

Exposition aux produits chimiques génotoxiques

Marqueurs biologiques pour la surveillance des salariés

F. PILLIÈRE (*), M. FALCY (*)

Les produits chimiques génotoxiques ont ceci de particulier que le fait d'y avoir été exposé risque d'induire le développement de cancers et de faire apparaître des mutations génétiques héréditaires. Il est alors indispensable d'être en mesure de déterminer, pour un groupe de population donné, l'importance de l'exposition aux agents génotoxiques, ainsi que les conséquences biologiques précoces de leurs effets, à un stade que l'on peut considérer comme réversible.

La surveillance médicale et le monitoring biologique des salariés sont devenus une préoccupation majeure des médecins, des hygiénistes et de tous ceux qui s'intéressent à la prévention.

Certains tests, actuellement utilisés pour la détection des substances mutagènes, ont été transposés à l'étude des liquides biologiques. En effet, la surveillance par des mesures sur les liquides biologiques, représente une des approches possibles de l'étude de l'exposition à des agents génotoxiques.

Des marqueurs biologiques ont été mis au point pour la surveillance de l'exposition à des produits chimiques génotoxiques. Ils permettent de décrire des événements qui surviennent très tôt dans la progression entre l'exposition et la maladie. Le tableau I indique la place des marqueurs biologiques dans la stratégie de surveillance des sujets exposés aux génotoxiques.

Les techniques utilisées ont une sensibilité analytique rarement atteinte et peuvent détecter l'action de quantités infimes de toxiques. En effet, ces marqueurs biologiques de nouvelle génération peuvent servir d'indicateurs pour les interactions extrêmement subtiles entre le xénobiotique et les macromolécules. Ils offrent de vastes possibilités, qu'il s'agisse de leur utilisation comme système de première alerte, s'intégrant à des programmes de prévention, ou de leur contribution à l'évaluation quantitative des risques liés à l'exposition de l'homme à des génotoxiques. Grâce à eux, de grands espoirs sont désormais autorisés dans le domaine de la prévention. Cependant, la réalité vient tempérer ces espoirs et de nombreuses questions ne sont pas résolues ; l'interprétation et la signification des effets dosés, en termes de risque pour la santé, sont actuellement impossibles à établir. En effet, notre capacité de mesurer dépasse notre capacité d'interpréter ce que nous mesurons.

De plus en plus utilisées par les chercheurs et médecins du travail, ces nouvelles techniques soulèvent de nouvelles et importantes questions d'ordre éthique et juridique. Il n'est pas possible de les envisager ici, on peut déjà réfléchir à l'attitude à adopter lorsqu'un changement préclinique sera détecté chez un travailleur.

(*) Service Etudes et assistance médicales, INRS, Paris.

TABLEAU I

Étapes entre l'exposition à des produits génotoxiques et la maladie

Type d'exposition et effets	Techniques de mise en évidence
Substances dans l'environnement	Dosages atmosphériques
Exposition interne :	Dosage de la substance ou de ses métabolites, et/ou :
Effets	
- dose interne (effet biologique précoce)	- marqueurs et indices biologiques d'exposition
- dose efficace (effet infra-biologique)	
- modification de la structure et/ou des fonctions tissulaires (stade infra-clinique)	- marqueurs biologiques d'effet
- effets toxiques (stade clinique, maladie)	- marqueurs biologiques d'effet et examen médical

Nous passerons en revue les principaux tests utilisés, qui peuvent être classés en trois catégories : marqueurs de l'activité mutagène des milieux biologiques, marqueurs d'anomalies cytogénétiques et marqueurs de liaisons à l'ADN ou adduits. Dans chaque cas, nous essayerons de dégager les inconvénients, les avantages et les possibilités d'intégration dans un programme de prévention et de surveillance de populations exposées à des produits potentiellement génotoxiques [2, 7, 9, 14, 23, 32]. Nous présenterons succinctement la technique officielle du test (quand elle existe), les données de la littérature sur les applications du test en milieu professionnel, la faisabilité du test, l'information apportée par ce test et l'interprétation qui peut en être faite.

Tests de génotoxicité actuellement disponibles

Un certain nombre de méthodes sont actuellement utilisées ou en cours d'évaluation [2, 17, 38]. Il est utile de rappeler que pour qu'un test soit valable, il doit satisfaire aux conditions suivantes :

- être commode à réaliser et ne comporter aucun risque pour le sujet ;
- fournir des résultats précis et reproductibles avec un minimum d'erreurs analytiques possibles ;
- enfin, et surtout, l'information obtenue doit être quantitativement significative en termes de risques pour la santé d'un individu ou d'un groupe d'individus.

Les différentes méthodes actuellement employées détectent :

- *l'activité mutagène dans les milieux biologiques* : test d'Ames ;
- *les modifications cytogénétiques dans les cellules humaines* :
 - les aberrations chromosomiques,
 - la recherche de micronoyaux,
 - les échanges de chromatides-sœurs ;

- *la formation de liaisons sur l'ADN ou sur les protéines (adduits)* :

- les adduits à l'ADN,
- les adduits aux protéines,
- les adduits à l'hémoglobine ;

- *la synthèse non programmée de l'ADN.*

Il faut de suite distinguer le test d'Ames, qui traduit une exposition à un agent mutagène, des autres essais qui caractérisent une action génotoxique.

1. DÉTECTION DE L'ACTIVITÉ MUTAGÈNE DANS LES LIQUIDES BIOLOGIQUES : LE TEST D'AMES

Le plus ancien et faisant office de test de référence, le test d'Ames utilise des bactéries. Il permet de détecter une mutagénicité accrue de l'urine [3, 5, 11, 18].

Technique

Le test utilise des souches mutées de *Salmonella typhimurium*, rendues auxotrophes vis-à-vis de l'histidine, his⁻ (c'est-à-dire qu'elles ne peuvent se développer en l'absence d'histidine), et mises en présence du milieu à tester. On ajoute à la moitié des souches un système d'activation métabolique : fraction S9mix ou microsomes hépatiques de rat. Ce mélange est mis à incuber pendant 48 heures à 37 °C. Si une mutation reverse his⁻ en his⁺ est induite par le milieu, les bactéries peuvent alors se développer en colonies sur un milieu de croissance dépourvu d'histidine. Des mutations de différentes natures sont ainsi détectées (délétions, insertions...).

Les résultats peuvent être rendus sous 2 formes : qualitative (absence ou présence de mutagénicité), quantitative (nombre de colonies reverses par nanomole de substance testée). Les milieux biologiques les plus souvent utilisés sont les urines, de même que les fèces et les crachats.

Données de la littérature

Différentes études ont été réalisées sur les urines des travailleurs de fonderies, de cokeries ou exposés à des gaz anesthésiques, des cytostatiques... Le tableau II en résume les principaux résultats [6, 12, 19, 22, 29, 34].

Inconvénients

- On peut collecter des résultats variables, et parfois même contradictoires, pour des travailleurs de même secteur professionnel. Ceci peut s'expliquer par l'action notable de facteurs de confusion, tels les médicaments (chimiothérapie, antiseptiques urinaires), l'alimentation ou surtout la consommation de tabac, par l'utilisation de méthodologies d'essai différentes, et aussi par la variabilité des expositions dans un même secteur professionnel.
- La moitié seulement des substances mutagènes connues qui ont été testées se sont révélées mutagènes avec le test d'Ames. Un résultat négatif ne doit donc pas être considéré comme pleinement rassurant.
- A quel moment doit-on considérer le test comme positif : à partir du doublement du taux de mutagénicité des urines par rapport aux témoins, ou à partir de la signification statistique (seuil différentiel suffisamment élevé) de ce taux ? Cette méthode rend le niveau d'exposition difficile à définir.
- Le test ne mesure que la mutagénicité excrétée dans les urines et peut être interprété soit comme une évaluation de la capacité d'un individu « à éliminer » des substances mutagènes, soit comme un reflet de son aptitude à former ces produits. Ainsi, la détection d'une activité mutagène élevée ne permet pas de prédire quelles seront les répercussions sur le matériel génétique des organes cibles.

Avantages

- Il s'agit du test le plus ancien, le plus étudié, avec des résultats d'essais disponibles pour un grand nombre de substances employées dans l'industrie, qui permettent de choisir ce test à bon escient.
- Simplicité, rapidité de réalisation et faible coût.
- Reproductibilité.
- Faisabilité, car seul un échantillon urinaire est nécessaire ; il est de ce fait non invasif.
- Réalisation d'un screening de toutes les substances auxquelles est soumis l'individu dans les 72 heures qui ont précédé. Cet essai possède une bonne sensibilité, aux dépens d'une spécificité médiocre.

A la lumière de ces différents arguments, ce test, fréquemment utilisé dans des situations où aucune autre technique n'est envisageable, doit être prudemment interprété, notamment dans le cas de résultats positifs considérés comme preuve de l'exposition (alors que de nombreux facteurs interfèrent).

2. ESSAIS DÉTECTANT DES MODIFICATIONS CYTOGÉNÉTIQUES DANS LES CELLULES HUMAINES [2, 37]

Les anomalies structurales des chromosomes sont une des premières formes de lésions génétiques reconnues résultant de l'exposition à des agents physiques et/ou chimiques. En fonction du type de lésion de l'ADN et de la nature du génotoxique, les anomalies cytogénétiques recherchées seront des *aberrations chromosomiques*, des *micronoyaux* ou des *échanges de chromatides-sœurs (ECS)*.

Les lymphocytes humains représentent un matériel utile pour apprécier l'ampleur et/ou l'effet cumulatif des expositions à des agents génotoxiques.

L'interprétation de tels essais est délicate, elle nécessite toujours la comparaison à un groupe témoin apparié. Il ne s'agit là que de résultats interprétables au niveau d'un groupe et non au niveau de l'individu.

Aberrations chromosomiques

Ce test permet l'étude morphologique des chromosomes afin de détecter des altérations chromosomiques des lymphocytes circulants [8, 33].

Technique

Après mise en culture des lymphocytes pendant 48 heures, les cellules sont bloquées en métaphase par la colchicine. Les cellules, éclatées avec une solution hypotonique, sont ensuite fixées puis colorées. Des anomalies du nombre ou de la structure des chromosomes (inversions, anneaux, délétions, lacunes...) sont alors observées au microscope optique. Ces aberrations sont le résultat de cassures suivies de réarrangements anormaux du chromosome entier. Les milieux biologiques les plus utilisés sont les lymphocytes sanguins périphériques.

Données de la littérature

Plusieurs études signalent une augmentation du nombre des aberrations chromosomiques des lymphocytes du sang circulant chez des travailleurs exposés au benzène, au chlorure de vinyle, à l'oxyde d'éthylène, à certains métaux, aux rayonnements ionisants... Le tableau III en résume les principaux résultats.

Inconvénients

- Les résultats sont souvent contradictoires pour le même agent, en raison de variations individuelles dans la fréquence de base des modifications de la structure

TABLEAU II

Effets de l'exposition professionnelle sur le test d'Ames

Type d'exposition	Année	Résultats
Gaz anesthésiques	1977	+
	1980	-
Épichlorhydrine	1978	+
Cytostatiques	1979	+
	1981	-
	1982	+
	1982	+/-
	1983	-
	1983	-
	1984	-
	1984	-
	1984	-
	1985	-
	1985	+
Conducteurs de four à coke	1980	-
	1983	+
	1987	+
Fabrication du caoutchouc	1980	+
	1983	+
Usine de produits chimiques	1981	+
	1983	+
Fondeurs	1981	+
Sujets exposés à des huiles minérales	1982	+
	1984	+
Fabrication d'électrodes en carbone	1982	+
Travail sur goudron liquide	1984	-
Goudronneurs	1985	+
Benzène	1988	-

TABLEAU III

Effets de l'exposition professionnelle sur les aberrations chromosomiques [13, 31, 33, 35, 36]

Type d'exposition	Année	Résultats
Pesticides	1973	+
Rayonnements ionisants	1974	+
	1978	+
	1984	+
Épichlorhydrine	1975	+
Chlorure de vinyle	1975	+
	1978	-
Chromeurs	1977	+
	1981	-
	1982	+
	1984	+
Benzène	1980	+
Cytostatiques	1980	+
	1981	+
Oxyde d'éthylène	1981	+
Fumeurs	1983	+
Amines aromatiques	1988	-
Pipérazine	1988	-

chromosomique (dus au tabac, à l'âge, aux pathologies anciennes ou actuelles). La prise en compte des facteurs de confusion est donc primordiale.

- Il faut aussi tenir compte de la fréquence d'aberrations chromosomiques dites spontanées, non précisément définie dans la population non professionnellement exposée.
- Une sensibilité médiocre en raison du faible taux d'aberrations impose l'analyse de nombreuses métaphases chez un grand nombre d'individus.
- L'absence de relation dose-effet et une persistance des aberrations pendant des dizaines d'années empêchent toute évaluation de nouvelles mesures de prévention.
- L'absence de signification précise de ces lésions, en termes de risque de cancer, rend l'interprétation de ce test délicate.

Avantages

- C'est l'une des méthodes les plus anciennes d'évaluation des lésions génétiques liées à des expositions à des génotoxiques.
- C'est une technique relativement plus simple que celle des ECS.
- Elle permet d'apprécier des expositions cumulatives et reflète l'exposition sur une période relativement longue.

Cette méthode, nécessitant l'élaboration d'un protocole rigoureux, sera plutôt indiquée lorsqu'une exposition est suspectée, et non dans le cadre d'un screening. Il faut toutefois garder à l'esprit qu'un certain nombre de résultats positifs, publiés dans la littérature, s'avèrent discutables, en raison notamment de la présence de facteurs de confusion.

Recherche de micronoyaux

Les micronoyaux, en fait des fragments d'ADN, sont des indicateurs de rupture du chromosome. Cette technique, plus récente, permet de détecter des aberrations chromosomiques survenues pendant la mitose [21, 39].

Technique

Les cellules, le plus souvent des lymphocytes, sont fixées puis étalées sur lamelles et colorées. Le nombre des micronoyaux est déterminé après étude au microscope optique. Un minimum de 1 000 cellules est examiné. Des critères très stricts permettent d'identifier les micronoyaux (taille, morphologie, intensité de coloration, structure...). Cette technique permet donc de mettre en évidence des fragments de chromatine, voire des chromosomes entiers dans le cytoplasme.

L'analyse peut être effectuée sur des érythrocytes (cellules expulsant leur noyau juste après leur dernière mitose, mais conservant leurs micronoyaux, donc particulièrement adaptées à la détection des micronoyaux), des lymphocytes ou des cellules épithéliales contenues dans les crachats.

Données de la littérature

Quelques études mettent en évidence une fréquence accrue de micronoyaux, notamment chez les ouvriers exposés aux solvants organiques ou aux métaux, aux cytostatiques, aux rayonnements ionisants ou bien chez les mineurs d'uranium [21, 39].

Inconvénients

- Des résultats variables en raison de facteurs de confusion, tels le tabac qui augmente le nombre de micronoyaux, ou les médicaments comme les rétinoïdes qui les diminuent, mais aussi des différences de qualité dans les protocoles de préparations.

- Une méthode en cours d'évaluation, dont la technique n'est pas encore bien standardisée.

- L'absence de corrélation entre la présence de micronoyaux et la probabilité de survenue d'un cancer.

Avantages

- Une technique simple et rapide.
- L'utilisation directe de cellules épithéliales, comme les cellules de l'expectoration, cibles directes de certains génotoxiques.

Echanges de chromatides-sœurs (ECS)

Ce test, plus récent, permet de détecter au niveau d'une cellule en métaphase des échanges réciproques d'ADN entre les deux chromatides-sœurs d'un même chromosome [24].

Technique

Les cellules, le plus souvent des lymphocytes, sont mises en culture dans un milieu contenant de la bromodésoxyuridine (Br-dU) qui s'incorpore dans l'ADN chromosomique pendant deux cycles cellulaires. Les chromatides-sœurs, en cas d'échange, sont marquées différemment. Après traitement par un inhibiteur du fuseau comme la colchicine afin d'accumuler les cellules en métaphase, celles-ci sont récoltées et les chromosomes sont préparés par des méthodes cytogénétiques standard.

Au moins 25 métaphases sont analysées en microscopie optique. Pour toutes les cultures, le nombre d'ECS par métaphase et le nombre d'ECS par chromosome sont données séparément.

Le processus d'échange implique probablement une cassure et une réunion de l'ADN, bien que l'on sache peu de choses de sa base moléculaire. Les ECS sont formés pendant la phase de réplication et persistent après culture des cellules. Les milieux biologiques les plus utilisés sont les lymphocytes sanguins.

TABLEAU IV

Effets de l'exposition professionnelle sur les échanges de chromatides-sœurs [10, 16, 24, 25, 27, 31, 40]

Type d'exposition	Année	Résultats
Oxyde d'éthylène	1978	+
Styrène	1980	+
Fumeurs	1980	+
	1987	+
	1989	+
Cytostatiques	1980	+
	1981	+
	1981	-
	1985	-
Chromeurs	1982	+
	1986	+
	1989	+
Nickleurs	1982	+
	1989	+
Caoutchouc	1984	+
Amines aromatiques	1987	+
Benzène	1988	-
HPA	1989	-

Données de la littérature

Plusieurs études chez des sujets manipulant des cytostatiques, du chrome hexavalent, des solvants organiques ou de l'oxyde d'éthylène, indiquent un excès significatif d'ECS. Le tableau IV en résume les principaux résultats.

Inconvénients

- Une technique lourde, difficile à mettre en place en routine, mal standardisée, qui pour l'instant reste du domaine de la recherche.
- L'absence de spécificité du test en raison de facteurs de confusion comme le tabac, l'alcool, l'alimentation et les infections qui augmentent le taux d'ECS.
- L'absence de seuil à partir duquel le test est considéré comme positif ; le résultat doit être comparé à celui d'un groupe témoin car le taux normal d'ECS dans la population générale n'est pas clairement défini.
- Une variabilité importante des résultats, en partie liée à l'instabilité des ECS, mais aussi au fait que les chromosomes porteurs d'ECS peuvent être réparés.
- Surtout, une interprétation délicate du test, en raison de la méconnaissance du mécanisme exact des ECS : que signifie ce test en terme de risque de cancer ? Aucun effet sur la santé n'a pu être rattaché aux ECS en tant que tels.

Avantages

- Un test plus sensible que la détection des aberrations chromosomiques.
- Les ECS persistent pendant quelques semaines et sont le témoin d'une exposition récente, ce qui permet de suivre des sujets même s'ils ont été antérieurement exposés à d'autres génotoxiques ou d'évaluer les effets de mesures de prévention (réduction ou disparition de l'exposition à des cancérigènes).

Cette technique, utilisée avec succès comme indicateur d'exposition dans un cadre de recherche expérimentale, ne constitue pas jusqu'à présent un indicateur valable d'exposition aux produits génotoxiques dans l'environnement professionnel.

3. LES ADDUITS

Les adduits aux protéines et à l'ADN sont de nouveaux marqueurs biologiques qui réalisent une véritable dosimétrie moléculaire. Il s'agit d'une technique récente et en plein développement, dont la signification biologique n'est pas encore très claire [1, 20, 26].

La plupart des substances génotoxiques ont la propriété de se lier sur certains sites moléculaires à l'intérieur de la cellule pour former des adduits. La « technique des adduits » permet de détecter ces liaisons aux macromolécules comme l'ADN (adduits à l'ADN) ou les protéines (adduits aux protéines, à l'hémoglobine), lors de l'exposition de l'organisme à des doses biologiquement actives d'agents génotoxiques. Il s'agit potentiellement d'une mesure directe d'appréhension du risque.

Technique

Elle dépend du type d'adduits : pour les adduits à l'ADN, les cellules de la lignée blanche sont analysées ; pour les adduits à l'hémoglobine, les hématies sont étudiées ; certains adduits sont recherchés dans les urines.

Les méthodes utilisées pour la détection des adduits à l'ADN sont le plus souvent de type immunologique : soit radio-immunologique (USERIA), soit immuno-enzymatique (ELISA), parfois de type post-marquage au phosphore 32 (réservé aux cancérigènes de gros poids moléculaire).

Des anticorps sont isolés à partir d'animaux immunisés avec le couple ADN-(adduit/haptène) (soit directement avec formation d'anticorps polyclonaux, soit après hybridation de cellules spléniques et de cellules myélomateuses avec formation d'anticorps monoclonaux). L'ADN modifié (adduits) est fixé sur plaque et traité avec un anticorps anti-adduit de lapin. Puis on ajoute un second anticorps conjugué à une enzyme ou à un agent fluorescent. La détermination de l'activité enzymatique ou de la fluorescence permet de quantifier la formation d'adduits. La sensibilité de cette technique est bonne, de l'ordre de quelques femtomoles (10^{-15}) d'adduits/ μg d'ADN (fig. 1).

Pour les adduits aux protéines, et notamment à l'hémoglobine, les méthodes sont très proches. La sensibilité est très bonne : de l'ordre de 0,01 nmol adduit/g d'hémoglobine. Les hématies, les monocytes sanguins et parfois urinaires peuvent être utilisés.

Données de la littérature

Plusieurs études permettent de constater la formation d'adduits à l'ADN chez des salariés exposés au benzo[a]pyrène, aux hydrocarbures polycycliques aromatiques, au styrène ; d'adduits aux protéines chez des salariés exposés à l'oxyde d'éthylène, à l'oxyde de propylène, aux amines aromatiques, au chrome hexavalent, au chlorure de vinyle... Le tableau V résume les principaux résultats.

Inconvénients

- Une technique complexe, encore au stade semi-expérimental, non validée à l'heure actuelle, ne permettant d'identifier que les substances de structure chimique connue.

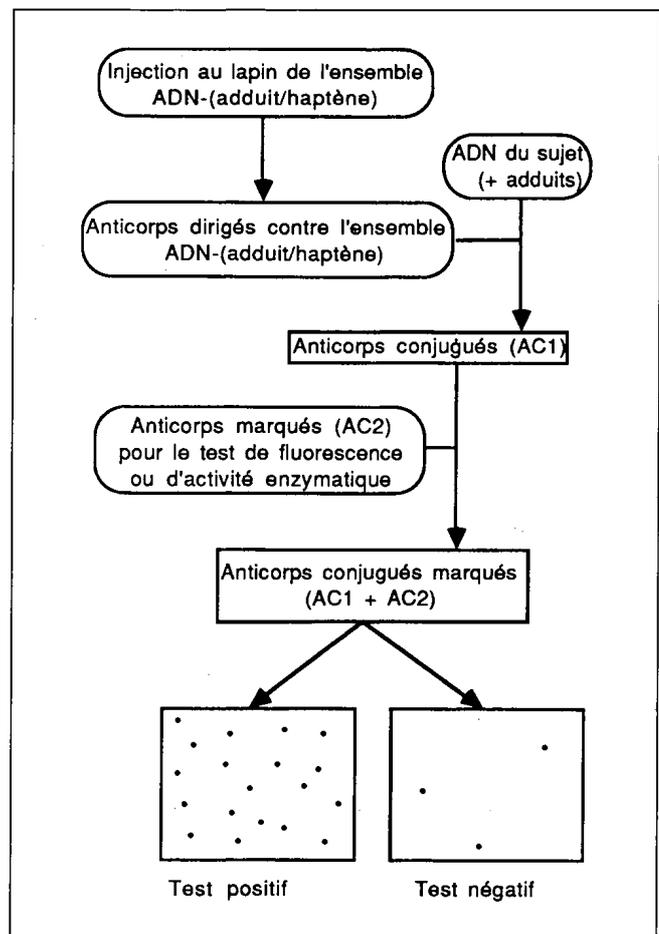


Fig. 1. Résumé de la technique des adduits à l'ADN.

- Des variations interindividuelles du niveau de liaison à l'ADN, et significatives à exposition égale (différence de métabolismes, phénomènes de réparation des lésions, rôle de l'âge, de l'alimentation, du tabagisme).
- L'existence d'un niveau de base d'adduits à l'ADN et à l'hémoglobine non nul chez des sujets non fumeurs et non professionnellement exposés.
- Une faible stabilité des adduits à l'ADN, ce qui restreint leur utilisation à des expositions récentes, le turn-over des lésions de l'ADN variant d'une cellule et/ou d'un tissu à l'autre.
- L'absence de preuve que la détection d'un taux élevé d'adduits puisse se traduire par un risque accru de cancer.

Avantages

- Utilité de la méthode dans certaines situations de travail, dans lesquelles les expositions sont multiples et difficiles à préciser car les adduits sont spécifiques de chaque génotoxique.
- Une relation entre la dose de génotoxiques et la quantité d'adduits formés est souvent retrouvée (oxyde d'éthylène, fonderie).
- Il y a une bonne corrélation entre la quantité d'adduits formés et la fréquence des mutations induites.
- C'est une technique sensible, qui permet d'apprécier des expositions des jours ou semaines précédents pour les adduits à l'ADN (la demi-vie des monocytes et des granulocytes variant de quelques heures à quelques semaines), mais aussi des mois précédents pour les adduits à l'hémoglobine (demi-vie des hématies de trois mois).
- Les adduits aux protéines, plus stables et de demi-vie plus longue que les adduits à l'ADN, peuvent donner une indication de la dose biologiquement active.

Les adduits, considérés comme le marqueur biologique privilégié, mais dont la technique n'est pas encore applicable en routine, représentent une voie de recherche prometteuse. Cependant, seuls un petit nombre d'anti-

corps dirigés contre les adduits ont été décrits ; de plus, la grande variabilité individuelle et intergénérationnelle, ainsi que l'absence de signification de ces adduits en termes de risque réel de cancer, limitent à l'heure actuelle l'utilisation de ce « marqueur idéal ».

4. LA SYNTHÈSE NON PROGRAMMÉE (UDS)

Cette méthode indirecte de détection d'anomalies sur les chromosomes est basée sur la mise en évidence de la réparation de l'ADN dans les lymphocytes de sujets exposés [4, 35].

Technique

Après mise en culture, les lymphocytes sont bloqués en phase G1, afin de supprimer la synthèse répliquative de l'ADN. Les cellules sont ensuite mises à incuber avec un nucléotide marqué (3H-thymidine), qui ne s'intégrera dans l'ADN des lymphocytes qu'en cas de synthèse réparatrice, non-répliquative. La synthèse répliquative permet de réparer les discontinuités de l'ADN qui résultent de l'excision des lésions initiales. La réparation, proportionnelle à la quantité de radioactivité incorporée dans les cellules, sera quantifiée par scintillation en milieu liquide ou par autoradiographie.

L'UDS permet de détecter une activité de synthèse de l'ADN en dehors de la phase S du cycle cellulaire. Les lymphocytes circulants sont étudiés.

Données de la littérature

De rares études ont été réalisées sur des sujets exposés à l'oxyde d'éthylène, l'oxyde de propylène ou au styrène. Les incertitudes quant à l'intérêt de cette méthode expliquent peut-être le peu d'études qui lui ont été consacrées in vivo.

Inconvénients

- Une technique récente, encore au stade de mise au point, complexe et coûteuse.
- Des variations interindividuelles liées aux facultés variables de correction de l'ADN.
- Mise en évidence de lésions accessibles aux systèmes de protection inhérents à la cellule, puisque seules les lésions susceptibles d'être supprimées puis réparées sont détectées.
- Surtout, une évaluation très difficile de la signification de ces phénomènes de réparation de l'ADN en matière de risque de cancer.

Avantages

- Une technique séduisante, en tant que reflet des mécanismes de défense de l'organisme.
- Des phénomènes témoins d'une exposition récente, ce qui permet de suivre des sujets même s'ils ont été antérieurement exposés à d'autres génotoxiques.

Cette technique, encore du domaine de la recherche, est la seule qui permette de déceler les activités de réparation de la cellule, secondaires aux altérations occasionnées à l'ADN sous l'action des produits génotoxiques.

CONCLUSION

Plusieurs techniques sont actuellement à notre disposition dans le domaine du monitoring biologique de l'exposition à des agents cancérogènes et/ou mutagènes.

Les problèmes principaux de ces techniques sont les suivants :

TABLEAU V

Adduits et exposition professionnelle [15, 27, 28, 30]

Type d'exposition	Année	Résultats
Adduits à l'ADN Benzo[a]pyrène	1978	+
	1985	+
	1985	-
	1986	+
	1987	+
Fumeurs	1986	+
	1987	+
HPA	1988	+
Amines aromatiques	1988	+
Styrène	1988	+
Adduits aux protéines Oxyde d'éthylène	1978	+
	1985	-
	1986	+
	1988	+
Oxyde de propylène	1984	+
Amines aromatiques	1985	+
	1986	+
	1987	+
Chrome hexavalent	1985	+
Chlorure de vinyle	1987	-
Fumeurs	1987	+

- une interprétation délicate : des tests le plus souvent non validés, pour lesquels aucune valeur prédictive n'est connue ; des marqueurs biologiques dont il n'est pas prouvé qu'ils sont le témoin du risque actuel ou futur de cancer ;
- l'absence de contrôle de qualité des techniques de dosage ;
- des laboratoires trop peu nombreux ;
- des interactions fréquentes avec de nombreux facteurs professionnels et extraprofessionnels.

Si l'on envisage d'utiliser de tels tests, il est nécessaire d'avoir préalablement défini dans quels buts. Il est indispensable de garder à l'esprit que leur utilisation n'est pas adaptable à l'heure actuelle à l'individu pris isolément. Quoi qu'il en soit, avant de réaliser ce genre d'examen, il faudra impérativement réfléchir à l'attitude individuelle à adopter et informer le salarié des mesures susceptibles d'être prises. L'attitude la plus appropriée serait d'empêcher toute nouvelle exposition tant que les tests sont positifs, sachant qu'aucun argument scientifique précis ne permet d'étayer une telle décision.

Par contre, ces tests sont utiles pour compléter les données du monitoring de l'environnement, pour évaluer

les effets de mesures de prévention, ainsi que dans le cadre d'enquêtes épidémiologiques (qui permettront peut-être de les valider). Ces méthodes, issues du domaine de la recherche, pourraient constituer à l'avenir un instrument précieux pour accroître la protection des travailleurs.

Le problème se pose toujours quant au choix de stratégies appropriées en matière de surveillance de salariés exposés à des génotoxiques. Il semblerait logique d'employer un test à court terme, explorant l'exposition récente (ECS, adduits), et un autre à long terme, explorant l'exposition ancienne ou même cumulative (aberrations chromosomiques).

Dans le monde du travail, les indicateurs examinés ne doivent donc pas être utilisés indistinctement sans qu'il soit tenu compte de leurs limitations. Leur application à un programme de surveillance de l'état de santé à l'échelon individuel, n'est pas indiquée pour l'instant.

La prévention primaire (contrôles des facteurs environnementaux, utilisation de produits de substitution dans les processus technologiques) est une approche à privilégier pour le contrôle de l'exposition à des génotoxiques. Il en est de même de l'élaboration de programmes de « génovigilance professionnelle ».

BIBLIOGRAPHIE

- [1] DNA and protein adducts : Evaluation of their use in Exposure monitoring and risk assessment. Rapport ECETOC n° 9, pp. 1-89. Paris, Chimie et Ecologie, 1990.
- [2] Indicateurs pour l'évaluation de l'exposition aux produits chimiques génotoxiques et de leurs effets biologiques. Luxembourg, Commission des Communautés européennes - Direction Sécurité et Santé, 1987, Rapport CEE/LUX/V/E/3/124/87, pp. 1-19.
- [3] Directive de la Commission du 18 novembre 1987, portant neuvième adaptation au progrès technique de la directive 67/548/CEE du Conseil concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses. *Journal Officiel des Communautés européennes - Législation*, 30 mai 1988, L 133, pp. 68-70.
- [4] AARON P.R., HARBACH P.R., STEINMETZ K.L. et col. - The in vitro unscheduled DNA synthesis (UDS) assay in rat primary hepatocytes. *Mutation Research*, 1989, 223, pp. 141-151.
- [5] AMES B.N., Mc CANN J., YAMASAKI E. - Methods for detecting carcinogens and mutagens with the salmonella mammalian mutagenicity test. *Mutation Research*, 1975, 31, pp. 347-364.
- [6] BOS R.P., LEENAARS A.O., THEUWS J.L.G. et col. - Mutagenicity of urine from nurses handling cytostatic drugs, influence of smoking. *Archives of Occupational and Environmental Health*, 1982, 50, pp. 359-369.
- [7] BRANDT-RAUF P.W. - New markers for monitoring occupational cancer : The example of oncogene proteins. *Journal of Occupational Medicine*, 1988, 30, 5, pp. 399-404.
- [8] CARRANO A.V. - Chromosomal alterations as markers of exposure and effect. *Journal of Occupational Medicine*, 1986, 28, 10, pp. 1112-1116.
- [9] CONE J.E., ROSENBERG J. - Medical surveillance and biomonitoring for occupational cancer endpoints. *Occupational Medicine - State of the Art Reviews*, 1990, 5, 3, pp. 563-581.
- [10] ERCOLANELLI M., BAVAZZANO P., LAPINI V. - Scambi tra cromatidi fratelli e aberrazioni cromosomiche in soggetti professionalmente esposti a coloranti nell'industria tessile. *Medicina del Lavoro*, 1987, 78, 5, pp. 393-396.
- [11] EVERSON R.B. - Detection of occupational and environmental exposures by bacterial mutagenesis assays of human body fluids. *Journal of Occupational Medicine*, 1986, 28, 8, pp. 647-655.
- [12] FALK K., SORSA M., VAINO H. - Mutagenicity in urine of workers in rubber industry. *Mutation Research*, 1980, 79, pp. 45-52.
- [13] FUNES-CRAVIATO F., LAMBERT B., LINDSTEN J. et col. - Chromosome aberrations in workers exposed to vinyl chloride. *The Lancet*, 1975, 1, pp. 459.
- [14] GRIFFITH J., DUNCAN R.C., HULKA B.S. - Biochemical and biological markers : implications for epidemiologic studies. *Archives of Environmental Health*, 1989, 44, 6, pp. 375-381.
- [15] HAUGEN A., BECHER G., BENESTAD C. et col. - Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in the urine, benzo(a)pyrene diol epoxide-DNA adducts in lymphocyte DNA, and antibodies to the adducts in sera from coke oven workers exposed to measured amounts of polycyclic aromatic hydrocarbons in the work atmosphere. *Cancer Research*, 1986, 46, pp. 4178-4183.
- [16] HUSGAFVEL-PURSIANEN K. - Sister-chromatid exchange and cell proliferation in cultured lymphocytes of passively and actively smokers in restaurant personnel. *Mutation Research*, 1987, 190, pp. 211-215.
- [17] KALDOR J., DAY N.E. - Epidemiological studies of the relationship between carcinogenicity and DNA damage. In : BARTSCH H., HEMMINKI K., O'NEILL I.K. - Methods for detecting DNA damaging agents in humans. Lyon, IARC, 1988, IARC scientific publications n° 9, pp. 460-467.
- [18] KRIEBEL D., COMMONER B., BOLLINGER D. et col. - Detection of occupational exposure to genotoxic agents with a urinary mutagen assay. *Mutation Research*, 1983, 108, pp. 67-79.

- [19] LAIRES A., BORBA H., RUEFF J. et col. – Urinary mutagenicity in occupational exposure to mineral oils and iron oxide particles. *Carcinogenesis*, 1982, 3, pp. 1077-1079.
- [20] LOHMAN P.H.M. – Adducts. In : BARTSCH H., HEMMINKI K., O'NEILL I.K. – Methods for detecting DNA damaging agents in humans. Lyon, IARC, 1988, IARC Scientific Publications n° 9, pp. 13-20.
- [21] LOOMIS D.P., SHY C.M., ALLEN J.W., SACCOMANNO G. – Micronuclei in epithelial cells from sputum of uranium workers. *Scandinavian Journal of Work, Environment and Health*, 1990, 16, pp. 355-362.
- [22] MC COY E.C., HANKEL R., ROSENKRANZ H.S. et col. – Detection of mutagenic activity in the urine of anesthesiologists : A preliminary report. *Environmental Health Perspectives*, 1977, 21, pp. 221-223.
- [23] MICHOT G. – Les tests de génotoxicité des produits industriels. Application au dépistage précoce biotoxicologique en médecine du travail. *Archives des Maladies Professionnelles*, 1988, 49, 1, pp. 29-35.
- [24] NAGAYA T., ISHIKAWA N., HATA H. – Sister chromatid exchange analysis in lymphocytes of workers exposed to hexavalent chromium. *British Journal of Industrial Medicine*, 1989, 46, pp. 48-51.
- [25] NORPPA H., SORSA M., VAINO H. et col. – Increased sister-chromatid exchange frequencies in lymphocytes of nurses handling cytostatic drugs. *Scandinavian Journal of Work, Environment and Health*, 1980, 6, pp. 299-301.
- [26] PERERA F.P. – The potential usefulness of biological markers in risk assessment. *Environmental Health Perspectives*, 1987, 76, pp. 141-145.
- [27] PERERA F.P., SANTELLA R., FISHMAN H.K., MUNSHI A.R., POIRIER M., BRENNER D., MEHTA H., VAN RYZIN J. – DNA adducts, protein adducts and sister chromatid exchange in cigarette smokers and nonsmokers. *Journal of the National Cancer Institute*, 1987, 79, pp. 449-456.
- [28] PERERA F.P., HEMMINKI K., YOUNG T.L., BRENNER D., KELLY G., SANTELLA R.M. – Detection of polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in white blood cells of foundry workers. *Cancer Research*, 1988, 48, pp. 2288-2291.
- [29] RECIO L., ENOCH H.G., HANNAN M.A. et col. – Application of urine mutagenicity to monitor coal liquefaction workers. *Mutation Research*, 1984, 136, pp. 201-207.
- [30] RUDIGER H.W., NOWAK D., HARTMAN K., CERUTTI P. – Enhanced formation of benzo(a)pyrene adducts : DNA adducts in monocytes of patients with a presumed predisposition to lung cancer. *Cancer Research*, 1985, 45, pp. 5890-5894.
- [31] SARTO F., COMINATO I., BIANCHI V., LEVIS A.G. – Increased incidence of chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges in workers exposed to chromic acid (CrO₃) in electroplating factories. *Carcinogenesis*, 1982, 9, pp. 1011-1016.
- [32] SCHULTE P.A. – Marqueurs biologiques et médecine du travail. In : Actes du 23^e Congrès international de la médecine du travail, Montréal, 22-28 septembre 1990, conférences thématiques, pp. 149-175.
- [33] SIOU G., CONAN-LEROND L., BENOIST G. – Recherche des anomalies chromosomiques chez l'homme. Quelques exemples d'application à l'exposition aux produits chimiques. *Cahiers de Notes Documentaires*, 1982, 107, pp. 269-276, ND 1379.
- [34] SORSA M., HEMMINKI K., VAINO H. – Occupational exposure to anticancer drugs : Potential and real hazards. *Mutation Research*, 1982, 101, pp. 151-164.
- [35] STELLA M., MONTALDI A., ROSSI R. et col. – Clastogenic effects of chromium on human lymphocytes in vitro and in vivo. *Mutation Research*, 1982, 101, pp. 151-164.
- [36] WATANABE T., ENDO A., KATO Y., SHIMA S., IKEDA M. – Cytogenetic and cytokinetics of cultured lymphocytes from benzene-exposed workers. *International Archives of Occupational Health*, 1980, 46, pp. 31-41.
- [37] WOGAN G.N. – Detection of DNA damage in studies on cancer etiology and prevention. In : BARTSCH H., HEMMINKI K., O'NEILL I.K. – Methods for detecting DNA damaging agents in humans. Lyon, IARC, 1988, IARC Scientific Publications n° 9, pp. 32-49.
- [38] WOGAN G.N. – Summary : methods. In : BARTSCH H., HEMMINKI K., O'NEILL I.K. – Methods for detecting DNA damaging agents in humans. Lyon, IARC, 1988, IARC Scientific Publications n° 9, pp. 9-14.
- [39] YAGER J.W., SORSA M., SELVIN S. – Micronuclei in cytokinesis-blocked lymphocytes as an index of occupational exposure to alkylating cytostatic drugs. In : BARTSCH H., HEMMINKI K., O'NEILL I.K. – Methods for detecting DNA damaging agents in humans. Lyon, IARC, 1988, IARC Scientific Publications n° 9, pp. 213-220.
- [40] YARDLEY-JONES A., ANDERSON D., JENKINSON P.C. et col. – Genotoxic effects in peripheral blood and urine of workers exposed to low level benzene. *British Journal of Industrial Medicine*, 1988, 45, pp. 694-700.