Rendez-vous de la science

UTILISATION DES CELLULES DENDRITIQUES EN TANT QUE BIOSENSEURS POUR LA SURVEILLANCE DE LA QUALITÉ BIOLOGIQUE DE L'AIR

Pascale Blais Lecours : supervision

David Marsolais : direction

Magali Boucher : étudiante

Caroline Duchaine : codirection

UNIVERSITÉ LAVAL

Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail

CENTRE DE RECHERCHE INSTITUT UNIVERSITAIRE DE CARDIOLOGIE ET DE PNEUMOLOGIE DE QUÉBEC

Travailleurs de plusieurs industries exposés aux bioaérosols

Milieux agricoles

Usines de machinage et de traitement des eaux usées

Travailleurs de porcheries :

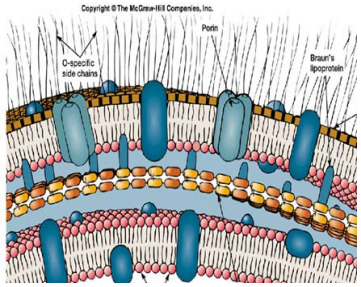
- **10^{10} bactéries inhalées/jour de travail**

Hinds WC. New York: John Wiley and Sons, Inc., 1999.
Nehme B et al. Environ Microbiol 2008;10:665-75.

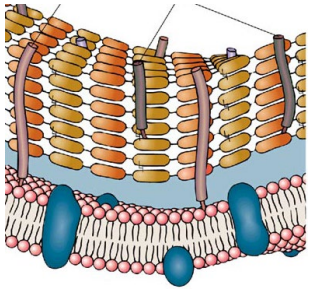
Composantes immunogènes des bioaérosols très variées

Composantes bactériennes

Endotoxines

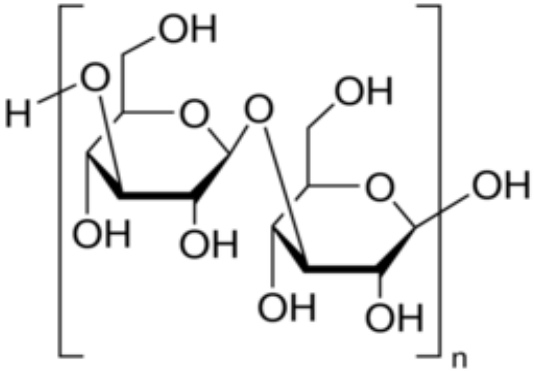


Peptidoglycane



Composantes fongiques

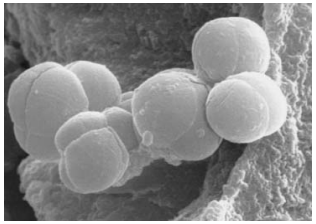
(1,3)-β-D glucans



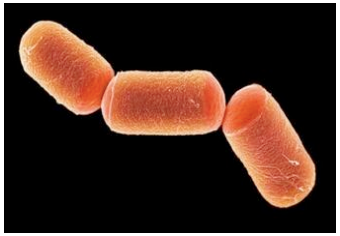
Sigma-aldrich

Archées

Methanosphaera stadtmanae **(MSS)**



Methanobrevibacter smithii **(MBS)**



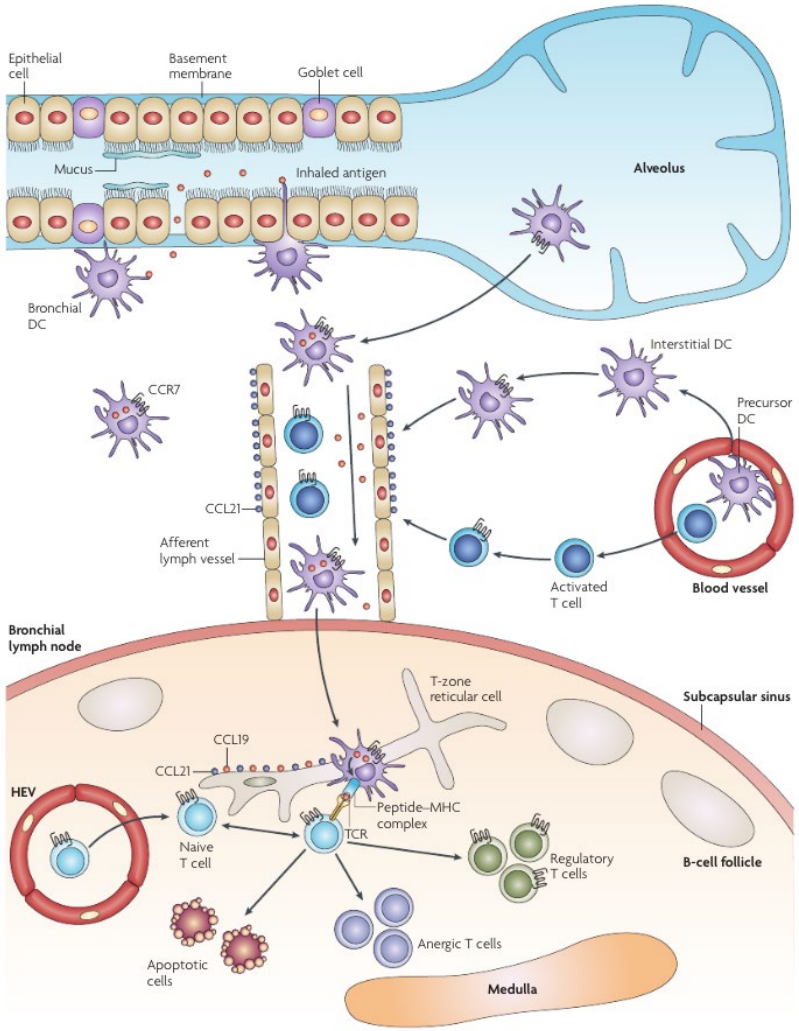
- Propriétés immunogènes différentes

Problématiques

- Endotoxines et poussière totale
  - Seuls déterminants reconnus pour évaluer la qualité de l'air
  - Ne permettent pas de prédire l'impact des bioaérosols sur la santé des travailleurs
- Persistance des troubles respiratoires occupationnels
  - Allergie
  - Syndrome toxique aux poussières organiques
  - Maladie d'hypersensibilité
- Mécanismes de pathogenèse méconnus
  - Nature des composantes des bioaérosols partiellement définie
  - Caractérisation complète des composantes difficile
- Mesures d'agents individuels ne prédisent pas le potentiel immunogène
  - Effets synergiques entre les composantes?

La cellule dendritique initie la réponse immune pulmonaire

- Cellules à l'interface de l'individu et de son environnement
- Expriment plusieurs récepteurs leur permettant de jauger le potentiel immunogène d'agents externes
- En présence d'agents nocifs, elles surexpriment des molécules de stimulation et de costimulation pour induire une réponse immune acquise
  - MHC II et CD86



Förster et al. 2008, Nat Rev Immunol

Hypothèse

- Les **cellules dendritiques** peuvent être utilisées en tant que **biosenseurs** afin **d'évaluer la qualité de l'air** des environnements de travail

Objectifs

1. *Objectif 1 :*
   1. *Mise au point du modèle in vitro.*
   2. *Comparer les effets d'agents présentant des potentiels immunogènes différents.*
2. Objectif 2 :
   1. *Obtention d'échantillons terrains.*
   2. *Caractérisation des échantillons.*
   3. *Évaluation des effets immunogènes d'échantillons complets avec les cultures de cellules dendritiques.*
3. Objectif 3 :
   1. *Corréler l'indice d'immunogénicité avec un modèle murin d'exposition aigüe.*

Objectif 1

Protocole de maturation des cellules dendritiques

Jour 0 7 8

Différenciation en cellules dendritiques

Récolte des cellules

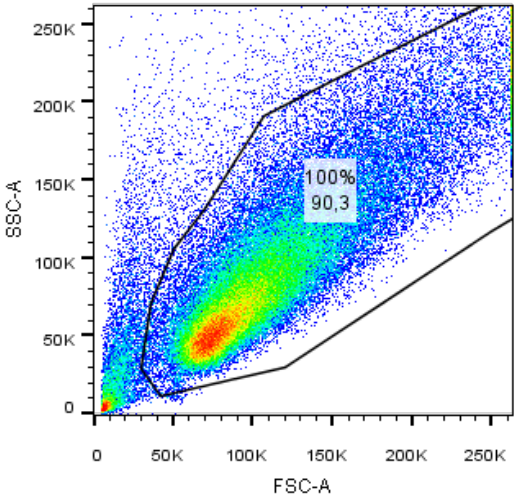
Analyse activation des cellules dendritiques par cytométrie de flux

Isolation de cellules de la moelle osseuse de souris

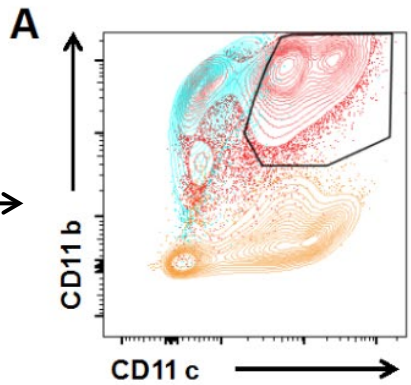
<u>Stimulation des cellules dendritiques</u>
Agents simples
ou
Échantillons d'air (m^3/ml)

Stratégie d'analyse par cytométrie de flux

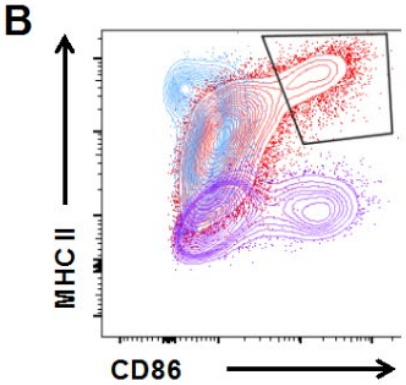
Cellules viables



Cellules dendritiques

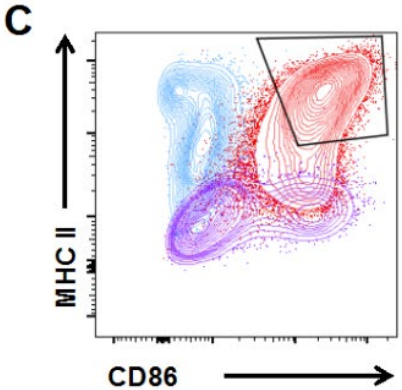


Cellules dendritiques activées



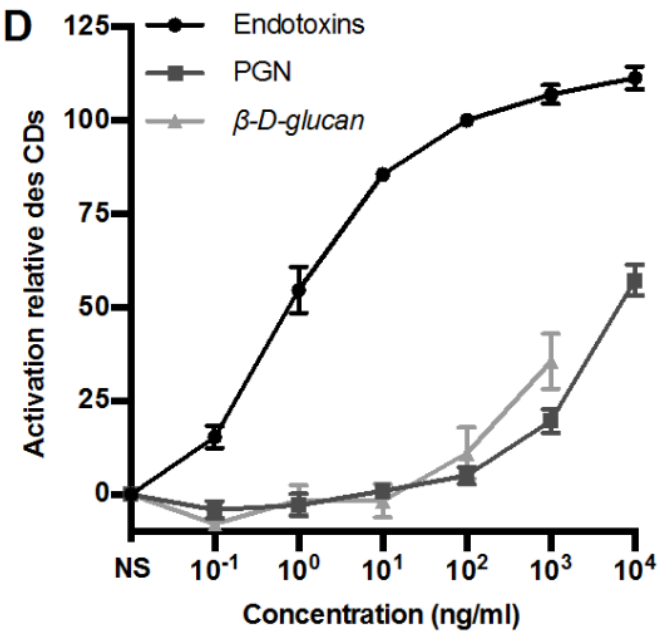
0,1 ng/ml endotoxines

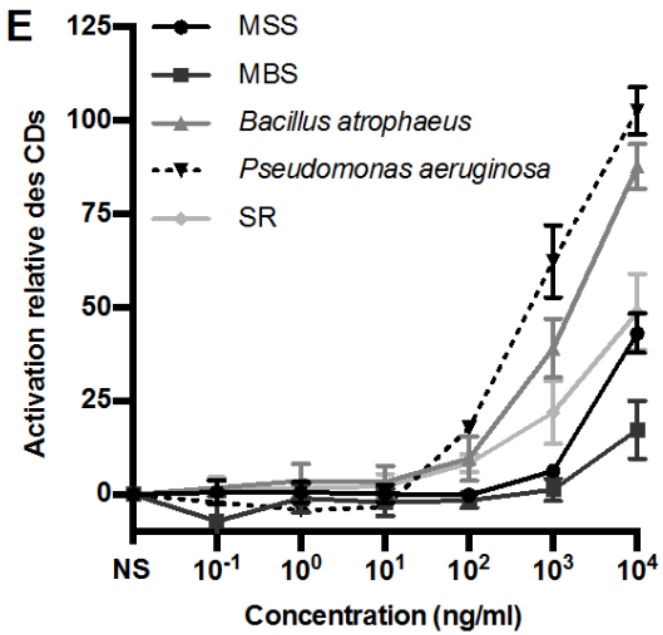
Cellules dendritiques activées



100 ng/ml endotoxines

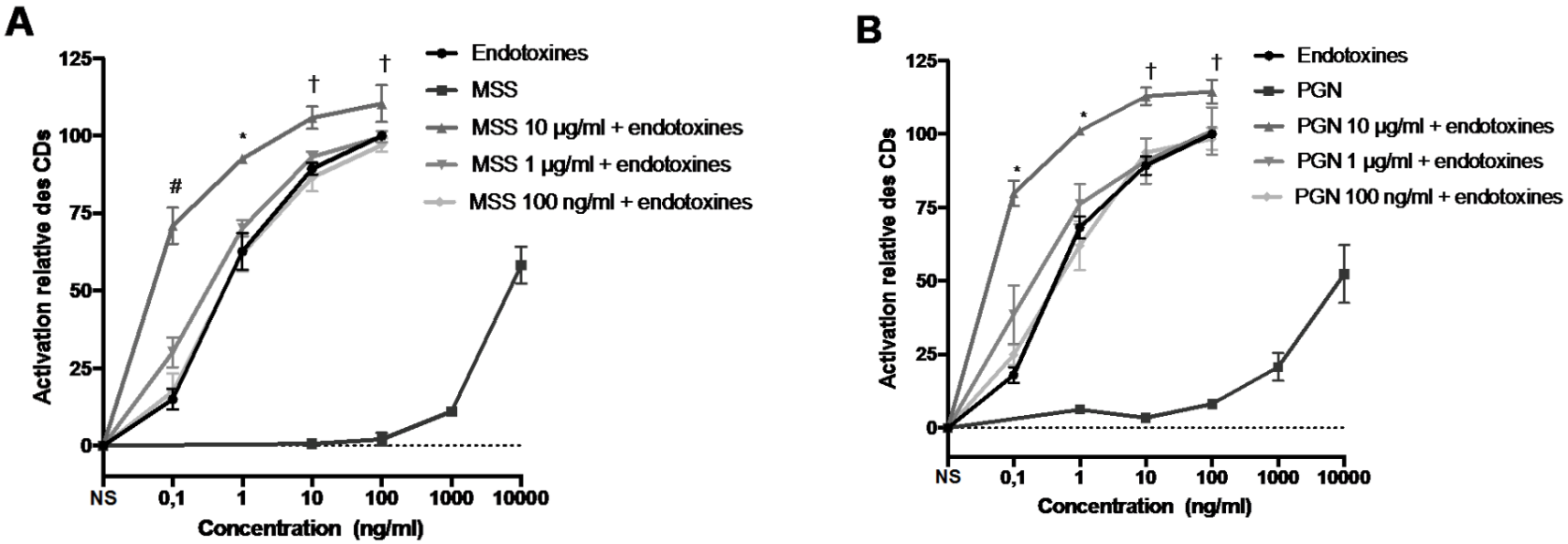
Des composantes individuelles des bioaérosols activent différentiellement les cellules dendritiques





- Activation maximale :
  - Endotoxines, *Bacillus atrophaeus*, *Pseudomonas aerugonisa*
- Activation minimale :
  - Archées MSS et MBS, peptidoglycane

La combinaison d'agents détectés dans les bioaérosols augmente l'activation des cellules dendritiques *in vitro*



- Effet additif de MSS et PGN sur la maturation des cellules dendritiques stimulées avec de faibles concentrations d'endotoxines
- Co-incubation d'endotoxines et de MSS (10 µg/ml) ou de PGN (10 µg/ml) :
  - pourcentages plus élevés de cellules dendritiques activés, peu importe la concentration d'endotoxines utilisée

Stimulation des cellules dendritiques avec des échantillons terrains

- 3 environnements testés
  - Porcheries

    (SW, n=9)

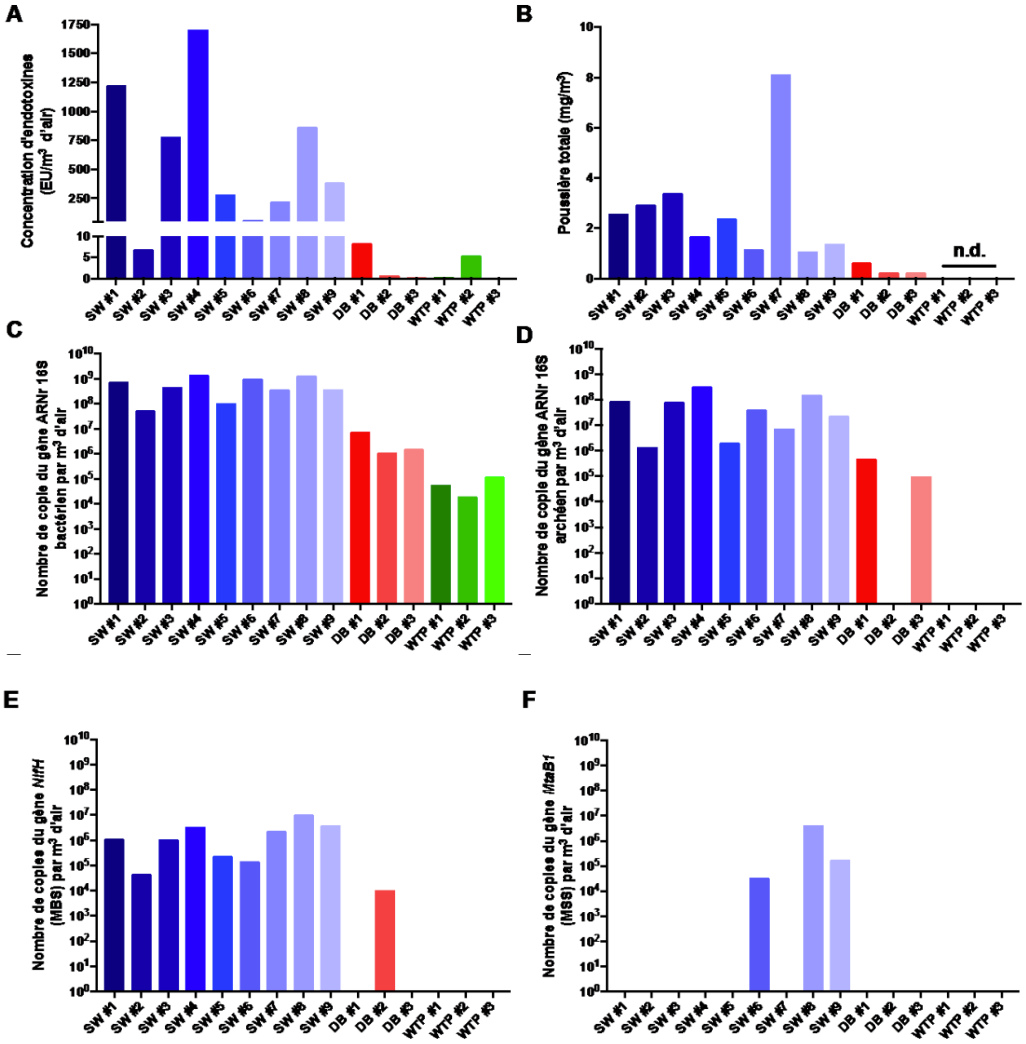
  - Fermes laitières

    (DB, n=3)

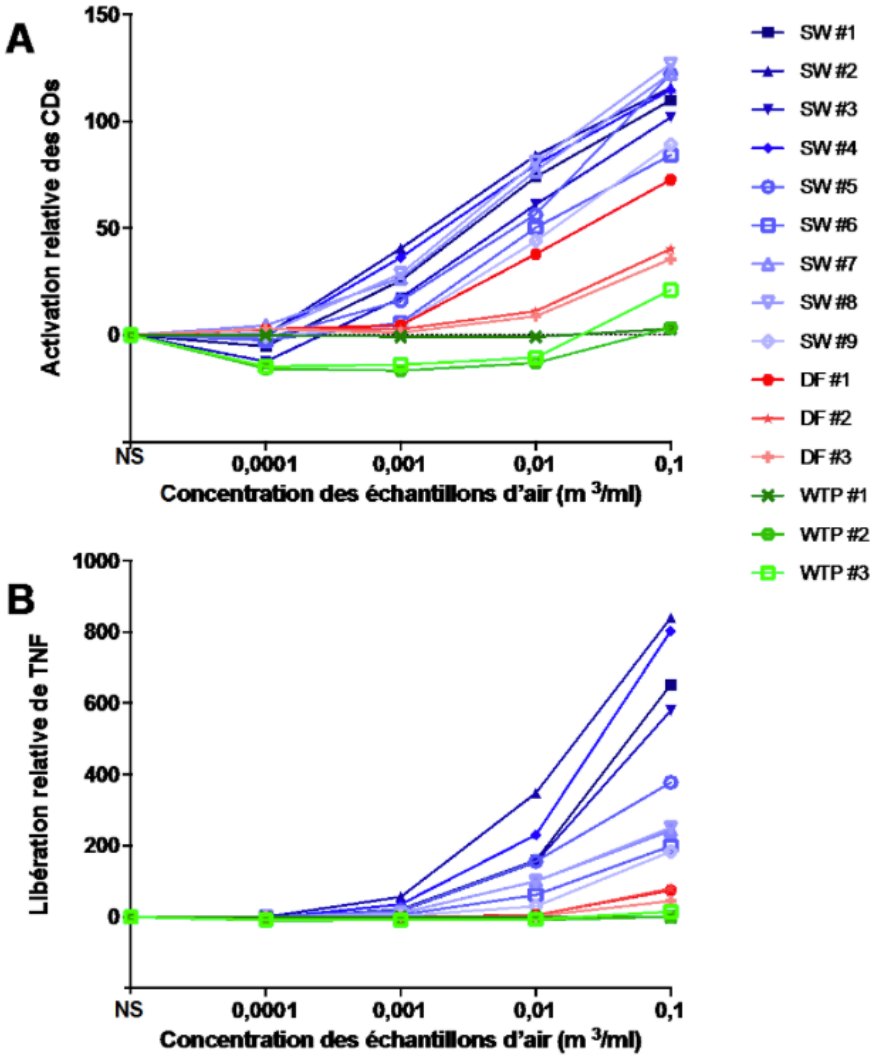
  - Usines de traitement des eaux usées

    (WTP, n=3)

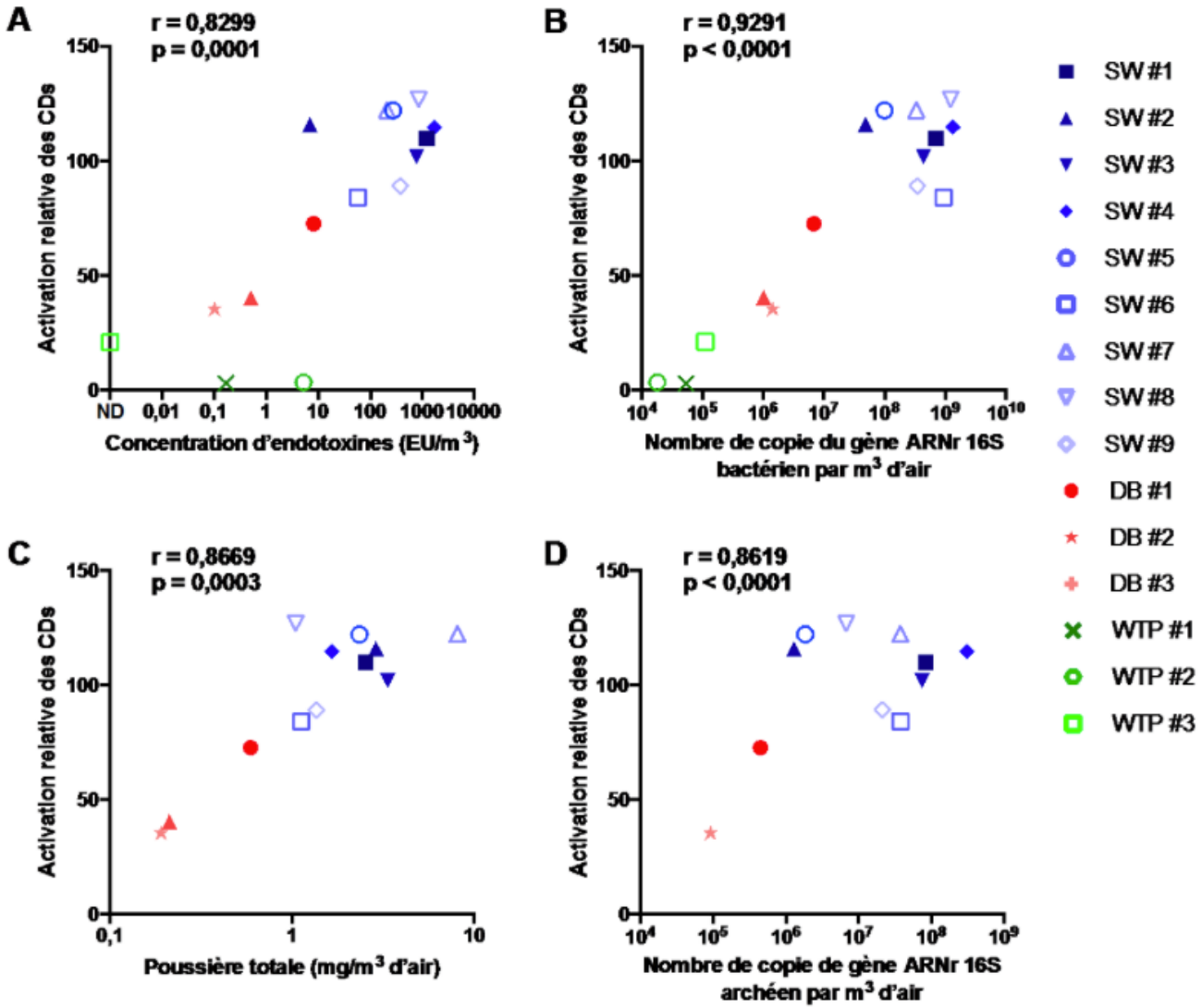
Quantification de composantes majeures des bioaérosols des environnements visités



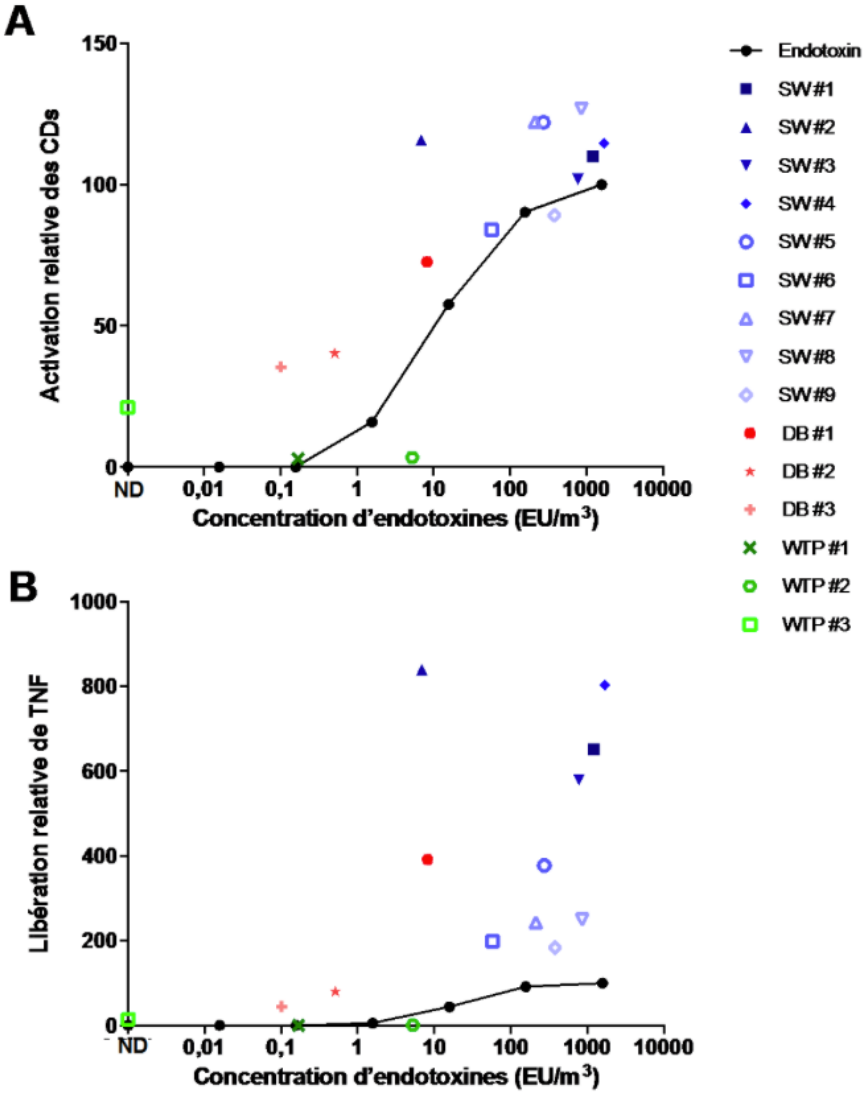
Les cellules dendritiques peuvent stratifier les échantillons environnementaux selon leur état sanitaire



L'activation des cellules dendritiques par les échantillons-terrains corrèle avec leur contenu



L'activation des cellules dendritiques s'explique en partie par le contenu en endotoxines



- SW #2 vs WTP #2 :
  - Même contenu en endotoxines, mais différence très grande quant à l'activation des cellules dendritiques

Modèle murin d'exposition aiguë à des échantillons d'air

Heures **0** **24**

Instillation intranasale
0,1 m^3 d'air

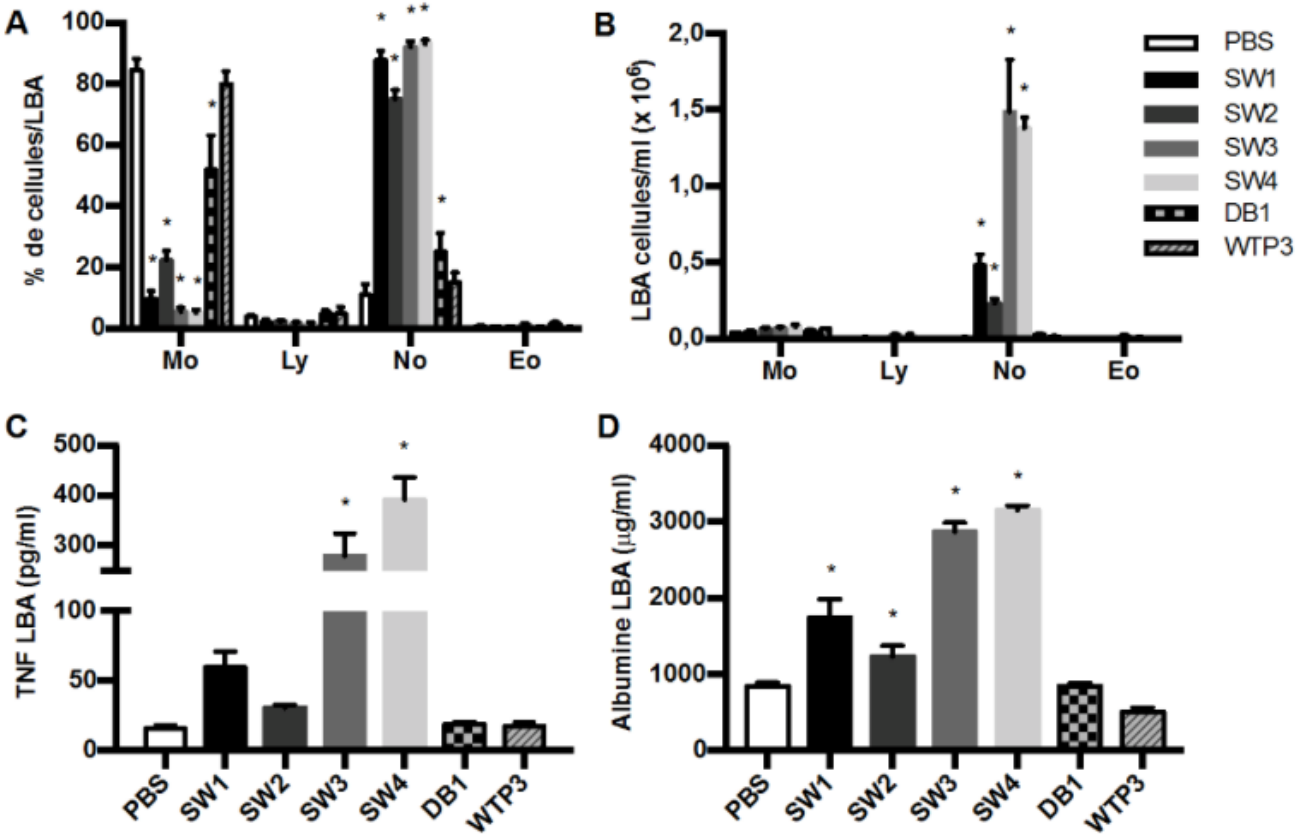
Euthanasie
Lavage Bronchoalvéolaire

Cellules immunitaires

TNF
(cytokine pro-inflammatoire)

Albumine
(marqueur altérations vasculaires)

Le potentiel inflammatoire des échantillons environnementaux diffère selon leur état sanitaire dans le modèle *in vivo*



- L'activation des cellules dendritiques *in vitro* prédit le potentiel immunogène des échantillons d'air selon leur classe et non pas individuellement

Conclusions

1. Les **combinaisons d'agents influent** sur le processus de maturation des cellules dendritiques

1. L'activation des **cellules dendritiques** par des échantillons d'air de milieux de travail peut **permettre la classification des environnements** selon leur état sanitaire

1. La **poussière totale** et les **endotoxines** sont les **meilleurs facteurs prédictifs** de la maturation de ces cellules en réponse aux échantillons d'air testés

1. Les **agents individuels ne sont pas des déterminants adéquats** pour prédire le potentiel immunogène d'échantillons d'air

Retombées pratiques du projet de recherche

- Amélioration des méthodes d'évaluation des risques pour la santé des travailleurs exposés aux fortes charges de bioaérosols
  - tester le potentiel immunogène d'échantillons d'air complexes
  - tester facilement de multiples échantillons d'air et en comparer le potentiel immunogène
  - permettre d'identifier des combinaisons d'agents pouvant prédire le potentiel immunogène d'une grande quantité d'environnements

Remerciements

Directeur : David Marsolais
Codirectrice : Caroline Duchaine

Membres de l'équipe Marsolais
Magali Boucher
Anne-Marie Lemay
David Gendron
Carole-Ann Huppé

Membres de l'équipe Duchaine
Jonathan Pilote
Valérie Létourneau
Vanessa Dion-Dupont
Marc Veillette

Analyses statistiques
Serge Simard
Gaétan Daigle

Organismes subventionnaires

irsst Institut de recherche Robert-Sauvé en santé et en sécurité du travail

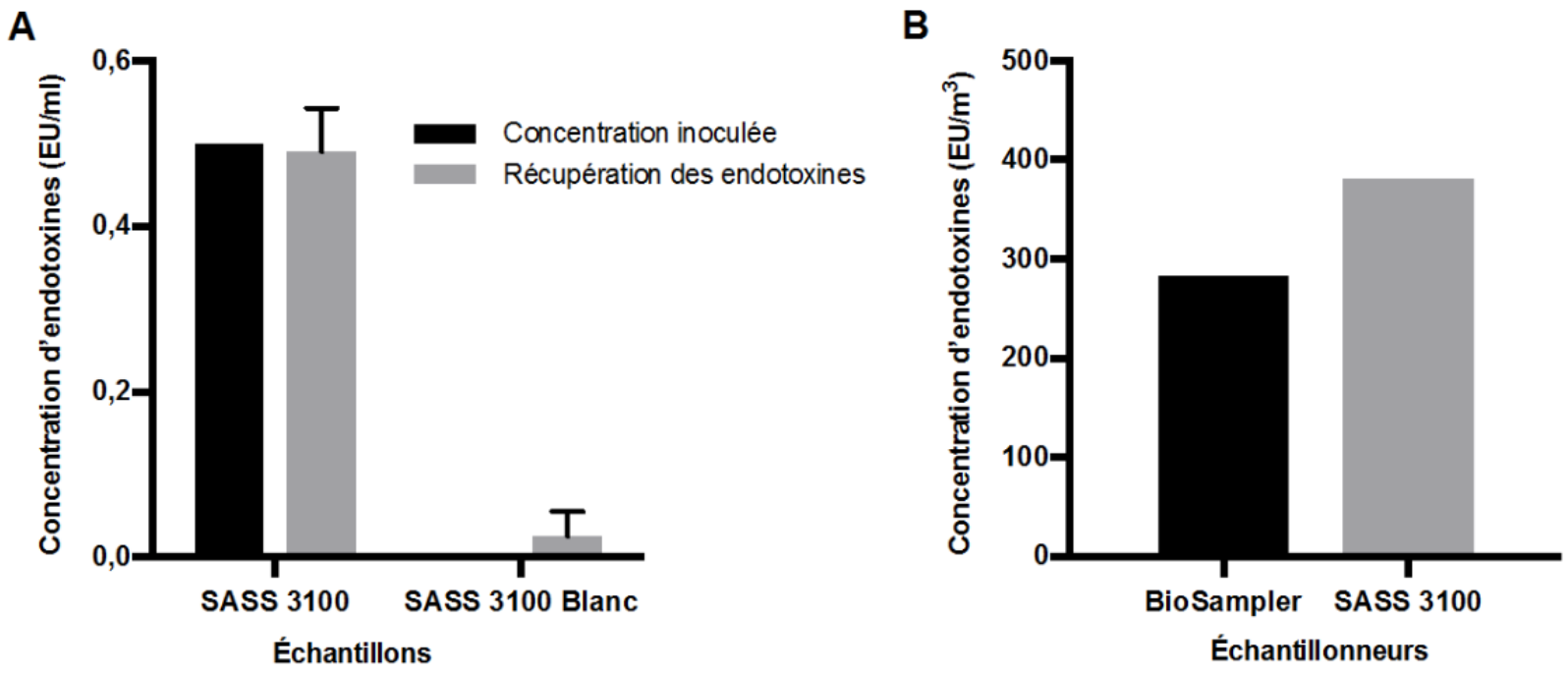
CRSNG NSERC

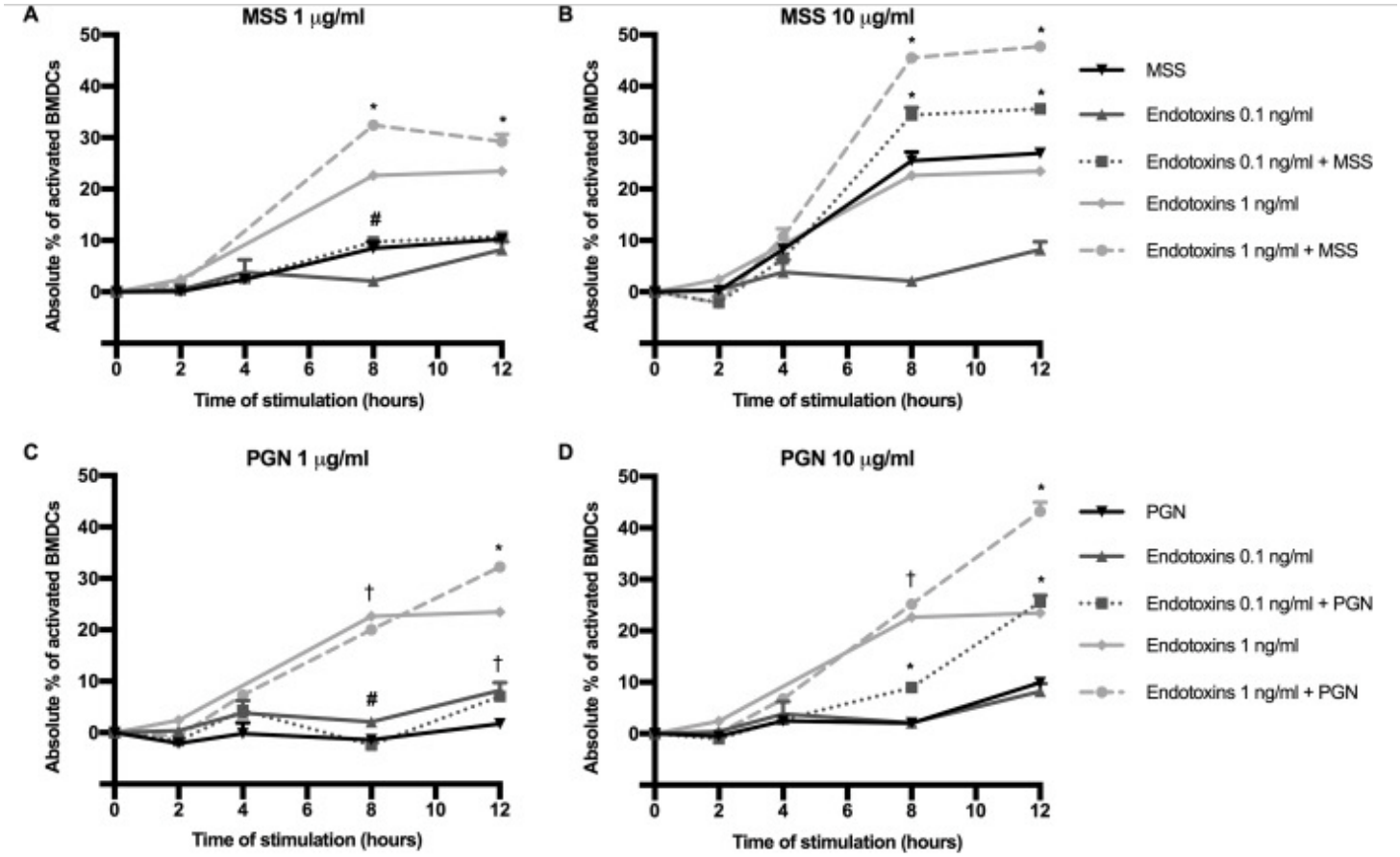
Caractéristiques des deux échantillonneurs testés

- Types d'échantillonneurs testés
  - Biosampler
    - **Débit :** 12,5 L/min
    - Verre = meilleure récupération des endotoxines

  - SASS 3100
    - **Débit :** 300 L/min
    - Échantillonnage sur filtre

Bien que le Coriolis permette d'obtenir des échantillons suffisamment concentrés, il ne permet pas la capture des endotoxines, ce qui invalide notre approche visant à comparer l'immunogénicité des échantillons terrain en fonction de ce marqueur/agent immunogène reconnu



Le SASS 3100 est efficace pour l'échantillonnage des endotoxines dans l'air.

Une combinaison d'agents module la cinétique et la force de la réponse des cellules dendritiques