

Perturbations endocriniennes lors d'une campagne luzerne

Résultats d'une étude dans une entreprise agroalimentaire

Cette étude centrée sur l'évaluation d'un effet potentiel œstrogénique d'une exposition professionnelle à de la luzerne concentrée, n'a pas permis de conclure. Elle permet cependant de mettre en évidence l'intérêt d'une étude complémentaire basée sur un plus grand nombre de sujets et sur l'utilisation de méthodes de laboratoire plus sensibles que celles utilisées habituellement en pathologie humaine.

Devant l'intérêt médiatique grandissant concernant les effets des perturbateurs endocriniens potentiels, l'exposition professionnelle de salariés à des phytoœstrogènes ne pouvait laisser indifférent [1, 2].

La définition récente d'un agent chimique dangereux « tout agent chimique qui, bien que ne satisfaisant pas aux critères de classement en l'état ou au sein d'une préparation, peut présenter un risque... » (décret n° 2003-1254 du 23 décembre 2003 relatif à la prévention du risque chimique et modifiant le Code du travail) conforte la nécessité pour l'employeur d'intégrer ce type de préoccupation dans sa démarche d'évaluation des risques, ce qui rentre typiquement dans les attributions de l'équipe de santé au travail dans son rôle de conseiller de l'employeur.

Contexte de l'étude

L'étude a concerné des salariés d'une entreprise agroalimentaire (production d'aliments destinés à la consommation humaine) dont la capacité de la tour d'atomisation (*encadré 1*) est excédentaire par rapport à la production standard de l'entreprise. Afin de rentabiliser cet outil, l'entreprise a signé divers contrats à façon d'atomisation de solutions produites par d'autres types d'entreprises. C'est dans ce contexte que l'entreprise gère l'atomisation d'une solution concentrée de luzerne, la poudre obtenue servant de complément alimentaire protéique pour le bétail.

Si des consommations de luzerne en grande quantité sont connues pour être à l'origine, chez le bétail, d'effets œstrogéniques importants [3 à 7] la recherche bibliographique portant sur d'éventuels effets féminins

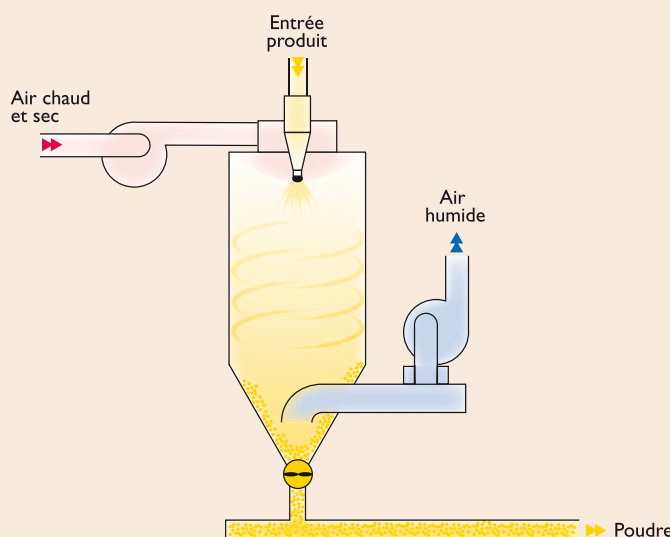
DERACHEV.*,
FONTAINE B.*,
BUISSET C.*,
COUPLLET G.**

*Association Médecine et Santé au Travail, Lille.

**Laboratoire Biolille, Lille.

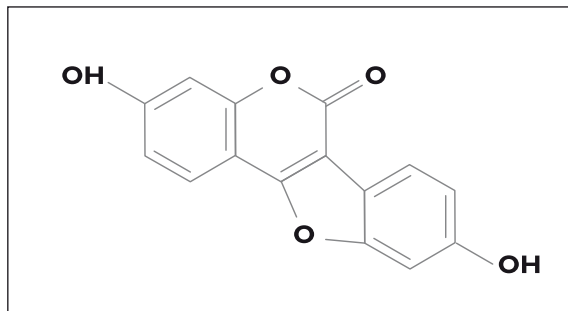
Principe d'une tour d'atomisation pour la luzerne

L'atomisation est un procédé permettant d'obtenir une poudre à partir d'un liquide. Le liquide est pulvérisé du haut d'une tour de grande hauteur et au fur et à mesure de sa descente par gravité, est réchauffé jusqu'à évaporation de l'eau constitutive, déshydratation complète, pour aboutir, en bas de la tour, à la poudre recherchée.



ENCADRÉ 1

Fig. 1 : Coumestrol.



sants chez des salariés exposés a été vaine, ce qui a conduit à envisager une étude spécifique.

Le phytoœstrogène principal de la luzerne appartient à la famille des coumestranes. Il s'agit du coumestrol (figure 1), dont l'activité œstrogénique est considérée comme supérieure à celle de l'éthinylestradiol [8].

La teneur en coumestrol varie de façon appréciable suivant les luzernes utilisées. Dans cette étude, l'analyse de divers lots (1) a mis en évidence des teneurs comprises entre 15 et 54 ppm en masse : les données de référence sur la luzerne standard se situent entre 50 et 100 ppm (2). Le lot 2004 contenait 15 ppm de coumestrol.

Après discussions préalables avec la direction de l'entreprise sur les plans techniques, éthiques et financiers, une première réunion d'information a été réalisée au cours d'un CHSCT, suivie d'une réunion avec les salariés concernés. Une fois avertis du risque d'exposition à ce produit, les salariés se sont montrés intéressés par la réalisation d'une étude, mais ont demandé comme préalable une amélioration des conditions de travail des postes situés en bas de la tour d'atomisation, en particulier sous forme d'une amélioration des dispositifs d'aspiration des poussières et de l'installation d'une climatisation. Ces travaux d'optimisation des conditions de travail ont été rapidement réalisés (financés à la fois par l'entreprise cliente et par l'entreprise propriétaire de la tour), ce qui a permis d'obtenir l'autorisation de réalisation de l'étude. Un appel à témoins a donc été lancé, basé sur le volontariat strict, appel permettant d'obtenir quelques volontaires recevant exactement les mêmes informations que les salariés exposés.

trois témoins non exposés ont participé à ce suivi. Les salariés exposés ont également été leur propre témoin avec comparaison avant et après exposition.

Les différents postes occupés pour les exposés sont des postes de chefs d'équipe d'atomisation pour 3 d'entre eux et des postes de conducteur de tour, concentrateur pour les autres. Leurs principales tâches de travail consistent au conditionnement et à l'ensachage de la poudre de luzerne obtenue après atomisation avec diverses opérations comme la mise en place de sac sous une trémie doseuse, la pesée, la fermeture, la manutention et le stockage du sac sur palette. Les trois sujets témoins non exposés aux campagnes luzerne sont de même catégorie socioprofessionnelle, de même classe d'âge, de même sexe et travaillent dans la même entreprise.

PROTOCOLE

Avant le début de l'enquête médicale, une fiche de consentement de participation est présentée pour accord et signature à chacun des salariés volontaires et informés de la méthodologie retenue. Le respect de la confidentialité des données individuelles est précisé sur cette fiche.

Le protocole de suivi retenu consiste en la réalisation de deux examens médicaux, un avant et un après une campagne luzerne, avec mesure de différents paramètres tels que tour de poitrine, tour de taille, tour de hanche et recherche de signes de féminisation, de modification de la libido. Tout traitement médical susceptible d'interférer avec les résultats de l'étude est également précisé ainsi que la durée moyenne d'exposition à la poudre de luzerne et le port des équipements de protections individuelles mis à disposition.

Sur le plan biologique, des bilans hormonaux avec dosage de LH, FSH, PSA, œstradiol, testostérone sont réalisés avant et après la campagne dans le même laboratoire ainsi qu'un bilan lipidique (dosage du cholestérol total, des HDL et du rapport cholestérol/HDL).

Il est à noter que la campagne luzerne ayant fait l'objet de cette étude ponctuelle s'est déroulée sur deux semaines et correspond à une campagne de l'année 2004.

ANALYSE DES DONNÉES

L'analyse est essentiellement descriptive. Devant le faible effectif de l'enquête, les tests statistiques ne peuvent être appliqués. La saisie informatique est réalisée à l'aide du logiciel Epi info.

POPULATION ÉTUDIÉE

Cette étude est de type transversal et comprend l'intégralité du personnel exposé lors des différentes campagnes luzerne. Au total, dix personnes exposées et

1) Laboratoire mycologie 2B, Tournefeuille

2) France Luzerne, Chalons-en-Champagne

Résultats

Il s'agit d'une population entièrement masculine avec un âge moyen de 39 ans (minimum 24 ans, maximum 58 ans). La totalité des 13 salariés volontaires, exposés ou non, s'est présentée aux 2 examens cliniques. Douze sujets (9 exposés et 3 témoins) ont bénéficié du prélèvement biologique avant et après la campagne. Concernant la population exposée, la durée moyenne d'exposition par jour est de l'ordre de 8 heures pour la moitié d'entre eux, 4 heures pour 3 d'entre eux et 2 heures par jour pour les derniers.

Sur le plan clinique, en comparant les sujets exposés à eux-mêmes avant et après la campagne, aucune variation majeure n'est mise en évidence notamment lors de l'étude des différents paramètres tels que le tour de taille, de hanche, de poitrine. De même, pour les témoins, l'analyse descriptive de ces différents paramètres cliniques ne met pas en évidence de modification sur cette même période de 15 jours.

L'analyse des résultats du bilan hormonal permet de constater une tendance nette à l'augmentation du taux d'œstradiol, tendance retrouvée à la fois chez les exposés et chez les témoins. Cette tendance reste cependant dans les normes physiologiques. Les autres résultats hormonaux ne montrent pas de modification réelle et conséquente après exposition au risque. De même, le bilan lipidique reste inchangé avant et après la campagne pour toute la population de l'étude.

Il est à noter que cette enquête a permis la découverte fortuite et isolée d'une augmentation des gonadostimulines (FSH, LH) avec normalité des hormones périphériques dont l'origine professionnelle reste improbable vu le profil d'action du coumestrol.

Discussion

Dans cette étude, le nombre de témoins recruté est malheureusement faible par rapport à l'effectif souhaité et il faudrait des données plus précises et en nombre suffisamment important pour exploiter statistiquement les résultats.

Il est également possible de remarquer, parmi les limites de l'enquête, un délai d'exposition court lié aux contingences du terrain. L'observation de modifications morphologiques nécessiterait plusieurs semaines pour être mesurables et il faudrait prolonger la surveillance plus longtemps.

La mise en évidence d'une tendance nette à l'élévation d'œstradiol a conduit à prendre des avis complémentaires auprès de médecins biologistes. En effet, il

était possible de se demander si ces résultats étaient expliqués par une variabilité liée à la méthode de dosage ou si ces résultats étaient importants en tenant compte d'une variation notée sur 15 jours. Pour répondre à ces questions, le laboratoire a repris tous les sérums après décongélation et les a dosés dans la même série afin d'éliminer l'influence de la reproductibilité inter-essais et inter-lots. Or, la variabilité analytique pour des valeurs aux alentours de 20 pg/ml est telle qu'il n'est pas possible d'affirmer qu'il existe une variation significative entre les deux échantillons de chaque sujet et des variations en sens inverse ont été retrouvées après décongélation des échantillons.

Ce manque de sensibilité des techniques non isotopiques, utilisées dans cette étude, évaluant l'œstradiol, n'est pas préjudiciable dans les pratiques quotidiennes du laboratoire où des valeurs pathologiques > 50 pg/ml sont recherchées chez l'homme.

Il est donc difficile d'évoquer dans cette étude, une élévation de l'œstradiol sur les prélèvements après campagne. D'autre part, il ne faut pas oublier que l'étude est réalisée après une nette amélioration des conditions de travail (système d'aspiration et de climatisation) pour les travailleurs exposés, qui minimise considérablement l'exposition résiduelle.

Conclusion

Il s'agit d'une étude princeps sur les effets féminins potentiels de l'exposition professionnelle aux phytoœstrogènes dérivés de la luzerne. Cette étude présente des biais méthodologiques importants et les résultats obtenus ne permettent pas de conclure dans un sens ou dans l'autre. Une étude complémentaire serait donc nécessaire. Elle devrait être multicentrique pour augmenter l'effectif exposé et utiliser des méthodes de dosages hormonaux plus fines que celles utilisées habituellement en clinique afin de pouvoir interpréter une tendance de variation. La méthode radio-isotopique s'avèrerait intéressante. En effet, il serait souhaitable de prélever, de centrifuger puis congeler les sérums au fur et à mesure pour les doser ultérieurement après extraction et dosage isotopique. Un budget recherche est indispensable pour pouvoir franchir cette étape.

Références bibliographiques =>

Références bibliographiques

- [1] PILLIÈRE F – Perturbateurs endocriniens et effets toxiques. Colloque de l'ARET. Paris, 30-31 mai 2002. Notes de congrès TD 122. *Doc Méd Trav.* 2002 ; (92) : 377-81.
- [2] VIDAEFF AC, SEVER LE – In utero exposure to environmental estrogens and male reproductive health: a systematic review of biological and epidemiologic evidence. *Reprod Toxicol.* 2005 ; 20 (1) : 5-20.
- [3] DOMON OE, MCGARRITY LJ, BISHOP M, YOSHIOKA M ET AL. – Evaluation of the genotoxicity of the phytoestrogen, coumestrol, in AHH-1 TK(+/-) human lymphoblastoid cells. *Mutat Res.* 2001 ; 474 (1-2) : 129-37.
- [4] CANTERO A, SANCHÀ JL, FLORES JM, RODRIGUEZ A ET AL. – Histopathological changes in the reproductive organs of Manchego ewes grazing on lucerne. *Zentralbl Veterinarmed A.* 1996 ; 43 (6) : 325-30.
- [5] MEDLOCK KL, BRANHAM WS, SHEEHAN DM. – The effects of phytoestrogens on neonatal rat uterine growth and development. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1995 ; 208 (3) : 307-13.
- [6] KÜRZER MS, XU X. – Dietary phytoestrogens. *Annu Rev Nutr.* 1997 ; 17 : 353-81.
- [7] SANTTI R, MAKELA S, STRAUSS L, KORKMAN J ET AL. – Phytoestrogens: potential endocrine disruptors in male. *Toxicol Ind Health.* 1998 ; 14 (1-2) : 223-37.
- [8] POCOCK VJ, SALES GD, MILLIGAN SR – Comparison of the oestrogenic effects of infant milk formulae, oestradiol and the phytoestrogen coumestrol delivered continuously in the drinking water to ovariectomised mice. *Food Chem Toxicol.* 2002 ; 40 (5) : 643-51.