

Analyse minéralogique de LBA de sujets sains par détection automatique de particules. Intérêt de leur utilisation comme groupe-contrôle dans le cadre de la mise en évidence d'une exposition professionnelle ou environnementale.

Chemarin C¹, Catinon M^{1,2,5}, Cavalin C^{2,3,4}, Rio S¹, Roux E¹, Pecquet M¹, Blanchet AS¹, Vuillermoz S¹, Pison C⁶, Arbib F⁶, Bonnetterre V⁷, Valeyre D⁸, Freynet O⁸, Mornex JF⁹, Freymond N¹⁰, Pacheco Y¹⁰, Thivolet F¹¹, Kambouchner M¹², Bernaudin JF⁸, Nathalizio A¹³, Rosental PA², Vincent M^{1,2,5}

1: Unité de pneumologie et laboratoire de minéralopathologie, Centre Hospitalier Saint Joseph et Saint Luc Lyon; 2: Centre d'études européennes, ERC Grant SILICOSIS, Sciences-Po, Paris; 3: Laboratoire Interdisciplinaire d'Evaluation des Politiques Publiques (LIEPP, Sciences Po, Paris); 4: Centre d'Etudes Européennes (CEE, Noisy-le-Grand); 5: Minapath Développement. Société sociale et solidaire, Villeurbanne; 6: Département de Pneumologie, Hôpital de la Tronche, Grenoble; 7: Département Médecine et Santé au Travail, Centre Hospitalier Universitaire Grenoble-Alpes; 8: Unité de pneumologie, Hôpital d'Avicenne, Bobigny; 9: Unité de pneumologie, Hôpital Louis Pradel, Lyon; 10: Unité de pneumologie, Centre Hospitalier Lyon-Sud, Lyon; 11: Département de Cytologie et Pathologie, Hospices Civils Lyon (Hopitaux Est), Lyon; 12: Département de Cytologie et Pathologie, Hôpital d'Avicenne, Bobigny; 13: Société DermScan, Villeurbanne

CONGRES DE PNEUMOLOGIE DE LANGUE FRANCAISE (CPLF) 2017, MARSEILLE France, 27-29 janvier

I. Introduction

La difficulté d'accéder à une connaissance rétrospective exhaustive de l'exposition professionnelle et environnementale d'un patient invite le clinicien à s'équiper de différents outils susceptibles de renforcer l'anamnèse. Il est ainsi pertinent de recourir à un interrogatoire dirigé du malade et à une analyse minéralogique des prélèvements. Le lavage bronchiolo-alvéolaire (LBA), examen simple et relativement peu invasif, permet le recueil de particules minérales issues des voies aériennes périphériques et des alvéoles. Pour interpréter les résultats de l'analyse minéralogique, il est crucial de pouvoir les comparer à ceux de sujets de référence dont les expositions sont connues (1). L'étude MINASARC est une étude multicentrique de sujets sains et malades combinant d'une part les réponses à un questionnaire interrogeant leur exposition à des particules inorganiques dans un contexte professionnel et extra-professionnel sur la vie entière, et d'autre part une analyse minéralogique de leur LBA. MINASARC a recruté 20 volontaires sains issus de la population générale appariés sur le sexe, l'âge et le statut tabagique à des patients atteints de sarcoïdose.

II. Matériel et méthodes

A. Population étudiée (Tableau 1)

Les volontaires sains sont recrutés par la société DermScan, agréée pour les études auprès de volontaires sains. Fibroscopie et LBA sont réalisés à l'unité d'endoscopie du Centre hospitalier Saint-Joseph Saint-Luc disposant également d'un agrément pour des études sur volontaires sains.

1. Critères d'inclusion

Individus âgés de 20 à 50 ans compris sans pathologie respiratoire et n'ayant jamais déclaré de sarcoïdose, examen clinique normal avec spirométrie simple dans les limites de la normale. VEMS > 85 % théorique, radiographie pulmonaire normale, absence de pathologie cardiaque, protégés par régime d'assurance maladie avec sérologie hépatite B, C et HIV < 0, ayant signé un consentement éclairé. Et présentant un bilan biologique : NF PI et TP-TCA normaux.

2. Critères d'exclusion

Femme enceinte, pathologie cardio-respiratoire évolutive ou psychiatrique.

B. Analyse minéralogique (Fig. 1)

Les particules issues des LBA sont examinées par microscopie électronique à balayage (JEOL JSM-6010PLUS/LV) à pression variable (MEB-PVa) pour laquelle l'automatisation de la recherche de particules et de leur analyse EDX a été mise en œuvre (microanalyseur Oxford X-Max 50 mm²). L'objectif de cette étude est de valider cet examen pour lequel plus de 1000 particules par patient sont analysées puis classées selon leur composition chimique. L'analyse des particules est réalisée sous les conditions suivantes : électrons rétrodiffusés ; 20kV d'intensité ; distance de travail de 12mm ; spot size 65 ; pression 20 Pa ; grandissement x1000.

Tableau 1 : Récapitulatif des 20 volontaires sains inclus dans l'étude MINASARC. IP : Identification Patient ; StaTab : Statut Tabagique (0 : < 5 PA ; 1 : 5 à 10 PA ; 2 : > 10PA).

IP	Age	Sexe	Pays de naissance	Sta Tab	Métier en cours
21	47	F	France	0	agent d'accueil cité scolaire
22	33	M	France	0	enquêteur sondage
23	38	F	France	0	femme au foyer
24	41	M	France	1	responsable rayon dans commerce high tech
25	22	F	France	0	externe en médecine
26	36	F	France	0	esthéticienne en parapharmacie
27	38	M	Italie	0	Animateur
28	23	F	France	0	photographe studio mode
29	44	M	France	2	chomeur
30	22	M	France	0	étudiant salarié d'une collectivité HLM
31	40	H	France	0	chomeur
32	32	F	France	0	enseignante collège
33	33	M	France	0	enseignant lycée
34	20	M	France	0	Agent de sécurité boîte de nuit
35	33	M	France	0	opérateur téléphone gendarmerie
36	33	M	France	0	conducteur de poids lourd
37	29	M	France	1	vendeur de matériaux de construction
38	34	M	France	0	policier
39	37	M	France	0	policier
40	36	M	Tunisie	0	conducteur routier

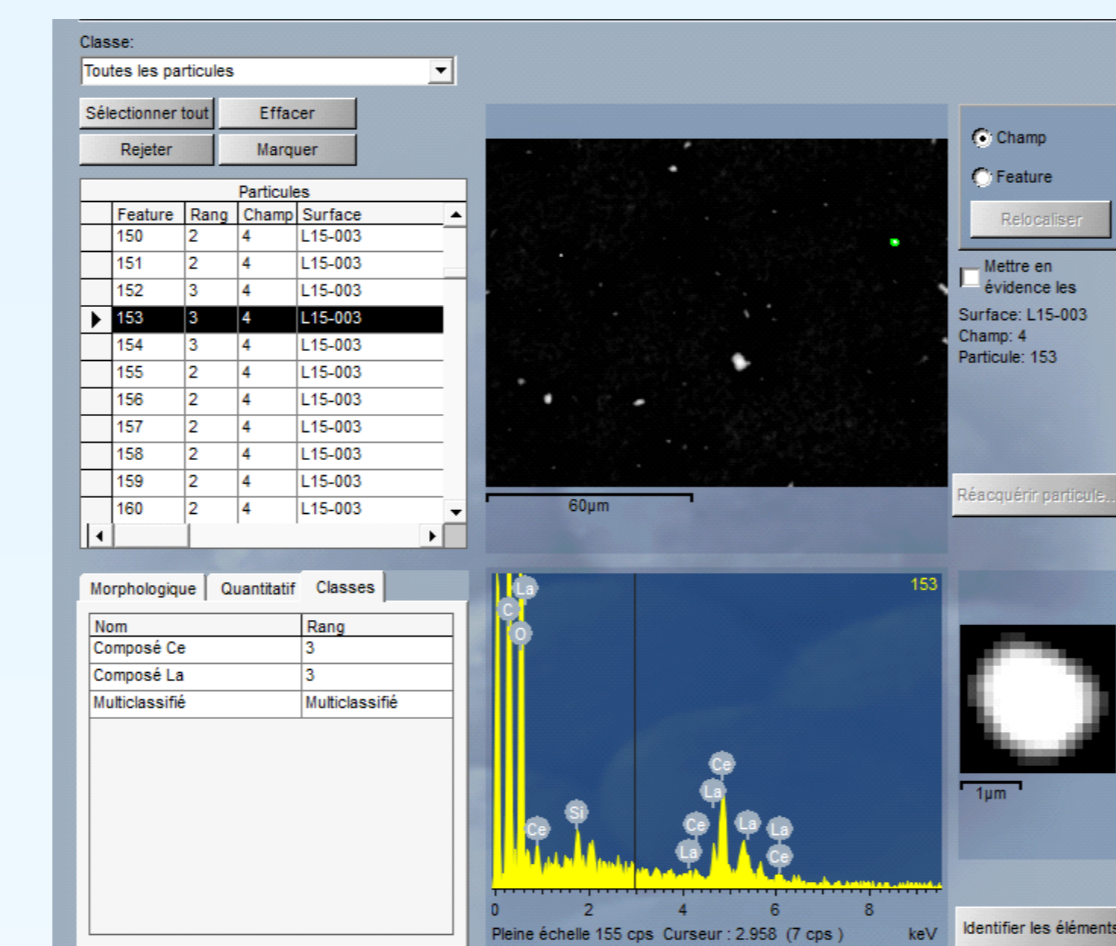


Figure 1 : Illustration de l'analyse automatique de particules minérales au microscope électronique à balayage à l'aide du logiciel INCA.

III. Résultats

A. Résultats de l'analyse minéralogique

Les concentrations sont déterminées pour chaque famille de particules, elles constituent un profil propre à chaque sujet (Figure 2). Les sujets exposés se détachent de ceux non exposés et montrent des profils minéralogiques en lien avec l'exposition mise en évidence par le questionnaire.

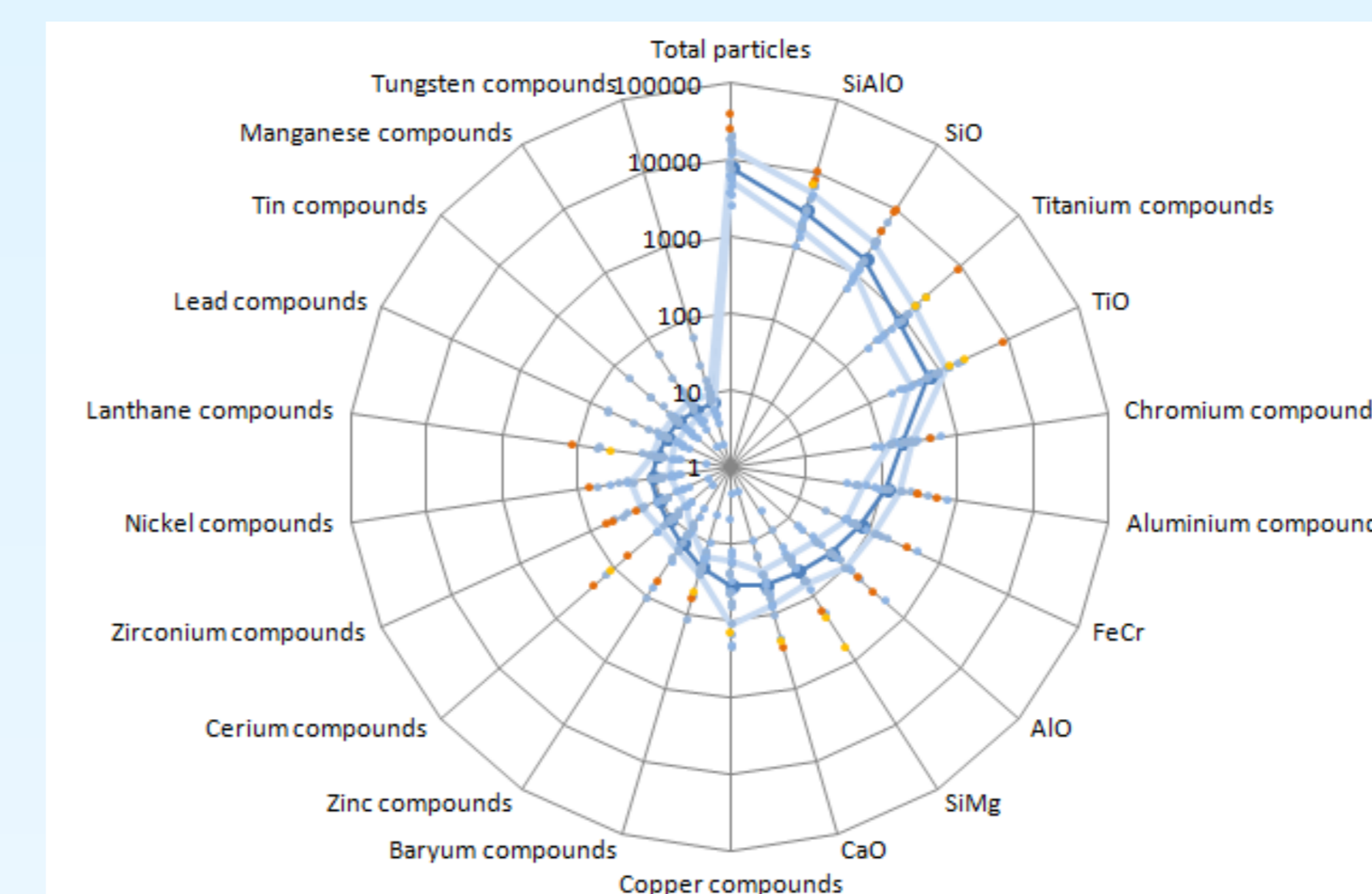


Figure 2 : Profils minéralogiques des 19 LBA de sujets sains représentant les concentrations par ml de LBA pour chaque famille de particules. Traits bleu ciel : quartiles 25 et 75%; trait bleu foncé : moyenne géométrique.

L'analyse a été réalisée sur 19 patients. Un patient a effectivement été exclu suite à la coloration brune de son LBA liée à une consommation de plusieurs cigarettes avant l'examen. La surcharge du LBA a rendu la filtration impossible (bouchage du filtre).

B. Exemple d'application

L'analyse EDX automatique en microscopie électronique à balayage a été réalisée sur le LBA d'un patient non fumeur exposé professionnellement à des poussières issues de découpe et ponçage de Corian® et porteur d'une BPCO. Le résultat de son analyse est comparé aux concentrations des 19 volontaires sains (Figure 3).

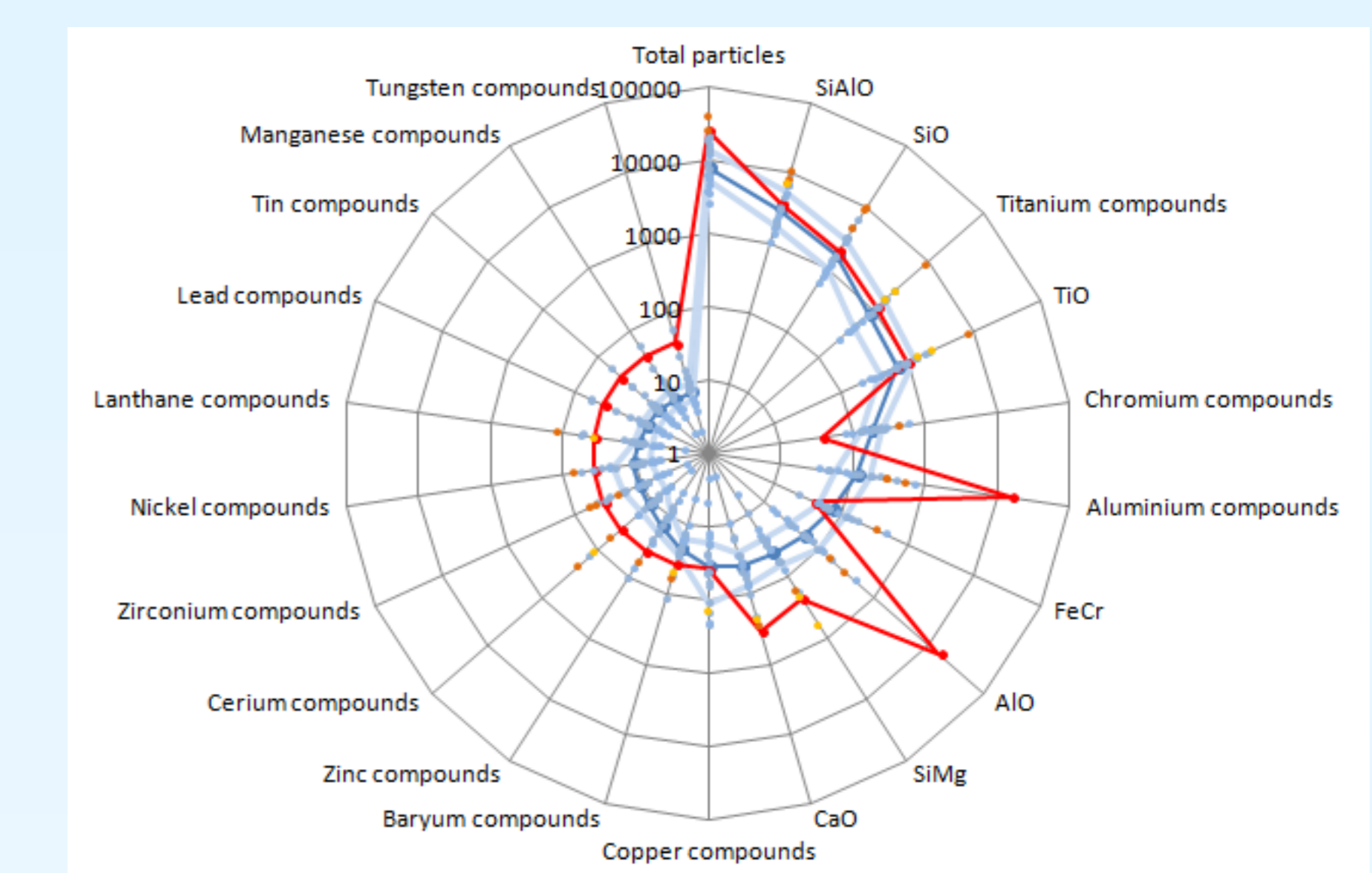


Figure 3 : Résultat de l'analyse minéralogique en microscopie électronique à balayage du LBA d'un patient exposé professionnellement à des poussières minérale (trait rouge).

Le nombre total de particules par ml de LBA estimé par notre méthode d'analyse EDX automatique (Fig. 3) montre que le LBA de ce patient présente une charge en particule supérieure à celles des sujets sains non exposés. On note des valeurs élevées dans plusieurs classes de particules attribuées au trihydrate d'aluminium en lien avec son exposition professionnelle.

IV. Discussion

Cette série de 19 volontaires sains ayant répondu à un questionnaire professionnel et environnemental est unique. Les études portant sur des LBA de sujets sains sont rares. Parfois, il s'agit de sujets autopsiés, avec un LBA *post-mortem* [2], et donc le plus souvent aussi un dossier médical très réduit. Dans deux autres études [3,4], les contrôles sont des patients sans exposition professionnelle mais porteurs d'un syndrome infiltratif qui justifie leur LBA. Or, il peut exister de fortes expositions environnementales dans des activités de loisirs (construction, démolition, bricolage...). Enfin, ces patients porteurs de syndrome infiltratif peuvent avoir une sarcoïdose ou une fibrose dont un des facteurs causaux pourrait être des expositions non repérées à des particules inorganiques [5,6].

L'analyse automatisée par MEB, de mise en œuvre plus facile que la MET et de moindre coût, permet de décrire la charge minérale du LBA des sujets sains. Les sujets plus ou moins exposés selon des critères définis à partir de nos données montrent des profils minéralogiques qui concordent avec les expositions mises en évidence par le questionnaire. Cependant, la présence de particules de petites tailles peut être mésestimée et celle d'un grand nombre de corps ferrugineux peut altérer le résultat d'une analyse. L'observation d'un profil minéralogique atypique est un indice en faveur d'une exposition à une ou plusieurs familles de particules. C'est le cas du patient présenté dans la Figure 3 qui présente des taux importants de particules composées d'aluminium dont le spectre EDX est le même que celui de particules issues du Corian® composé au 2/3 de trihydrate d'aluminium.

V. Conclusion

Un tel résultat peut aider un patient : a) à modifier son environnement domestique ou professionnel pour réduire des expositions délétères ; b) à faire reconnaître l'origine professionnelle de sa pathologie (dans les tableaux de maladies professionnelles ou "hors-tableaux", comme cela est possible depuis 1992). L'acquisition d'un groupe de sujets-contrôles et la mise en œuvre facile de la MEB-PVa permettent de déterminer s'il existe une surcharge en particules minérales non fibreuses dans le LBA de sujets porteurs de pathologies infiltratives chez qui un facteur d'exposition professionnel et/ou environnemental est suspecté.