

Prévention des risques chimiques et biologiques

Études et recherches

RAPPORT R-876



Exposition à des agents pouvant causer l'asthme professionnel

Utilisation du test d'activation des basophiles pour l'identification précoce de la sensibilisation allergique chez les travailleurs

*Karim Maghni
Jean-Luc Malo
Catherine Lemière*



Solidement implanté au Québec depuis 1980, l'Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST) est un organisme de recherche scientifique reconnu internationalement pour la qualité de ses travaux.

NOS RECHERCHES

travaillent pour vous !

Mission

Contribuer, par la recherche, à la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles ainsi qu'à la réadaptation des travailleurs qui en sont victimes;

Assurer la diffusion des connaissances et jouer un rôle de référence scientifique et d'expertise;

Offrir les services de laboratoires et l'expertise nécessaires à l'action du réseau public de prévention en santé et en sécurité du travail.

Doté d'un conseil d'administration paritaire où siègent en nombre égal des représentants des employeurs et des travailleurs, l'IRSST est financé par la Commission de la santé et de la sécurité du travail.

Pour en savoir plus

Visitez notre site Web ! Vous y trouverez une information complète et à jour. De plus, toutes les publications éditées par l'IRSST peuvent être téléchargées gratuitement. www.irsst.qc.ca

Pour connaître l'actualité de la recherche menée ou financée par l'IRSST, abonnez-vous gratuitement au magazine *Prévention au travail*, publié conjointement par l'Institut et la CSST. Abonnement : www.csst.qc.ca/AbonnementPAT

Dépôt légal

Bibliothèque et Archives nationales du Québec
2015
ISBN : 978-2-89631-810-0 (PDF)
ISSN : 0820-8395

IRSST - Direction des communications
et de la valorisation de la recherche
505, boul. De Maisonneuve Ouest
Montréal (Québec)
H3A 3C2
Téléphone : 514 288-1551
Télécopieur : 514 288-7636
publications@irsst.qc.ca
www.irsst.qc.ca
© Institut de recherche Robert-Sauvé
en santé et en sécurité du travail,
Mai 2015

Prévention des risques chimiques et biologiques

Études et recherches

RAPPORT R-876

Exposition à des agents pouvant causer l'asthme professionnel Utilisation du test d'activation des basophiles pour l'identification précoce de la sensibilisation allergique chez les travailleurs

Avis de non-responsabilité

L'IRSST ne donne aucune garantie relative à l'exactitude, la fiabilité ou le caractère exhaustif de l'information contenue dans ce document. En aucun cas l'IRSST ne saurait être tenu responsable pour tout dommage corporel, moral ou matériel résultant de l'utilisation de cette information.

Notez que les contenus des documents sont protégés par les législations canadiennes applicables en matière de propriété intellectuelle.

Karim Maghni, Jean-Luc Malo, Catherine Lemièr

*Centre de recherche de l'hôpital du Sacré-Cœur de Montréal,
Université de Montréal*



Cette publication est disponible
en version PDF
sur le site Web de l'IRSST.

Cette étude a été financée par l'IRSST. Les conclusions et recommandations sont celles des auteurs.

ÉVALUATION PAR DES PAIRS

Conformément aux politiques de l'IRSST, les résultats des travaux de recherche publiés dans ce document ont fait l'objet d'une évaluation par des pairs.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier l’Agence nationale de sécurité sanitaire de l’alimentation, de l’environnement et du travail (ANSES) en France et l’Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail (IRSST) pour avoir cofinancé ce projet de recherche.

La validation du test d’activation des basophiles (TAB) pour la sélection des agents de haut poids moléculaire commercialement disponibles et des conjugués d’isocyanates synthétisés par le Dr William Brown a été une étape essentielle à la réalisation de ce projet. Le financement de ce projet de validation par l’International Isocyanate Institute, Inc. (États-Unis), le Réseau de recherche en santé et en sécurité du travail du Québec (RRSSTQ) (financé par les trois Fonds de recherche du Québec, conjointement avec l’IRSST) et le Centre asthme et travail (financé par les Instituts de recherche en santé du Canada; IRSC) a eu un effet levier pour l’obtention, par la suite, des subventions de l’ANSES et de l’IRSST. Nous exprimons aussi notre gratitude à la Fondation Jacques & Michel Auger (Québec) qui, grâce au soutien du fonds de recherche créé par leur généreuse donation au Département de pneumologie de l’Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal (HSCM), a permis d’acquérir le système Unicap100 utilisé pour la mesure des IgE spécifiques.

Au Centre de recherche de l’HSCM, affilié à l’Université de Montréal, nous tenons à souligner la contribution remarquable de M^{mes} Lucero Castellanos et Jocelyne L’Archevêque et de D^{re} Mélanie Welman à la réalisation de ce projet, ainsi que celle de M. Jean Paquet, biostatisticien, pour l’ensemble des analyses statistiques de cette étude. Nous sommes aussi reconnaissants envers le D^f Guillaume Monneret (Université de Lyon-Sud, France) pour le transfert technologique du test d’activation des basophiles et sa participation au démarrage de ce projet. Nous tenons également à remercier feu le P^f William Brown (Carnegie Mellon University, États-Unis) pour nous avoir généreusement fourni des conjugués d’isocyanates.

Enfin, nous tenons aussi à remercier nos collègues, les D^{rs} André Cartier et Manon Labrecque, pneumologues et cliniciens-chercheurs, ainsi que la D^{re} Denyse Gautrin, chercheure en épidémiologie, pour leur implication dans le recrutement des sujets de ce projet.

Cette étude est dédiée à la mémoire du Pr William Brown.

SOMMAIRE

L’asthme professionnel est un type d’asthme causé par un agent présent dans les milieux de travail. Le type principal d’asthme professionnel est celui qui est causé par le développement d’une « allergie » à certains agents présents dans le milieu de travail. La mise en évidence de cette « allergie » est une étape essentielle de l’investigation clinique ou de l’élaboration de programmes de prévention. En effet, la maladie ne peut, par définition, être présente s’il n’existe pas d’allergie démontrée. Dans l’état actuel des connaissances, l’allergie, celle de type immédiate associée à une sensibilisation avec la formation d’immunoglobulines de type E (IgE) spécifiques à un allergène donné, peut être mise en évidence par des tests cutanés d’allergie pour les agents protéinés, agents dits de haut poids moléculaire (HPM; par exemple, les farines). Or, les allergènes utilisés pour ces tests ne sont pas « standardisés ». De plus, il n’existe pas de tests d’allergie pour la vaste majorité des agents chimiques, agents dits de bas poids moléculaire (BPM; par exemple, les isocyanates).

Les tests de provocation bronchique spécifique (TPS) sont la référence pour le diagnostic d’un asthme professionnel à un agent spécifique. Cependant, ce test doit être réalisé avec une technologie et selon une procédure spécifique et contrôlée, en particulier dans le cas de l’exposition aux agents de BPM. De plus, les TPS aux agents de HPM et de BPM doivent être effectués sous contrôle médical en milieu hospitalier pour une intervention immédiate dans le cas d’une réaction asthmatique sévère. Le TPS aux agents de BPM comme les isocyanates est rarement effectué dans certains pays (par exemple, les États-Unis). Étant donné que l’asthme professionnel est une condition peu réversible lorsqu’elle est diagnostiquée tardivement, il est donc important de découvrir des biomarqueurs précoces de la maladie. Un biomarqueur est défini comme un marqueur biologique présent chez une personne (par exemple, une protéine particulière présente dans un échantillon de sang) qui permet d’identifier l’apparition précoce, la persistance ou la rémission d’une maladie. Ainsi, si un biomarqueur démontre le développement d’une allergie à un agent du milieu de travail, il devient pertinent de compléter l’investigation par des tests de fonction respiratoire et des TPS.

Le test d’activation des basophiles (TAB) est un test diagnostique peu invasif (une prise de sang) qui permet de déterminer l’existence d’une sensibilisation de type IgE aux allergènes communs inhalés (par exemple, le pollen) ou de certains allergènes alimentaires (par exemple, les arachides). Le TAB spécifique positif est défini comme une augmentation statistiquement significative de l’activation des basophiles par rapport à leur niveau d’activation basale (TAB basal) (par exemple, la mesure du marqueur d’activation CD203c). Le TAB spécifique est mesuré en réponse à la stimulation d’un échantillon de sang par un allergène spécifique auquel cette personne est potentiellement sensibilisée. De ce fait, le TAB spécifique peut être négatif ou positif indiquant respectivement, l’absence ou la présence d’une sensibilisation spécifique de type IgE. L’utilisation du TAB comme outil potentiel pour déterminer une sensibilisation aux agents professionnels de HPM et de BPM n’avait jamais été étudiée auparavant.

L'un des résultats les plus importants de notre étude a été de montrer qu'un TAB positif et spécifique aux agents de HPM est associé à un TPS positif et à un diagnostic d'asthme professionnel à ces agents.

De ce fait, la détermination d'un TAB positif aux agents de HPM chez un travailleur pourrait être un facteur prédictif positif du TPS et du diagnostic subséquent d'asthme professionnel. Cependant, en raison de la taille restreinte de l'échantillon, ces résultats doivent être considérés comme des données préliminaires qui demeurent à être confirmées avec des cohortes plus importantes de sujets.

Concernant les agents professionnels de BPM, nos résultats ont révélé que le TAB spécifique aux agents de BPM ne permet pas de discriminer entre les travailleurs ayant présenté un TPS négatif ou positif à ces agents. De ce fait, le TAB ne serait pas un facteur prédictif négatif ou positif du TPS et du diagnostic d'asthme professionnel aux agents de BPM. Cependant, une deuxième analyse des données a été réalisée en excluant le groupe de travailleurs exposés au formaldéhyde. Cette exclusion est justifiée par l'absence de démonstration, dans la littérature, d'une sensibilisation de type IgE lors du développement d'un asthme professionnel attribuable au formaldéhyde. Cette analyse, réalisée selon la présentation d'un TPS négatif ou positif aux isocyanates, a révélé qu'un TAB spécifique positif aux isocyanates est statistiquement significatif chez le groupe de travailleurs présentant un TPS positif à ces agents. Cependant, un TAB positif aux isocyanates a aussi été observé chez le groupe de travailleurs présentant un TPS négatif, mais ce résultat n'est pas statistiquement significatif. Ainsi, la détermination d'un TAB positif aux isocyanates chez un travailleur ne peut être, à lui seul, un facteur prédictif positif du TPS et du diagnostic subséquent d'asthme professionnel.

L'atopie est définie comme une prédisposition génétique à se sensibiliser plus facilement à différentes substances présentes dans l'environnement telles que les pollens. La sensibilisation à des agents professionnels est souvent suivie de l'apparition de symptômes allergiques pouvant être associés à la rhinite ou à l'asthme. Les données de cette étude ont révélé qu'un TAB spécifique positif aux agents de HPM est associé à la présence d'atopie et, dans le cas présent, au diagnostic d'asthme professionnel à ces agents. Cependant, comme précédemment, cette conclusion devra être confirmée dans le cadre d'études plus vastes incluant des bassins plus importants de sujets témoins négatifs.

Concernant les agents professionnels de BPM, nos résultats ont montré qu'un TAB spécifique positif aux agents de BPM investigués n'est pas associé à un TPS positif même lorsque le groupe de travailleurs est divisé selon qu'il y ait présence ou absence d'atopie. Pour la raison citée ci-dessus, nous avons décidé d'exclure le groupe de travailleurs exposés au formaldéhyde (IgE indépendante) du groupe BPM. Nous avons alors montré que le TAB spécifique positif est significativement différent du TAB basal chez les travailleurs atopiques, mais pas chez les travailleurs non atopiques. De ce fait, la détermination d'un TAB positif aux isocyanates chez un travailleur en association avec un statut d'atopie positif pourrait être un facteur prédictif positif du TPS et du diagnostic subséquent d'asthme professionnel.

En conclusion, le TAB spécifique, positif aux agents de HPM ou aux isocyanates, et associé au statut d’atopie (présence ou absence) pourrait permettre chez le travailleur une meilleure caractérisation du risque potentiel de développer un asthme professionnel, et ainsi contribuer à l’évaluation et à la gestion du risque lié à l’environnement de travail. Une telle politique de gestion des risques serait facile à mettre en place en milieu de travail puisque le TAB ne nécessite qu’une prise de sang chez le travailleur, et que l’échantillon peut être analysé le jour même par un laboratoire hospitalier ou clinique disposant d’une expertise en cytométrie en flux. Des travaux ultérieurs demeurent toutefois à être réalisés, notamment pour préciser la sensibilité et la spécificité du TAB ainsi que ses valeurs prédictives positive ou négative.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	I
SOMMAIRE	III
TABLE DES MATIÈRES	VII
LISTE DES TABLEAUX	IX
LISTE DES FIGURES	XI
1. INTRODUCTION	1
2. PROBLÉMATIQUE ET OBJECTIFS DE RECHERCHE	5
2.1 Rappel de la problématique	5
2.2 Objectif principal	5
2.3 Objectifs spécifiques	5
3. MÉTHODOLOGIE	7
3.1 Recrutement des participants et description des paramètres mesurés chez ces participants	7
3.2 Description des échantillons collectés et des mesures sériques	8
3.2.1 Tests cutanés pour la détermination de l’atopie.....	8
3.2.2 Prélèvements sanguins	8
3.2.3 Mesures des IgE totales et des IgE spécifiques	8
3.3 Description du TAB et de son analyse	8
3.4 Agents de HPM et de BPM utilisés pour le TAB	11
3.5 Analyses statistiques	11
4. RÉSULTATS	13
4.1 Détermination du TAB spécifique pour les agents de HPM	13
4.2 Détermination du TAB spécifique pour les agents de BPM	15

4.3	Détermination du TAB spécifique pour les isocyanates.....	17
5.	DISCUSSION.....	21
5.1	Groupes de travailleurs exposés aux agents sensibilisants de HPM	21
5.2	Groupes de travailleurs exposés aux agents sensibilisants de BPM.....	22
6.	CONCLUSION.....	25
	BIBLIOGRAPHIE.....	27

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Statistiques descriptives de la population de l’étude	7
Tableau 2. Analyses du TAB pour les agents de HPM en fonction de la réponse au TPS ou de l’atopie	14
Tableau 3. Corrélation entre le TAB spécifique et les concentrations sériques des IgE totales ou des IgE spécifiques pour les agents de HPM	15
Tableau 4. Analyses du TAB pour les agents de BPM en fonction de la réponse au TPS ou de l’atopie	16
Tableau 5. Corrélation entre le TAB spécifique et les concentrations sériques des IgE totales ou des IgE spécifiques pour les agents de BPM	17
Tableau 6. Analyses du TAB pour les isocyanates en fonction de la réponse au TPS ou de l’atopie.....	18
Tableau 7. Corrélation entre le TAB spécifique et les concentrations sériques des IgE totales ou des IgE spécifiques pour les isocyanates.....	19

LISTE DES FIGURES

Figure 1.	Schéma de l’investigation clinique sériée de l’asthme professionnel.....	2
Figure 2.	Illustration de l’identification de divers marqueurs chez le basophile pour la réalisation du TAB par cytométrie en flux.....	4
Figure 3.	Illustration du protocole de cytométrie en flux utilisé pour le TAB.....	9
Figure 4.	Illustration des résultats du TAB avant (2) et après (1 et 3) la stimulation par le fMLP	10
Figure 5.	Illustration du niveau d’activation des basophiles à la suite de la stimulation par différentes concentrations d’un extrait de latex. Résultats du projet pilote.....	10
Figure 6.	TAB basal par rapport au TAB spécifique des sujets du groupe HPM en fonction de la réponse au TPS. Sujets A) ayant présenté un TPS négatif (HPM TPS -) ou B) un TPS positif (HPM TPS +). ns: non significatif.....	13
Figure 7.	TAB basal par rapport au TAB spécifique des sujets du groupe HPM en fonction de l’atopie. Sujets A) sans atopie (HPM Atopie -) ou B) avec atopie (HPM Atopie +). ns: non significatif	14
Figure 8.	TAB basal par rapport au TAB spécifique des sujets du groupe BPM en fonction de la réponse au TPS. Sujets A) ayant présenté un TPS négatif (BPM TPS -) ou B) un TPS positif (BPM TPS +). ns: non significatif.....	15
Figure 9.	TAB basal par rapport au TAB spécifique des sujets du groupe BPM en fonction de l’atopie. Sujets A) sans atopie (BPM Atopie -) ou B) avec atopie (BPM Atopie +). ns: non significatif.	16
Figure 10.	TAB basal par rapport au TAB spécifique des sujets du groupe isocyanates en fonction de la réponse au TPS. Sujets A) ayant présenté un TPS négatif (iso TPS -) ou B) un TPS positif (iso TPS +). iso: isocyanates; ns: non significatif	18
Figure 11.	TAB basal par rapport au TAB spécifique des sujets du groupe isocyanates en fonction de l’atopie. Sujets A) sans atopie (iso Atopie -) ou B) avec atopie (iso Atopie +). iso: isocyanates; ns: non significatif.....	18

1. INTRODUCTION

L’asthme est une maladie inflammatoire chronique des bronches caractérisée par le recrutement et l’activation de plusieurs types cellulaires, parmi lesquels les éosinophiles, les lymphocytes T et les basophiles¹. Chez les sujets prédisposés, cette inflammation chronique a pour conséquence une obstruction bronchique variable, le plus souvent réversible, associée à une hyperréactivité bronchique non spécifique². L’inflammation de la muqueuse bronchique est générée par plusieurs facteurs, le plus fréquent étant de nature allergique; il est caractérisé par la production d’immunoglobuline de type E (IgE). L’allergie est en fait une réaction immunitaire inappropriée de l’organisme contre des substances antigéniques ou allergisantes. Elle correspond à une hypersensibilité de type I selon la classification de Gell et Coombs³. La réaction allergique fait suite à l’activation des mastocytes ou des basophiles; elle est attribuable à la reconnaissance d’un allergène spécifique par les IgE présentes à la surface de ces cellules. Cette activation est responsable d’une cascade d’évènements intracellulaires qui conduit à la libération d’une variété de médiateurs pro-inflammatoires¹.

L’asthme professionnel (AP) est un type d’asthme causé par un agent présent dans le milieu professionnel. Au Québec, chaque année depuis 30 ans, entre 30 et 70 travailleurs ont eu une réclamation acceptée par la Commission de la santé et de la sécurité du travail (CSST). L’AP est une maladie caractérisée par la présence d’obstruction bronchique variable, d’hyperexcitabilité bronchique et d’inflammation bronchique dues à des causes et conditions attribuables spécifiquement au milieu professionnel et non à des stimuli présents dans l’environnement général⁴. Il existe deux types d’AP, celui avec période de latence, où le travailleur devient « allergique » à une substance présente dans l’environnement professionnel et l’AP sans période de latence, secondaire à l’inhalation d’un produit professionnel accidentellement généré à fortes concentrations. L’AP de type allergique représente 90 % ou plus de tous les cas de travailleurs reconnus comme étant atteints d’AP. Le diagnostic d’AP est un diagnostic difficile à établir. La démonstration d’une relation de causalité entre l’exposition à un agent professionnel spécifique et la survenue de l’asthme peut se faire en confirmant des changements de la fonction respiratoire et de l’inflammation bronchique après exposition à l’agent professionnel suspect⁴.

Cependant, la première étape passe par la démonstration de la sensibilisation du travailleur à un agent suspect, ce qui permet de guider les étapes ultérieures de l’investigation, comme illustré dans le schéma ci-dessous (fig. 1). Malheureusement, dans la majorité des cas, cette sensibilisation ne peut pas être démontrée en raison de l’impossibilité d’effectuer des tests cutanés aux agents chimiques ou en raison de la démonstration inconstante de la présence d’IgE spécifiques à ces agents. Même dans le cas des agents de haut poids moléculaire où la réalisation des tests cutanés est souvent possible, le manque de standardisation des allergènes rend les résultats parfois douteux. En conséquence, il est crucial, pour améliorer le diagnostic d’AP et mieux cibler l’investigation, de mettre au point un outil fiable permettant de démontrer la sensibilisation des travailleurs à un agent professionnel suspect. De plus, l’AP étant une condition peu réversible si diagnostiquée tardivement, il est donc pertinent d’étudier des marqueurs précoces de la maladie qui permettraient d’identifier des sujets à plus haut risque, pour les faire bénéficier d’un suivi médical étroit.

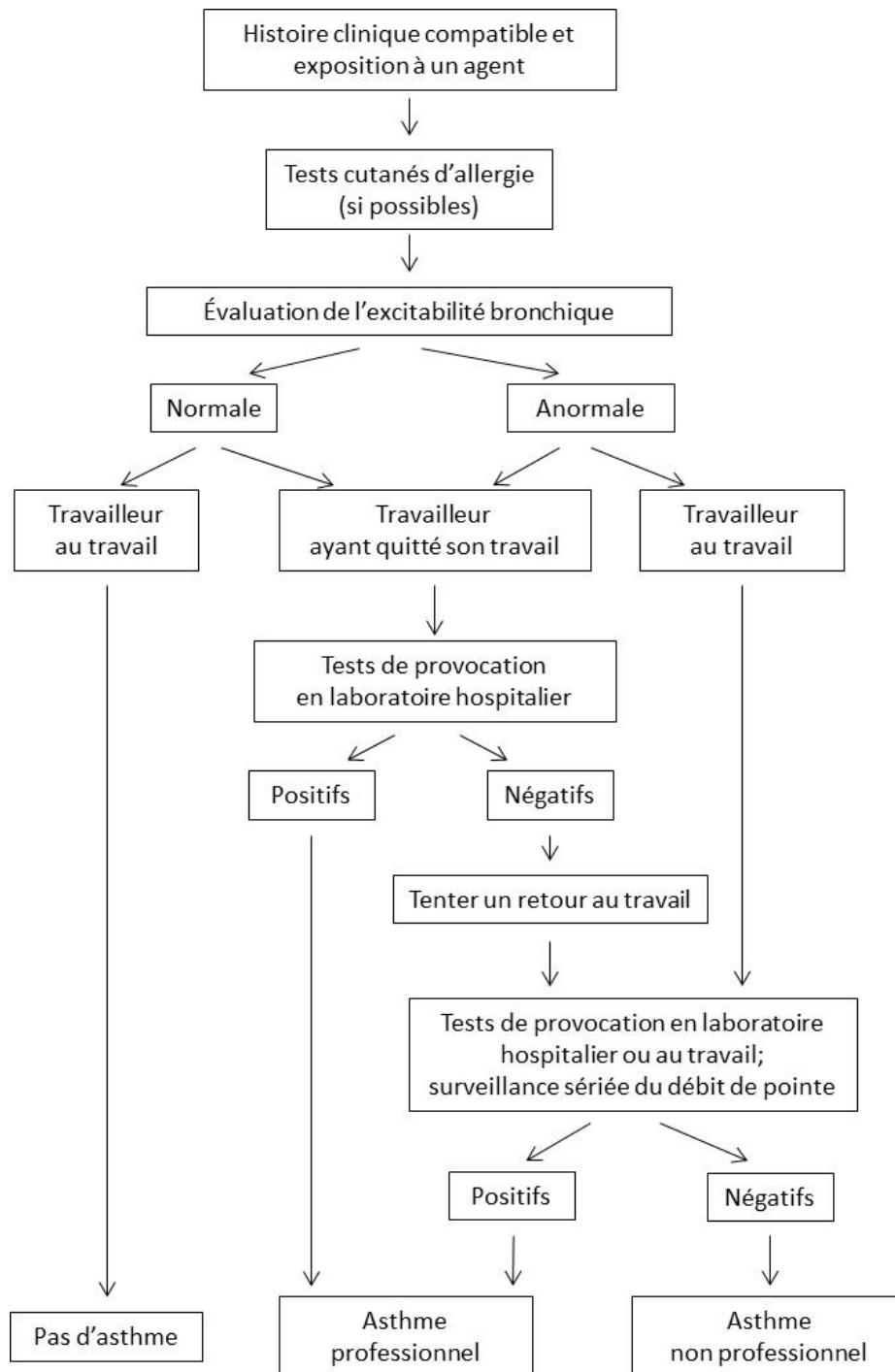


Figure 1. Schéma de l'investigation clinique sériée de l'asthme professionnel.

Dans l'état actuel des connaissances, l'allergie, celle de type immédiate associée à une sensibilisation avec la formation d'IgE spécifiques à un allergène donné, peut être mise en évidence par des tests cutanés d'allergie à des agents professionnels protéinés, agents dits de haut poids moléculaire (HPM).

Or, les allergènes utilisés pour ces tests ne sont pas standardisés. De plus, il n’existe pas de tests pour démontrer une allergie pour la vaste majorité des agents chimiques, agents dits de bas poids moléculaire (BPM; par exemple, les isocyanates). Les tests de provocation bronchique spécifiques (TPS) sont la référence pour le diagnostic d’un AP à un agent professionnel spécifique. Cependant, le TPS doit être réalisé avec une technologie spécifique et selon une procédure contrôlée, en particulier dans le cas de l’exposition aux agents de BPM. De plus, les TPS aux agents de HPM et BPM doivent être effectués sous contrôle médical en milieu hospitalier pour une intervention immédiate en cas de réaction asthmatique sévère lors du test. Le TPS aux agents de BPM comme les isocyanates est donc rarement effectué dans certains pays (par exemple, les États-Unis). Dans le cas du formaldéhyde (FA), les études publiées indiquent une certaine disparité dans la réponse immunitaire (c.-à-d. sensibilisation ou non de type IgE) et dans la réponse pulmonaire (c.-à-d. corrélation ou non avec l’obstruction bronchique). Ainsi, l’exposition de souris à une dose de 0,08 ppm de FA correspondant au seuil limite acceptable établi par l’OMS a induit la production d’IgE spécifiques à cet agent de BPM⁵.

Cependant, les études chez l’humain sont moins concluantes. Ainsi, Doi et coll.⁶ ont étudié la prévalence du développement d’une sensibilisation de type IgE dans une cohorte d’enfants potentiellement exposés au FA dans l’air ambiant de leur salle de cours. Cette étude a révélé le développement d’une sensibilisation spécifique de type IgE à cet agent de BPM. Cependant, la prévalence était très faible (c.-à-d. deux sujets sur 122 asthmatiques) et, de ce fait, il n’existait pas d’association concluante avec le niveau de sévérité de l’asthme. Karkowiak et coll.⁷ ont montré que des sujets diagnostiqués avec un AP attribuable au FA ne présentaient pas d’IgE spécifiques à cet agent de BPM ni une réponse allergique spécifique à la suite de l’inhalation de cette substance. De plus, Baba et coll.⁸ ont montré qu’une sensibilisation spécifique de type IgE était rarement observée chez les asthmatiques exposés à cet agent de BPM et que, lorsqu’elle était présente, elle n’était pas associée à la condition asthmatique. Enfin, Lidèn et coll.⁹ ont suggéré qu’il est peu probable que les IgE spécifiques (anti-FA) participent à la pathogénèse de l’allergie de contact induite par le FA.

L’activation du récepteur FcεRI par la liaison des IgE et le pontage de ce complexe par la liaison de l’allergène (antigène) ou de l’agent professionnel potentiellement allergisant est l’évènement qui déclenche l’activation des basophiles (fig. 2). Le test d’activation des basophiles (TAB) en sang total par cytométrie en flux est basé sur ce principe¹⁰. Le TAB permet de déterminer l’allergie immédiate pour une substance potentiellement allergisante chez un individu. Le principe est basé sur l’incubation d’un échantillon de sang avec un agent potentiellement allergisant suivi de la détection de marqueurs spécifiques présents uniquement sur les basophiles comme le CD63 ou le CD203c (fig. 2)¹¹. Le CD203c est exprimé en partie à la surface des basophiles alors que le CD63 est principalement localisé à l’intérieur des basophiles. Ces deux marqueurs sont détectables par cytométrie en flux. Si l’individu présente une allergie immédiate à un agent donné, l’incubation de l’échantillon de sang avec cet agent activera les basophiles et induira le transfert de CD63 et de CD203c à la surface des basophiles¹¹. Le pourcentage de basophiles activés détecté par cytométrie en flux est proportionnel au degré de sensibilisation à l’agent allergisant. Le TAB est donc une méthode d’analyse quantitative.

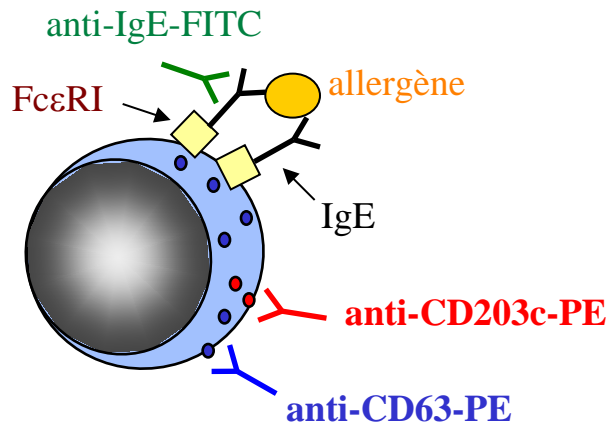


Figure 2. Illustration de l'identification de divers marqueurs chez le basophile pour la réalisation du TAB par cytométrie en flux.

Le TAB est à la fois un outil de recherche et de diagnostic. Par exemple, il est utilisé pour démontrer la sensibilisation aux venins d'hyménoptères (abeilles et guêpes). Ainsi, Erdmann et collaborateurs ont montré que la sensibilité des IgE spécifiques et du TAB pour le diagnostic d'une sensibilisation aux venins d'hyménoptères était respectivement de 76 et 92 %, et la spécificité respectivement de 85 et 80 %¹². Le TAB est aussi utilisé pour évaluer l'efficacité thérapeutique d'un traitement de désensibilisation (immunothérapie) chez des sujets sensibilisés aux venins d'hyménoptères¹². Concernant les agents professionnels, Ebo et ses collaborateurs ont montré, chez 20 des 24 sujets sans allergie apparente au latex, que la mesure des IgE spécifiques était positive pour le latex alors que le TAB était négatif. La sensibilité et la spécificité du TAB pour le latex étaient de 93,1 et 91,7 %, respectivement¹³. Sanz et ses collaborateurs ont aussi montré que le TAB est une technique très précise, fiable et reproductible pour déterminer, chez les sujets, une allergie à *Dermatophagoides pteronyssinus* (un composant allergisant des acariens retrouvé dans la poussière des maisons et dans la farine) avec une sensibilité de 93,3 %, et une spécificité de 98,4 %, lorsque le seuil de détection de l'activation des basophiles était placé à 15 %¹⁴.

Ainsi, le TAB est un essai diagnostique peu invasif (une prise de sang) qui permet de déterminer l'existence d'une sensibilisation de type IgE aux allergènes communs (par exemple, le pollen), à certains produits de consommation (par exemple, les arachides) ou à des médicaments (par exemple, l'aspirine). Le TAB spécifique positif est défini comme une augmentation statistiquement significative de l'activation des basophiles par rapport à leur niveau d'activation basale (par exemple, mesure du marqueur d'activation CD203c) (TAB basal). Le TAB spécifique est mesuré en réponse à la stimulation d'un échantillon de sang par un allergène spécifique auquel cette personne est potentiellement sensibilisée. De ce fait, le TAB spécifique peut être négatif ou positif indiquant, respectivement, l'absence ou la présence, d'une sensibilisation spécifique de type IgE. Ainsi, un TAB spécifique positif permet, dans le cas des agents sensibilisants cités ci-dessus, de poser un diagnostic positif d'allergie. L'utilisation du TAB comme outil potentiel pour déterminer une sensibilisation aux agents professionnels de HPM et BPM chez le travailleur, et ainsi aider au diagnostic de l'AP, n'a jamais été étudiée auparavant.

2. PROBLÉMATIQUE ET OBJECTIFS DE RECHERCHE

2.1 Rappel de la problématique

Dans l’état actuel des connaissances, l’allergie, celle de type immédiate, peut être mise en évidence par des tests cutanés d’allergie pour les agents professionnels protéinés, agents dits de haut poids moléculaire (HPM). Il n’existe pas de tests pour démontrer l’allergie pour la vaste majorité des agents chimiques, agents dits de faible poids moléculaire (BPM). Dans le cadre de ce projet de recherche, nous avons développé un test *in vitro* d’activation des basophiles qui nous permet d’évaluer chez un même travailleur l’allergie à de multiples allergènes incluant ceux présents dans l’environnement général et dans son milieu de travail. Nous avons formulé l’hypothèse que ce test permettra de mieux évaluer la sensibilisation de type immédiate.

2.2 Objectif principal

Le TAB étant basé sur une activation dépendante d’une sensibilisation de type IgE spécifique à un allergène donné ou à un agent sensibilisant, l’objectif principal de ce projet était de démontrer que ce test permettrait de déterminer chez un travailleur la présence d’une sensibilisation à un (ou plusieurs, le cas échéant) agent professionnel présent dans son environnement de travail. Plus spécifiquement, nous avons formulé l’hypothèse que le TAB permettrait d’évaluer la sensibilisation de type IgE aux agents professionnels de HPM (farines et latex), ainsi que de BPM présentant potentiellement une sensibilisation de type IgE (FA et isocyanates: TDI, MDI et HDI). Ainsi, les agents de BPM pouvant induire de l’AP, mais dont le mécanisme de sensibilisation n’implique pas toujours de réponse de type IgE, comme le formaldéhyde, devraient présenter une réponse négative pour le TAB.

2.3 Objectifs spécifiques

Les objectifs spécifiques de ce projet étaient, pour tous les agents professionnels de HPM et de BPM étudiés, ainsi que pour les isocyanates seuls:

1. Déterminer si la réponse du TAB à un ou plusieurs agents professionnels auxquels le travailleur serait sensibilisé (TAB spécifique) est significativement différente du TAB basal (c.-à-d. le niveau d’activation basale des basophiles dans l’échantillon collecté);
2. Déterminer si la réponse du TAB spécifique à ces agents est associée à la réponse du TPS;
3. Déterminer si la réponse du TAB spécifique à ces agents est associée à la présence d’atopie;
4. Déterminer si la réponse du TAB spécifique à ces agents est corrélée avec le niveau d’IgE total;
5. Déterminer si la réponse du TAB spécifique à ces agents est corrélée avec le niveau d’IgE spécifique pour l’agent professionnel concerné.

3. MÉTHODOLOGIE

3.1 Recrutement des participants et description des paramètres mesurés chez ces participants

Un total de 110 sujets a accepté de participer à cette étude (tableau 1). Tous les sujets ont signé le formulaire de consentement éclairé approuvé par le comité d’éthique de la recherche de l’Hôpital du Sacré-Cœur de Montréal (HSCM). Une partie des sujets étaient des travailleurs qui avaient déjà reçu un diagnostic d’AP aux agents de HPM ou BPM (identifiés comme ancien TPS). L’autre partie des sujets correspond aux travailleurs qui se sont présentés au cours des trois dernières années au Service de pneumologie de l’HSCM pour un diagnostic d’AP aux agents de HPM ou BPM (identifiés comme nouveau TPS). Il est à noter que le TAB pour l’agent professionnel spécifique n’a été réalisé que chez 76 sujets, car le conjugué de l’agent HDI n’était pas disponible pour effectuer le TAB spécifique.

Tableau 1. Statistiques descriptives de la population de l’étude.

Mesures et caractéristiques		n = 110
TAB Basal (%)		20,0 ± 14,3
TAB Spécifique (%)	n = 76	30,8 ± 20,6
IgE Totale (ng /ml)		1091,88 ± 4593,70
IgE Spécifique		3,63 ± 23,90
TPS (Ancien / Nouveau)		73 (66,4%) / 37 (33,6%)
Poids moléculaire (Bas / Haut)		69 (62,7%) / 41 (37,3%)
Farine / Isocyanates	n = 87	59 (67,8%) / 28 (32,2%)

Dans le cas des nouveaux TPS, les mesures effectuées sur les échantillons collectés (TAB, IgE totale et IgE spécifique) et le résultat respectif des TPS (positifs ou négatifs) chez ces sujets n’a été révélé qu’à la fin de l’étude au moment de l’analyse par le biostatisticien. Les sujets du groupe des agents de HPM étaient exposés dans leur milieu de travail à une farine (blé, seigle ou soja) ou étaient en contact avec le latex. Les sujets du groupe des agents de BPM étaient exposés dans leur milieu de travail aux isocyanates (TDI, MDI et/ou HDI) ou au formaldéhyde. Dans le cas du diagnostic d’AP, lorsque le travailleur était exposé à plus d’un type d’isocyanates (par exemple, TDI et HDI), l’investigation du TPS cessait lorsque le travailleur réagissait positivement à l’un des isocyanates (par exemple, TDI).

3.2 Description des échantillons collectés et des mesures sériques

3.2.1 Tests cutanés pour la détermination de l'atopie

Des tests cutanés (« skin-prick tests ») ont été réalisés en utilisant une technique modifiée incluant un témoin positif (histamine) et des témoins positifs représentant 12 allergènes communs (chat, chien, *Dermatophagoides pteronyssinus*, *Dermatophagoides farinae*, *aspergillus*, *cladosporium*, ambroisie, graminées, bouleau, aulne, cyprès et platane) comme décrit précédemment^{15,16}. L'état d'atopie était diagnostiqué si le sujet présentait une réponse positive (3 mm ou plus) à au moins trois des 12 allergènes testés^{15,16}.

3.2.2 Prélèvements sanguins

Un premier échantillon de sang de 5 ml a été prélevé dans un tube héparinisé pour la réalisation du TAB et un deuxième échantillon de sang de 5 ml a été prélevé dans un tube non héparinisé afin de collecter le sérum pour la mesure des niveaux d'IgE totales et d'IgE spécifiques. Les échantillons de sérum ont été conservés à -80°C jusqu'au moment de l'analyse.

3.2.3 Mesures des IgE totales et des IgE spécifiques

Les niveaux d'IgE totale ont été mesurés avec le kit de la compagnie Immunology Consultants Laboratory, Inc. (Portland, OR, États-Unis), utilisant un IgE humain calibrateur défini par l'Organisation mondiale de la santé (OMS). L'intervalle de mesure des niveaux d'IgE totales est de 3,1 à 200 ng/ml. Les niveaux d'IgE spécifiques ont été mesurés avec le système Pharmacia ImmunoCAP100 de la compagnie Phadia et par l'utilisation des kits associés. L'intervalle de mesure des niveaux d'IgE spécifiques est de 0,001 à 100 kU/l.

3.3 Description du TAB et de son analyse

Le protocole utilisé est basé sur les travaux publiés par le D^r Guillaume Monneret^{5,6}, l'un de nos collaborateurs au projet. Les échantillons de sang collectés ont été traités selon la procédure précédemment décrite⁵. Les leucocytes du sang périphérique se distinguent par leur taille (FS) et leur granularité (SS) (fig. 3-1). Un anticorps dirigé contre le récepteur CRTH2 (FITC-CRTH2) permet d'identifier les basophiles et la population de cellules T de type Th2 (cadran A), ainsi qu'une population d'éosinophiles (cellules en bleu pâle; fig. 3-2). L'identification spécifique de la population de lymphocytes CD3 (CD3-PC5; population en bleu foncé) et des basophiles activés par l'expression de surface du marqueur d'activation CD203c (« PE-activation marker »; fig. 3-3) permet de cibler dans la population CRTH2 positive du cadran A (fig. 3-2), la population de basophiles (cadran B; fig. 3-3). L'identification des basophiles CRTH2 positifs dans le cadran A (après exclusion des cellules T CD3⁺ de type Th2) permet de quantifier dans la fenêtre D le pourcentage de basophiles activés (fig. 3-4).

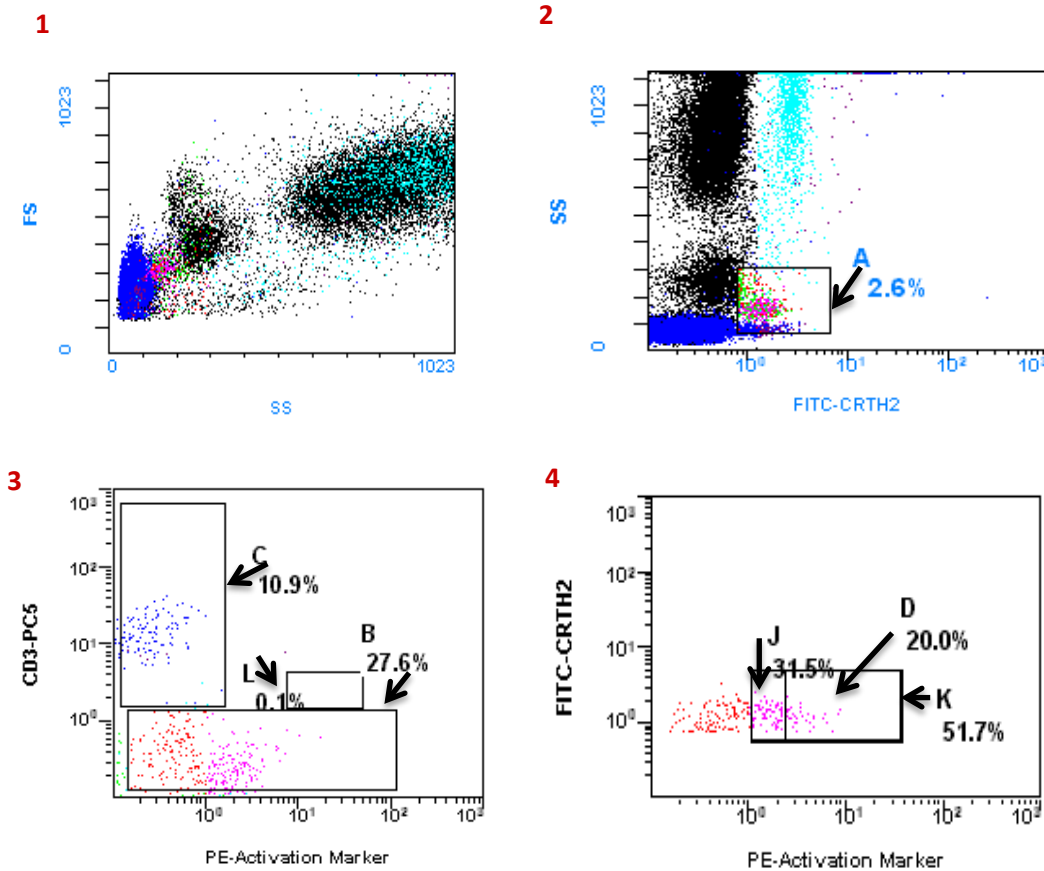


Figure 3. Illustration du protocole de cytométrie en flux utilisé pour le TAB.

Toutes les expériences du TAB ont été réalisées en suivant la procédure suivante: 1) Mesure du niveau de base d’activation des basophiles (TAB basal), 2) Stimulation indépendante des IgE induite par le fMLP (un médiateur pro-inflammatoire se liant sur son propre récepteur) (témoin positif de l’activation des basophiles) et 3) Mesure du niveau d’activation des basophiles en présence de l’agent spécifique (TAB spécifique) de HPM ou de BPM.

Le témoin positif (fMLP) de l’activation des basophiles est utilisé pour démontrer que les basophiles du travailleur peuvent effectivement être activés lors de ce test. Ainsi, le cas échéant, l’absence d’activation des basophiles en présence de l’agent spécifique serait bien attribuable *a priori* à l’absence d’une sensibilisation à cet agent chez ce travailleur. La figure 4-1 illustre le résultat du TAB, dans ce cas pour le fMLP. La figure 4-2 correspond aux données d’activation du TAB basal et la figure 4-3, à l’activation du TAB spécifique pour le témoin positif fMLP. Les valeurs sont exprimées en pourcentage (%) de basophiles activés et en fluorescence moyenne (« X-mean ») associée aux basophiles pour la mesure de la fluorescence associée au marqueur d’activation CD203c. Les valeurs du TAB basal et du TAB spécifique collectées et analysées

dans ce projet sont les valeurs dans le cadran D exprimées en pourcentage (20,0 par rapport à 47,7 % respectivement, dans ce cas).

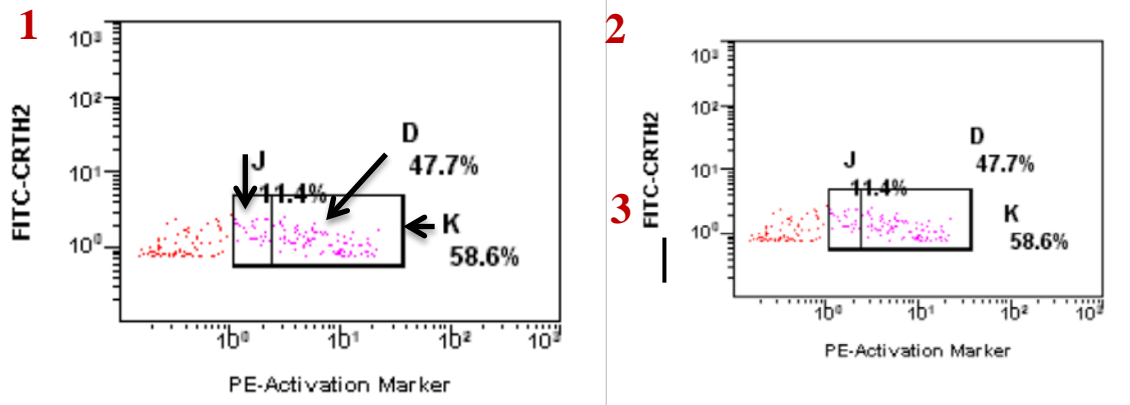


Figure 4. Illustration des résultats du TAB avant (2) et après (1 et 3) la stimulation par le FMLP.

La détermination du niveau d’activation spécifique des basophiles (TAB spécifique; valeur dans le cadran D; le cadran K incluant les basophiles non-activés et activés) en présence d’un agent sensibilisant de HPM ou de BPM est effectuée à une concentration donnée pour chacun de ces agents. Ces concentrations ont préalablement été établies dans notre laboratoire lors de projets pilotes (projets de validation des agents de HPM et BPM pour le TAB). Par exemple, la figure 5 illustre la réponse du TAB spécifique à différentes concentrations (0,1, 1 et 10 ng/ml) d’un extrait de latex. La concentration de 10 ng/ml a été par la suite utilisée pour la réalisation du présent projet de recherche pour les sujets du groupe Latex, pour les agents de HPM.

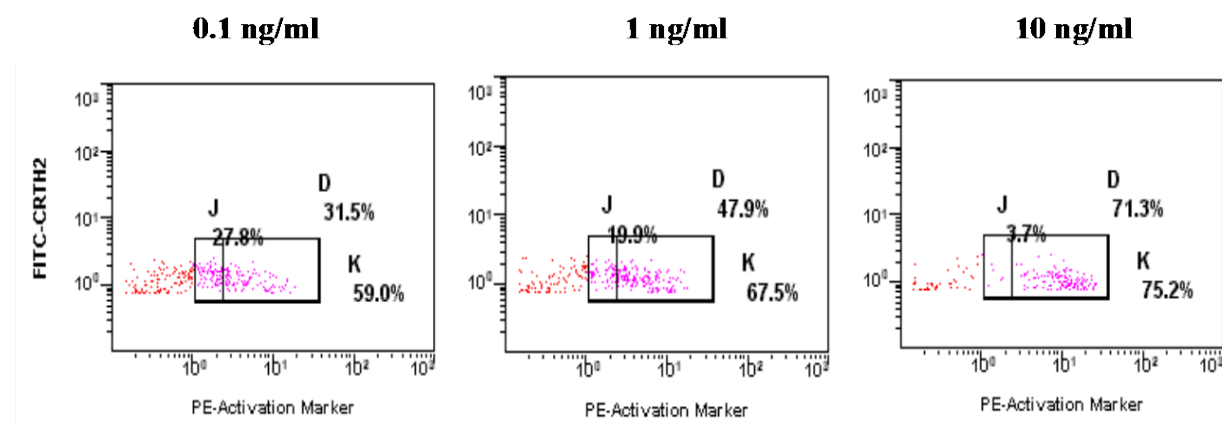


Figure 5. Illustration du niveau d’activation des basophiles à la suite de la stimulation par différentes concentrations d’un extrait de latex. Résultats du projet pilote.

3.4 Agents de HPM et de BPM utilisés pour le TAB

Les agents professionnels de HPM utilisés pour déterminer le TAB spécifique sont des extraits purifiés de farine de blé, de seigle ou de soja, ainsi que des extraits de latex provenant de la compagnie Hollister-Stier Laboratories LLC (Spokane, WA, États-Unis).

Pour les agents professionnels de BPM, comme les diisocyanates (TDI, MDI et HDI), le TAB spécifique a été mesuré en utilisant des diisocyanates conjugués à de l’albumine sérique humaine (ASH) pour le TDI (TDI-ASH) et le MDI (MDI-ASH); le conjugué HDI-ASH n’étant pas disponible au moment de l’étude. Ces molécules ont été synthétisées dans le laboratoire du P^r William Brown (Carnegie Mellon University, Pittsburgh, États-Unis). et elles ont été reconnues comme étant adéquate pour la mesure d’une sensibilisation de type IgG¹⁷. Dans le cas du formaldéhyde, le TAB spécifique a été mesuré en utilisant le formaldéhyde conjugué à l’ASH provenant de la compagnie Alpco (Salem, NH, États-Unis).

3.5 Analyses statistiques

Les tests statistiques utilisés pour l’analyse des données collectées sont les suivants :

- Le test *t* pour données appariées a été utilisé pour déterminer si le TAB spécifique pour un agent donné était statistiquement différent du TAB basal chez le même sujet;
- La corrélation de Pearson a été utilisée pour déterminer s’il existait une relation significative entre la réponse au TAB spécifique et celle au TPS (positif ou négatif) ou à l’atopie (présence ou absence);
- La corrélation de Spearman a été utilisée pour déterminer s’il existait une relation significative entre le TAB spécifique et les niveaux d’IgE totale et d’IgE spécifique.

4. RÉSULTATS

Le **TAB basal** est défini comme le pourcentage d’activation de base des basophiles dans l’échantillon de sang prélevé chez un sujet donné. Nous avons constaté, dans le cadre d’une étude pilote antérieure, qu’une augmentation de 4,6 % du TAB suite à une stimulation en comparaison du TAB basal est considérée comme significative pour conclure que le TAB mesuré est positif.

Le **TAB spécifique** est défini comme le pourcentage d’activation des basophiles en réponse à la stimulation de l’échantillon de sang par l’agent professionnel pour lequel le diagnostic d’AP avait été posé (anciens TPS; tableau 1) ou pour lequel la présence d’un AP était suspecté (nouveau TPS; tableau 1).

4.1 Détermination du TAB spécifique pour les agents de HPM

L’analyse des données pour le TAB spécifique par rapport au TAB basal en considérant la réponse au TPS pour ces sujets indique que le TAB spécifique est non significativement différent du TAB basal si le TPS est négatif, cependant ce groupe ne contient que trois sujets exposés à la farine (fig. 6A et tableau 2). Toutefois, le TAB spécifique est significativement différent du TAB basal chez les sujets présentant un TPS positif (fig. 6B et tableau 2).

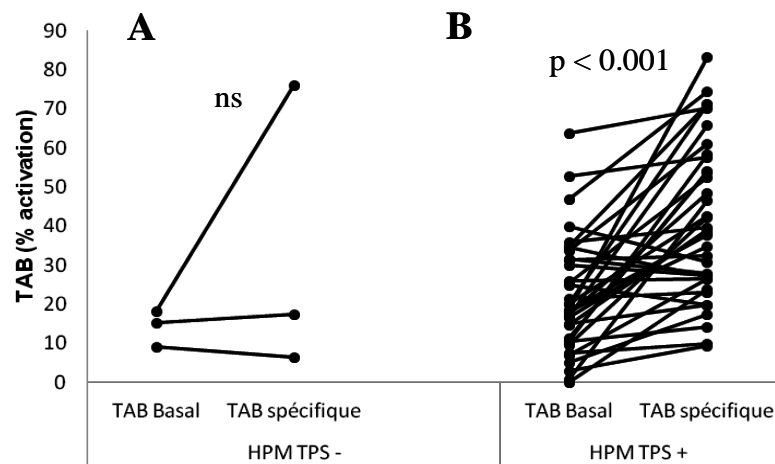


Figure 6. TAB basal par rapport au TAB spécifique des sujets du groupe HPM en fonction de la réponse au TPS. Sujets A) ayant présenté un TPS négatif (HPM TPS -) ou B) un TPS positif (HPM TPS +). ns: non significatif.

Selon la présence ou non d'atopie chez ces sujets, l'analyse des données semble indiquer que le TAB basal n'est pas significativement différent de la réponse du TAB spécifique pour les sujets non atopiques. Cependant, ce groupe ne comportant que quatre sujets (fig. 7A et tableau 2), il est difficile, d'un point de vue statistique, de conclure à l'absence d'une différence significative. Par contre, le nombre de sujets permet de déduire que la différence observée entre les résultats des TAB basal et spécifique à l'agent HPM investigué est significative chez les sujets atopiques (fig. 7B et tableau 2).

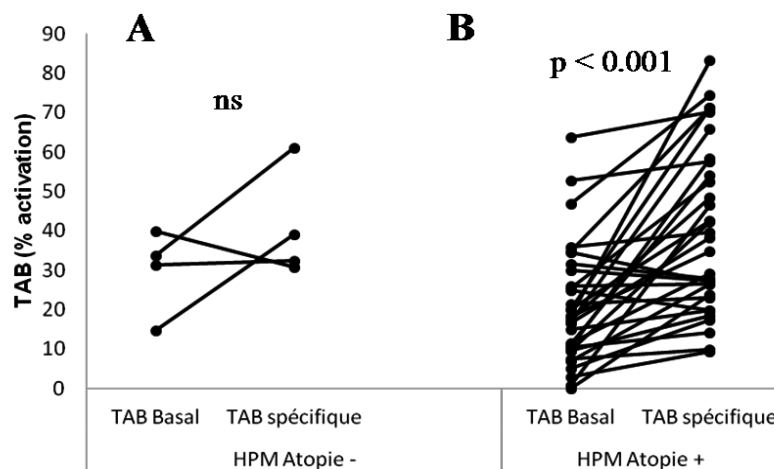


Figure 7. TAB basal par rapport au TAB spécifique des sujets du groupe HPM en fonction de l'atopie. Sujets A) sans atopie (HPM Atopie -) ou B) avec atopie (HPM Atopie +). ns: non significatif.

Tableau 2. Analyses du TAB pour les agents de HPM en fonction de la réponse au TPS ou de l'atopie.

HPM ^a (Farines + Latex)				
	TPS -	TPS +	Atopie -	Atopie +
TAB basal (%)	14,23 ± 2,64	20,90 ± 2,41	29,96 ± 5,38	19,27 ± 2,45
TAB spécifique (%)	33,38 ± 21,62	39,28 ± 3,48	38,76 ± 7,50	39,33 ± 3,94
Sujets (n)	3	35	4	34
Valeur de p^b	0,429	0,001*	0,354	0,001*

^a Moyenne ± erreur standard à la moyenne (ESM)

^b TAB spécifique par rapport au TAB basal. Test *t* pour échantillons appariés.

* $p < 0,05$

Enfin, nos résultats indiquent que la réponse du TAB spécifique pour les agents de HPM étudiés n’est pas significativement corrélée aux niveaux d’IgE totale ou d’IgE spécifique à ces agents (test de corrélation de Spearman; Tableau 3).

Tableau 3. Corrélation entre le TAB spécifique et les concentrations sériques des IgE totales ou des IgE spécifiques pour les agents de HPM.

IgE	HPM (Farine + Latex) ^a	Coefficient de corrélation (R ²) ^b	Valeur de p
Totale (µg/ml)	1712,28 ± 987,40	0,024	0,254
Spécifique (kU/l) ^c	9,61 ± 6,04	0,018	0,330

^a Moyenne ± erreur standard à la moyenne (ESM)

^b Corrélation de Spearman

^c kU : kiloUnité

4.2 Détermination du TAB spécifique pour les agents de BPM

Nos résultats indiquent que la réponse du TAB spécifique aux agents de BPM (TDI et MDI) n’est pas significativement différente de celle du TAB basal, et ceci aussi bien pour les sujets présentant un TPS négatif (fig. 8A et tableau 4) que pour ceux présentant un TPS positif (fig. 8B et tableau 4).

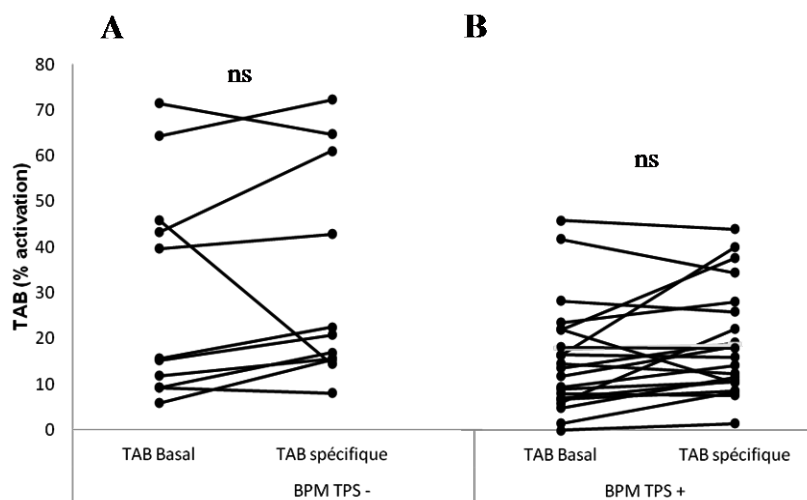


Figure 8. TAB basal par rapport au TAB spécifique des sujets du groupe BPM en fonction de la réponse au TPS. Sujets A) ayant présenté un TPS négatif (BPM TPS -) ou B) un TPS positif (BPM TPS +). ns: non significatif.

De plus, nos résultats révèlent que la réponse du TAB spécifique aux agents de BPM est non-significativement différente de la réponse du TAB basal, peu importe si les sujets sont non atopiques (fig. 9A et tableau 4) ou atopiques (fig. 9B et tableau 4).

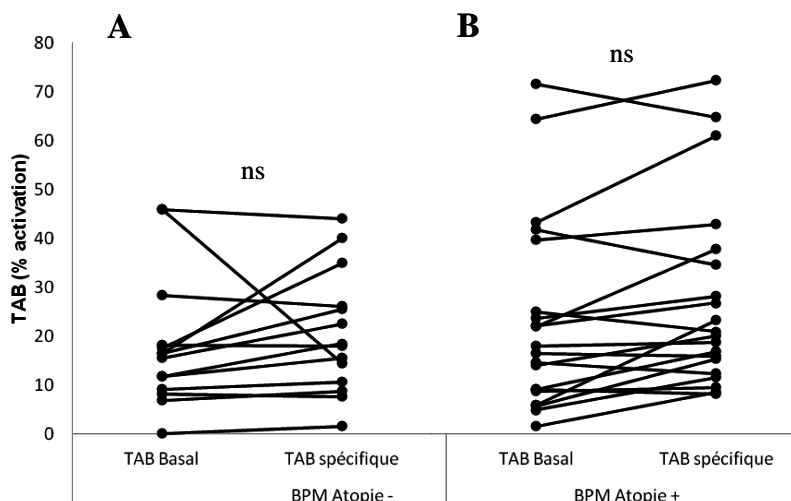


Figure 9. TAB basal par rapport au TAB spécifique des sujets du groupe BPM en fonction de l'atopie. Sujets A) sans atopie (BPM Atopie -) ou B) avec atopie (BPM Atopie +). ns: non significatif.

Tableau 4. Analyses du TAB pour les agents de BPM en fonction de la réponse au TPS ou de l'atopie.

BPM^a (Isocyanates + Formaldéhyde)				
	TPS -	TPS +	Atopie -	Atopie +
TAB basal (%)	25,56 ± 5,11	15,72 ± 2,50	17,71 ± 3,45	23,08 ± 4,38
TAB spécifique (%)	28,72 ± 5,16	18,48 ± 2,25	19,84 ± 3,02	26,17 ± 4,43
Sujets (n)	16	22	14	24
Valeur de p^b	0,257	0,135	0,520	0,106

^a Moyenne ± erreur standard à la moyenne (ESM)

^b TAB spécifique par opposition au TAB basal. Test *t* pour échantillons appariés.

Enfin, nos résultats montrent que la réponse du TAB spécifique aux agents de BPM n'est pas significativement corrélée aux niveaux d'IgE totale ni aux niveaux d'IgE spécifique à ces agents (tableau 5).

Tableau 5. Corrélation entre le TAB spécifique et les concentrations sériques des IgE totales ou des IgE spécifiques pour les agents de BPM.

IgE	BPM (Isocyanates + Formaldéhyde) ^a	Coefficient de corrélation (R ²) ^b	Valeur de p
Totale (µg/ml)	723,24 ± 379,58	0,028	0,242
Spécifique (kU/l) ^c	0,071 ± 0,043	0,012	0,341

^a Moyenne ± erreur standard à la moyenne (ESM)

^b Corrélation de Spearman

^c kU : kiloUnité

4.3 Détermination du TAB spécifique pour les isocyanates

Nous avons décidé d’exclure le groupe de travailleurs exposés au formaldéhyde du groupe BPM afin d’analyser les données uniquement de ceux exposés aux isocyanates. Comme mentionné ci-dessus, cette exclusion est justifiée par l’inconsistance dans la littérature d’une démonstration de l’existence d’une sensibilisation de type IgE chez les sujets développant un AP dû à l’exposition au formaldéhyde (confirmée par nos mesures d’IgE spécifiques dans le sérum des sujets de cette étude). À la suite de l’exclusion de ce groupe, nos résultats indiquent que la réponse du TAB spécifique est non significativement différente du TAB basal chez les sujets ayant un TPS négatif (fig. 10A et tableau 6), mais significativement différente chez les sujets ayant un TPS positif (fig. 10B et tableau 6).

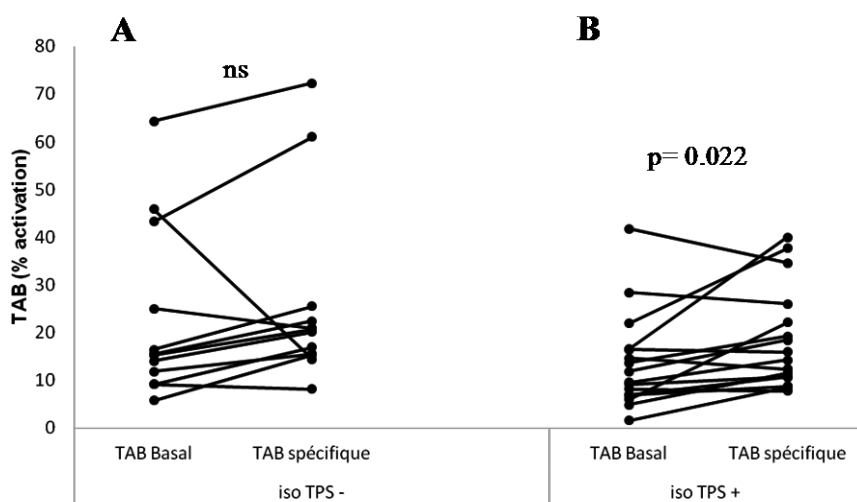


Figure 10. TAB basal par rapport au TAB spécifique des sujets du groupe isocyanates en fonction de la réponse au TPS. Sujets A) ayant présenté un TPS négatif (iso TPS -) ou B) un TPS positif (iso TPS +). iso : isocyanates; ns: non significatif.

Selon nos résultats, la réponse du TAB spécifique aux isocyanates est non significativement différente du TAB basal chez les sujets non atopiques (fig. 11A et tableau 6). Cependant, la réponse du TAB spécifique aux isocyanates est significativement différente de celle du TAB basal chez les sujets atopiques (fig. 11B et tableau 6).

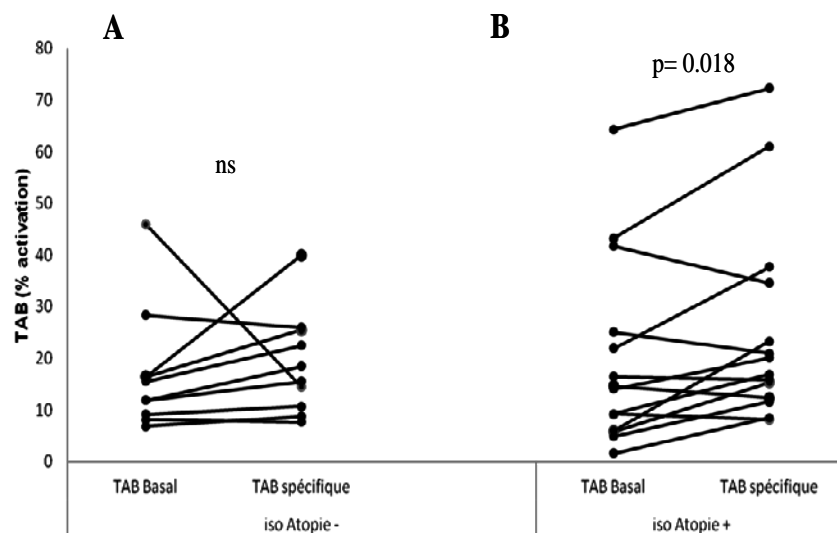


Figure 11. TAB basal par rapport au TAB spécifique des sujets du groupe isocyanates en fonction de l'atopie. Sujets A) sans atopie (iso Atopie -) ou B) avec atopie (iso Atopie +). iso : isocyanates; ns: non significatif.

Tableau 6. Analyses du TAB pour les isocyanates en fonction de la réponse au TPS ou de l'atopie.

	Isocyanates (TDI + MDI)			
	TPS -	TPS +	Atopie -	Atopie +
TAB basal (%)	22,63 ± 5,16	13,62 ± 2,53	20,64 ± 3,12	19,86 ± 4,85
TAB spécifique (%)	26,11 ± 5,66	18,65 ± 2,67	24,04 ± 3,36	25,53 ± 5,23
Sujets (n)	12	16	14	14
Valeur de p^b	0,301	0,022*	0,249	0,018*

^a Moyenne ± erreur standard à la moyenne (ESM)

^b TAB spécifique versus TAB basal. Test *t* pour échantillons appariés

* $p < 0,05$

Enfin, nos résultats révèlent que la réponse du TAB spécifique aux isocyanates n’est pas significativement corrélée aux niveaux d’IgE totales ni aux niveaux d’IgE spécifiques pour ces agents professionnels (tableau 7).

Tableau 7. Corrélation entre le TAB spécifique et les concentrations sériques des IgE totales ou des IgE spécifiques pour les isocyanates.

IgE	Isocyanates (TDI + MDI) ^a	Coefficient de corrélation (R²) ^b	Valeur de p
Totale (µg/ml)	519,14 ± 248,32	0,032	0,261
Spécifique (kU/l)^c	0,097 ± 0,036	0,014	0,307

^a Moyenne ± erreur standard à la moyenne (ESM)

^b Corrélation de Spearman

^c kU : kiloUnité

5. DISCUSSION

L’AP est une condition peu réversible lorsque diagnostiquée tardivement⁴, il est donc important de trouver des biomarqueurs précoces de la maladie qui permettraient d’identifier les sujets à risque élevé afin qu’ils bénéficient d’un suivi médical étroit. En effet, si un biomarqueur démontre qu’un travailleur a développé une sensibilisation à un agent auquel il est exposé dans son milieu de travail, il devient pertinent de compléter l’investigation par des tests de fonction respiratoire. Le TAB est basé sur une activation dépendante d’une sensibilisation de type IgE, spécifique à un agent professionnel sensibilisant. Ainsi, l’objectif principal de ce projet était de démontrer que le TAB permet de déterminer, chez des travailleurs, la présence d’une sensibilisation à un agent professionnel donné présent dans leur environnement de travail, et d’évaluer si la réponse au TAB est liée à la réponse au TPS ou à l’atopie chez ces mêmes travailleurs.

5.1 Groupes de travailleurs exposés aux agents sensibilisants de HPM

L’analyse de nos résultats montre principalement que la réponse du TAB spécifique pour les agents de HPM, soit les farines (blé, seigle ou soja) et le latex, est significativement différente de celle du TAB basal. Ces données indiquent que le TAB est un test valide pour la détection d’une sensibilisation à un agent de HPM chez les travailleurs. De plus, la réponse du TAB spécifique pour les agents de HPM étudiés est significativement différente de la réponse au TAB basal chez les sujets présentant un TPS positif, mais pas chez ceux présentant un TPS négatif. Cependant, une très forte majorité (92 %) des sujets de ce groupe a présenté un TPS positif pour l’agent de HPM investigué suivi d’un diagnostic positif d’AP. De ce fait, pour l’instant, il n’est pas possible de conclure si un TAB spécifique négatif (c.-à-d. non significativement différent du TAB basal) chez les sujets du groupe HPM aurait une valeur prédictive d’un TPS négatif et du diagnostic subséquent de l’absence d’AP.

La limite de cette étude pour les agents de HPM est le faible nombre de sujets présentant un TPS négatif à ces agents. Considérant que le recrutement des sujets de cette étude était basé initialement sur leur présence à l’HSCM pour un diagnostic d’AP, il n’était de ce fait pas possible de prédire le nombre de sujets qui présenterait un TPS négatif. Une option aurait été de contacter les sujets qui ont présenté, avant février 2008 (date du début de ce projet), un TPS négatif aux agents de HPM afin d’augmenter le nombre de sujets de ce groupe. L’inclusion de ces participants aurait permis de déterminer si le TAB spécifique positif chez les sujets atopiques est un facteur (ou biomarqueur) prédictif positif d’un TPS positif et du diagnostic subséquent d’AP. Il est fort probable que nous serions arrivés à une telle conclusion, car plusieurs études ont démontré que l’atopie augmente le risque de développer un asthme professionnel lors de l’exposition aux agents de HPM induisant la production d’IgE spécifiques⁹. Dans le cadre de notre étude, nous avons montré que la réponse au TAB spécifique n’est cependant pas corrélée aux concentrations d’IgE totale ni aux concentrations d’IgE spécifique.

Ces résultats suggèrent que ces biomarqueurs de sensibilisation ne permettraient pas de prédire la réponse au TAB spécifique pour un agent professionnel de HPM, tout au moins pour les farines et le latex.

Ce résultat est fort intéressant car il confirme les résultats de certains travaux de recherche démontrant que la sensibilisation *per se* n'est pas un évènement suffisant pour le développement de l'asthme. En effet, alors que 50 % d'une population jeune est atopique, uniquement 5 à 10 % de cette même population est atteinte d'asthme¹⁰.

5.2 Groupes de travailleurs exposés aux agents sensibilisants de BPM

L'analyse de nos résultats ne révèle aucune différence significative entre la réponse au TAB spécifique par rapport à celle du TAB basal chez les sujets du groupe BPM (isocyanates et formaldéhyde). La présence d'une sensibilisation de type IgE chez les travailleurs avec un AP attribuable à l'exposition aux isocyanates a été rapportée dans certaines études¹⁸⁻²⁰ bien que ce type de sensibilisation et son rôle dans le développement subséquent d'un AP continuent d'être des sujets de controverse²⁰. Les données actuelles de la littérature indiquent que l'AP induit par le formaldéhyde n'est pas associé à une sensibilisation de type IgE^{10-14, 21,22}. Ainsi, l'absence de différence significative entre la réponse au TAB spécifique par rapport à celle au TAB basal, et l'absence de corrélation avec les paramètres associés à la sensibilisation de type IgE (c.-à-d. atopie, IgE totale et IgE spécifique) pourraient être attribuables aux travailleurs sensibilisés au formaldéhyde inclus dans le groupe BPM.

Ayant émis cette hypothèse, une analyse des données en excluant les sujets exposés au formaldéhyde du groupe BPM était justifiée. L'exclusion de ce groupe de travailleurs a permis de montrer que la réponse au TAB spécifique est significativement différente de celle au TAB basal chez les travailleurs atopiques, mais pas chez les travailleurs non atopiques exposés aux isocyanates. Cette différence significative est aussi observée lorsque les sujets du groupe isocyanate ont été divisés en fonction de leur réponse négative ou positive au TPS. L'atopie n'a pas été identifiée comme étant un facteur de risque de développer un AP aux agents professionnels de BPM. De ce fait, la signification de l'existence d'une relation entre une réponse au TAB spécifique positive et l'atopie chez les travailleurs présentant un AP aux isocyanates n'est pas, pour l'instant, expliquée. Cependant, ceci amène de nouvelles avenues de recherche dans ce domaine.

Le conjugué HDI-ASH n'étant pas disponible au moment de l'étude, nous n'avons pas pu inclure le groupe de sujets présentant un TPS positif ou négatif pour le HDI dans l'analyse des travailleurs BPM (31 sujets HDI sur 59 sujets isocyanates au total; tableau 1). L'inclusion de ce groupe aurait permis de renforcer les conclusions actuelles, à savoir que la réponse au TAB spécifique positif chez les travailleurs atopiques est un facteur (ou biomarqueur) prédictif d'un TPS positif et d'un diagnostic subséquent d'AP dû aux isocyanates. Cependant, il n'est actuellement pas possible de réaliser ce projet en raison du décès de notre collaborateur, le P^r William Brown, responsable de la synthèse des conjugués d'isocyanates.

D^r Maghni a contacté le professeur Nathan Urban, directeur du Département des sciences biologiques Carnegie Mellon University, pour savoir si un autre chercheur poursuivait les travaux du P^r Brown ou si des échantillons de ces conjugués étaient malgré tout conservés et correspondaient à nos besoins. La réponse fut négative dans les deux cas.

De ce fait, la poursuite de ce projet de recherche afin d’inclure les sujets HDI nécessitera la synthèse et la caractérisation des conjugués HDI par un chimiste selon les méthodes de synthèses établies par feu P^r Brown.

Dans le cas des agents professionnels de BPM, nous avons aussi montré que la réponse au TAB spécifique n’est pas corrélée aux concentrations d’IgE totales, suggérant que ce biomarqueur n’est pas un facteur prédictif de la réponse au TAB spécifique pour un agent professionnel de BPM, tout du moins pour les isocyanates. De plus, les analyses de corrélation n’indiquent aucune association significative entre la réponse au TAB spécifique et les concentrations d’IgE spécifiques mesurées pour l’isocyanate ayant donné un résultat de TPS positif (par exemple, le MDI). Cependant, il faut noter que très peu de travailleurs (12 sujets sur un total de 59) ont présenté des niveaux détectables d’IgE spécifiques pour les isocyanates; ces mesures ayant été réalisées systématiquement pour les trois types d’isocyanates étudiés dans l’échantillon de sérum de chaque travailleur du groupe BPM.

6. CONCLUSION

Cette étude a permis de déterminer qu’un TAB spécifique positif pour les agents professionnels de HPM et pour les isocyanates est associé à un TPS positif et à un diagnostic d’AP à ces agents. De plus, les résultats de cette étude suggèrent que si le nombre de sujets exposés aux agents de HPM avec un TAB spécifique négatif (associé à un TPS négatif et à un diagnostic négatif d’AP) était augmenté, il est probable que cela nous permettrait de démontrer que le TAB spécifique positif aux agents de HPM est un facteur prédictif d’un TPS positif et du diagnostic subséquent d’AP. Dans le contexte du domaine de recherche sur l’AP, ces résultats sont très intéressants et innovateurs, car il n’existe pas d’études ayant examiné si la réponse au TAB constituait un biomarqueur qui, en association avec le statut d’atopie, pourrait aider à 1) une identification précoce des travailleurs sensibilisés ayant un risque élevé de développer un AP et 2) la décision de procéder ou pas à un TPS pour confirmer le développement d’un AP aux agents professionnels, en particulier dans le cas des isocyanates. De plus, il est probable que le TAB permette un suivi des travailleurs sensibilisés à un agent professionnel, et que l’évolution du TAB spécifique (par exemple, une augmentation au cours du temps) puisse être un indicateur du risque potentiel de développement d’un AP.

Il est donc nécessaire de poursuivre des études dans ce domaine et de démontrer la pertinence du TAB pour d’autres agents professionnels de HMP et de BPM auxquels les travailleurs québécois sont souvent exposés dans leur environnement de travail. Dans le contexte de ces nouvelles recherches, il serait nécessaire d’ajouter d’autres critères de sélection des patients qui incluraient l’historique de l’AP, la présence ou non de rhinite professionnelle.

À plus long terme, l’utilisation du TAB en association avec le statut d’atopie pourrait permettre une meilleure caractérisation du risque des agents professionnels sensibilisants, en particulier pour les nouveaux composés, et ainsi contribuer à l’évaluation et à la gestion du risque pour les travailleurs en relation avec l’environnement de travail. Une telle politique de gestion des risques serait facile à mettre en place en milieu de travail puisque le TAB ne nécessite qu’une prise de sang chez le travailleur et que l’échantillon peut être analysé le jour même par un laboratoire hospitalier ou clinique disposant d’une expertise en cytométrie en flux. L’utilisation du TAB, en particulier pour les isocyanates, pourrait s’avérer un outil fort utile pour aider au diagnostic d’un AP à ces agents professionnels sensibilisants dans les pays pour lesquels la législation interdit l’utilisation du TPS.

L’AP est une condition peu réversible si diagnostiquée tardivement. Il est donc important de découvrir des biomarqueurs précoces de la maladie afin de pouvoir instaurer une politique de gestion des risques pour les travailleurs. Ceci permettrait d’identifier les personnes à risque élevé d’être sensibilisé à un agent professionnel pouvant induire de l’AP. Dans le cas présent, l’instauration de cette politique basée sur la mesure d’un nouveau biomarqueur validé serait facilitée si la mesure de ce biomarqueur est peu invasive (c.-à-d. prise de sang) et réalisable sans exposer le travailleur à tout autre risque ou contrainte pour sa santé. De plus, si un biomarqueur démontre qu’un travailleur a développé une sensibilisation à un agent auquel il est exposé dans son milieu de travail, il devient pertinent de compléter l’investigation par des tests de fonction respiratoire. Ainsi, bien que des études supplémentaires sur de plus vastes échantillons soient requises pour confirmer les qualités métriques du TAB, les résultats issus de la présente recherche suggèrent que le TAB, en association avec le statut d’atopie, pourrait répondre aux exigences d’une telle politique.

BIBLIOGRAPHIE

1. Bochner BS, Busse WW. Allergy and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 115:953-959.
2. USA Asthma Guidelines, NIH Publication 97-4051, 1997.
3. Rajan TV. The Gell-Coombs classification of hypersensitivity reactions: a re-interpretation. *Trends Immunol* 2003; 24:376-379.
4. Bernstein IL, Chan-Yeung M, Malo JL, Berstein DI. Asthma in the workplace. 3^e edition. *Taylor & Francis*. New York, NY 2006.
5. Gu Y, Fujimiya Y, Kunugita N. Long-term exposure to gaseous formaldehyde promotes allergen-specific IgE-mediated immune responses in a murine model. *Hum Exp Toxicol* 2008; 27(1):37-43.
6. Doi S, Suzuki S, Morishita M, Yamada M, Kanda Y, Torii S, Sakamoto T. The prevalence of IgE sensitization to formaldehyde in asthmatic children. *Allergy* 2003; 58(7):668-71.
7. Krakowiak A, Górski P, Pazdrak K, Ruta U. Airway response to formaldehyde inhalation in asthmatic subjects with suspected respiratory formaldehyde sensitization. *Am J Ind Med* 1998; 33(3):274-81.
8. Baba K, Yagi T, Niwa S, Sakakibara A, Hattori T, Koishikawa I, Yoshida K, Kobayashi T. Measurement of formaldehyde-specific IgE antibodies in adult asthmatics. *Arerugi* 2000; 49(5):404-11.
9. Lidén S, Scheynius A, Fischer T, Johansson SG, Ruhnek-Forsbeck M, Stejskal V. Absence of specific IgE antibodies in allergic contact sensitivity to formaldehyde. *Allergy* 1993; 48(7):525-9.
10. Boumiza R, Debard AL, Monneret G. The basophil activation test by flow cytometry: recent developments in clinical studies, standardization and emerging perspectives. *Clin Mol Allergy* 2005; 3:3-9.
11. Boumiza R, Monneret G, Forissier MF, Savoye J, Gutowski MC, Powell WS, Bienvenu J. Marked improvement of the basophil activation test by detecting CD203c instead of CD63. *Clin Exp Allergy* 2003; 33:259-265.
12. Erdmann SM, Sachs B, Kwiecien R, Moll-Slodowy S, Sauer I, Merk HF. The basophil activation test in wasp venom allergy: sensitivity, specificity and monitoring specific immunotherapy. *Allergy* 2004; 59:1102-1109.
13. Ebo DG, Lechkar B, Schuerwegh AJ, Bridts CH, De Clerck LS, Stevens WJ. Validation of a two-color flow cytometric assay detecting in vitro basophil activation for the diagnosis of IgE-mediated natural rubber latex allergy. *Allergy* 2002; 57:706-712.

14. Sanz ML, Sanchez G, Gamboa PM, Vila L, Uasuf C, Chazot M, Dieguez I, De Weck AL. Allergen-induced basophil activation: CD63 cell expression detected by flow cytometry in patients allergic to *Dermatophagoides pteronyssinus* and *Lolium perenne*. *Clin Exp Allergy* 2001; 31:1007-1013.
15. Lemièrè C, Cartier A, Malo JL, Lehrer SB. Persistent specific bronchial reactivity to occupational agents in workers with normal nonspecific bronchial reactivity. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;162:976-980.
16. Lemièrè C, Biagini RE, Zeiss CR. Immunological and inflammatory assessments. Dans : *Asthma in the Workplace*, 3^e édition. Bernstein IL, Chan-Yeung M, Malo JL, Bernstein DI édés. *Taylor & Francis*, New York NY 2006; 179-197.
17. Aul, DJ, Bhaumik A., Kennedy AL, Brown, WE, Lesage J, Malo JL. Specific IgG response to monomeric and polymeric diphenylmethane diisocyanate conjugates in subjects with respiratory reactions to isocyanates. *J Allergy Clin Immunol* 1999;749-55.
18. Becklake MR, Chan-Yeung M, Malo JL. Epidemiological Approaches in Occupational Asthma. Dans : *Asthma in the Workplace*, 3rd edition. Bernstein IL, Chan-Yeung M, Malo JL, Bernstein DI, édés. *Taylor & Francis*, New York, NY 2006:37-85.
19. Lemièrè C, Biagini RE, Zeiss CR. Immunological and inflammatory assessments. Dans : *Asthma in the Workplace*, 3rd ed. Bernstein IL, Chan-Yeung M, Malo JL, Bernstein DI édés. *Taylor & Francis*, New York NY 2006; 179-197.
20. Palikhe NS, Kim JH, Park HS. Biomarkers predicting isocyanate-induced asthma. *Allergy Asthma Immunol Res* 2011; 3 (1):21-6.
21. Wisnewski AV, Jones M. Pro/Con debate: Is occupational asthma induced by isocyanates an immunoglobulin E-mediated disease? *Clin Exp Allergy* 2010; 40 (8):1155-62.
22. Dykewicz MS, Patterson R, Cugell DW, Harris KE, Wu AF. Serum IgE and IgG to formaldehyde-human serum albumin: lack of relation to gaseous formaldehyde exposure and symptoms. *J Allergy Clin Immunol* 1991; 87 (1 Pt 1):48-57.