nombreuses études ont été entreprises pour déterminer l'agent responsable dans la poussière. Plusieurs constituants chimiques ont été incriminés: leur effet s'exerce, soit par action toxique directe, déclanchant la libération d'histamine, soit par action indirecte comme le développement d'une réaction de type allergique. Salvaggio et al. [12] ont montré que la poussière de bagasse conservée quelque temps à l'humidité provoquait plus facilement des réactions allergiques chez les patients. Pepys [5] soulève également l'importance de la flore fongique présente dans les poussières responsables du «poumon de fermier» et de la bagassose. Hearn et Holford-Strevens [2] comparent les tests d'inhalation d'extrait de poussière de bagasse d'une part et l'extrait de poussière de cultures de *T. vulgaris* d'autre part.

L'importance de la contamination bactérienne a aussi été montrée par Pernis et al. [6]. Pour étudier systématiquement la toxicité de la poussière et de ses composants, il est nécessaire d'utiliser une méthode expérimentale quantitative sur les animaux.

Dans les expériences sur l'animal, on a démontré que l'exposition à des extraits aqueux de poussière de coton provoque l'invasion des bronchioles [3] et des voies aériennes supérieures [11] par des leucocytes. L'augmentation du nombre de leucocytes apparaît peu d'heures après l'inhalation et atteint un maximum après 24 heures. L'ampleur de l'augmentation est fonction de la concentration de l'extrait aqueux.

Le présent travail a été entrepris afin d'étudier l'importance de la contamination bactérienne sur le processus d'accumulation de leucocytes dans les poumons. Nous avons utilisé des extraits de poussière de coton, de foin et de jute.

2. Matériel et méthodes

2.1. Poussières

La poussière de coton provient du balayage d'une usine de coton, le foin, d'une livraison pour l'animalerie, et la jute, de sacs ordinaires. Les extraits ont été préparés en filtrant une solution faite de 25 g de poussière et de 150 ml d'eau distillée stérile.

Pour certaines expériences, les poussières ont été conservées de 1 à 7 jours à 37° et une humidité relative de 100 %. La poussière a ensuite été séchée dans un thermostat et l'extrait a été préparé comme ci-dessus.

Comment diverses poussières organiques agissent-elles sur l'organisme humain? Des expériences sur l'animal montrent que la contamination bactérienne de la poussière de coton et de foin représente un facteur important et probablement co-responsable de la survenue d'affections pulmonaires.

Dans d'autres essais, les extraits ont été mis dans des conditions de température élevée pour une certaine période avant d'être utilisés.

On a déterminé la contamination bactérienne des différents extraits qualitativement et quantitativement.

2.2. Exposition

Les différents extraits ont été placés dans un générateur d'aérosol du type «Collision» alimentant une chambre d'exposition [9].

Des cobayes mâles adultes ont été exposés aux extraits pendant 40 minutes et on a déterminé le nombre des cellules libres dans les poumons 24 heures après. Cette détermination est faite selon une méthode décrite par Rylander [7]. Les animaux sont tués par une injection intrapéritonéale de penthotal de sodium. On dissèque la trachée, on lui connecte une seringue et on injecte dans les poumons 10 ml de NaCl physiologique, que l'on retire et ré-injecte dix fois. Ensuite le liquide est transféré dans une éprouvette et coloré à l'aide d'une solution de Türk. Le nombre de cellules présentes dans la solution est examiné dans une chambre de Bürker. On distingue les macrophages des leucocytes.

3. Résultats

3.1. Contamination bactérienne

On trouve un grand nombre de germes bactériens et de champignons dans les extraits des différentes poussières; notamment les germes des familles Bacillus et Enterobacter sont les plus répandus.

3.2. Exposition

Le tableau 1 indique le nombre de macrophages et de leucocytes trouvés dans le liquide de lavage 24 heures après l'exposition aux différents extraits.

Ce tableau suggère quelques remarques:

- Les valeurs moyennes trouvées chez les témoins varient d'une expérience à l'autre. Cette différence peut être attribuée au fait que les animaux proviennent de lots différents, ce qui justifie la nécessité d'utiliser de nouveaux témoins pour chaque exposition.
- L'exposition aux extraits de coton et de foin sec provoque une augmentation significative du nom-

Tableau 1

Nombre de macrophages et de leucocytes $\times 10^5$ dans les poumons de cobayes exposés à des extraits aqueux de poussières sèches ou traitées à l'humidité. Chaque valeur est la moyenne pour 5 animaux.

Poussière	Traitement	Macrophages	Leucocytes
Coton	Témoins	70 (18.6)	49 (11.5)
	sec	105 (33.6) N.S.	142 (45.2) $\times \times$
	humidité à 100 % 1 jour	117 (7.2) $\times \times \times$	180 (64.1) $\times \times \times$
	humidité à 100 % 7 jours	111 (44.4) N.S.	221 (156.8) \times
Foin	Témoins	152 (54.8)	67 (32.3)
	sec	142 (34.8) N.S.	145 (83.9) $\times \times \times$
	humidité à 100 % 7 jours	150 (39.2) N.S.	556 (218.6) $\times \times \times$
Jute	Témoins	62 (25.9)	64 (48.3)
	sèche	51 (25.0) N.S.	50 (16.2) N.S.
	humidité à 100 % 1 jour	112 (55.5) N.S.	53 (15.5) N.S.
	humidité à 100 % 7 jours	80 (32.5) N.S.	132 (32.2) N.S.

Les chiffres entre parenthèses représentent la déviation standard.

N.S. = non significatif

\times = peu significatif

$\times \times$ = significatif

$\times \times \times$ = très significatif

au test de Student pour la
différence entre 2 moyennes.

bre de leucocytes, tandis que le nombre des macrophages n'est pas influencé.

- Lorsqu'on laisse le coton et le foin de 1 à 7 jours à l'humidité, l'extrait préparé fait augmenter le nombre des leucocytes progressivement.
- En ce qui concerne la jute, aucune modification du nombre des cellules n'est à remarquer, sauf dans l'extrait préparé à partir de jute traitée à l'humidité. Cette augmentation n'est pas significative, mais il faut se souvenir que le nombre d'animaux exposés est faible.

Tableau 2

Extraits traités à la chaleur. Moyennes pour 5 animaux.

Préparation	Bactéries/ml	Macrophages	Leucocytes
Témoins	—	70 (18.6)	52 (11.5)
Extrait	$6,4 \cdot 10^4$	105 (33.6) N.S.	141 (45.2) N.S.
Extrait 80° 20'	$1,6 \cdot 10^4$	145 (15.6) $\times \times \times$	319 (35.7) $\times \times \times$
Extrait 100° 20'	—	204 (43.7) $\times \times \times$	463 (94.9) $\times \times \times$
Extrait 120° 20'	—	83 (34.1) N.S.	111 (58.1) N.S.
Extrait 120° 120'	—	79 (35.6) N.S.	84 (23.6) \times

Les chiffres entre parenthèses représentent la déviation standard.

N.S. = non significatif

\times = peu significatif

$\times \times$ = significatif

$\times \times \times$ = très significatif

au test de Student pour la
différence entre 2 moyennes.

Le tableau 2 nous montre les résultats obtenus lorsque les extraits de poussière de coton ont subi un traitement à la chaleur. On remarque que certainement le nombre de bactéries présentes dans l'extrait diminue.

Le traitement à 80° puis à 100° provoque une réponse de plus en plus élevée du nombre de macrophages et de leucocytes, le nombre de leucocytes pouvant même doubler.

Après un traitement à 120° de 20 minutes, puis de 120 minutes, l'augmentation est très faible ou même absente.

Le tableau 3 montre les résultats obtenus après exposition des animaux aux différentes sortes de bactéries présentes dans les extraits de coton surtout.

Les animaux exposés à *Escherichia coli* et *Enterobacter* montrent une augmentation du nombre de macrophages et de leucocytes, qui est plus grande pour *Enterobacter*.

L'exposition à *B. Subtilis* n'affecte pas le nombre de cellules, sauf une légère diminution du nombre de macrophages.

Tableau 3

Expositions aux bactéries isolées. Moyennes pour 5 animaux.

Germe bactérien	Macrophages	Leucocytes
Contrôle	60 (32.1)	41 (23.3)
E. Coli (15 animaux)	141 (72.6) N.S.	236 (139.4) $\times \times \times$
Contrôle	70 (18.6)	49 (9.6)
Enterobacter	178 (38.6) $\times \times \times$	465 (154.6) $\times \times \times$
Contrôle	88 (9.8)	82 (28.0)
B. Subtilis	54 (17.0) $\times \times$	65 (15.9) N.S.

Les chiffres entre parenthèses représentent la déviation standard.

N.S. = non significatif

\times = peu significatif

$\times \times$ = significatif

$\times \times \times$ = très significatif

au test de Student pour la
différence entre 2 moyennes.

4. Discussion

La même méthode a déjà été employée pour évaluer l'influence d'autres polluants [10-8]. Nos résultats confirment les valeurs trouvées pour les animaux témoins des expériences précédentes. Les variations entre animaux exposés sont grandes; cependant, certaines différences observées entre les groupes d'animaux exposés et ceux d'animaux témoins sont significatives et la tendance à l'augmentation est constante.

On remarque que la jute provoque une faible réponse leucocytaire, en comparaison avec celle obtenue par la poussière de coton. A ce sujet, on sait que les maladies pulmonaires sont beaucoup moins fréquentes chez les travailleurs du coton [14-1]; d'autre part, Nicholls a montré que la jute est moins toxique que le coton dans des études faites sur la contraction des muscles lisses de l'ileum et de la trachée [4].

La conservation des poussières à l'humidité ne peut vraisemblablement pas modifier la structure chimique des substances présentes et l'augmentation du nombre de leucocytes peut être attribué à la croissance bactérienne.

Le rôle de la contamination bactérienne comme agent responsable de la byssinose a été discuté par Nicholls [4]. Il a remarqué que la poussière laissée quelques jours à l'humidité à température ambiante augmente la contractilité des muscles trachéaux et de l'ileum. Par contre, l'inoculation de souche de bactéries pure ne provoque aucun effet. Il suggère alors, sans le démontrer, que les bactéries synthétisent de l'histamine à partir des substances présentes dans la poussière.

Dans certaines de nos préparations conservées à l'humidité, on n'a remarqué aucune croissance bactérienne; par contre, les moisissures s'y sont développées considérablement, ce qui a pu inhiber la croissance bactérienne. Les extraits de ces préparations n'ont pas provoqué de réponse leucocytaire chez les animaux exposés.

Les essais à partir des extraits traités à 80° et 100° montrent une augmentation de la toxicité, le nombre des bactéries étant diminué dans ces préparations. Ceci suggère que l'effet n'est pas provoqué par les bactéries vivantes, mais par des substances produites ou présentes dans la paroi bactérienne. L'effet pourrait être attribué aux endotoxines. Cette dernière hypothèse est soutenue par le fait que les expositions à *E. coli* et *Enterobacter* surtout, provoquent une réponse, alors que *B. Subtilis* n'en provoque pas.

La possibilité que les endotoxines peuvent être l'agent responsable a déjà été proposée par Pernis et al. [6]. Par ailleurs, Snell [13] a démontré que les endotoxines peuvent être absorbées par l'arbre respiratoire et que la réponse à une exposition est une leucopénie suivie d'une leucocytose.

L'invasion par les leucocytes des voies respiratoires ne peut être évaluée quant à sa signification clinique, mais il paraît raisonnable de la considérer comme un critère de toxicité d'une substance inhalée. Afin de prouver l'importance de ces résultats dans les maladies pulmonaires chroniques, il faut entreprendre une série d'expériences d'inhalations chroniques. Cela fait partie de nos projets en cours.

Zusammenfassung

Pulmonale Auswirkungen organischer Stoffe

Wasserextrakte von verschiedenen Stäuben wurden in bezug auf ihre Lungengiftigkeit geprüft, wobei eine Methode angewandt wurde, welche die Anzahl von freien Leukozyten in den Atemwegen bestimmt.

Eine starke Erhöhung der Leukozytenzahl wurde bei Baumwoll- und Heupräparaten gefunden. Sie war mit der Anzahl Bakterien in den Präparaten korreliert. Bei Vergleich verschiedener Arten von Bakterien ist der stärkste toxische Effekt bei den Endotoxin produzierenden Bakterien zu finden. Die Implikationen dieses Befundes für die Entwicklung der Lungenkrankheiten werden diskutiert.

Résumé

Lors de travaux expérimentaux, on a évalué la toxicité d'extraits aqueux de poussières avec une méthode de couplage de leucocytes dans les voies aériennes.

Une grande augmentation du nombre des leucocytes est provoquée par les poussières de coton et de foin, cette augmentation est proportionnelle à la contamination bactériologique des poussières. En étudiant différentes souches de bactéries produisant de l'endotoxine, on a remarqué un plus grand effet. Les implications de ces résultats dans le développement des maladies pulmonaires sont discutées.

Summary

Pulmonary effects of organic dusts

The pulmonary toxicity of water extracts from different organic dusts was assessed using the leucocyte recruitment test.

A large increase in the number of leucocytes was caused by cotton and hay. The extent of the increase was correlated to the presence of bacteria in the dust. When different bacterial species were studied endotoxin-producing strains were found to cause the largest effect.

The implications for the development of pulmonary disease are discussed.

Bibliographie

- [1] Gandevia B. and Milne J.: Ventilatory capacity changes on exposure to cotton dust and their relevance to byssinosis in Australia. *Brit. J. Ind. Med.* 22, 295 (1965).
- [2] Hearn C. E. D. and Holford-Strevens V.: Immunological aspects of bagassosis. *Brit. J. Ind. Med.* 25, 283 (1968).
- [3] Kilburn H. K., Lynn S. W., Tres L. L. and McKenzie N. W.: Leucocyte recruitment through airway walls by condensed vegetable tannins and quercetin. *Lab. Invest.* 28, 55 (1973).
- [4] Nicholls P. J.: Some pharmacological actions of cotton dust and other vegetable dusts. *Brit. J. Ind. Med.* 19, 33 (1962).
- [5] Pepys J.: Pulmonary hypersensitivity disease due to inhaled organic antigens. *Ann. Intern. Med.* 64, 943 (1966).
- [6] Pernis B., Vigliani E. C. and Finulli M.: The role of bacterial endotoxins in occupational diseases caused by inhaling vegetable dusts. *Brit. J. Ind. Med.* 18, 120 (1961).
- [7] Rylander R.: Free lung cell studies in cigarette smoke inhalation experiments. *Scand. J. Resp. Diseases* 52, 121 (1971).
- [8] Rylander R.: Pulmonary cell responses to inhaled cigarette smoke. *Arch. Env. Health* 29, 329 (1974).
- [9] Rylander R.: Pulmonary defence mechanisms to airborne bacteria (academic thesis). *Acta Physiol. Scand. suppl.* 306 1 (1968).
- [10] Rylander R. and Bergström R.: Particles and SO₂-synergistic effects for pulmonary damage. In: *Proceedings of the Third International Clean Air Congress*, VDI Verlag, Düsseldorf 1973, p A23-25.
- [11] Rylander R. and Nordstrand A.: Pulmonary cell reactions after exposure to cotton dust extract. *Brit. J. Ind. Med.* 31, 220 (1974).
- [12] Salvaggio J., Buechner H. A., Seabury J. A. and Arquembourg P.: Bagassosis: I. Precipitins against extracts of crude bagasse in the serum of patients. *Ann. Intern. Med.* 64, 748 (1966).
- [13] Snell J. D.: Effects of inhaled endotoxin. *J. Lab. Clin. Med.* 67, 624 (1966).
- [14] Valic F. and Zuskin E.: Effects of different vegetable dust exposures. *Brit. J. Ind. Med.* 29, 293 (1972).

Adresse des auteurs

Professeur R. Rylander, chargé de recherches, et Marie-Claire Snella, biologiste. Institut de Médecine Sociale et Préventive, 20, quai Ernest-Ansermet, 1205 Genève.