

# Utilisation des tests de génotoxicité pour la surveillance de l'exposition des travailleurs dans l'industrie du traitement et recyclage des déchets



**UTILISATION DES TESTS DE GENOTOXICITE  
POUR LA SURVEILLANCE DE L'EXPOSITION  
DES TRAVAILLEURS DANS L'INDUSTRIE  
DU TRAITEMENT ET RECYCLAGE DES DECHETS**

**RAPPORT FINAL**

**mai 2009**

**O. FARDEL** - INSERM U620 /SeRAIC/Université Rennes 1  
**L. VERNHET** - INSERM U620 /SeRAIC/Université Rennes 1  
**V. NOUVEL** - Ecole des Métiers de l'Environnement  
**A.-V. JUNG** - Ecole des Métiers de l'Environnement  
**A. LEGRAND-LORANS** - Ecole des Métiers de l'Environnement

Créée en 1989 à l'initiative du Ministère en charge de l'Environnement, l'association RECORD – REseau COopératif de Recherche sur les Déchets et l'Environnement – est le fruit d'une triple coopération entre industriels, pouvoirs publics et chercheurs. L'objectif principal de RECORD est le financement et la réalisation d'études et de recherches dans le domaine des déchets et des pollutions industrielles.

Les membres de ce réseau (groupes industriels et organismes publics) définissent collégalement des programmes d'études et de recherche adaptés à leurs besoins. Ces programmes sont ensuite confiés à des laboratoires publics ou privés.

**Avertissement :**

Les rapports ont été établis au vu des données scientifiques et techniques et d'un cadre réglementaire et normatif en vigueur à la date de l'édition des documents.

Ces documents comprennent des propositions ou des recommandations qui n'engagent que leurs auteurs. Sauf mention contraire, ils n'ont pas vocation à représenter l'avis des membres de RECORD.

- ✓ Pour toute reprise d'informations contenues dans ce document, l'utilisateur aura l'obligation de citer le rapport sous la référence :  
**RECORD**, Utilisation des tests de génotoxicité pour la surveillance de l'exposition des travailleurs dans l'industrie du traitement et recyclage des déchets, 2009, 163 p, n°07-0667/1A.
  
- ✓ Ces travaux ont reçu le soutien de l'ADEME (Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie)  
[www.ademe.fr](http://www.ademe.fr)

© RECORD, 2009

## **RESUME**

La surveillance du personnel exposé aux agents cancérigènes, mutagènes et reprotoxiques (CMR) constitue un enjeu majeur en médecine du travail, concernant pleinement les personnels de l'industrie du déchet. Dans ce cadre, l'utilisation des tests de génotoxicité peut représenter une démarche intéressante à considérer et notre étude a visé à établir un état de l'art concernant l'usage de ces tests pour la surveillance du personnel de l'industrie du déchet. Après avoir présenté la nature du danger et de l'exposition dans l'industrie du déchet, qui inclut l'exposition à de nombreux composés CMR, nous avons exposé le cadre réglementaire actuel s'appliquant à la surveillance du personnel. Nous avons ensuite procédé à des interviews d'experts industriels travaillant dans le domaine du déchet pour avoir leur retour d'expérience concernant le suivi du personnel ; les réponses obtenues indiquent un intérêt réel des industriels pour la mise en place de tests de génotoxicité, en particulier pour caractériser les risques à l'échelle du poste de travail et par famille de déchets manipulés. Nous avons ensuite rappelé le principe et les atouts et limites des principaux tests de génotoxicité. Leur application dans le cadre global de la médecine du travail, et dans celui plus spécifique de l'industrie du déchet, a ensuite été abordée par le biais d'une analyse bibliographique de la littérature et aussi d'interviews réalisées auprès de spécialistes scientifiques et médicaux des tests de génotoxicité. Les données recueillies montrent que ces tests de génotoxicité ne sont pas, ou de façon marginale, utilisés aujourd'hui dans l'industrie du déchet. La faisabilité technique d'une telle démarche semble pourtant avérée, même si de nombreux paramètres concernant notamment l'interprétation des résultats, les facteurs confondants, le coût économique, l'absence de cadre réglementaire et l'aspect éthique peuvent limiter sa portée et son intérêt. En conclusion, les tests de génotoxicité ont déjà fait l'objet de nombreuses applications en médecine du travail et il pourrait donc être judicieux de les utiliser spécifiquement dans l'industrie du déchet, mais sans doute aujourd'hui uniquement dans un cadre exploratoire et de recherche en santé au travail.

## **MOTS CLES**

Risque sanitaire – exposition CMR - personnel des déchets – tests de génotoxicité -  
-----

## **SUMMARY**

Health risk assessment of workers exposed to carcinogenic, mutagenic and reprotoxic compounds (CMR)) constitutes a major goal for occupational medicine and especially concerns waste industrial staffs. In this context, the use of genotoxic tests could be an interesting approach to consider and this work aims at establishing state or art about potential use of these tests for health risk management of waste industrial workers. After a first description of hazards, which include several CMR compounds, and of exposure situations typically found in waste industry, we explain the regulations regarding health personal risk. Next, we report interviews of different experts of waste industry about their experience of health risk assessment; their responses indicate a marked interest in development of genotoxic tests, notably for determination of each waste family hazard and risk at work station level. We then present principles, advantages and drawbacks of main genotoxic tests. Their use in occupational medicine and, more specifically in waste industry, has been studied by analyzing bibliography and interviewing scientific and medical experts for genotoxic tests. Our data show that genotoxic tests are not yet, or only marginally, adopted in waste industry. Their technical feasibility is however acknowledged; nevertheless, numerous ethic problems, could limit interest in genotoxic test development. In conclusion, genotoxic tests have been already used in occupational medicine and their development could be judicious for health risk assessment in waste industry but, certainly today, only in an experimental or research context.

## **KEY WORDS**

Health risk – CMR exposition – waste staff – genotoxic tests -



## **SOMMAIRE**

<b>Liste des Tableaux</b> .....	<b>12</b>
<b>Liste des Figures</b> .....	<b>13</b>
<b>Liste des Abréviations</b> .....	<b>15</b>
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>17</b>
<b>PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA NATURE DU DANGER ET DE L'EXPOSITION DANS L'INDUSTRIE DU DECHET</b> .....	<b>21</b>
I.Contexte et définitions générales .....	23
I.1. Quelques chiffres.....	23
I.2. La classification des déchets .....	24
I.2.1. Classification des déchets.....	24
I.2.2. Les propriétés qui rendent les déchets dangereux .....	25
I.3. Agents cancérigènes, mutagènes et toxiques pour la reproduction.....	27
I.3.1. Agents cancérogènes.....	27
I.3.2. Agents mutagènes.....	28
I.3.3. Agents toxiques pour la reproduction.....	29
II. Nature des toxiques rencontrés dans les déchets.....	30
III. Résultats d'analyse des risques.....	34
III.1. Etudes réalisées pour les salariés d'industries de déchets.....	34
III.1.1. Incinération de déchets.....	36
III.1.2. Traitement et valorisation des DEEE.....	37
III.1.3. Secteur du nettoyage et de recyclage de fûts d'origine industrielle (Savary and Vincent, 2007a).....	39
III.1.4. Secteur de la récupération de matériaux non métalliques recyclables (papiers, textiles, caoutchouc, plastiques....) (Savary and Vincent, 2007a).....	39
III.1.5. Regroupement des déchets dangereux diffus (Savary and Vincent, 2007b).....	40

III.1.6. Bilan des études (identification des CMR) pour les travailleurs .....	41
III.2. Etudes réalisées pour les populations voisines d'industries de déchets.....	43
III.2.1. Etude de population vivant à proximité de sites pollués par des déchets d'activités industrielles.....	43
III.2.2. Proximité de centres de stockage.....	44
III.2.3. Proximité d'incinérateurs.....	45
III.2.4. Bilan de l'étude des risques pour les riverains.....	47
IV. Références.....	48
<b>PARTIE II : CADRE REGLEMENTAIRE DE LA SURVEILLANCE DU PERSONNEL DANS L'INDUSTRIE DU DECHET.....</b>	<b>53</b>
I. Salariés exposés et fiches d'exposition (R. 231-54-15 et R. 231-56-10).....	55
I.1. La liste des salariés exposés.....	55
I.2. La fiche d'exposition.....	55
I.3. Communication de la liste des travailleurs et des fiches d'exposition.....	56
I.4. Actualisation des documents.....	57
II. Surveillance médicale renforcée (R. 231-54-16 et R. 231-56-11).....	57
II.1. Fiche d'aptitude.....	57
II.2. Contre-indication médicale.....	58
II.3. Suivi médical.....	58

II.4. Dossier médical.....	59
II.5. Attestation d'exposition.....	59
II.6. Surveillance médicale pour les travailleurs exposés au plomb.....	60
III. Aspects préventifs chez les industriels des déchets.....	60
IV. Références.....	64
<b>PARTIE III : RETOUR D'EXPERIENCES DES INTERVIEWS D'EXPERTS INDUSTRIELS.....</b>	<b>65</b>
I. Agents CMR identifiés dans les déchets par les industriels.....	67
II. Voies d'expositions.....	68
III. Evaluation des risques.....	68
IV. Référentiel des préventions préconisées.....	68
V. Système préventif en place.....	68
VI. Suivi de l'exposition dans les entreprises.....	68
VI.1. Contrôle atmosphérique.....	68
VI.2. Suivi biologique.....	68
VII. Retombées sociétales attendues.....	69
VIII. Budget annuel pouvant être dégagé pour la mise en place de tests de génotoxicité.....	69



<b>PARTIE IV : PRINCIPE DES TESTS DE GENOTOXICITE.....</b>	<b>71</b>
I. Définition.....	73
II. Rappel sur la génotoxicité.....	73
III. Tests de mise en évidence d'un pouvoir mutagène au niveau génique.....	75
III.1 Définition.....	75
III.2. Test d'Ames.....	75
III.3. Test de mutation du locus de l'hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT).....	77
III.4. Test de mutation du gène de la glycophorine A.....	78
III.5. Test de mutation ponctuelle au locus TK (thymidine kinase) sur cellules de lymphome de souris L5178Y.....	79
IV Test des comètes.....	80
V Tests cytogénétiques.....	82
V.1. Définition.....	82
V.2. Détection des aberrations chromosomiques.....	82
V.3. Test des micronoyaux.....	83
V.4. Echange de chromatides sœurs (SCE).....	85
VI..Détection des adduits chimiques ou des dommages oxydatifs à l'ADN.....	86
VII. Autres tests.....	87
VII.1. SOS chromotest.....	87
VII.2. Mutatox assay.....	87
VIII. Conclusion.....	87
IX. Références.....	88

<b>PARTIE V : APPLICATIONS DES TESTS DE GENOTOXICITE EN MEDECINE DU TRAVAIL.....</b>	<b>93</b>
I. Introduction.....	95
II. Etats des lieux.....	95
II.1. Utilisation des tests de génotoxicité pour la caractérisation du site de travail.....	95
II.1.1. Analyse de l'atmosphère de travail.....	95
II.1.2. Utilisation des tests de génotoxicité pour la caractérisation des substances, mélanges et composés potentiellement en contact avec les travailleurs.....	96
II.1.3. Utilisation des tests de génotoxicité en éco-toxicologie pour l'analyse et le suivi des sites de travail.....	98
II.2. Utilisation des tests de génotoxicité pour la surveillance biologique du personnel.....	98
II.2.1 Généralités.....	98
II.2.2. Domaines d'activités couverts.....	99
II.2.3. Type de test de génotoxicité utilisé.....	101
II.2.4. Protocole employé dans les études de biosurveillance du personnel utilisant des tests de génotoxicité.....	103
III. Atouts de l'utilisation des tests de génotoxicité en médecine du travail.....	106
III.1. Pour la caractérisation du site de travail.....	106
III.2. Pour la surveillance biologique du personnel.....	107
IV. Limites et contraintes de l'utilisation des tests de génotoxicité en médecine du travail.....	109
IV.1 Pour la caractérisation du site de travail.....	109
IV.2. - Pour la biosurveillance du personnel.....	110
V. Conclusion.....	113
VI. Références.....	113

## **PARTIE VI : APPLICATIONS DES TESTS DE GENOTOXICITE DANS L'INDUSTRIE DU DECHET...121**

I. Introduction.....	123
II. Utilisation des tests de génotoxicité pour la caractérisation des sites de traitement, de recyclage et de stockage des déchets.....	123
III. Utilisation des tests de génotoxicité pour la biosurveillance du personnel de l'industrie du traitement et du recyclage des déchets.....	124
III.1 Généralités.....	124
III.2. Analyse détaillée des études de biosurveillance de personnels de l'industrie du déchet utilisant des tests de génotoxicité.....	125
III.2.1. Etude 1: Monitoring génotoxique de travailleurs d'un site de stockage de déchets à México (Gonsebatt et al., 1995).....	125
III.2.2. Etude 2: Investigations cytogénétiques chez des employés de sites de stockage de déchets (Fender and Wolf, 1998).....	125
III.2.3. Etude 3 : Etude comparative du biomonitoring de travailleurs d'un site de stockage de déchets à l'aide de tests cytogénétiques et du test des comètes (Hartmann et al., 1998).....	126
III.2.4 Etude 4 : Influence du genotype M1 sur l'association entre le génotype GSTM1, les adduits aromatiques à l'ADN et les concentrations urinaires en métabolites des HAP, chez les travailleurs d'une usine d'incinération sud-coréenne (Lee et al. , 2002).....	127
III.2.5 Etude 5 : Lésion à l'ADN dans les globules blancs de travailleurs d'usines d'incinération sud-coréennes exposés aux hydrocarbures aromatiques polycycliques (Sul et al. , 2003).....	128
III.2.6 Etude 6 : Association entre les niveaux de stress oxydatif et la durée d'exposition aux cendres volatils chez des travailleurs employés dans des incinérateurs municipaux (Yoshida et al., 2003).....	129
III.2.7 Etude 7 : Evaluation de l'immunotoxicité et de la reprotoxicité et de l'association entre les paramètres immunotoxiques et génotoxiques chez des travailleurs de centre d'incinération de déchets (Oh et al., 2005).....	130
III.2.8 Etude 8 : Dommages cytogénétiques chez des travailleurs manipulant et transportant des déchets de centrales thermiques à charbon (Celik et al., 2007).....	131
III.3. Synthèse des résultats.....	132
IV. Conclusion.....	133
V. Références.....	133

<b>PARTIE VII : RETOUR D'EXPERIENCES DES INTERVIEWS D'EXPERTS SCIENTIFIQUES.....</b>	<b>135</b>
<b>CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS .....</b>	<b>141</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>147</b>
<i>Annexe 1 : Classification et étiquetage des substances CMR .....</i>	<i>149</i>
<i>Annexe 2 : Ebauche de trame EME d'interview expert industriel du déchet.....</i>	<i>151</i>
<i>Annexe 3 : Détail des réponses obtenues lors des échanges avec les industriels pour les différents groupes définis à la partie III du rapport.....</i>	<i>153</i>
<i>Annexe 4 : Définitions des VLEP.....</i>	<i>161</i>
<i>Annexe 5 : Les différentes VLEP existantes.....</i>	<i>162</i>
<i>Annexe 6 : Extraits de la circulaire DRTn°12 du 24 mai 2006 concernant la liste des salariés exposés et la fiche d'exposition.....</i>	<i>163</i>

## Liste des Tableaux

Tableau 1 : principaux déchets dangereux produits dans différents secteurs d'activité (INRS, 2006).....	31
Tableau 2: CMR communs pour les traiteurs et producteurs de déchets d'après Chollot (2007).....	33
Tableau 3 : Exposition potentielle en fonction du traitement (Savary andt Vincent, 2007a).....	35
Tableau 4 : description de l'exposition potentielle par voies respiratoires et cutanée aux différentes étapes de la gestion des déchets dangereux diffus.....	40
Tableau 5 : Description des différents procédés de regroupement et des moyens de prévention mis en œuvre pour limiter les expositions aux substances chimiques.....)	41
Tableau 6: Récapitulatif des CMR identifiés pour les salariés d'industries du déchet selon le secteur d'activités.....	41
Tableau 7 : Récapitulatif des études identifiées pour les riverains de sites pollués, stockant ou traitant des déchets industriels.....	47
Tableau 8 : Nature des effets détectés par les principaux tests de génotoxicité.....	78
Tableau 9 : Principaux facteurs confondants susceptibles de potentiellement interférer avec les résultats de tests de génotoxicité effectués dans le cadre de la surveillance d'une exposition professionnelle...	80
Tableau 10 : Comparaison des résultats du test des comètes et du test des micronoyaux dans des études d'exposition professionnelle faisant appel à ces 2 types de test; + : présence d'une corrélation avec l'exposition, - : absence de corrélation avec l'exposition.....	103
Tableau 11 : Principaux atouts de l'utilisation des tests de génotoxicité pour la biosurveillance du personnel en médecine du travail.....	109
Tableau 12 : Principales contraintes et limites de l'utilisation des tests de génotoxicité pour la biosurveillance du personnel en médecine du travail.....	112
Tableau 13 : Taux de lymphocytes (pour 1000 lymphocytes) présentant des micronoyaux dans différentes études d'exposition professionnelle.....	112
Tableau 14 : Etudes de biosurveillance de personnels de l'industrie du déchet utilisant des tests de génotoxicité.....	124
Tableau 15: Propositions d'action à entreprendre pour une meilleure surveillance des risques cancérigènes et mutagènes chez les travailleurs de l'industrie du déchet.....	146

## Liste des Figures

<i>Figure 1 : Evolution des effectifs salariés dans les activités de recyclage et les activités de traitement des ordures ménagères et de l'assainissement (INRS, 2008).....</i>	<i>24</i>
<i>Figure 2 : Effets génotoxiques, mutagènes et cancérigènes.....</i>	<i>74</i>
<i>Figure 3 : Principales étapes de l'analyse de l'atmosphère de travail par un test de génotoxicité.....</i>	<i>97</i>
<i>Figure 4 : Répartition par année du nombre d'articles relatifs à l'utilisation des tests de génotoxicité pour la biosurveillance de personnels en situation d'exposition professionnelle (après interrogation de la base PubMed).....</i>	<i>99</i>
<i>Figure 5 : Répartition relative des tests de génotoxicité utilisés pour la biosurveillance de personnels en situation d'exposition professionnelle (après interrogation de la base PubMed).....</i>	<i>101</i>
<i>Figure 6 : Principales étapes d'une étude de biosurveillance de l'exposition professionnelle de travailleurs par un test de génotoxicité.....</i>	<i>104</i>



### **Liste des abréviations**

**ACD** Agents Chimiques Dangereux

**ADEME** Agence de l'Environnement et de la Maitrise de l'Energie

**ADN** Acide desoxyribonucléique

**AFSSET** Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'Environnement et du Travail

**BaP** Benzo[a]Pyrène

**BSD** Bordereau de Suivi des Déchets

**BTP** Bâtiment et Travaux Publics

**BTX** Benzène Toluène Xylène

**CET** Centre d'Enfouissement Technique

**CHSCT** Comité d'hygiène, de sécurité et des conditions de travail

**CHV** Composés Halogénés Volatils

**CIRC** Centre Internat de recherche sur le cancer

**CMR** Cancérogènes, mutagènes et toxiques pour la reproduction

**CNAMTS** Caisse nationale de l'assurance maladie des travailleurs salariés

**COV** Composés Organiques Volatils

**CPAM** Caisse primaire d'assurance maladie

**CRAM** Caisse régionale d'assurance maladie

**CSDU** Centre de Stockage des Déchets Ultimes

**DAS** Déchets d'Activité de Soins

**DASRI** Déchets des Activités de Soins à Risque Infectieux

**DDD** Déchets Dangereux Diffus

**DDM** Déchets Dangereux des ménages

**DEEE** Déchets d'Equipements électroniques et électriques

**DIB** Déchets Industriels Banaux

**DID** Déchets Industriels Dangereux

**DIS** Déchets Industriels Spéciaux

**DMF** Diméthylformamide

**DMA** Déchets Ménagers et Assimilés

**DTQD** Déchets Toxiques en Quantité Dispersée

**EGDME** ethylene glycol diméthyl ether

**EPC** Equipement de protection collective

**EPI** Equipement de protection individuelle

**FDS** Fiches de données de sécurité

**FISH** Hybridation in situ par fluorescence



**HAP** Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques  
**HPRT** Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase  
**IAA** Industrie Agroalimentaire et Agriculture  
**IBE** Indicateurs biologiques d'exposition  
**ICPE** Installation Classée pour la Protection de l'Environnement  
**INERIS** Institut National de l'Environnement industriel et des RISques  
**INRS** Institut National de Recherche et de Sécurité  
**InVS** Institut National de Veille Sanitaire  
**MIRTMO** Médecin inspecteur régional du travail et de la main œuvre  
**8-oxo-dG** 8-oxo7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine  
**OCDE** Organisation de coopération et de développement économique  
**OM** Ordures Ménagères  
**PCB** PolyChloro Biphényles  
**REACH** Registration Evaluation and Autorisation of Chemicals  
**RSD** Réseau Santé Déchets  
**SCE** Echange de chromatide soeurs  
**SMR** Surveillance Médicale Renforcée  
**TFT** Trifluorothymidine  
**TK** Thymidine kinase  
**TLV-TWA** Threshold Limit Value – Time Weight Average  
**UIOM** Usine d'Incinération des Ordures Ménagères  
**VHU** Véhicules Hors d'Usages  
**VLB** Valeur limite biologique  
**VLEP** Valeur limite d'exposition professionnelle  
**VME** Valeur Moyenne d'Exposition

## **INTRODUCTION**



La surveillance du personnel vis-à-vis de l'exposition aux composés mutagènes/cancérogènes constitue un enjeu majeur en médecine du travail. Les industries du traitement et du recyclage du déchet sont naturellement concernées par cette problématique, car les personnels employés sont susceptibles d'être en contact avec des substances génotoxiques variées, se présentant souvent sous forme de mélange. De plus, l'évaluation des risques sanitaires chez les industriels du déchet apparaît à l'heure actuelle complexe, de part essentiellement :

- la difficulté d'accès à l'information et de traçabilité des agents cancérigènes mutagènes et toxiques pour la reproduction (CMR)
- la connaissance partielle de la composition des CMR dans les déchets liée à la faiblesse ou au manque d'outils métrologiques standardisés pour l'identification analytique et la quantification de toutes les substances CMR contenues dans les déchets

Parmi les moyens reconnus d'explorer l'exposition aux composés génotoxiques figurent les tests de génotoxicité, définis littéralement comme des tests mettant en évidence une atteinte génotoxique. L'objectif principal de notre étude a visé à établir un état de l'art concernant l'usage de ces tests pour la surveillance du personnel de l'industrie du déchet, en faisant notamment ressortir les avantages et les limites de la mise en place de ces tests dans l'industrie du déchet. Notre démarche s'est surtout focalisée sur l'utilisation des tests pour le biomonitoring du personnel, mais leur usage pour l'analyse des ambiances de travail a aussi été abordé.

Nous avons d'abord analysé la nature globale du danger et de l'exposition dans l'industrie du déchet, en détaillant notamment la nature de l'exposition aux CMR. Nous avons ensuite rappelé le cadre réglementaire actuel de la surveillance de l'exposition du personnel en médecine du travail et recueilli les expériences dans ce domaine d'acteurs de l'industrie des déchets. Nous avons ensuite exposé les principes des tests de génotoxicité, en analysant notamment les atouts et contraintes de ces tests, puis nous avons détaillé leurs applications d'une façon générale en médecine du travail, puis d'une manière plus focalisée dans l'industrie du déchet. Nous présentons enfin le retour d'expériences d'experts scientifiques et médicaux spécialistes ou concernés par l'application de tests de génotoxicité en médecine du travail.



**PARTIE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DE LA  
NATURE DU DANGER ET DE L'EXPOSITION  
DANS L'INDUSTRIE DU DECHET**



Les risques professionnels générés dans les activités de collecte, de transport ou de traitement des déchets (valorisation ou élimination) sont multiples et nombreux (INRS, 2008). Concernant le risque chimique, les études sur l'exposition à des agents chimiques dangereux (ACD) contenus dans les déchets sont peu nombreuses et concernent en général les impacts environnementaux (Ademe, 2002 et 2007a ; Bajeat, 2005). Nous présenterons ici les résultats concernant l'analyse des expositions professionnelles en fonction des différentes filières de traitement, puis les études réalisées en santé publique pour les populations voisines de centres industriels traitant et/ou stockant des déchets.

La prévention doit donc être mise en oeuvre aussi bien pour l'entreprise lors de la gestion de ses propres déchets que dans les filières structurées et spécialisées dans ces activités. Elle passe nécessairement par l'établissement et la transmission aux différents acteurs concernés d'une information la plus complète possible sur la nature, la composition et la dangerosité des déchets produits. Nous rappellerons les principaux points des aspects préventifs actuellement proposés pour les industriels du déchet.

## **I. Contexte et définitions générales**

### **I.1. Quelques chiffres**

La France produit actuellement environ 850 millions de tonnes de déchets par an (Ademe, 2007b):

- Près de 45 % produits par le secteur agricole
- 40 % par le secteur de la construction et de la démolition (BTP)
- 10 % par le secteur industriel
- 5 % environ de déchets municipaux (ordures ménagères...)

Comme le souligne le rapport de synthèse de l'INRS (2008), les informations actuellement disponibles ne permettent pas de bien cerner l'ensemble du secteur des déchets (nombre de salariés, nombre d'entreprises concernées, indicateurs spécifiques aux accidents du travail et aux maladies professionnelles...). Les activités inhérentes aux déchets sont en effet répertoriées dans plusieurs codes d'activité (NAF). De plus, il n'existe pas de code risque spécifique permettant d'obtenir des statistiques représentatives en matière de prévention...

Les chiffres de l'INRS présentés ci-dessous (Figure 1) correspondent à un cumul de données provenant de plusieurs secteurs d'activités liés au monde du déchet.



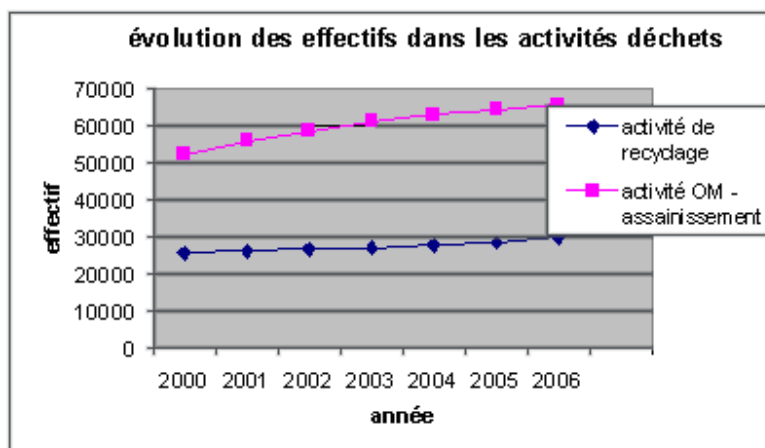


Figure 1 : Evolution des effectifs salariés dans les activités de recyclage et les activités de traitement des ordures ménagères et de l'assainissement (INRS, 2008)

D'après l'INRS, en 2006, près de 100 000 salariés travaillent dans un secteur concernant la gestion ou le traitement des déchets. Plus de la moitié travaille dans l'enlèvement et le traitement des ordures ménagères.

I.2. La classification des déchets (Code de l'Environnement - Livre V - Titre IV - Articles R 541-7 à R 541-11 relatifs à la classification des déchets ; Circulaire du 3 octobre 2002 ; Région Rhône- Alpes, 2005)

La classification des déchets est définie par les Articles R 541-7 à R 541-11 du Livre V Tite IV du Code de l'Environnement; la circulaire du 3 octobre 2002 constitue pour les industriels une aide à l'application des règles de classification énoncées par le Code de l'Environnement à laquelle il convient de se référer en particulier en cas de doute sur la désignation d'un déchet (cas fréquent par exemple des déchets spécifiques d'une nouvelle production industrielle).

#### 1.2.1. Classification des déchets

On distingue réglementairement 3 catégories de déchets :

- Les Déchets Dangereux
- Les Déchets Non Dangereux
- Les Déchets Inertes

### ***Les Déchets Dangereux***

Les déchets sont considérés comme dangereux s'ils présentent une ou plusieurs des propriétés suivantes: explosif, comburant, inflammable, irritant, nocif, toxique, cancérogène, corrosif, infectieux, toxique pour la reproduction, mutagène, écotoxique.

Ils sont signalés par un astérisque dans la nomenclature des déchets figurant à l'Annexe II de l'article R 541-8 du Code de l'environnement.

### ***Les déchets Non Dangereux***

Les déchets non dangereux sont les déchets qui ne présentent aucune des caractéristiques relatives à la "dangerosité" mentionnées dans l'annexe I de l'article R 541-8 du Code de l'environnement (toxique, explosif, corrosif, etc.).

Ce sont les déchets "banals" des entreprises, commerçants et artisans (papiers, cartons, bois, textiles, etc.) et les déchets ménagers.

### ***Les déchets inertes***

Les déchets inertes sont des solides minéraux qui ne subissent aucune transformation physique, chimique ou biologique importante : pavés, sables, gravats, tuiles, béton, ciment, carrelage.

Ils proviennent des chantiers du bâtiment et des travaux publics, mais aussi des mines et des carrières.

La classification des déchets permet de désigner chaque déchet par un code à 6 chiffres suivi d'un astérisque (\*) dans le cas des déchets dangereux. Elle organise et unifie les dénominations des déchets à l'échelle européenne. La liste des déchets ainsi établie (et présentée dans l'annexe II de l'article R541- 8 du Code de l'Environnement) est non exhaustive et réexaminée périodiquement notamment pour intégrer des déchets liés à la mise en œuvre de nouveaux procédés industriels.

#### *1.2.2. Les propriétés qui rendent les déchets dangereux*

Les propriétés qui rendent les déchets dangereux sont explicitées par l'annexe I à l'article R. 541-8 du Code de l'Environnement :

H1 " Explosif " : substances et préparations pouvant exploser sous l'effet de la flamme ou qui sont plus sensibles aux chocs ou aux frottements que le dinitrobenzène.

H2 " Comburant " : substances et préparations qui, au contact d'autres substances, notamment de substances inflammables, présentent une réaction fortement exothermique.

H3-A " Facilement inflammable " : substances et préparations : à l'état liquide (y compris les liquides extrêmement inflammables), dont le point d'éclair est inférieur à 21 °C, ou pouvant s'échauffer au point de s'enflammer à l'air à température ambiante sans apport d'énergie ; ou à l'état solide, qui peuvent s'enflammer facilement par une brève action d'une source d'inflammation et qui continuent à brûler ou à se consumer après l'éloignement de la source d'inflammation ; ou à l'état gazeux, qui sont inflammables à l'air à une pression normale ; ou qui, au contact de l'eau ou de l'air humide, produisent des gaz facilement inflammables en quantités dangereuses.

H3-B " Inflammable " : substances et préparations liquides, dont le point d'éclair est égal ou supérieur à 21°C et inférieur ou égal à 55°C.

H4 " Irritant " : substances et préparations non corrosives qui, par contact immédiat, prolongé ou répété avec la peau et les muqueuses, peuvent provoquer une réaction inflammatoire.

H5 " Nocif " : substances et préparations qui, par inhalation, ingestion ou pénétration cutanée, peuvent entraîner des risques de gravité limitée.

H6 " Toxique " : substances et préparations (y compris les substances et préparations très toxiques) qui, par inhalation, ingestion ou pénétration cutanée, peuvent entraîner des risques graves, aigus ou chroniques, voire la mort.

H7 " Cancérogène " : substances et préparations qui, par inhalation, ingestion ou pénétration cutanée, peuvent produire le cancer ou en augmenter la fréquence.

H8 " Corrosif " : substances et préparations qui, en contact avec des tissus vivants, peuvent exercer une action destructrice sur ces derniers.

H9 " Infectieux " : matières contenant des micro-organismes viables ou leurs toxines, dont on sait ou on a de bonnes raisons de croire qu'ils causent la maladie chez l'homme ou chez d'autres organismes vivants.

H10 " Toxique pour la reproduction " : substances et préparations qui, par inhalation, ingestion ou pénétration cutanée, peuvent produire ou augmenter la fréquence d'effets indésirables non héréditaires dans la progéniture ou porter atteinte aux fonctions ou capacités reproductives.

H11 " Mutagène " : substances et préparations qui, par inhalation, ingestion ou pénétration cutanée, peuvent produire des défauts génétiques héréditaires ou en augmenter la fréquence.

H12 Substances et préparations qui, au contact de l'eau, de l'air ou d'un acide, dégagent un gaz toxique ou très toxique.

H13 Substances et préparations susceptibles, après élimination, de donner naissance, par quelque moyen que ce soit, à une autre substance, par exemple un produit de lixiviation, qui possède l'une des caractéristiques énumérées ci-avant.

H14 " Ecotoxique " : substances et préparations qui présentent ou peuvent présenter des risques immédiats ou différés pour une ou plusieurs composantes de l'environnement.

L'attribution ou non à un déchet de l'une ou l'autre des 14 propriétés explicitées ci-avant pose souvent problème ; si l'arrêté du 8 juillet 2003 explicite les critères et méthodes d'évaluation des propriétés de dangers H1 explosif, H2 comburant, H3 inflammable et facilement inflammable d'un déchet, la démarche de détermination est loin d'être aboutie pour d'autres propriétés, notamment H14 (RECORD, 2008).

Les enjeux du classement d'un déchet en Déchet Dangereux ou Déchet Non Dangereux sont fondamentaux pour les entreprises en terme de sujétions techniques et de coûts de collecte et traitement.

### I.3. Agents cancérigènes, mutagènes et toxiques pour la reproduction (CMR)

Dans la réglementation européenne, ces substances figurent à l'annexe I de la directive 67/548/CEE (qui correspond dans le droit français à l'annexe I de l'arrêté du 20 avril 1994 modifié).

Rappelons que seule la classification de l'Union Européenne a une valeur réglementaire. Les autres classifications, comme celle du Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) par exemple, n'ont qu'une valeur informative.

Les seuils de classification en CMR de catégorie 1 ou 2 des préparations sont indiqués en annexe 1.

Nous donnons ci-dessous les principales définitions en principes de classification des substances CMR. Pour connaître le détail des méthodes d'essais réalisés, des catégories de CMR ainsi que la liste réglementaire en vigueur des CMR, nous reportons le lecteur au site du Bureau Chimique Européen (<http://ecb.jrc.it>) et à l'aide mémoire technique de l'INRS (Miraval, 2008).

#### *I.3.1. Les agents cancérogènes :*

La définition des agents cancérogènes classés en catégorie 1 ou 2 ou 3 figure à l'article R. 231-51 du code du travail :

- cancérogènes de catégorie 1 : substances et préparations que l'on sait être cancérogènes pour l'homme
- cancérogènes de catégorie 2 : substances et préparations pour lesquelles il existe une forte présomption que l'exposition de l'homme à de telles substances et préparations peut provoquer un cancer ou en augmenter la fréquence ;
- cancérogènes de catégorie 3 : substances et préparations préoccupantes pour l'homme en raison d'effets cancérogènes possibles mais pour lesquelles les informations disponibles sont insuffisantes pour classer ces substances et préparations dans la catégorie 2.

### *1.3.2. Les agents mutagènes :*

Un agent mutagène augmente l'apparition de mutations. On peut définir une mutation comme une modification permanente du nombre ou de la structure du matériel génétique dans un organisme, qui aboutit à une modification des caractéristiques phénotypiques de l'organisme. Les altérations peuvent impliquer un gène unique ou un chromosome entier. Les effets concernant les gènes uniques peuvent résulter d'effets sur une seule des bases d'ADN (mutations ponctuelles) ou de profondes modifications, y compris des délétions, au sein du gène. Les effets sur des chromosomes entiers peuvent entraîner des modifications structurelles ou numériques. Une mutation des cellules germinales dans les organismes à reproduction sexuée peut être transmise à la descendance.

Il faut remarquer que les substances classées comme mutagènes se réfèrent spécifiquement aux défauts génétiques héréditaires. Toutefois, le type de résultats menant à une classification des produits chimiques dans la catégorie 3 « induction d'évènements génétiquement importants dans les cellules » est généralement aussi considérée comme une alerte pour une éventuelle activité cancérogène. Rappelons aussi que la mise au point des méthodes d'essai de la mutagénicité est en constant développement (voir Parties IV et V). Pour de nombreux nouveaux essais, il n'existe ni protocole normalisés, ni critères d'évaluation. Pour évaluer les données de mutagénicité, il faut considérer la qualité de l'exécution et le taux de validation de la méthode d'essai (Miraval, 2008).

La définition des agents mutagènes classés en catégorie 1 ou 2 ou 3 figure à l'article R. 231-51 du code du travail :

- mutagènes de catégorie 1 : substances et préparations que l'on sait être mutagènes pour l'homme ;
- mutagènes de catégorie 2 : substances et préparations pour lesquelles il existe une forte présomption que l'exposition de l'homme à de telles substances et préparations peut produire des défauts génétiques héréditaires ou en augmenter la fréquence;

- mutagènes de catégorie 3 : substances et préparations préoccupantes pour l'homme en raison d'effets mutagènes possibles mais pour lesquelles les informations disponibles sont insuffisantes pour classer ces substances et préparations dans la catégorie 2.

### *1.3.3. Les agents toxiques pour la reproduction :*

La toxicité pour la reproduction comprend l'altération des fonctions ou de la capacité de reproduction chez l'homme ou la femme et l'induction d'effets néfastes non héréditaires sur la descendance.

Les effets sur la fertilité masculine ou féminine comprennent les effets néfastes sur la libido, le comportement sexuel, les différents aspects de la spermatogénèse ou de l'ovogénèse ou sur l'activité hormonale ou la réponse physiologique qui perturberaient la capacité de fécondation, la fécondation elle-même ou le développement de l'ovule fécondé jusqu'à et y compris l'implantation.

La toxicité pour le développement est considérée dans son sens le plus large. Elle comprend tout effet perturbant le développement normal, aussi bien avant qu'après la naissance. Elle englobe tant les effets qui sont induits ou se manifestent avant la naissance que ceux qui se manifestent après. Les effets embryotoxiques/foetotoxiques sont inclus dans cette famille : réduction du poids corporel, retard de croissance et de développement, toxicité pour les organes, avortement, morts, effets tératogènes, anomalies fonctionnelles, anomalies péri ou postnatales, altération du développement mental ou physique après la naissance, jusqu'à et y compris le développement pubertaire normal.

La classification des produits chimiques comme toxiques pour la reproduction est destinée à être utilisée pour les produits chimiques qui présentent une propriété intrinsèque ou spécifique de produire de tels effets. Il n'y a pas lieu de classer les produits chimiques comme toxiques pour la reproduction si ces effets interviennent uniquement en tant que conséquence secondaire non spécifique d'autres effets toxiques. Les produits considérés comme les plus préoccupants sont ceux qui sont toxiques pour la reproduction à des niveaux d'exposition qui ne donnent pas d'autres signes de toxicité (Miraval, 2008).

La définition des agents toxiques pour la reproduction classés en catégorie 1 ou 2 ou 3 figure à l'article R. 231-51 du code du travail :

- toxiques pour la reproduction de catégorie 1 : substances et préparations que l'on sait être toxiques pour la reproduction de l'homme ;
- toxiques pour la reproduction de catégorie 2 : substances et préparations pour lesquelles il existe une forte présomption que l'exposition de l'homme à de telles substances et préparations peut produire ou augmenter la fréquence d'effet nocifs non héréditaire dans la progéniture ou porter atteinte aux fonctions ou capacités reproductives ;

- toxiques pour la reproduction de catégorie 3 : substances et préparations préoccupantes en raison d'effets toxiques possibles pour la reproduction mais pour lesquelles les informations disponibles sont insuffisantes pour classer ces substances et préparations dans la catégorie 2.

## **II. Nature des toxiques rencontrés dans les déchets**

Rappelons que la notion de dangerosité d'un déchet est définie réglementairement (Annexe I à l'Article R. 541-8 du Code de l'Environnement)), dans une logique environnementale et de santé publique. Elle est établie à partir des caractéristiques suivantes :

- physico-chimiques intrinsèques au déchet (explosif, inflammable, comburant...),
- toxiques générales (irritant, nocif, toxique, cancérigène...),
- toxiques pour l'environnement

Un élément primordial pour préserver la santé et la sécurité de tous ceux qui travaillent avec des déchets est une information la plus complète possible sur la nature, la composition et la dangerosité du déchet. C'est l'entreprise productrice de déchets qui doit établir et mettre à disposition cette information. Pour les déchets identifiés comme dangereux, un des éléments à fournir et qui va suivre le déchet tout au long de son circuit d'élimination ou de traitement est le bordereau de suivi des déchets dangereux (BSDD). Au-delà de l'identification du déchet, il mentionne notamment tous les acteurs concernés par le circuit d'élimination ou et valorisation : producteur, collecteur / transporteur, installation de stockage ou de traitement...

En fonction des différents secteurs d'activité, une liste non exhaustive (Tableau 1) des principaux déchets dangereux peut se trouver dans la littérature (INRS, 2008). Cette liste constitue un extrait de la liste des déchets établie par l'Annexe II de l'article R541- 8 du Code de l'Environnement.

<b>Principaux déchets dangereux générés dans différents secteurs d'activités</b>	
<b>Secteurs</b>	<b>Exemples de déchets dangereux produits</b>
<b>Collectivités et particuliers</b> (déchets des ménages et assimilés)	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Accumulateurs Cadmium-Nickel</li> <li>▪ Déchets contenant du mercure (piles, tubes fluorescents, lampes)</li> <li>▪ Huiles de vidange</li> <li>▪ Autres déchets ménagers (solvants usagés...)</li> </ul>
Industries diverses	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Goudrons acides</li> <li>▪ Sels contenant des cyanures</li> <li>▪ Cendres volantes</li> <li>▪ Solvants</li> <li>▪ Déchets dangereux diffus</li> </ul>
<b>Agriculture</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Déchets agrochimiques</li> <li>▪ Farines animales</li> <li>▪ Films plastiques souillés</li> <li>▪ Produits phytosanitaires non utilisés</li> <li>▪ Emballages vides de produits phytosanitaires</li> </ul>
<b>Construction et démolition</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Déchets de peinture</li> <li>▪ Fibres libres d'amiante</li> </ul>
<b>Activités de soins</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Déchets à risques infectieux</li> <li>▪ Produits vétérinaires</li> <li>▪ Médicaments</li> </ul>
<b>Equipements électriques et électroniques</b> (incluant ceux produits par les particuliers)	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Piles, accumulateurs</li> <li>▪ Tubes cathodiques</li> <li>▪ Plastiques bromés</li> <li>▪ Verres spéciaux</li> <li>▪ Cartes électroniques</li> </ul>
<b>Automobile</b> (professionnels et particuliers)	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Batteries</li> <li>▪ Fluides</li> <li>▪ Air-bag</li> <li>▪ Véhicules hors d'usage</li> </ul>

Tableau 1 : Principaux déchets dangereux produits dans différents secteurs d'activité (INRS, 2008)

La liste des éléments dangereux potentiels de l'ensemble des déchets listés ci-dessus contiendrait sans doute celle de tous les CMR connus actuellement pour l'ensemble des produits chimiques « finis ».



C'est sans doute pour cette raison que les aides au repérage des CMR dans les déchets sont si peu nombreuses. Nous donnerons ici la synthèse de la récente étude de l'INRS (Chollot, 2007) ayant visé à dresser un inventaire relatif aux déchets industriels et à la présence de composés CMR dans ces déchets sur la base des informations collectées auprès des « producteurs » et des « traiteurs » de ces déchets. Le contexte général posé par l'INRS pour cette étude était la constatation de l'absence de mention de présence de composés CMR sur le bordereau de suivi des déchets, et la difficulté résultante d'identification des risques lors de la réception des déchets dangereux par les traiteurs.

Les 2 étapes de l'étude de Chollot (2007) ont été :

- une typologie et une répartition des différents types de déchets suivant leurs natures, le secteur producteur d'origine et le traitement.
- la collecte des données chez les traiteurs et producteurs concernant l'identification des CMR

L'étude a montré que seulement pour 6 types de déchets (déchets de piles et accumulateurs, déchets minéraux et déchets contenant des PCB, solvants usés, déchets de préparation chimique et déchets de bois), il existait une bonne, voire très bonne concordance statistique des réponses entre producteurs et traiteurs. Pour les huiles usées, les déchets acides ou salins, les dépôts et résidus chimiques, les boues d'effluents industriels, les matériaux mélangés, les déchets métalliques, de verre, catalyseurs chimiques usés, les équipements hors d'usage, les résidus de tri et d'opérations thermiques ainsi que les terres et boues de dragage polluées, les concordances de réponses sont inférieures à 30%. Cette étude montre donc que nombre de CMR ne sont pas identifiés de la même façon chez les producteurs et les traiteurs, cela s'expliquant notamment par la variabilité de la composition des mélanges et le manque de traçabilité notamment.

Lors de cette enquête, 81 et 93 substances ont été citées respectivement par les traiteurs et les producteurs. Les CMR les plus cités par les traiteurs sont :

- le benzène, le toluène, le chloroforme, le dichlorométhane et le tétrachloréthylène (entre 25 et 30% des réponses)
- le formaldéhyde, l'hexane, les HAP, le DMF, le chrome VI et le trichloréthylène (entre 15 et 20%)
- le plomb, le nickel, le dichloroéthane, les autres métaux lourds, le PCB et les phtalates (entre 10 et 15%)
- l'acrylamide, le cadmium, l'arsenic, le 2-méthoxyéthanol et le benzo[a]pyrène (entre 5 et 10%)
- le butadiène, le diméthylacétamide et les carburants (moins de 5% des réponses)

Les CMR communs pour les traiteurs et les producteurs sont donnés dans le Tableau 2.

DÉCHET	% TOP N CMR COMMUN	PRINCIPAUX CMR COMMUNS	PRINCIPALES DIVERGENCES EN TERMES DE CMR CITÉS (EN ITALIQUE, SUBSTANCES CITÉES PAR LES PRODUCTEURS)
SOLVANTS USÉS	44%	benzène, dichlorométhane, toluène, DMF	formaldéhyde, chloroforme, trichloroéthylène, hexane, tétrachloroéthylène
DÉCHETS ACIDES, ALCALINS OU SALINS	20%	chrome VI, nickel	diméthylacétamide, chloroforme, benzène, dichlorométhane, phtalates, tétrachloroéthylène, toluène, métaux lourds
HUILES USÉES	25%	HAP	benzène, chloroforme, toluène
CATALYSEURS CHIMIQUES USÉS	0%	-	nickel, pentaoxyde de divanadium, benzène, dichlorométhane, formaldéhyde, métaux lourds, chloroforme, acrylonitrile
DÉCHETS DE PRÉPARATION CHIMIQUE	30%	dichlorométhane, toluène, benzène	tétrachloroéthylène, intermédiaires ou produits de synthèse, butadiène, phtalates, plomb et composés, chloroforme, formaldéhyde
DÉPÔTS ET RÉSIDUS CHIMIQUES	23%	benzène, HAP, formaldéhyde	dichloroéthane, DMF, acrylonitrile, phénol, phtalates, trichloroéthylène, dichlorométhane, chloroforme, tétrachloroéthylène, toluène
BOUES D'EFFLUENTS INDUSTRIELS	11%	chrome VI	cadmium, formaldéhyde, HAP, nickel, plomb et composés, benzène, hexane, toluène
DÉCH. SOINS MÉDICAUX, DÉCH. BIOL.	-	-	-
DÉCHETS MÉTALLIQUES	6%	plomb et composés	HAP, arsenic, cadmium, chloroforme, cobalt, chrome VI, dichlorométhane, goudron, hexane, métaux lourds, nickel, PCB, tétrachloroéthylène, toluène, formaldéhyde
DÉCHETS DE VERRE	10%	dichlorométhane, toluène	acrylonitrile, dichloroéthane, éther de méthyle et de chlorométhyle, épichlorohydrine, éther de bis-chlorométhyle, formaldéhyde, isoprène, principes actifs, antimoine, chloroforme, chrome VI, hexane, mercure, nickel, plomb, tétrachloroéthylène, cadmium
DÉCHETS DE BOIS	36%	arsenic, chrome VI, créosote, cuivre, poussières de bois	benzène, butadiène, cadmium, formaldéhyde, HAP, plomb, PCB, DMF, phtalates, méthoxyéthanol, formaldéhyde, hexane, toluène, benzoanthracène, chrysène
BOUES D'EFFLUENTS INDUSTRIELS	11%	chrome VI	cadmium, formaldéhyde, HAP, nickel, plomb et composés, benzène, hexane, toluène
DÉCH. SOINS MÉDICAUX, DÉCH. BIOL.	-	-	-
DÉCHETS MÉTALLIQUES	6%	plomb et composés	HAP, arsenic, cadmium, chloroforme, cobalt, chrome VI, dichlorométhane, goudron, hexane, métaux lourds, nickel, PCB, tétrachloroéthylène, toluène, formaldéhyde
DÉCHETS DE VERRE	10%	dichlorométhane, toluène	acrylonitrile, dichloroéthane, éther de méthyle et de chlorométhyle, épichlorohydrine, éther de bis-chlorométhyle, formaldéhyde, isoprène, principes actifs, antimoine, chloroforme, chrome VI, hexane, mercure, nickel, plomb, tétrachloroéthylène, cadmium
DÉCHETS DE BOIS	36%	arsenic, chrome VI, créosote, cuivre, poussières de bois	benzène, butadiène, cadmium, formaldéhyde, HAP, plomb, PCB, DMF, phtalates, méthoxyéthanol, formaldéhyde, hexane, toluène, benzoanthracène, chrysène
DÉCHETS CONTENANT DES PCB	100%	PCB	-
ÉQUIPEMENTS HORS D'USAGE	0%	-	plomb, amiante, carburants, HAP, benzo[a]pyrène, métaux lourds
DÉCHETS DE PILES ET ACCUMULATEURS	50%	cadmium, nickel, plomb et composés	mercure, zinc, 1,2-diméthoxyéthane
MATÉRIAUX MÉLANGÉS, INDIFFÉRENCIÉS	20%	formaldéhyde	dichromate de potassium, DMF, tétrachloroéthylène, toluène
RÉSIDUS DE TRI	0%	-	plomb, HAP, nickel, cadmium, chloroforme, dichlorométhane, hexane, métaux lourds, toluène, tétrachloroéthylène
DÉCHETS MINÉRAUX	50%	silice cristalline, plomb, amiante	chrome VI, arsenic, nickel
RÉSIDUS D'OPÉRATIONS THERMIQUES	0%	-	plomb et composés, cadmium et composés, chrome VI, arsenic et composés, nickel et composés, dioxines, furanes, silice cristalline
TERRES ET BOUES DE DRAGAGE POLLUÉES	0%	-	cadmium et composés, HAP, benzène, benzo[a]pyrène, PCB
DÉCH. SOLIDIFIÉS, STABILISÉS, VITRIFIÉS	-	-	-

Tableau 2 : CMR communs pour les traiteurs et producteurs de déchets d'après Chollot (2007)

Il existe d'autres études spécifiques de caractérisation sur certains déchets, mais elles sont peu nombreuses. Ainsi par exemple, la présence, dans les piles alcalines et salines déchargées, de composés particulièrement toxiques tels que le benzène et l'indium a été mise en évidence par Gérardin *et al.* (2008).

### III. Résultats d'analyse des risques

#### III.1. Etudes réalisées pour les salariés d'industries de déchets

Nous avons noté que les études françaises réalisées pour évaluer les niveaux d'exposition de certaines filières de traitement des déchets sont très récentes. Il s'agit essentiellement de travaux réalisés par l'ADEME (Thoumelin, 2005) et l'INRS (Savary and Vincent, 2007a notamment) avec des campagnes de prélèvements atmosphériques associés.

**Contexte :** Ces études se sont positionnées notamment suite à l'évolution de la réglementation sur le traitement des déchets qui a entraîné le développement de dispositifs de gestion spécifiques à certains déchets avec l'apparition de nouveaux procédés. En effet, la loi n°92-646 du 13 juillet 1992, avec l'échéance qu'elle fixait en juillet 2002, impose de trouver des filières de valorisation afin de limiter l'enfouissement aux seuls déchets ultimes, c'est-à-dire ne pouvant plus être traités dans les conditions techniques et économiques du moment. Pendant les 5 dernières années, de nouvelles réglementations se sont mises en place au niveau européen, transcrites en droit français par la suite concernant la gestion et le traitement des VHU, et dernièrement des DEEE (décrets n°2002-1563 du 24 décembre 2002 ; n°2003-727 du 1<sup>er</sup> août 2003 ; n°2005-829 du 20 juillet 2005).

**Objectif :** Une caractérisation des risques chimiques potentiels a été menée pour quelques opérations dans les filières de traitement des déchets automobiles, des déchets d'équipements électriques et électroniques, des emballages industriels, des déchets toxiques en quantités dispersées et des plumes et des duvets.

**Méthode :** Après une description du procédé, les agents chimiques ont été identifiés et le nombre de salariés potentiellement exposés a été estimé.

**Résultats :** Les principaux résultats sont mentionnés dans le tableau 3 suivant :

Type de déchets traités	Nombre de salariés potentiellement exposés	Agents chimiques à l'origine de l'exposition	Exposition potentielle
Démantèlement de VHU	< 20 000 salariés	Acide sulfurique HAP Benzène hydrocarbures Métaux lourds amiante	+++
Regroupement des DTQD	< 1 000	Solvants Peintures Produits pharmaceutiques Produits phytosanitaires	+++
Recyclage des emballages industriels	849	Agents chimiques contenus dans les emballages Solvant de nettoyage Particules de peintures Vapeurs de solvant contenu dans la peinture	++
Broyage de carcasses de VHU	2 000 salariés	Métaux Fibres textiles Plastiques Caoutchouc Hydrocarbures	++
Valorisation de pneumatiques	< 160 salariés	Composés aromatiques Cétones Styrène HAP Benzothiazole	++
Traitement des filtres à huiles	< 10	Brouillards d'huile Benzène HAP Phénols Phtalates	++
Traitement des tubes cathodiques	80	Métaux Luminophores	++
Traitement des cartes électroniques	40	Métaux précieux Béryllium Plomb	++
Préparation des plumes et des duvets	< 1 000	Poussières Agents pathogènes	++
Démantèlement des DEEE	1 700	Métaux Noir de carbone	+
Traitement des câbles	< 100	Aluminium Cuivre Plastique	+

+++ exposition forte, ++ exposition moyenne, + exposition faible

Tableau 3 : Exposition potentielle en fonction du traitement  
(Savary and Vincent, 2007a)

Les procédés de traitement dans les filières étudiées ont pour la plupart une étape manuelle de contrôle, démantèlement ou dépollution générant des niveaux d'exposition élevés pour les salariés. Les activités dont l'exposition potentielle semble la plus importante sont le démantèlement des véhicules hors d'usage (VHU) et le regroupement des déchets toxiques en quantité dispersée (DTQD), avec une origine liquide pour les déchets dans les 2 cas. Ainsi, comme la dépollution des VHU et le traitement des DTQD sont des opérations manuelles, l'inhalation et le contact cutané sont les 2 principales voies d'exposition.

Pour l'ensemble des opérations de tri, la principale voie de pénétration semble être l'inhalation de poussières ou de vapeurs. Le démantèlement des déchets d'équipements électriques et électroniques (DEEE) est manuel également. Les salariés sont ainsi exposés aux poussières et aux substances toxiques présentes dans les condensateurs ou les tubes cathodiques. Pour les opérations de préparation de plumes et de duvets, l'inhalation de micro-organismes et de poussières est la voie principale d'exposition.

**Conclusion :** L'INRS a conclu pour cette étude que la présence d'agents répertoriés CMR et/ou possédant une valeur limite d'exposition professionnelle (VLEP - voir annexes 4 et 5) comme le plomb, devrait inciter les industriels à réaliser des contrôles réguliers pour vérifier les niveaux d'exposition et mettre en place les mesures de prévention adaptées.

### *III.1.1. Incinération de déchets*

Il existe de nombreuses études sur les émissions atmosphériques dues à la combustion de façon générale, qui montrent notamment la libération de particules (PM<sub>2,5</sub>), HAP dont composés aromatiques nitrés, etc... Citons l'étude récente de Lewtas (2007) qui a rappelé les effets cancérigènes, mutagènes, reprotoxiques et cardiovasculaires ainsi que les effets oxydatifs et autres dommages à l'ADN de ces composés. Cependant, les études portant sur les salariés d'incinérateurs de déchets exposés à des émissions gazeuses dangereuses sont peu nombreuses et sont assez récentes dans la majorité des cas même si certaines évaluations avaient été publiées dès la fin des années 1990 (Stocklov *et al.*, 1999).

Maitre *et al.* (2003) ont évalué les risques pour 19 hommes travaillant près des fours de 2 incinérateurs en les comparant avec un groupe de 17 personnes non exposés professionnellement.

**Méthode :** Des prélèvements d'air (à points fixes près des sources d'émission) et d'urine (avant et après exposition) ont été réalisés en dosant certaines familles de polluants spécifiques (HAP, COV, hydrocarbures chlorés, aldéhydes).

**Résultat :** Aucun dépassement des valeurs réglementaires n'a été observé pour les travailleurs exposés. Cependant, les valeurs atmosphériques en particules et métaux étaient 10 à 100 fois plus importantes pour le groupe exposé que pour le groupe témoin. Les opérations de nettoyage, transfert et d'élimination étaient les sources envisagées pour expliquer la présence de métaux. Concernant les teneurs en HAP, les salariés des incinérateurs n'étaient pas plus exposés que des opérateurs travaillant quotidiennement en contact de fumées émises par des véhicules. Les concentrations en aldéhydes et COV étaient trop faibles pour pouvoir engendrer un risque pour la santé humaine. Les hydrocarbures chlorés étaient les seuls composés chimiques qui pouvaient servir de façon certaine de repère traduisant une exposition à la

combustion de matière plastique. Les teneurs en métaux dans les urines étaient plus élevés pour un des 2 incinérateurs qui était équipé d'un four plus ancien.

**Conclusion :** La conclusion de l'étude était que seules les méthodes de prélèvements atmosphériques permettaient, dans le cadre de contrôle réglementaire, d'identifier les sources d'émission de polluants de façon précise. En effet, les résultats des prélèvements urinaires ne permettaient pas de les identifier de façon systématique, bien que ce type de suivi reste indispensable pour acquérir des données sur des expositions à long terme.

Concernant la mise en évidence d'effets génotoxiques, nous pouvons citer l'étude d'Oh *et al.* (2005) qui ont étudié par comparaison une population de 31 travailleurs d'une UIOM de Corée contre 84 personnes non exposées afin de voir l'impact des HAP. Pour les travailleurs, les taux urinaires de naphthol et d'hydroxypyrene étaient significativement plus élevés (4-6 fois plus) et une atteinte significative de l'ADN des spermatozoïdes et des lymphocytes ont été trouvés. Cette étude a donc montré de façon convaincante les risques génotoxiques de l'exposition des travailleurs des UIOM.

Shih *et al.* (2008) ont enfin travaillé sur 7 groupes de salariés exposés en réalisant des prélèvements atmosphériques sur les individus. Les analyses par diffraction des rayons X réalisées ont montré que le quartz était le seul composé de silice cristalline quantifiable. Entre 87,3 et 100% des salariés des 7 groupes dépassait la valeur limite (TLV-TWA de  $0,025 \text{ mg.m}^{-3}$ ), ce qui a débouché sur la mise en place de mesures correctives immédiates.

### *III.1.2. Traitement et valorisation des DEEE*

Dans le domaine des déchets électroniques, quelques rapports d'études commencent à apparaître étant donné que les appareils électriques et électroniques peuvent contenir de nombreuses substances dangereuses telles le plomb, le cadmium, le mercure, des terres rares, les retardateurs de flamme bromés, les substances halogénés (Andéol *et al.*, 2006).

Peltier et Elcabache (2003) ont évalué l'exposition professionnelle de 380 salariés d'une quinzaine d'entreprises spécialisées dans le retraitement des générateurs électrochimiques.

**Méthode :** Parmi ces entreprises figuraient deux entreprises de tri et préparation avant envoi aux centres de retraitement, sept entreprises de recyclage de piles alcalines et salines, et de piles et accumulateurs nickel-cadmium, cinq entreprises de traitement des batteries au plomb usagées. Des évaluations ont également été effectuées dans une entreprise de fabrication de piles salines « sans mercure », qui emploie 180 travailleurs.

**Résultats :** Ces investigations ont montré: ■ qu'un risque important d'exposition au plomb existe dans les phases de broyage et de fusion des batteries au plomb usagées; ■ que le risque d'intoxication par le mercure est potentiel, lors de la mise en oeuvre des procédés pyrométallurgiques qui permettent de traiter simultanément d'autres déchets mercuriels que les piles usagées; que lors du traitement des accumulateurs nickel-cadmium, l'épuration de l'air des ateliers est peu efficace et doit être améliorée.

**Conclusion :** Pour cette étude, les 2 chercheurs de l'INRS ont conclu que « le port permanent de masques à air filtré est une solution qui doit rester temporaire, le piégeage à la source des émissions de fumées et poussières de cadmium étant la mesure de prévention à mettre en place le plus rapidement possible ».

Gérardin (2003 et 2004) a mis en évidence dans un établissement de revalorisation de piles une exposition des salariés à des produits organiques dangereux dont la présence n'était pas connue par des campagnes de prélèvements atmosphériques. Du benzène a été mesuré à des niveaux préoccupants. Cette présence anormale serait, selon l'INRS, vraisemblablement due à l'imprégnation par le benzène du noir de carbone contenu dans la cathode des piles alcalines-salines de certaines marques. La présence d'éthylène glycol diméthyl éther (EGDME) a également été mise en évidence et pourrait s'expliquer par le broyage de piles au lithium non triées au préalable. L'INRS étudie les procédés d'extraction de ces substances qui pourraient être mis en place dans ces établissements.

Les campagnes de prélèvements atmosphériques de l'étude de Savary et Vincent (2007a) ont montré des résultats supérieurs aux valeurs moyennes d'exposition (VME) pour le plomb, le cadmium et le nickel respectivement à hauteur de 50, 49, et 28%. La recherche de fer et de zinc n'a pas montré de résultats significativement supérieurs aux VME pour toutes les entreprises de traitement des DEEE considérées.

Cette étude a été complétée par l'évaluation spécifique des niveaux d'exposition professionnelle aux composés métalliques lors du traitement des écrans (Savary *et al.*, 2008).

**Méthode :** Des prélèvements d'air ont été réalisés dans deux établissements de démantèlement des DEEE et dans deux établissements dépolluant les tubes cathodiques. Une analyse de la poussière déposée sur les installations a permis de déterminer les métaux présents dans l'atmosphère de travail. L'empoussièrement, ainsi que les concentrations en métaux — plomb, cadmium, baryum, fer, etc. — ont été mesurés.

**Résultats :** Les poussières sont constituées d'un mélange de métaux tels que le plomb, le cadmium, le baryum ou le fer. Ces éléments provenant essentiellement de la manipulation du verre se trouvent

probablement sous forme d'oxydes métalliques. Quelle que soit l'activité de l'établissement, l'empoussièrement est identique. En revanche, les concentrations en plomb dépendent de la nature du poste de travail. Elles sont plus élevées lors de la dépollution du tube cathodique avec 60 % des valeurs supérieures à la VME (100 µg/m<sup>3</sup>). Ce métal est contenu sous forme d'oxyde dans le verre du cône.

L'étude épidémiologique de Chan *et al.* (2007) a montré le risque d'exposition à des polychloré-dibenzo-p-dioxines et à des dibenzofuranes qui pourraient également induire un risque pour la progéniture des salariés exposés. De même, l'étude de Qu *et al.* (2007) a été réalisée d'une part sur une population située à moins de 50 km d'une usine de démantèlement de DEEE et d'autre part sur les salariés exposés. Les déterminations de taux de congénères d'éthers diphenyl polybromés dans le sérum pour les 2 groupes ont montré dans les 2 cas une nette augmentation par rapport à une population non exposée. Les taux déterminés pour les salariés ont été trouvés entre 11 et 20 fois supérieurs à ceux des riverains du site de démantèlement. Sung *et al.* (2007) ont également étudié les populations d'anciennes salariées d'un site de déchets électroniques. Ces femmes, exposées pendant plus de 23 ans aux déchets dangereux et notamment à des solvants de la famille des alcanes et alcènes chlorés dont surtout le trichloréthylène, ont un niveau de risque de cancer du sein plus important que le reste de la population.

Nous voyons donc que pour le traitement et la valorisation des DEEE, de nombreuses substances sont susceptibles d'être présentes dans les atmosphères de travail (voir Tableau 6 récapitulatif) dont certaines (plomb, cadmium, nickel, benzène notamment) génèrent des niveaux de risque préoccupants pour l'exposition des travailleurs. De plus, les procédés de démantèlement manuels mis actuellement en œuvre pour le traitement des DEEE, ne pourront répondre aux besoins futurs liés à l'augmentation du gisement national de déchets traités. Cette mécanisation du traitement risque de modifier l'exposition aux agents chimiques des travailleurs de cette filière qui est donc particulièrement à suivre dans les prochains temps.

#### *III.1.3 Secteur du nettoyage et de recyclage de fûts d'origine industrielle (Savary and Vincent, 2007a) :*

Les toxiques recherchés étaient les métaux (plomb) et les COV (xylène, toluène, isobutyle, méthyléthylcétone, acétate de n-butyle, 4-méthylpentan-2-one, acétate de n-butyle, 4-méthylpentan-2-one, acétate d'éthyle) et HAP. Les études statistiques ont montré que le plomb était le seul élément pouvant générer des expositions supérieures à la VME dans 37,21% des cas.

#### *III.1.4. Secteur de la récupération de matériaux non métalliques recyclables (papiers, textiles, caoutchouc, plastiques....) (Savary and Vincent, 2007a) :*

Le taux d'empoussièrement (poussières inhalables) a montré des niveaux d'exposition élevés.



III.1.5. Regroupement des déchets dangereux diffus (Savary and Vincent, 2007b) :

Une caractérisation des risques potentiels a été faite pour certaines opérations (Tableau 4) :

Etape de la gestion	Exposition respiratoire	Exposition cutanée
Collecte	+	++
Lavage des fûts	++	+++
Prise d'échantillon	+++	++
Broyage	+++	+++
Reconditionnement	++++	++

+ : Exposition faible.                      +++ : Exposition moyen fort.  
++ : Exposition moyen faible.            ++++ : Exposition forte.

Tableau 4: description de l'exposition potentielle par voies respiratoires et cutanée aux différentes étapes de la gestion des déchets dangereux diffus (Savary and Vincent, 2007b)

Les salariés concernés par ce type d'exposition en France seraient estimés entre 4000 et 5000 au niveau national selon l'INRS.

Le Tableau 5 suivant affine la caractérisation en confrontant les modes opératoires avec les moyens de prévention mis en place.

		Déchets	Mode opératoire	Exposition potentielle	Moyen de prévention
Liquides organiques et minéraux	V K 60 L	Solvants chlorés, non chlorés Hydrocarbures Eau à forte DCO Acides forts Acides faibles Bases fortes Bases faibles	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Versement manuel dans une citerne de 100L ou un fût de 200L en fonction de la nature (acide, base, solvants chlorés, non chlorés) ;</li> <li>• Broyage des petits emballages contenant encore les liquides ;</li> <li>• Simple tri et regroupement des emballages sans reconditionnement.</li> </ul>	Vapeurs de solvants, d'hydrocarbures, acides, composés volatils	Buse aspirante à l'ouverture de la citerne, aucune protection lors de l'ouverture des bidons
	V 7 200 L	Liquides de refroidissement ...	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pompage vers des cuves de plus grande capacité ;</li> <li>• Dépotage à l'aide d'un chariot élévateur ;</li> <li>• Pompage des solvants et regroupement par lots sans reconditionnement des liquides minéraux.</li> </ul>		Cabine ventilée Hotte aspirante et uniquement regroupement des solvants  Masque à cartouche Masque à respiration assistée
Pâteux	V K 60 L		<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aucun dépotage, tri et broyage avec les solides ;</li> <li>• Dépotage des pots de peintures dans des fûts.</li> </ul>	Vapeurs de solvants	Aucune protection Buse aspirante à l'ouverture de la citerne, aucune protection lors de l'ouverture des bidons
	V 7 200 L	Boues de peintures Peintures Boues de procédés ...	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pompage de la phase liquide et dépotage des boues à l'aide d'un chariot élévateur ;</li> <li>• Procédé automatisé : chargement des fûts sur une chaîne de dépotage, découpe automatique du fond des fûts et déversement des boues dans une trémie. L'opérateur n'intervient que sur les fûts à ouverture totale pour enlever le couvercle.</li> </ul>		Masque à cartouche ou Masque à respiration assistée pour l'aspiration de la phase liquide Pas de protection
Solides		Emballages souillés Chiffons Médicaments Déchets solides ....	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Broyage piloté par radio commande par 1 opérateur se trouvant à proximité. Il est situé sous un auvent ;</li> <li>• Broyage piloté à partir d'une cabine. Il est alimenté directement par un grappin. Il est placé dans un hangar dans lequel est également réalisé le mélange des résidus de broyage avec la sciure ;</li> <li>• Broyage avec un broyeur placé dans un local fermé. L'alimentation se fait via un monte-charge et la conduite de l'installation se fait à partir d'une salle de commande.</li> </ul>	Poussières Sciures de bois Vapeurs de substances chimiques volatiles (solvants, hydrocarbures...)	Pas de protection

Tableau 5 : description des différents procédés de regroupement et des moyens de prévention mis en œuvre pour limiter les expositions aux substances chimiques (Savary and Vincent, 2007b).

### III.1.6. Bilan des études (identification des CMR) pour les travailleurs

Le tableau 6 ci-dessous est un récapitulatif des principales études mentionnées pour les travailleurs.

Type d'activités	Type de CMR mis en évidence
<i>Exposition potentielle pour les principales filières de traitement</i>	
- Thoumelin, 2005 (ADEME)	voir tableau 3
<i>Incinération</i>	
- Maitre et al., 2003	Métaux, poussières, HAP, hydrocarbures chlorés, COV, aldéhydes
- Shih et al., 2008	Silice cristalline
- Oh et al., 2005	HAP (Effets génotoxiques)
<i>Traitement et valorisation des DEEE</i>	
- Andéol et al., 2006 (INRS)	Plomb, cadmium, mercure, terres rares, retardateurs bromés, substances halogénées
- Peltier et Elcabache, 2003 (INRS)	Plomb, mercure
- Gérardin, 2003 et 2004 (INRS)	Benzène, EGDME
- Savary and Vincent, 2007a (INRS)	Plomb, Cadmium, Nickel
- Savary et al., 2008 (INRS)	oxydes de plomb, cadmium, barium, fer
- Chan et al., 2007	polychloré-dibenzo-p-dioxines et dibenzofuranes
- Qu et al., 2007	éthers diphényls polybromés
- Sung et al., 2007	alcanes et alcènes chlorés (trichloréthylène)
<i>Nettoyage, recyclage de fûts d'origine industrielle</i>	
- Savary and Vincent, 2007a (INRS)	Plomb, HAP, COV
<i>Récupération de matériaux non métalliques recyclables</i>	
- Savary and Vincent, 2007a (INRS)	Poussières
<i>Regroupement DDD</i>	
- Savary and Vincent, 2007b (INRS)	COV, HAP, poussières (bois)
<i>Stockage des OM</i>	
- Hours et al., 2001 (RSD) voir III.2.1.	COV, HAP, poussières totales, manganèse

Tableau 6 : Récapitulatif des CMR identifiés pour les salariés d'industries du déchet selon le secteur d'activités

### III.2. Etudes réalisées pour les populations voisines d'industries de déchets

De façon générale, les méthodologies mises en place pour étudier les impacts de sites industriels traitant ou stockant des déchets avec les risques de contamination sur les populations avoisinantes sont des modèles mathématiques (modélisation par la méthode d'évaluation quantitative des risques sanitaires essentiellement). Liu *et al.* (2004) ont par exemple réalisé une étude d'impacts de ce type en étudiant le risque de contamination par les eaux du sous-sol.

#### *III.2.1. Etudes de populations vivant à proximité de sites pollués par des déchets d'activités industrielles*

Les études sont assez controversées. Ainsi, l'étude de Tsai *et al.* (2006) a comparé l'excès de risque de développer des tumeurs de Wilm pour des populations établies à proximité (un demi-mile) de déchetteries industrielles à celui associé à l'utilisation de produits domestiques courants tels que des shampoings, huiles de moteur, peintures et pesticides. Des interviews ont été réalisées pour 303 personnes qui ont eu ce diagnostic posé entre 1992 et 1995, dans 6 états différents. Les réponses obtenues ont été croisées avec les données de l'agence de protection environnementale (Environmental Protection Agency, EPA). Les résultats ont montré une élévation des cas de tumeurs seulement dans le cas de l'utilisation de produits chimiques domestiques courants. L'étude conclut que les cancers ne sont donc pas dus à la présence de sites industriels ayant été contaminés par des déchets.

Brender *et al.* (2008) ont étudié différentes tranches d'âge de mères exposées à des vapeurs de solvants et des métaux générés par des déchetteries industrielles.

**Méthode :** Une étude épidémiologique a été réalisée en déterminant les risques relatifs rapprochés pour 2099 naissances enregistrées avec des anomalies chromosomiques, en prenant un groupe témoin de 4368 naissances sans anomalies.

**Résultats :** L'étude a montré des relations entre la proximité des sites industriels générant ce type de pollution (distance de 1 mile et moins) et les anomalies chromosomiques constatées chez la progéniture pour les mères les plus âgées (35 ans et plus).

De même, Burra *et al.* (2006) ont étudié l'augmentation du taux de prématurité chez les mères à proximité des sites pollués par les déchets d'activités industrielles à Sydney (Canada). Dans cet article, les auteurs effectuent une revue de la littérature qui leur permet de conclure à l'existence d'une possible association entre expositions chroniques aux déchets industriels et risque de petits poids à la naissance et/ou prématurité. Les résultats de leur étude concordent avec les autres études. La proximité du lieu de

résidence des parents aux sites industriels n'a pas d'impact sur le poids des nouveaux-nés à la naissance. En revanche, le taux de prématurité est plus élevé à proximité des sites. Toutefois, cette association et les résultats de cette étude doivent être pris avec précaution notamment car les données proviennent d'entretiens avec les mères avec un taux de réponse relativement bas pour l'étude (50%).

### III.2.2. Proximité de centres de stockage

Les premières approches méthodologiques de l'évaluation des risques pour la santé des déchets stabilisés ont été réalisés dans les années 1990 par le réseau Santé Déchets (Zmirou *et al.*, 1999). Une approche pluridisciplinaire plus récente (Hours *et al.*, 2001), établie en plusieurs étapes, a été conçue par le même réseau afin de quantifier les polluants présents sur des sites de stockage d'ordures ménagères et dans l'environnement proche.

**Méthode :** La méthode a été appliquée à 2 sites de stockage d'ordures ménagères : (1) métrologie chimique et microbiologique des sources d'émission (2) métrologie des polluants sélectionnés et des microorganismes aux postes de travail et en ambiance ainsi qu'en périphérie immédiate et à proximité des premières habitations (3) mesures de ces mêmes polluants dans les lichens présents sur les sites ou transplantés (4) étude expérimentale en laboratoire sur des rats au contact des sols prélevés sur les 2 sites (5) étude des paramètres de santé et de l'existence ou non de troubles chez les salariés des sites comparés à des salariés non exposés issus d'autres activités.

**Résultats :** Les principaux résultats concernant l'exposition chimique ont été les suivants :

- COV : présents sur l'alvéole en exploitation, à des niveaux faibles
- HAP particuliers : niveaux de l'ordre observé en milieu urbain
- Poussières
  - Totales : niveau élevé
  - Alvéolaires : niveau faible
- Métaux : le manganèse est le plus représenté (trouvé dans les lichens)

Toutes les concentrations déterminées sur site et à proximité des sites sont faibles dans l'ensemble.

Les salariés présentaient des symptômes d'atteinte irritative ou immunoallergique des voies respiratoires et du revêtement cutanéomuqueux (sans perturbation des voies respiratoires). Le test génotoxique des comètes a indiqué une atteinte transitoire et compatible avec l'inhalation de COV.

L'étude de l'InVS/AFSSET /ADEME (2004) a proposé des résultats d'évaluation des risques par typologie de centres de stockage (classes I, II et III) en 5 catégories selon les différents niveaux de rejets de polluants identifiés au préalable (liés aux moyens de prévention/traitement en place). Au final, après calcul, les voies pouvant contribuer à l'exposition des riverains sont : l'ingestion de l'eau, de végétaux

contaminés par les polluants présents (sauf métaux) dans l'eau d'arrosage ou dans l'air ambiant, et, pour les dioxines uniquement, l'ingestion d'œufs et de viande de volaille contaminés. Concernant les risques par inhalation, les ratios de danger montrent que l'hydrogène sulfuré (non classé CMR à ce jour) est le polluant le plus préoccupant sur tous les sites. Comme le souligne l'InVS/AFSSET/ADEME, la rareté des données ou la mauvaise connaissance pour certains sites des déchets admis doit faire prendre les autres résultats avec prudence. Afin d'éclairer plus largement le débat autour des conséquences sanitaires pour les populations riveraines de certains centres de stockage, les analyses des risques sanitaires ont dû être élargies pour des expositions de courtes durées. Des recherches complémentaires sur la perception des odeurs ou encore la survenue d'effets reprotoxiques ont également complété l'étude. Parmi les polluants étudiés dans le cadre des effets survenant après des expositions de courte durée, seul l'hydrogène sulfuré peut entraîner des effets aigus, selon les résultats de cette analyse.

De nombreuses études ont enfin été menées sur les malformations congénitales à proximité des sites d'enfouissement des déchets (Boyle *et al.*, 2004 ; Kloppenborg *et al.*, 2005 par exemple). Les résultats varient d'une étude à l'autre, certaines montrent une association modérément significative, d'autres sont totalement négatives.

### *III.2.3. Proximité d'incinérateurs*

Les études les plus nombreuses traitent de l'étude des risques suivant différentes méthodes pour les populations avoisinantes d'usines d'incinération des déchets (Rabl. *et al.*, 1998 ; Meneses *et al.*, 2004 ; Glorennec *et al.*, 2005 ; Shih *et al.*, 2006 ; Kao *et al.*, 2007 ;. Reis *et al.*, 2007; Zambon *et al.*, 2007).

Au royaume uni, Elliott *et al.* (1992) ont établi le lien de cause à effet entre les cancers du larynx et du poumon et les incinérateurs d'huiles et de solvants.

Dès 2003, l'InVS a publié un rapport d'étude sur l'exposition aux dioxines de la population vivant à proximité des usines d'incinération d'ordures ménagères (UIOM) et avait proposé un protocole d'étude d'exposition. Un premier rapport concernant le lien entre cancer et habitation près d'UIOM a été publié en 2006.

Plusieurs études ont réalisé des études épidémiologiques en fonction de la distance des habitations à l'incinérateur. L'étude rétrospective d'incidence des cancers autour de l'incinérateur de Gilly-sur-Isère (Thabuis *et al.*, 2007), décidée dans un contexte de crise lors de sa fermeture fin 2001, avait pour objectif de déterminer s'il existait un excès de cancers autour de l'installation.

**Méthode** : L'étude s'est faite par le recours à des données administratives et la consultation des dossiers médicaux. En l'absence de registre des cancers en Savoie, elle a consisté à recenser de la manière la

plus exhaustive possible les cancers survenus entre 1994 et 2002 dans la zone d'étude (exposée aux retombées atmosphériques de l'incinérateur) afin de comparer l'incidence observée à celle établie par les registres des cancers français.

**Résultats :** Sur 2845 cancers initialement recensés à partir des données informatiques, 28 % ont été exclus car ils ne répondaient pas à la définition de cas (absence de preuve de cancer, date de diagnostic avant la période d'étude...) ; au final, la base comprenait 2055 cas de cancers. L'objectif principal de l'étude étant de décrire les difficultés rencontrées et les solutions apportées lors du recensement des cancers, les résultats sur la significativité de l'incidence ne sont pas présentés et sont en cours de validation.

Les différentes voies de contamination ont également été envisagées par rapport à ce risque sanitaire. Ainsi par exemple, Cangialosi *et al.* (2008) ont modélisé la contamination aérienne, pédologique et alimentaire pour les polychloro dibenzo dioxines et furanes, le cadmium, le plomb et le mercure.

Les études scientifiques internationales les plus récentes (Moon *et al.*, 2005 ; Tajimi *et al.*, 2005) ont montré que pour des UIOM relativement récentes et fonctionnelles, l'exposition des riverains aux dioxines est faible. Ces résultats vont dans le même sens que les études publiées en France.

Ainsi, une récente étude de l'InVS/ADEME/AFSSET (2008a) concernant l'évaluation des risques pour les riverains d'une UIOM a montré que le risque encouru par la population vivant ou travaillant dans les zones exposées au panache de l'UIOM est faible puisque, notamment pour les cancers, il n'excède pas  $10^{-5}$  pour les métaux lourds et  $1,2 \cdot 10^{-5}$  pour les dioxines. En ne considérant que la voie d'inhalation comme source d'exposition (hypothèse la plus proche de la réalité), le nombre de cancers en excès dans la population exposée aux dioxines émises par l'UIOM serait de 0,037 cas sur 70 ans.

Une autre étude écologique de type géographique de l'InVS/ADEME/AFSSET (2008b), réalisée dans le cadre du Plan cancer 2003-2007, avait le même objectif d'analyse de la relation entre l'incidence des cancers chez l'adulte et l'exposition aux émissions atmosphériques des usines d'incinération d'ordures ménagères.

**Méthode :** L'étude porte sur les cancers diagnostiqués dans le Haut-Rhin, le Bas-Rhin, l'Isère et le Tarn entre 1990 et 1999. Près de 135 000 cas de cancer ont été collectés sur environ 25 millions de personnes-années. L'exposition des unités statistiques (Iris) au cours des années 1970-80 a été quantifiée par une modélisation de la dispersion atmosphérique et du dépôt surfacique accumulé des dioxines émises par 16 incinérateurs.

**Résultats :** Une relation statistique significative est mise en évidence entre l'exposition aux panaches d'incinérateurs et l'incidence, chez la femme, des cancers toutes localisations réunies, du cancer du sein et des lymphomes malins non hodgkiniens. Un lien significatif est également retrouvé pour les lymphomes

malins non hodgkiniens chez les deux sexes confondus et pour les myélomes multiples chez l'homme uniquement.

**Conclusion :** Cette étude ne permet pas d'établir la causalité des relations observées, mais elle apporte des éléments convaincants au faisceau d'arguments épidémiologiques qui mettent en évidence un impact des émissions des incinérateurs sur la santé. Portant sur une situation passée, ces résultats ne peuvent pas être transposés à la période actuelle. Ils confirment le bien fondé des mesures réglementaires de réduction des émissions appliquées à ces installations industrielles depuis la fin des années 1990.

#### III.2.4. Bilan de l'étude des risques pour les riverains

Le tableau 7 ci-dessous résume les résultats des principales études mentionnées précédemment.

Type d'activités	Type de relations ou niveaux de risque mis en évidence
<i>Proximité de sites pollués par des déchets d'origine industrielle</i>	
- Tsai et al., 2006	taux de tumeurs élevé et utilisation de produits chimiques courants
- Brender et al., 2008	relations entre anomalies chromosomiques (progéniture) et proximité des sites (mères)
- Burra et al., 2008	association taux de prématurité, proximité sites (mères)
<i>Stockage</i>	
- Hours et al., 2001	Niveau élevé d'empoussièrément total Utilisation des tests des comètes/inhalation COV
- InVS/AFSSET/ADEME, 2004	Risque H2S
<i>Incinération (études les plus récentes)</i>	
- Thabuis et al., 2007	résultats en cours de traitement
- Moon et al., 2005	niveau d'exposition faible aux dioxines
- Tajimi et al., 2005	idem
- InVS/ADEME/AFSSET, 2008a	idem
- InVS/ADEME/AFSSET, 2008b	lien cancers/UIOM ( <i>non transposable période actuelle</i> )

Tableau 7 : Récapitulatif des études identifiées pour les riverains de sites pollués, stockant ou traitant des déchets industriels



Pour bon nombre d'études sur les populations avoisinantes de sites pollués par des déchets d'activités industrielles, la difficulté de l'interprétation des résultats provient essentiellement de l'obtention délicate de données d'exposition à l'échelon individuel.

Cette difficulté revient également dans les études concernant les sites de stockage (manque d'informations sur les expositions), qui n'apportent donc pas de réponses nouvelles à la question du lien possible de causalité entre effets génotoxiques potentiels et proximité de sites d'enfouissement des déchets.

Pour les incinérateurs de « nouvelle génération », les publications scientifiques récentes ont montré un impact faible.

De façon générale, les études en santé au travail sont dans l'ensemble plus concluantes en terme d'impacts sur la santé que les publications concernant les données en santé publique. Dans le premier cas, des outils de métrologie atmosphérique ont permis de réaliser certaines campagnes (qui restent à approfondir) et d'avoir des résultats quantitatifs, alors que dans le second, les données épidémiologiques sont plus difficiles d'exploitation, notamment du fait de la difficulté d'avoir une traçabilité des réponses à l'échelle individuelle. Nous avons jugé intéressant de mentionner cet aspect de l'impact des CMR sur la santé, étant donné le faible nombre de publications concernant les salariés des déchets et leur plus récente apparition. La réglementation sur les installations classées pour la protection de l'environnement notamment et les problèmes de communication/information avec les riverains ont été largement à l'initiative des études en santé publique, qui ont donc été historiquement les premières réalisées. Ceci renforce également un des principes de la prévention qui est d'identifier tout d'abord par ordre de priorité les risques « à la source » et r'ouvre le débat actuel sur les liens nécessaires entre les études réalisées et les réglementations dans le domaine de l'environnement, la santé publique et de la santé au travail.

#### IV. Références

- ADEME (2002) Bilan environnemental sur les filières de recyclage. *Données de références ADEME*, 38pp.
- ADEME (2007a) ACV des modes de valorisation énergétique du biogaz issu de méthanisation de la fraction fermentescible des ordures ménagères collectée sélectivement en France. *ADEME*, 151pp.
- ADEME (2007b) Les déchets en chiffres. *Données de références ADEME*, 14pp
- Andéol B, Werlé R, Gayet C and Chollot A (2006) La reprise des équipements électriques et électroniques en distribution. *Etude doc INRS 996:14*.
- Bajeat P (2005) Evaluer les impacts environnementaux au moyen de l'ACV. *ADEME*, 50pp.
- Brender J.D, Zhan B.F, Langlois P.H, Suarez L and Scheuerle A (2008) Residential proximity to waste sites and industrial facilities and chromosomal anomalies in offspring. *Internat J Hyg & Environ Health 211*: 50-58.
- Boyle E., Johnson H., Kelly A., MacDonnell R. (2004) Congenital anomalies and proximity to landfill sites. *Ir. Med.J. 97*:16-18.

- Burra T.A., Elliotts J., Eyles J.D, Kanaroglu P.S ; Wainman B.C, Muggah H. (2006) Effects of residential exposure to steel mills and coking works on birth weight and preterm births among residents of Sydney, Nova Scotia. *Can. Geo.* **50**:242-255.
- Cangialosi F, Intini G, Liberti L, Notarnicola M and Stellacci P (2008) Health risk assessment of air emissions from a municipal solid waste incineration plant - A case study. *Waste Manag.* **28**:885-895.
- Chan J.K, Xing G.H, Xu Y, Liang Y, Wu S.C, Leung C.K and Wong M.H (2007) Body loadings and health risk assessment of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans at an intensive electronic waste recycling site in China. *Environ Sci Technol.***15**:7668-7674.
- Chollot A (2007) Etude des composés CMR dans les déchets dangereux. *Hygiène et sécurité du travail, Les Cahiers de notes doc INRS PR 31-209*:73-88.
- Elliott P, Hills M, Beresford J, Kleinschmidt I, Jolley D, Pattenden S, Rodrigues L, Westlake A and Rose G (1992) Incidence of cancers of the larynx and lung near incinerators of waste solvents and oils in Great Britain. *The Lancet* **339**:854-858.
- Gérardin F (2003) Traitement des piles et accumulateurs. Etude de solutions de prévention. *Actes du Colloque "Actualités en Prévention", Nancy, 30 juin - 1er juillet 2003, INRS*,11 pp.
- Gérardin F (2004).Piles et batteries - Pour un recyclage propre. *Travail et sécurité INRS* **640**:12-13.
- Gérardin F, Subra I, Masson A, Elcabache J.M and Morele Y (2008) Mise en évidence du risque chimique associé au retraitement des piles alcalines/salines et caractérisation de leur composition organique et minérale. *Hyg Séc Travail, Les Cahiers de notes doc INRS ND 2284*,8pp.
- Glorennec P, Zmirou D and Bard D (2005) Public health benefits of compliance with current E.U. emissions standards for municipal waste incinerators: A health risk assessment with the CalTox multimedia exposure model. *Environ Internat* **31**:693-701.
- Hours M, Anzivino L, Asta J, Berny P, Billeret M, Maitre An Parat S, Stocklov M, Sarrasin B, Keck G, Perrodin Y (2001) Etude des polluants atmosphériques émis dans deux centres de stockage des ordures ménagères. *Déchets Sciences et Techniques, Soc. Alpine de publications* **24** :38-43.
- INRS (2008) Déchets et risques professionnels. *Dossier web INRS* disponible sur <http://www.inrs.fr>
- InVS/AFSSET/ADEME (2003) Exposition aux dioxines de la population vivant à proximité des UIOM. Etat des connaissances et protocole d'une étude d'exposition. *InVs*, 200pp.
- InVS/AFSSET/ADEME (2004) Stockage des déchets et santé publique. *InVs*, 245pp.
- InVS (2006) Étude d'imprégnation par les dioxines des populations vivant à proximité d'usines d'incinération d'ordures ménagères. Synthèse des résultats. *InVs*,20pp.
- InVS/AFSSET/ADEME (2008a) Étude des risques sanitaires liés au fonctionnement de l'usine d'incinération d'ordures ménagères de la Cacem. *InVs*, 32pp.
- InVS/AFSSET/ADEME (2008b) Incidence des cancers à proximité des usines d'incinération d'ordures ménagères. Exposition aux incinérateurs pendant les années 1970-1980. Résultats définitifs. *InVs*, 139pp.
- Kao W.Y, Ma H.W, Wang L.C and Chang-Chien G.P (2007) Site-specific health risk assessment of dioxins and furans in an industrial region with numerous emission sources. *J Hazard Mater* **145**:471-481.
- Kloppenborg S.C., Brandt U.K, Gulis G., Ejstrud B. (2005) Risk of congenital anomalies in the vicinity of waste landfills in Denmark; an epidemiological study using GIS. *Cent.eur.J.public Health*, **13**:137-143.
- Lewtas J (2007) Air pollution combustion emissions: Characterization of causative agents and mechanisms associated with cancer, reproductive, and cardiovascular effects. *Mutat Res* **636**:95-133.
- Liu L, S.Y. Cheng S.Y.and Guo H.C (2004) A simulation-assessment modeling approach for analyzing environmental risks of groundwater contamination at waste landfill sites. *Human & Ecolog Risk Assess* **10**:373-388.
- Maitre A, Collot-Fertey D, Anzinivo L, Marques M, Hours M, Stocklov M (2003) Municipal waste incinerators: air and biological monitoring of workers for exposure to particles, metals, and organic compounds. *Occup.and Environ. Medecine* **60**:563-569.
- Meneses M, Schuhmacher M and Domingo J.L (2004) Health risk assessment of emissions of dioxins and furans from a municipal waste incinerator: comparison with other emission sources. *Environ Internat* **30** :481-489.
- Miraval S (2008) Produits chimiques cancérigènes, mutagènes, toxiques pour la reproduction. *Etude documentaire INRS* **976**,68pp.

- Moon C.S, Chang Y.S, Kim B.H, Shin D., Ikeda M. (2005) Evaluation of serum dioxin congeners among residents near continuously burning municipal solid waste incinerators in Korea. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* **78**:205-210.
- Mukerjee D and Cleverly D.H (1987) Risk from exposure to polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans emitted from municipal incinerators. *Waste Manag & Res* **5**:269-283.
- Oh E, Lee E, Im H, Kang H.S, Jung W.W, Won N.H, Kim E.M, Sul D (2005) Evaluation of immuno-and reproductive toxicities and association between immunotoxicological and genotoxicological parameters in waste incineration workers. *Toxicology* **210**:65-80.
- Peltier A and Elcabache J.M (2003) Traitement des déchets des piles et accumulateurs usagés : Enquête dans des entreprises spécialisées. *Les Cahiers de notes doc INRS* **192**:5-19.
- Qu W, Bi X, Sheng G, Lu S, Fu J, Yuan J and Li L (2007) Exposure to polybrominated diphenyl ethers among workers at an electronic waste dismantling region in Guangdong, China. *Environ Internat* **33**:1029-1034.
- Rabl A, Spadaro J.V, Mcgavan P.D (1998) Effets sur la santé de la pollution atmosphérique due aux incinérateurs : une perspective. *Déchets sciences et techniques* **9**:4-22.
- RECORD (2008) Suivi des travaux européens pour la caractérisation et la classification des déchets par le critère H14, 74p. n°08-0134/1A
- Région Rhône-Alpes et Agence de l'environnement et de la maîtrise de l'énergie (2005) Le guide Rhône-Alpes de tous les déchets. *CD ROM disponible sur <http://www.sindra.org>*
- Reis M.F, Sampaio C, Brantes A, Aniceto P, Melim M, Cardoso L, Gabriel C, Simão F, Miguel J.P (2007) Human exposure to heavy metals in the vicinity of Portuguese solid waste incinerators – Part 1: Biomonitoring of Pb, Cd and Hg in blood of the general population. *Internat J Hyg & Environ Health* **210**:439-446.
- Savary B and Vincent R (2007a) Caractérisation des risques chimiques potentiels dans quelques filières de traitement des déchets. *Hyg Séc Travail, Les Cahiers de notes doc INRS ND 2271*:59-75.
- Savary B and Vincent R (2007b) Les centres de regroupement des déchets dangereux diffus – caractérisation des risques potentiels. *Hyg Séc Travail, Les Cahiers de notes doc INRS ND 2278*:23-29.
- Savary B, Elcabache J.M and Vincent R (2008) Traitement des écrans et des tubes à rayonnement cathodique : évaluation des niveaux d'exposition aux composés métalliques. *Arch des Maladies Prof Environ, In Press*.
- Shih S.I, Wang Y.F, Chang J.E, Jang J.S, Kuo F.L, Wang L.C and Chang-Chien G.P (2006) Comparisons of levels of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins/dibenzofurans in the surrounding environment and workplace of two municipal solid waste incinerators. *J Haz Mater* **137**:1817-1830
- Shih T.S, Lu P.Y, Chen C.H, Soo J.C, Tsai C.L and Tsai P.J (2008) Exposure profiles and source identifications for workers exposed to crystalline silica during a municipal waste incinerator relining period. *J Hazard Mater* **154**:469-475.
- Stocklov M, Fertey D, Bergeret A, Hours M, Richioud M (1999) Thème n°1 : évaluation du risqué chimique en milieu de travail. Evaluation de l'exposition toxique des salariés d'usines d'incinération d'ordures ménagères. *Arch. Mal. Prof. et Méd. Du travail* **60**:480-482.
- Sung T.I, Chen P.C, Jyuhn-Hsiarn Lee L, Lin Y.P, Hsieh G.Y and Wang J.D. (2007) Increased standardized incidence ratio of breast cancer in female electronics workers. *BMC Public Health* **8**:102.
- Tajimi M, Uehara R, Watanabe M, Oki I, Ojima T, Nakamura Y (2005) Correlation coefficients between the dioxin levels in mother's milk and the distances to the nearest waste incinerator which was the largest source of dioxins from each mother's place of residence in Tokyo, Japan *Chemosphere* **61**: 1256-1262.
- Thabuis A, Schmitt M, Megas F and Fabres B (2007) Retrospective census of cancers between 1994 and 2002 around the municipal solid waste incinerator og Gilly-sur-Isère (France). *Rev Epidemio Santé Publique* **55**:426-432.
- Thoumelin P (2005) Aide à l'identification des risques CMR pour les filières de traitement des déchets – Phase 1 et 2. *ADEME ref. 04-0660/2A*.
- Tsai J, Kaye W.E and Frank J. Bove (2006) Wilms' tumor and exposures to residential and occupational hazardous chemicals. *Internat J Hyg & Environ Health* **209**:57-64.

- Zambon P, Ricci P, Bovo E, Casula A, Gattolin M, Fiore AR, Chiosi F and Guzzinati S (2007) Sarcoma risk and dioxin emissions from incinerators and industrial plants: a population-based case-control study (Italy). *Environ Health* **16**:6-19.
- Zmirou D, Perrodin Y, Navarro A (1999) Stabilisation des déchets et environnement vers l'écocompatibilité des déchets. Approche méthodologique de l'évaluation des risques pour la santé, des déchets stabilisés : application à un scénario **16**:10-13.

**Références réglementaires :**

- Arrêté du 8 juillet 2003 relatif aux critères et méthodes d'évaluation des propriétés de dangers H1 explosif, H2 comburant, H3 inflammable et facilement inflammable d'un déchet. *JO du 2 octobre 2003 et BOMEDD n°03/21.*
- Circulaire du 3 octobre 2002 relative à la mise en œuvre du décret n°2002-540 du 18 avril 2002 relatif à la classification des déchets.
- Décret n°2002-540 du 18 avril 2002 relatif à la classification des déchets. *JO n°93 du 20 avril 2002.*
- Décret n°2002-1563 du 24 décembre 2002 relatif à l'élimination des pneumatiques usagés. *JO n°303 du 29 décembre 2002.*
- Décret n°2003-727 du 1<sup>er</sup> août 2003 relatif à la construction des véhicules et à l'élimination des véhicules hors d'usage. *JO n°179 du 5 août 2003.*
- Décret n°2005-829 du 20 juillet 2005 relatif à la composition des équipements électriques et électroniques et à l'élimination des déchets issus de ces équipements. *JO n°169 du 22 juillet 2005.*
- Directive du Conseil n°67/548/CEE du 27 juin 1967 concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses. *JOCE n°L 196 du 16 AOUT 1967.*
- Loi n°92-646 du 13 juillet 1992 relative à l'élimination des déchets ainsi qu'aux installations classées pour la protection de l'environnement. *JO n°162 du 14 juillet 1992.*



**PARTIE II : CADRE REGLEMENTAIRE DE LA SURVEILLANCE  
DU PERSONNEL  
DANS L'INDUSTRIE DU DECHET**



Comme pour tout secteur d'activité, l'employeur d'une entreprise recevant, stockant ou manipulant des déchets doit veiller au respect des mesures de prévention :

- organisationnelles et techniques telles que précédemment décrite dans la partie I.
- individuelles : la formation, la liste des travailleurs exposés et les fiches d'exposition et la surveillance médicale renforcée.

Dans cette partie, nous allons développer ce 2<sup>ème</sup> point de la réglementation touchant directement à notre étude.

## **I. Salariés exposés et fiches d'exposition (R. 231-54-15 et R. 231-56-10)**

### **I. 1. Liste des salariés exposés**

L'employeur tient une liste actualisée de tous les travailleurs concernés par le suivi individuel. La liste précise la nature et la durée d'exposition, ainsi que le degré d'exposition, tel qu'il est connu par les résultats des contrôles effectués. Un exemple de liste extraite de la circulaire DRT n°12 du 24 mai 20 06 relative aux règles générales de prévention du risque chimique est présenté en annexe 6.

### **I.2. La fiche d'exposition**

Outre son intérêt pour l'évaluation des risques, la fiche d'exposition présente un intérêt pour l'action du médecin du travail dans le cadre de la surveillance médicale renforcée puisque le dossier médical contient le double de la fiche d'exposition.

Pour chaque salarié figurant dans la liste, l'employeur établit une fiche d'exposition comprenant les informations suivantes (un exemple de fiche d'exposition est présenté en annexe 6) :

- nature du travail effectué (descriptif des tâches susceptibles d'être exposantes) ;
- les caractéristiques de produits (liste des agents chimiques concernés, les phrases de risques, les VLEP et VLB si elles existent) ; voir annexes 4 et 5 pour la liste et définition des VLEP
- les périodes d'exposition (durée d'exposition en heures pendant le poste, périodes d'exposition en mois pendant l'année, etc.), ainsi que les équipements de protection collective et individuelle utilisés ;



- la durée et l'importance des expositions accidentelles (date, durée en minutes ou en heures, description de l'évènement ayant causé l'exposition accidentelle) ;
- les autres risques ou nuisances d'origine chimique, physique ou biologique au poste de travail
- les dates et les résultats des contrôles de l'exposition par poste de travail. Ici doivent figurer les résultats des mesures atmosphériques effectuées. L'employeur doit aussi indiquer les résultats globaux des indicateurs biologiques d'exposition que le médecin du travail a obtenus sur le groupe de travailleurs exposés au poste de travail et qu'il lui a transmis dans le respect de l'anonymat.

Une fiche d'exposition doit être aussi préparée pour les salariés qui ont été exposés uniquement lors d'un incident ou d'un accident.

*Pour les travailleurs temporaires*, c'est l'entreprise utilisatrice qui se charge d'établir la fiche d'exposition. En effet, l'article L. 124-4-6 du code du travail dispose que l'entreprise utilisatrice est responsable des conditions d'exécution du travail comprenant ce qui a trait à l'hygiène et à la sécurité.

*Pour les travailleurs d'entreprises extérieures*, c'est le chef de l'entreprise extérieure qui doit établir la fiche d'exposition, car l'article R. 237-2 précise que chaque chef d'entreprise est responsable de l'application des mesures de prévention nécessaires à la protection de son personnel. Cependant le chef de l'entreprise utilisatrice a pour obligation de donner au chef de l'entreprise extérieure toutes les informations concernant la présence d'ACD ou d'agents CMR sur le lieu de travail auxquels les travailleurs de l'entreprise extérieure sont exposés, afin de compléter la fiche d'exposition.

### I.3. Communication de la liste des travailleurs et des fiches d'exposition

Une copie de cette fiche doit être transmise au médecin du travail du salarié pour être conservée dans le dossier médical du salarié. Elle est commentée lors des visites. Chaque salarié doit être informé de l'existence d'une fiche d'exposition le concernant et y avoir accès. Des modalités de consultation adaptées doivent donc être définies par l'employeur. L'agent de contrôle peut demander à se faire présenter la liste des travailleurs exposés et les fiches d'exposition lors de sa visite, comme le prévoit l'article L. 611-9 du code du travail.

Les fiches d'exposition sont tenues à la disposition sous une forme non nominative par poste de travail, du CHSCT ou, à défaut, des délégués du personnel (articles R. 231-54-15 et R. 231-56-10 du code du travail).

#### I.4. Actualisation des documents

La liste des travailleurs exposés et la fiche d'exposition doivent être actualisées lors de tout changement des conditions de travail pouvant affecter l'exposition des travailleurs. L'actualisation de ces documents doit aussi prendre en compte l'évolution des connaissances sur les produits utilisés et il est utile de prévoir un réexamen annuel, concomitant avec la mise à jour du document unique d'évaluation des risques.

La fiche d'exposition étant un instrument de suivi des expositions, elle est renseignée au fur et à mesure des expositions successives et doit être archivée.

## II. Surveillance médicale renforcée (R. 231-54-16 et R. 231-56-11)

Les travailleurs exposés, d'une part, aux ACD pour lesquels l'évaluation des risques a conclu à un risque non faible pour la santé et, d'autre part, aux agents CMR sont soumis à une surveillance médicale renforcée telle que définie aux articles R. 241-49 et R. 241-50 du code du travail. Cette surveillance médicale renforcée comprend des examens périodiques renouvelés au moins annuellement (article R. 241-49), et le médecin du travail est juge de la fréquence et de la nature des examens qu'elle comporte (article R 241-50), tout en respectant les arrêtés fixant des instructions techniques aux médecins du travail, s'ils existent. Pour la majorité des ACD il n'existe pas de protocole médical de surveillance fixé par arrêté.

Les dispositions prévues pour la surveillance médicale renforcée (fiche d'aptitude, examens complémentaires, dossier médical, attestation d'exposition) sont les mêmes pour les ACD qui présentent un risque pour la santé et pour les agents CMR de catégories 1 et 2.

### II.1. Fiche d'aptitude

Les articles R. 231-54-16 et R. 231-56-11 du code du travail précisent que les travailleurs, avant d'être affectés à des travaux les exposant aux ACD qui présentent un risque pour la santé et agents CMR, doivent faire l'objet d'un examen préalable par le médecin du travail. Lors de cette visite, le médecin du travail doit établir une fiche d'aptitude, en application de l'article R. 241-57, attestant que le travailleur ne présente pas de contre-indication médicale à ces travaux. La fiche d'aptitude doit comporter la date de l'étude de poste de travail et celle de la dernière mise à jour de la fiche d'entreprise, prévue à l'article R. 241-41-3. Afin que le médecin se prononce en toute connaissance de cause, la fiche d'aptitude devrait être accompagnée de la liste des produits ou de la fiche d'exposition établie par l'employeur.

La fiche d'aptitude est établie en deux exemplaires, l'un est destiné au salarié et l'autre à l'employeur (article R. 241-57). Le contenu de la fiche d'aptitude peut être contesté par l'employeur ou le travailleur dans les 15 jours qui suivent sa délivrance auprès de l'inspecteur du travail, qui statue après

avis du médecin inspecteur régional du travail et de la main d'oeuvre (MIRTMO). Cette fiche d'aptitude doit être renouvelée au moins une fois par an, après examen par le médecin du travail.

## II.2. Contre-indication médicale

Il s'agit d'une protection supplémentaire pour le salarié, conçue et entendue comme telle dès l'origine (années 1980) par les pouvoirs publics, les médecins et les partenaires sociaux.

Les articles R. 231-54-16 et R. 231-56-11 du code du travail ont pour objet de limiter le risque, en confiant au médecin du travail le soin de s'assurer que le travailleur ne présente pas de contre-indication médicale aux travaux impliquant l'exposition à des agents chimiques les plus dangereux. Dans le respect de sa mission de prévention (article L. 241-2), le médecin du travail a la possibilité, mais aussi le devoir d'écartier un sur risque pour la santé des travailleurs.

Comme le confirme la décision du Conseil d'Etat du 9 octobre 2002, cette fiche d'aptitude vise donc à confier au médecin du travail le soin de déceler les risques particuliers à certains salariés et d'éviter ainsi que les personnes les plus vulnérables soient exposées à des ACD qui présentent un risque pour la santé et à des agents CMR. Cette fiche ne transfère pas au médecin du travail la responsabilité de l'employeur en matière de protection de la santé des travailleurs.

## II.3. Suivi médical

Le médecin du travail doit pratiquer un examen clinique général et, selon la nature de l'exposition et la nature du risque, il peut pratiquer des examens spécialisés complémentaires. Les cas où le médecin du travail peut prescrire des examens complémentaires sont indiqués à l'article R. 241-52 du code du travail :

- détermination de l'aptitude médicale et notamment du dépistage des affections comportant une contre indication au poste de travail ;
- dépistage des maladies à caractère professionnel ;
- dépistage des maladies dangereuses pour l'entourage.

La surveillance médicale des travailleurs doit être poursuivie après l'arrêt de l'exposition à des ACD ou des agents CMR. Si le travailleur est toujours en activité professionnelle, c'est le médecin du travail qui assure la surveillance post-exposition sur la base de l'article R. 241-52, en prescrivant des examens complémentaires nécessaires au dépistage de maladies professionnelles.

## II.4 Dossier médical

Le médecin du travail constitue et tient, pour chacun des travailleurs exposés, un dossier individuel contenant le double de la fiche d'exposition prévue aux articles R. 231-54-15 et R. 231-56-10 du code du travail, la date et les résultats des examens complémentaires. Ce dossier est à conserver pendant 50 ans au moins après la fin de la période d'exposition, même après le décès du salarié.

Ce dossier est communiqué au médecin inspecteur régional du travail et de la main d'œuvre (MIRMTO), sur sa demande et avec l'accord de l'intéressé, et peut être adressé, toujours avec l'accord du travailleur, au médecin choisi par celui-ci. Le travailleur doit toujours être informé des transferts de son dossier médical, notamment dans le cas où l'établissement disparaît et que le dossier est alors transféré au MIRMTO.

De plus, le salarié a un accès direct à l'ensemble des éléments constituant son dossier médical (article L. 1111-7 du code de la santé publique). Il peut donc demander une copie de son dossier médical au médecin du travail.

## II.5. Attestation d'exposition

Une attestation d'exposition aux ACD qui présentent un risque pour la santé et aux agents CMR doit être remplie par l'employeur et le médecin du travail. Elle est remise au travailleur à son départ de l'établissement, quel qu'en soit le motif.

L'attestation d'exposition doit contenir obligatoirement les informations concernant l'exposition postérieure à l'entrée en vigueur du décret du 1er février 2001 (CMR) et du 23 décembre 2003 (ACD).

Concernant l'exposition antérieure, il est vivement recommandé d'y faire figurer toutes les informations à la disposition de l'employeur et du médecin du travail, en s'appuyant sur les dispositions réglementaires qui étaient opposables à l'époque de l'exposition.

Un modèle d'attestation d'exposition aux agents cancérogènes est prévu par l'arrêté du 28 février 1995. De plus, l'arrêté du 6 décembre 1996 fixe le modèle particulier d'attestation d'exposition à remettre aux travailleurs ayant été exposés à l'amiante. Pour les autres agents chimiques dangereux, il est recommandé de suivre le modèle prévu pour les agents cancérogènes.

Cette attestation d'exposition facilite le suivi post-exposition et post-professionnel de toute personne qui a été exposée à des ACD qui présentent un risque pour la santé ou à des agents CMR lors de sa vie professionnelle, et présente un intérêt pour la reconnaissance des maladies professionnelles. De plus, cette attestation permet aux travailleurs exposés à des agents cancérogènes lors de leur activité salariée de bénéficier, s'ils sont inactifs, d'un suivi médical post-professionnel pris en charge par la Caisse primaire d'assurance maladie (article D. 461-25 du code de la sécurité sociale).

En cas de désaccord entre le médecin du travail et l'employeur sur l'attestation d'exposition, le médecin du travail peut délivrer à l'intéressé un certificat dont l'organisme de sécurité sociale peut tenir compte, en diligentant le cas échéant une enquête (circulaire CNAMTS du 31 janvier 1996).

#### II.6. Surveillance médicale pour les travailleurs exposés au plomb

L'article R. 231-58-6 du code du travail précise que la surveillance médicale renforcée des travailleurs est obligatoire si :

- l'exposition à une concentration en plomb dans l'air est supérieure à 0,05 mg/m<sup>3</sup> (temps de référence de 8 heures) ;
- ou si la plombémie est supérieure à 200 µg de plomb par litre de sang pour un homme et 100 µg de plomb par litre de sang pour une femme.

### III. Aspects préventifs chez les industriels des déchets

La prévention des risques professionnels dans les activités liées aux déchets s'appuie sur une démarche dont les principes généraux sont édictés par le Code du travail (article L. L. 4121-2). Cet article pose les principes généraux de la démarche de prévention qui sont :

- éviter les risques
- évaluer les risques qui ne peuvent être évités
- combattre les risques à la source
- adapter le travail à l'homme
- planifier la démarche de prévention
- prendre les mesures de protection collective en leur donnant priorité sur les mesures de protection individuelle
- former et informer les salariés sur les risques et leur prévention

Dans l'évaluation des risques, l'étape d'identification des risques nécessite un repérage des dangers présentés par les agents chimiques mais aussi celui de toutes les situations dangereuses et de toutes les expositions susceptibles d'exister.

Les articles R. 231-54-2(I) et R. 231-56-1 du code du travail précisent quels éléments doivent être intégrés dans l'évaluation du risque chimique.

Pour assurer l'évaluation des risques, l'employeur prend en compte notamment :

- les propriétés dangereuses des agents chimiques présents sur les lieux de travail, en particulier les propriétés toxicologiques des agents mais aussi leurs propriétés physico-chimiques ;
- les informations relatives à la santé et à la sécurité communiquées par le fournisseur des agents chimiques en application des articles R. 231-51, R. 231-53 et R. 231-53-1 ; c'est à dire l'information contenue sur les étiquettes des récipients des produits chimiques et les fiches de données de sécurité (cf. circulaire DRT n°13 du 24 mai 2006 relative à l'emballage et l'étiquetage des substances et préparations chimiques ainsi qu'à la fiche de données de sécurité) ;
- la nature, le degré et la durée de l'exposition ; il importe de rappeler que toutes les voies de pénétration (cutanée, par inhalation, par ingestion) doivent être prises en compte dans l'évaluation des risques.

Le degré d'exposition est le niveau de l'exposition donné par une méthode simplifiée (ex : faible, moyen, fort) ou bien un niveau chiffré tel qu'un résultat ou un pourcentage de VLEP. Les résultats des contrôles des VLB ou des indices biologiques d'exposition peuvent servir si les résultats ont été transmis de manière anonyme par le médecin du travail ;

- l'analyse des modalités d'exposition des salariés. Elle repose notamment sur l'analyse des situations de travail, des postes de travail et des conditions dans lesquelles se déroulent les activités impliquant des agents chimiques ; cette analyse du travail réel doit nécessairement s'appuyer sur la connaissance qu'ont les salariés de leur activité et de leurs postes de travail ;
- l'effet des mesures de prévention prises ou à prendre sur le risque chimique ;
- les conclusions fournies par le médecin du travail, obtenues grâce à son activité de prévention sur le milieu de travail et à la surveillance médicale. Il peut aussi jouer un rôle dans l'évaluation des informations disponibles concernant les dangers des agents chimiques ;
- les valeurs limites d'exposition professionnelle (VLEP) et les valeurs limites biologiques (VLB) ;

En complément de ces éléments l'employeur peut s'appuyer sur les éléments qui lui ont servi à réaliser l'évaluation des risques conformément à l'article L. 230-2 du code du travail c'est à dire :

- l'analyse des risques effectuée par le CHSCT en application de l'article L. 236-2 du code du travail ;
- la fiche d'entreprise établie par le médecin du travail consignant l'ensemble des risques professionnels en application de l'article R. 241-41-3 du code du travail ;
- la déclaration à la CPAM et à l'inspection du travail, effectuée par l'employeur lorsqu'il utilise des procédés de travail susceptibles de provoquer des maladies professionnelles, en application de l'article L.461-4 du code de la sécurité sociale.

Toutefois, dans la pratique, dès lors qu'il y a exposition ou risque d'exposition à un agent CMR de catégorie 1 ou 2, l'évaluation des risques doit conclure à un risque pour la santé et la sécurité des travailleurs (Circulaire DRT n°13 du 24 mai 2006). Par exemple, si des mesures atmosphériques mettent en évidence l'exposition d'un travailleur à un agent CMR, même à un niveau inférieur à la VLEP, l'évaluation des risques doit conclure à l'existence d'un risque. L'alinéa 2 de l'article R. 231-54-5 prévoit une possibilité pour l'employeur de déroger à l'application des articles R. 231-54-6 à R.231-54-16, en cas de risque faible (ou risque « acceptable » selon la dénomination proposée par les industriels interrogés pour cette étude). Il est important de préciser que la notion de risque faible ne peut découler que de l'évaluation des risques et qu'elle n'est pas figée dans le temps. En effet, elle doit être examinée à l'occasion de chaque mise à jour de l'évaluation des risques (qui doit intervenir régulièrement, au moins une fois par an). L'employeur peut conclure que le risque est faible si les 2 conditions suivantes sont remplies de manière cumulative : 1) les quantités d'agents chimiques dangereux présentent un risque faible pour la santé et la sécurité des travailleurs 2) les mesures de prévention prévues aux articles L.230-2 et R.232-54-3 du code du travail sont suffisantes pour réduire le risque au niveau le plus bas et aboutir à un risque faible.

Lorsque l'application de la substitution n'est pas possible ou n'a pas permis d'éliminer le risque, l'employeur doit faire en sorte que l'exposition liée aux ACD et aux agents CMR de catégorie 1 ou 2 soit *réduite au minimum*. Par ordre de priorité, il met en place les mesures de prévention d'ordre technique suivantes :

a) Travail en système clos.

Remarque : Il subsiste toujours un risque résiduel d'exposition en système clos, notamment pour les opérations de maintenance ;

b) Mise en place de mesures efficaces de protection collective à la source du risque ;

c) Enfin, lorsque toutes les autres mesures d'élimination ou de réduction s'avèrent insuffisantes et/ou impossibles à mettre en oeuvre, l'employeur doit fournir des équipements de protection individuelle (EPI) adaptés et s'assurer de leur port effectif (chapitre 5.2) ; la mise en place de moyens de protection collective est toujours prioritaire.

La démarche de prévention doit être adaptée aux spécificités de la filière déchet considérée. Chaque filière présente des particularités qui rendent complexe la mise en oeuvre de cette démarche (INRS, 2008) ; il faut notamment considérer les notions suivantes :

- salariés « multitâches » affectés à plusieurs activités différentes (multi-exposition),

- petites entreprises employant du personnel peu ou pas qualifié ou insuffisamment formé,
- méconnaissance ou complexité du déchet entrant dans la filière de traitement
- métiers, technologies / procédés, ou organisation en évolution permanente (s'adaptant à la nature du déchet),
- activités qui s'implantent souvent dans des locaux ou des aménagements existants (dans lesquels il est plus difficile d'intégrer des dispositifs adaptés de protection collective)
- contraintes réglementaires fortes en matière de protection de l'environnement, dont le respect par les entreprises est parfois privilégié au détriment des aspects prévention des risques professionnels.

Dans les activités liées aux déchets comme dans toutes les activités industrielles, la prévention des risques passe prioritairement par des mesures de protection collective. Parmi les actions à mettre œuvre, rappelons quelques principes de base de la prévention adaptés à ces activités particulières.

- Concevoir et aménager les lieux et situations de travail
  - Par l'organisation des espaces de travail : établir un plan de circulation générale en l'adaptant aux flux des déchets à gérer, optimiser les déplacements des engins et des personnes, aménager des postes de travail (plans de travail, circulation aisée autour du poste...)...
  - Par la séparation des zones de stockage des déchets à risque et les zones d'activité
- Aménager ou optimiser le poste de travail :
  - Par la mise en place de captage à la source ou de systèmes de ventilation ou d'aspiration...
  - Par la séparation des vestiaires, sanitaires, lieux de détente, locaux sociaux des sources de nuisances
  - Par la définition des zones à risque (explosion, incendie, rayonnements...), et signalisation des risques à chaque poste de travail avec information du personnel

Les actions de prévention citées peuvent être accompagnées d'autres mesures plus spécifiques.

Citons pour exemple :

- La mise à disposition d'équipements de protection individuelle lors d'opérations ponctuelles (maintenance, travail limité dans le temps...) ou lorsque les mesures de protection collective sont insuffisantes ou difficiles à mettre en œuvre
- La limitation :



- du travail isolé
- du nombre de personnes exposées par la mise en place de mesures de protection collective : mise en œuvre de procédures automatisées ou mécanisées, travail en système clos, encoffrement ou isolement des postes, réduction des sources de bruit généré par les équipements, mise en place sur les équipements à risque mécanique de dispositifs d'arrêt d'urgence (à chaque poste de travail) et de dispositifs de détection humaine, installation de moyens de manutentions mécaniques, limitation des hauteurs de stockage.. L'adaptation des conditionnements de déchets (capacité des conteneurs...) afin de faciliter les opérations de transport, de manutention, de stockage et de manipulation

En ce qui concerne les filières spécifiques et spécialisées, les réponses de prévention peuvent varier et sont adaptées à la structure, à l'organisation ou aux procédés. Dans tous les cas, une évaluation a priori des risques la plus fine possible permet par exemple d'intégrer la prévention dès la conception d'une nouvelle installation, d'un nouveau procédé ou d'une nouvelle organisation.

#### **IV. Références**

Arrêté du 28 février 1995 pris en application de l'article D. 461-25 du code de la sécurité sociale fixant le modèle type d'attestation d'exposition et les modalités d'examen dans le cadre du suivi post-professionnel des salariés ayant été exposés à des agents ou procédés cancérogènes. *J.O. n°69 du 22 mars 1995.*

Arrêté du 6 décembre 1996 portant application de l'article 16 du décret n°96-98 du 7 février 1996 relatif à la protection des travailleurs contre les risques liés à l'inhalation des poussières d'amiante fixant le modèle de l'attestation d'exposition à remplir par l'employeur et le médecin du travail. *J.O. n°1 du 1 janvier 1997.*

Circulaire DRT n°12 du 24 mai 2006 relative aux règles générales de prévention du risque chimique et aux règles particulières à prendre contre les risques d'exposition aux agents cancérogènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction. *B.O. ministère emploi cohésion sociale logement n°6 du 30 JUIN 2006.*

Circulaire DRT n°13 du 24 mai 2006 relative à l'emballage et l'étiquetage des substances et des préparations dangereuses, ainsi qu'à la fiche de données de sécurité (FDS). *B.O. ministère emploi cohésion sociale logement n°6 du 30 JUIN 2006.*

Décret n°2001-97 du 1er février 2001 établissant les règles particulières de prévention des risques cancérogènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction et modifiant le code du travail. *J.O. n°29 du 3 février 2001.*

Décret n°2003-1254 du 23 décembre 2003 relatif à la prévention du risque chimique et modifiant le code du travail. *J.O n°300 du 28 décembre 2003.*

INRS (2008) Déchets et risques professionnels. *Dossier web INRS* disponible sur <http://www.inrs.fr>

## **PARTIE III : RETOUR D'EXPERIENCES DES INTERVIEWS D'EXPERTS INDUSTRIELS**



Nous avons interrogé les industriels et avons obtenu des informations sur les agents CMR potentiels identifiés dans les déchets, les voies d'exposition, la méthodologie d'évaluation des risques chimiques et les résultats de cette évaluation, le référentiel des moyens de prévention appliqué et les moyens de prévention sur site, le suivi en place pour le personnel tant sur le plan chimique (prélèvements d'atmosphère de travail) que biologique. Nous avons également discuté des attentes des industriels et des retombées sociétales que les tests de génotoxicité pourraient avoir. Nous avons enfin abordé quelques aspects financiers pour ce projet.

Une trame d'interview d'experts industriels est donnée à l'annexe 2.

Nous avons contacté en tout 36 personnes pour cette étude (hors membres du comité de suivi RECORD) dont 26 industriels du déchet ont répondu à notre demande.

Nous avons pu distinguer les 4 groupes suivants les sites industriels, selon les types d'opérations réalisées:

*Groupe A* : réponses obtenues pour les sites s'occupant de *collecter les déchets* et effectuant seulement un *tri et pré-traitement des déchets* (2 personnes contactées représentant 1 société)

*Groupe B* : réponses obtenues pour les sites réalisant seulement le *traitement et le stockage* des déchets (4 personnes contactées représentant 2 sociétés)

*Groupe C* : réponses obtenues pour les sites réalisant *toutes les opérations* (collecte, tri, traitement/recyclage/valorisation) (19 personnes contactées représentant 10 sociétés)

*Groupe D* : réponses obtenues pour l'incinération des ordures ménagères (OM) (1 personne contactée représentant 1 société)

Le détail des interviews d'experts est donné en annexe 3 : ci-dessous figurent seulement les conclusions principales de ces échanges.

## **I. Agents CMR identifiés dans les déchets par les industriels :**

Pour l'ensemble des groupes, très peu d'études de dangerosité sont réalisées. La seule piste semble être l'étude des FDS de tous les produits « finis » des producteurs.

## **II. Voies d'expositions :**

Les 2 voies citées sont l'inhalation et le contact cutané pour tous les types d'activité et de déchets.

## **III. Evaluation des risques :**

Les résultats des méthodes d'évaluation des risques, pour la plupart non quantitative, donnent les niveaux de risque les plus importants pour les opérations de reconditionnement (solvants notamment) en première position, puis pour les opérations de tri manuel.

## **IV. Référentiel des préventions préconisées :**

Les normes ISO et la réglementation du code du travail sont les référentiels quasi communs à toutes les entreprises quelque soit le type de déchets. Très peu d'industriels (3) font une veille réglementaire ou préventive via les bases de données CRAM/INRS notamment.

## **V. Système préventif en place :**

Les actions d'information et de formation sont régulièrement menées pour toutes les entreprises. Cependant, même si les protections collectives (captation de polluant à la source) sont généralement mise en place, le port des EPI restent souvent la première priorité de prévention. Les contrôles atmosphériques réalisés viennent a posteriori pour évaluer l'efficacité de la dite protection collective.

## **VI. Suivi de l'exposition dans les entreprises :**

### VI.1. Contrôle atmosphérique :

Seul un quart des entreprises ont réalisé des prélèvements atmosphériques sur le personnel avec des recherches ponctuelles de poussières (non spécifiques, métaux et silice), COV, HAP, BTX. L'ensemble des familles de composés est recherché de façon systématique dans le cadre d'un contrôle continu par une seule entreprise de traitement et de stockage (tous types de déchets).

Les deux tiers des entreprises réalisent un contrôle de l'atmosphère de travail en ambiance parmi lesquelles le tiers des mesures sont réalisées via des études de la CRAM ou de l'INRS. En ambiance, une recherche de composés identiques à ceux sur opérateurs précédemment cités est menée.

### VI.2 Suivi biologique :

Dans la grande majorité des cas, les salariés sont en surveillance médicale renforcée, sans autre examen biologique de réalisé. S'il y a un suivi biologique complémentaire de réalisé, les indices biologiques les

plus recherchés sont d'abord le plomb puis les métaux lourds (cadmium, mercure, chrome VI). Dans un seul cas, un IBE pour le benzène est réalisé pour une entreprise de nettoyage de collecte et d'assainissement de produits pétroliers dans des cuves de clients.

A noter qu'une entreprise est demandeuse de « kit biologique » permettant de cartographier les risques et d'assurer un suivi du personnel à l'échelle du poste de travail, et si possible par famille de déchets.

#### **VII. Retombées sociétales attendues :**

Les entreprises se montrent majoritairement favorable à la mise en place de tests potentiels, à condition d'une mise en évidence certaine de la relation de cause à effets entre une exposition strictement professionnelle à un agent CMR et un résultat positif à un test de génotoxicité.

#### **VIII. Budget annuel pouvant être dégagé pour la mise en place de tests de génotoxicité :**

Des budgets très variables sont annoncés si ceux là sont connus. La fourchette donnée se situe entre 1000 et 10000 euros/ an.



## **PARTIE IV : PRINCIPE DES TESTS DE GENOTOXOCITE**





## I. Définition

Les tests de génotoxicité visent à mettre en évidence l'altération par des composés chimiques ou physiques du matériel génétique (Acide desoxyribonucléique (ADN) et/ou chromosome), pouvant conduire, si les lésions génotoxiques ne sont pas efficacement et correctement réparées par les systèmes enzymatiques adéquats, à des mutations. Ils détecteront donc principalement les lésions de l'ADN et/ou des chromosomes ou ses conséquences (effets phénotypiques de mutation génique). Ils ne visent pas à détecter directement des cellules cancéreuses, mais des cellules normales ayant subi une atteinte ou agression génotoxique. Les marqueurs de génotoxicité diffèrent donc de marqueurs de dépistage du cancer ou marqueurs tumoraux (calcitonine, antigène prostatique spécifique, alpha-foetoprotéine...), qui sont des substances (protéines) produites principalement par les cellules cancéreuses, que l'on retrouve dans le sang et qui peuvent ainsi permettre la détection (et le suivi) d'un cancer établi avant l'apparition de signes cliniques grâce à un dosage sanguin. Ces marqueurs tumoraux utilisés sont de plus généralement des marqueurs biochimiques témoignant du métabolisme des cellules tumorales, sans lien direct avec la génotoxicité. L'analyse de ces marqueurs de dépistage précoce des cancers n'a par conséquent pas été incluse dans la présente étude.

## II. Rappel sur la génotoxicité

Le terme de génotoxicité se réfère à l'effet d'agents, dits génotoxiques, qui interagissent avec l'ADN et/ou la machinerie cellulaire qui maintient l'intégrité du génome. Il s'agit notamment des radiations ionisantes, capables de provoquer directement des dommages et cassures à l'ADN, et des substances chimiques, souvent électrophiles, qui directement ou après bioactivation par des systèmes enzymatiques adéquats, vont se lier à l'ADN pour former des adduits (Figure 2). Ces adduits vont pouvoir être responsables de cassures et de pontage de l'ADN, d'erreurs de réplication et de substitution de bases. Ces lésions de l'ADN peuvent conduire à la mort cellulaire si les dommages sont très importants mais elles peuvent aussi être réparées par la machinerie cellulaire et il n'y aura alors pas de conséquence pour la cellule. Si la réparation est imparfaite, incomplète ou absente, les lésions vont alors conduire à des mutations, qui sont permanentes et irréversibles, et qui peuvent impliquer des gènes individuels (mutation génique), des blocs de gènes (mutation génomique) ou des chromosomes (mutation chromosomique). Les mutations conduisant à des cassures des chromosomes sont appelées clastogènes tandis que celles se traduisant par des anomalies de la ségrégation chromosomique sont appelées aneugènes.

Ces mutations peuvent ensuite être à l'origine des premières étapes de la cancérogénèse, notamment si elles concernent des gènes impliqués dans la prolifération et la survie cellulaire ; alternativement, elles peuvent être sans conséquences néfastes directes pour l'organisme. Un effet génotoxique n'est donc pas synonyme d'effet mutagène et encore moins d'effet cancérogène, ce qui illustre bien que les tests de génotoxicité diffèrent des tests de dépistage de cancers basés sur la

détection précoce de marqueurs tumoraux. De plus, il est important de rappeler que, si les substances cancérigènes sont souvent génotoxiques, il existe cependant des cancérigènes non génotoxiques (Bolt *et al.*, 2004).

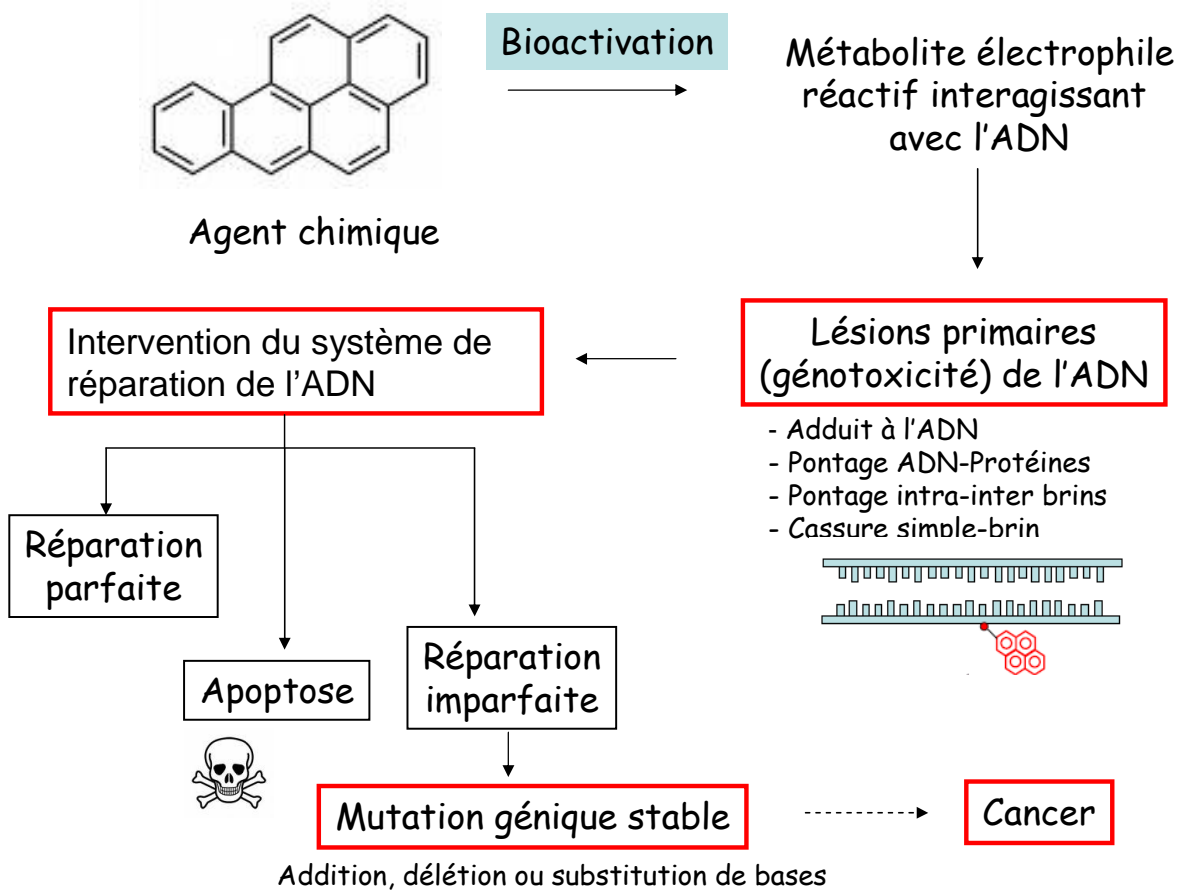


Figure 2 : Effets génotoxiques, mutagènes et cancérigènes

### III - Tests de mise en évidence d'un pouvoir mutagène au niveau génique

#### III.1 Définition

Il s'agit de tests mettant en évidence le potentiel génotoxique d'une substance, préparation ou extrait, en mesurant sa capacité à induire une mutation au niveau d'un gène chez des bactéries ou des cellules eucaryotes se traduisant par un effet phénotypique détectable.

#### III.2. Test d'Ames

Décrit dans une série de publications au début des années 70 par Bruce Ames et son équipe de l'Université de Californie à Berkeley (Ames *et al.*, 1973), le test d'Ames consiste à examiner si une substance chimique ou un agent physique est capable d'induire des mutations spécifiques chez différentes souches de *Salmonella typhimurium* (Ames, 1973). Les souches utilisées sont porteuses d'une mutation dans un des gènes gouvernant la synthèse de l'acide aminé histidine. Cette mutation His<sup>-</sup> rend les souches incapables de pousser sur un milieu sans histidine. Avec une fréquence très faible, ces mutations His<sup>-</sup> reversent spontanément vers His<sup>+</sup> et donc les cellules retrouvent leur capacité à pousser sur un milieu dépourvu d'histidine. Cette fréquence de réversion peut augmenter en exposant les bactéries His<sup>-</sup> à des agents mutagènes. Ainsi, le test d'Ames permet, en quantifiant l'induction de ces mutations réverses His<sup>+</sup>, de mesurer le potentiel génotoxique de la substance ou préparation étudiée. Plusieurs souches bactériennes de nature génétique différente peuvent être utilisées (Maron and Ames, 1983), notamment les souches TA97a, TA98, TA100, TA102, TA1535 et TA1537. Ces souches sont porteuses de mutations His<sup>-</sup> différentes qui permettent de tester des agents mutagènes variés.

La grande majorité des produits pénétrant dans un organisme humain est détoxifiée afin d'être rapidement éliminée. Ce métabolisme conduit souvent à des espèces chimiques réactives intermédiaires électrophiles, qui sont les formes mutagènes ; le métabolisme ou bioactivation de beaucoup de composés génotoxiques est donc requis pour qu'ils exercent leurs effets délétères (Guengerich, 2000). Les systèmes enzymatiques, notamment les cytochromes P-450 qui interviennent dans ces réactions se situent principalement au niveau du foie et exigent des cofacteurs (oxygène et NADPH). Ils sont aussi inductibles. Dans le test d'Ames, ce métabolisme est mimé en mélangeant un homogénat de foie de rat (appelé fraction S9) avec les bactéries et les cofacteurs nécessaires (Forster *et al.*, 1980). Un traitement préalable des rats par un inducteur (généralement l'Aroclor 1254) assure la présence de tous les systèmes enzymatiques.

Le test d'Ames consiste dans sa version classique standard à préparer une série de mélanges d'une quantité constante d'une des souches bactérienne et des quantités croissantes du produit à tester et à les étaler sur des boîtes de Petri contenant un milieu minimal. Ce milieu autorise la croissance des mutants His<sup>+</sup> uniquement. Afin d'augmenter la sensibilité du test, une trace d'histidine est ajoutée qui permet la croissance de 2 à 3 générations de His<sup>-</sup> et amplifie l'apparition des mutants. Après incubation pendant 48 h, le dénombrement des mutants His<sup>+</sup> est effectué. Ceux-ci apparaissent sous la forme de colonies sur un tapis cellulaire translucide. Une courbe dose-réponse est tracée en portant en ordonnées le nombre de His<sup>+</sup>/boîte en fonction des doses testées. Le pouvoir mutagène est défini comme la pente de la région ascendante de la courbe (nombre de His<sup>+</sup>/μg ou nmole). Les résultats peuvent être exprimés aussi en nombre de révertants par boîte ; le pouvoir mutagène est avéré s'il y a 2 fois plus de révertants que dans la boîte contrôle (quotient revertants produit testé/révertants boîte contrôle >2).

A coté de la méthode standard, il existe d'autres méthodes, notamment une microméthode en milieu liquide réalisable en plaque 96 puits qui semble plus sensible que la méthode standard (méthode du test d'Ames par fluctuation) (Bridges, 1980). Une adaptation du test d'Ames à des souches bactériennes E. Coli déficientes en synthèse de tryptophane (souche WP2 uvrA) a aussi été proposée (Green and Muriel, 1976).

Le test d'Ames est applicable à l'étude du pouvoir mutagène de produits chimiques ou de mélanges, mais aussi de fluides biologiques telles que les urines chez les sujets exposés (Mielynska *et al.*, 1997); dans ce dernier cadre, il pourra servir de marqueur d'exposition en remplacement ou en complément du dosage direct analytique des composés chimiques mutagènes ou de leurs métabolites. Le test d'Ames a aussi été utilisé pour mesurer la génotoxicité de l'air d'ambiances de travail (Teschke *et al.*, 1989).

Le test d'Ames a pour inconvénient d'être un test bactérien, pouvant rendre en théorie critiquable l'extrapolation à des cellules humaines. Il est par contre bien calibré et n'est pas invasif pour l'étude du personnel (simple recueil d'urine). Il est de plus relativement peu coûteux. Son utilisation pour la biosurveillance des sujets exposés ne témoigne cependant pas d'une génotoxicité, mais d'une exposition à des substances génotoxiques, et le test d'Ames urinaire doit par conséquent être strictement considéré comme un test d'exposition à des génotoxiques et non d'effet précoce génotoxique (Tableau 8). De plus, en raison des cinétiques d'élimination urinaire des composés génotoxiques souvent rapides, il est légitime de recueillir et d'analyser les urines dans un temps relativement bref après l'exposition.

Les facteurs confondants concernant l'analyse du pouvoir mutagène des urines par le test d'Ames, c'est-à-dire les paramètres qui peuvent interférer avec les résultats du test (Tableau 9), sont le tabac et l'exposition aux fumées de cuisson (Smith *et al.*, 2000). Le polymorphisme génétique de certains

enzymes impliqués dans la bioactivation des composés génotoxiques ou dans la réparation des lésions génotoxiques peut aussi intervenir (Kuljukka-Rabb *et al.*, 2002).

Le test d'Ames fait enfin l'objet d'une ligne directrice de l'organisation pour la coopération et le développement économique (OCDE) pour les essais de produits chimiques (ligne 471).

### III.3. Test de mutation du locus de l'hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT)

Il s'agit d'un test de mutagenèse, réalisé dans des cellules de mammifères (cellules V79 de hamster, lymphocytes...) exposées *in vitro* ou *in vivo* à l'agent génotoxique étudié. Il est basé sur l'apparition de mutants pour une enzyme, l'hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT) (Compton *et al.*, 1991). Les cellules mutantes résultantes HPRT- sont détectées par leur capacité à proliférer *in vitro* en présence de 6-thioguanine, car l'enzyme HPRT est requise pour la bioactivation de ce toxique analogue des purines.

La réalisation pratique du test consiste à mesurer la clonogénicité des cellules exposées au composé mutagène dans les conditions contrôle et traitées en présence 6-thioguanine. Il est possible comme pour le test d'Ames d'utiliser la fraction S9 pour bioactiver les carcinogènes. Les colonies cellulaires sont ensuite colorées et numérotées au microscope. L'expression des résultats se fait en déterminant la fréquence de mutants, c'est-à-dire le nombre de colonies mutantes en présence de 6-thioguanine/nombre de clones en absence de 6-thioguanine.

Ce test est applicable à la détermination du pouvoir mutagène d'un composé chimique dans des lignées cellulaires ou *in vivo* (dans les lymphocytes d'animaux exposés) (Purves *et al.*, 1995). Il peut aussi être utilisé pour analyser les lymphocytes de sujets humains exposés, ou il va alors témoigner d'un effet mutagène (et donc aussi d'une exposition et d'un effet génotoxique (Tableau 8) (Ammenheuser *et al.*, 2001).

Le test HPRT a l'avantage d'explorer une mutation fixée : son utilisation pour la biosurveillance du personnel peut donc conduire à l'obtention d'un biomarqueur d'effet précoce indiquant un effet génotoxique mutagène. Il a par contre l'inconvénient de nécessiter une culture de cellules, d'être relativement fastidieux et d'avoir une sensibilité modérée (Kirsch-Volders *et al.*, 2002); de plus, il nécessite pour la surveillance du personnel exposés une prise de sang pour obtenir les lymphocytes du sujet.

Les facteurs confondants à prendre en compte sont l'âge, le tabac et le sexe (Tates *et al.*, 1991; Bentham *et al.*, 1999); le polymorphisme génétique concernant certaines enzymes peut aussi intervenir, de même que l'exposition au soleil (Green *et al.*, 1999).

Type de test	Détection		
	Exposition à des génotoxiques	Effet génotoxique	Effet mutagène
Test d'Ames (urines)	+	-	-
Test HPRT (lymphocytes sanguins)	+	+	+
Test glycophorine A (hématies)	+	+	+
Test des comètes (leucocytes sanguins, cellules buccales...)	+	+	-
Test d'échange des chromatides sœurs (SCE) (lymphocytes sanguins)	+	+	-
Aberrations chromosomiques (lymphocytes sanguins)	+	+	+
Test des micronoyaux (lymphocytes sanguins)	+	+	+
Détection d'adduits chimiques (leucocytes sanguins)	+	+	-

Tableau 8 : Nature des effets détectés par les principaux tests de génotoxicité

#### III.4. Test de mutation du gène de la glycophorine A

La glycophorine A est une glycoprotéine exprimée à la surface des hématies qui est présente au niveau génique sous forme de 2 allèles M et N, réparties de façon similaire (50 %) dans toutes les ethnies. Le test mesure la fréquence de variants qui ont perdu l'expression de l'allèle M chez les hétérozygotes M/N (représentant 50 % de la population, quelle que soit la race) (Olsen *et al.*, 1996). Il est

appliqué uniquement lors d'une exposition *in vivo* à l'agent génotoxique étudié (Takaro *et al.*, 2004) et est donc utilisable pour la biosurveillance du personnel.

La réalisation pratique du test se fait par cytométrie de flux à l'aide d'anticorps discriminant les formes M et N au niveau des globules rouges. L'expression des résultats se fait par rapport à la fréquence des variants sur le nombre total de globules rouges analysés.

Le test de mutation du gène de la glycophorine A a pour inconvénient de n'être applicable qu'aux sujets M/N hétérozygotes. Il traduit de plus un effet mutagène (lésion stable) (Tableau 8), mais uniquement au niveau des cellules de la moelle osseuse dont dérivent les hématies. Il a pour avantage de ne pas nécessiter de cultures cellulaires; le matériel d'étude utilisé (hématies) est de plus abondant et résistant.

Les facteurs confondants à prendre en compte sont l'âge et le tabac (Ha *et al.*, 2002); le polymorphisme d'expression de certaines enzymes du métabolisme des xénobiotiques, notamment la GSTM1, intervient également (Lee *et al.*, 2002).

### III.5. Test de mutation ponctuelle au locus TK (thymidine kinase) sur cellules de lymphome de souris L5178Y

Il est basé sur l'apparition de cellules mutantes perdant l'expression fonctionnelle d'une enzyme, la thymidine kinase (TK) sous l'action du génotoxique. Ces cellules mutantes sont capables de proliférer *in vitro* en présence de trifluorothymidine (TFT), car l'enzyme TK est requise pour la bioactivation de ce toxique analogue des pyrimidines (Honma *et al.*, 1999).

La réalisation pratique du test consiste habituellement à déterminer la clonogénicité des cellules de lymphome de souris L5178Y dans les conditions contrôle et traitées en présence de TFT. Il est possible d'utiliser la fraction S9 pour bioactiver les carcinogènes. Les colonies cellulaires sont ensuite colorées et numérées au microscope. L'expression des résultats se fait en déterminant la fréquence de mutants, c'est-à-dire le nombre de colonies mutantes en présence de TFT/nombre de clones en absence de TFT. Ce test est applicable surtout à la caractérisation du pouvoir mutagène de substances ou de préparations chimiques, notamment dans l'industrie pharmaceutique (Mitchell *et al.*, 1997). L'utilisation de cellules lymphoblastoïdes humaines TK6 pour l'étude des mutants du locus TK a aussi été proposée (Zhan *et al.*, 2004). Le test TK n'est pas utilisé pour la biosurveillance du personnel exposé.

Le test TK fait enfin l'objet d'une ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques (ligne 476), dans le cadre des essais *in vitro* de mutations géniques sur des cellules de mammifères.



---

Tabac

Age

Polymorphisme d'expression des enzymes du métabolisme  
et du système de réparation des lésions de l'ADN

Exposition à une pollution environnementale

Exercice physique

Régime alimentaire

---

*Tableau 9 : Principaux facteurs confondants susceptibles de potentiellement interférer avec les résultats de tests de génotoxicité effectués dans le cadre de la surveillance d'une exposition professionnelle.*

#### **IV Test des comètes**

Le test des comètes permet de quantifier les lésions primaires de l'ADN, notamment les cassures de l'ADN, qui représentent une des lésions à forte probabilité d'apparition après exposition à des agents mutagènes. Sur le plan technique, ce test des comètes (ou "single cell gel electrophoresis assay") correspond à une technique d'électrophorèse sur microgel d'agarose permettant de détecter des fragmentations de l'ADN de cellules individualisées (Collins, 2004), initialement décrite en 1984 (Ostling and Johanson, 1984) puis améliorée par Singh et collaborateurs en 1988 (Singh *et al.*, 1988). Le test réalisé dans sa version alcaline permet notamment la détection des cassures de l'ADN simple et double brin et aussi des sites de réparation incomplète d'alcali-labile. Les sites de dommages à l'ADN peuvent aussi être révélés après traitement par des enzymes type endonucléase et glycosylase, qui vont générer des cassures visualisables par le test des comètes au niveau des lésions de l'ADN ; l'utilisation d'endonucléase peut ainsi permettre de détecter des lésions oxydatives des bases de l'ADN.

La réalisation pratique du test consiste, après lyse des membranes cellulaires, à la dénaturation de l'ADN en milieu fortement alcalin. L'ADN des cellules est ensuite placé dans un champ électrique permettant la migration différentielle des fragments. Compte tenu du faible voltage et ampérage, les molécules d'ADN intactes et donc trop "lourdes" pour avoir été déplacées par le champ électrique vont décrire une sphère compacte. Un ADN endommagé va, quant à lui, voir migrer ses fragments les plus courts en dehors de cette sphère, formant ainsi un "halo" d'ADN s'étirant en direction de l'anode. Les

figures ainsi décrites sont alors tout à fait comparables à des comètes. La lecture au microscope à fluorescence et l'analyse d'image permet alors la quantification des effets observés : calcul de la longueur de la queue de la comète (exprimé en  $\mu\text{M}$ ) et aussi calcul du moment de la queue de la comète ou OTM (olive tail moment), qui estime la migration des fragments variés d'ADN formant la queue de la comète et aussi les quantités d'ADN relatifs. Des logiciels d'imagerie autorisent une automatisation de la lecture. Le test peut enfin être couplé à l'hybridation in situ par fluorescence (FISH) pour détecter l'atteinte ou la réparation spécifique de gènes d'intérêt (Rapp *et al.*, 2005).

Le test des comètes permet d'étudier les effets génotoxiques de composés ou préparations chimiques et d'en préciser la relation dose-effets : il faut dans ce cadre traiter *in vitro* des cultures cellulaires par l'agent étudié, en présence éventuellement de fraction S9 à fins de bioactivation métabolique, et analyser ensuite les cellules exposées (Marzin, 1999). Une exposition *in vivo* de rongeurs au composé à analyser est aussi possible et requiert ensuite une étude de leurs cellules sanguines par le test des comètes (Burlinson *et al.*, 2007). Le test est également applicable à des cellules végétales (Gichner *et al.*, 2006). Le test des comètes permet d'explorer les cellules sanguines (lymphocytes) ou d'autres types de cellules (cellules épithéliales buccales) de sujets exposés ; il peut donc être employé pour la surveillance du personnel exposé en médecine du travail (Moller *et al.*, 2000; Faust *et al.*, 2004). Il est aussi applicable en éco-toxicologie pour la surveillance des organismes aquatiques et/ou des végétaux (Dixon *et al.*, 2002).

Le test des comètes est reconnu comme étant une technique sensible de mesure de l'atteinte de l'ADN (limite inférieure de détection : 50 cassures à l'ADN nucléaire). Il est aussi relativement simple à mettre en œuvre et ne nécessite pas de culture cellulaire pour la surveillance du personnel exposé. L'intérêt principal de ce test est de mettre en évidence un évènement immédiat lié à une exposition génotoxique. Un autre intérêt de ce test est d'analyser les cellules individuellement, ce qui permet d'avoir de grandes quantités de données pour des analyses statistiques robustes quant à la détection d'un effet génotoxique chez un sujet. Le nombre total minimal de cellules requises pour l'analyse est de plus relativement faible (inférieur à 10 000). La lecture et l'interprétation du test des comètes peuvent néanmoins être relativement complexes. La principale limitation de ce test réside de plus dans la connaissance imparfaite de la signification biologique des cassures de brin au niveau de l'ADN et leur éventuelle relation avec un processus de cancérogenèse ; les dommages détectés sont susceptibles d'être réparés (Rojas *et al.*, 1999) et le test détecte donc un effet génotoxique (et donc aussi une exposition), pas un effet mutagène (Tableau 8). Il requiert de plus pour la surveillance du personnel exposé un prélèvement cellulaire, ce qui lui confère un certain caractère invasif.

Les facteurs confondants potentiels à considérer sont nombreux, même s'ils sont en partie controversés : tabac, exercice physique, régime alimentaire, âge, exposition à la pollution atmosphérique,

saison... (Singh *et al.*, 1991; Moller *et al.*, 2000). Le polymorphisme génétique d'expression de certaines enzymes du métabolisme des xénobiotiques ou du système de réparation de l'ADN peut aussi interférer (Sram, 1998; Chen *et al.*, 2006; Zhao *et al.*, 2006).

## V Tests cytogénétiques

### V. 1. Définition

Il s'agit de tests basés sur l'étude des anomalies chromosomiques et/ou chromatidiennes entraînées par l'exposition aux génotoxiques.

### V.2. Détection des aberrations chromosomiques

Il s'agit de déterminer les anomalies du caryotype sur des cellules eucaryotes, liées à l'exposition à de composés génotoxiques entraînant des cassures d'ADN. Les cellules analysées peuvent notamment être des lymphocytes isolés de sujets humains ou d'animaux (exposés *in vivo* à des substances chimiques ou préparations) ou des cellules de lignée ou des lymphocytes exposés *in vitro* aux génotoxiques. Ce type de test va donc pouvoir être employé pour mesurer le potentiel génotoxique d'un composé *in vitro* (traitement de cultures cellulaires) ou *in vivo* (exposition expérimentale de rongeurs) (Cimino, 2006), mais aussi pour la surveillance du personnel exposé en médecine du travail (Vodicka *et al.*, 2002; Mateuca *et al.*, 2006).

Le caryotype est réalisé selon les techniques cytogénétiques habituelles (Sram *et al.*, 2007b) en bloquant les cellules en métaphase à l'aide de colchicine ; l'analyse d'un grand nombre de métaphases (au moins 200 par conditions) est souvent réalisée. Plusieurs types d'anomalies chromosomiques peuvent être détectées, notamment les anomalies du nombre de chromosomes (aneuploïdie qui peut correspondre à une augmentation du nombre de chromosomes appelée hyperploïdie ou au contraire à une diminution du nombre de chromosomes appelée hypoploïdie) ou les anomalies de structure des chromosomes (délétion, translocation, inversion...). Il est possible d'affiner les résultats en ayant recours à l'hybridation *in situ* en fluorescence (technique FISH), qui peut permettre de mettre en évidence l'atteinte spécifique de séquences chromosomiques ou géniques particulières (Livingston *et al.*, 2006). Les résultats sont rendus habituellement en % de métaphases présentant des aberrations.

Il faut noter que les aberrations chromosomiques indiquent un dommage stable et persistant (mutation), qui représente un événement potentiellement initiateur dans le processus qui mène à la néoplasie. La présence d'aberrations chromosomiques a d'ailleurs été corrélée avec un risque accru de survenue de cancers (Norppa *et al.*, 2006; Boffetta *et al.*, 2007). Ce test correspond donc selon certains à un véritable biomarqueur d'effet précoce (Tableau 8), qui pourrait avoir dans une certaine mesure une

valeur prédictive potentielle. Les aberrations chromosomiques persistent de plus pendant la durée de vie des lymphocytes, ce qui fait que ce test est potentiellement applicable à l'évaluation d'une exposition cumulée et a une rémanence longue (au moins quelques semaines à quelques mois, voir plus).

Le test d'aberration chromosomique est relativement lourd et fastidieux à réaliser. Il a de plus l'inconvénient de requérir une culture cellulaire. Pour l'étude du personnel exposé, il requiert obligatoirement l'analyse comparée du groupe de sujets exposés à un groupe de sujets témoins non exposés car la rémanence potentiellement longue des aberrations chromosomiques après exposition aux agents mutagènes ne permet pas de comparer pour un même sujet les conditions avant exposition et après exposition et celui-ci ne peut donc pas servir de propre témoin. Il requiert aussi un prélèvement cellulaire, c'est-à-dire habituellement une prise de sang, et présente donc de ce fait un certain caractère invasif. Le test d'aberrations chromosomiques à par contre pour avantage de permettre la détection de tout type d'atteinte chromosomique. Il comporte une approche cellule par cellule, ce qui permet par conséquent d'avoir un grand nombre de données et donc un traitement statistique performant des résultats.

Les principaux facteurs confondants interférents sont le tabac et l'âge (Anderson, 1999). Comme pour la plupart des tests de génotoxicité, ces facteurs confondants sont cependant relativement controversés. Le polymorphisme d'expression d'enzymes impliqués dans le métabolisme ou les systèmes de réparation de l'ADN peut aussi interférer avec les résultats des test d'aberrations chromosomiques (Au *et al.*, 2001; Sram *et al.*, 2007a).

Les tests d'aberrations chromosomiques font l'objet de lignes directrices de l'OCDE pour les essais de produits chimiques applicable à des expositions *in vitro* (ligne 473) ou *in vivo* sur moelle osseuse de mammifères (ligne 475).

### V.3. Test des micronoyaux

Les micronoyaux sont des entités nucléaires indépendantes du noyau principal, provenant de la perte de fragments chromosomiques ou de chromosomes entiers pendant la division nucléaire, conséquences respectivement d'effets clastogènes (cassures double brin de la molécule d'ADN) ou d'effets aneugènes (altérations de l'appareil mitotique liées principalement à des interactions avec les protéines). Les test des micronoyaux a donc pour objet de détecter et numérer ces micronoyaux, dans des cellules traitées *in vitro* par l'agent génotoxique ou provenant d'une exposition *in vivo* (par exemple des lymphocytes de rongeurs ou de sujets humains exposés à l'agent génotoxique) (Mateuca *et al.*, 2006); il s'agit d'un cas particulier du test précédent (aberrations chromosomiques) qui va être applicable à l'analyse du potentiel génotoxique d'un composé ou à la surveillance de personnels exposés en médecine du travail (Narod *et al.*, 1988). Les micronoyaux constituent un dommage stable et persistant

(effet mutagène) (Tableau 8), qui persiste dans la cellule pendant la durée de vie de celle-ci, et il a donc une rémanence longue ; le test des micronoyaux a d'ailleurs été présenté récemment comme ayant une valeur prédictive pour le risque de cancer (Bonassi *et al.*, 2007). Le test des micronoyaux peut être aussi utile pour évaluer une exposition récente (heures, jours).

Applicable à toutes les cellules-cibles (cellules vésicales, endobuccales, fibroblastes, kératinocytes, etc...), ce test des micronoyaux peut notamment être appliqué aux lymphocytes T en culture utilisés comme cellules-modèles : il consiste alors à dénombrer les micronoyaux présents dans les lymphocytes T binucléés obtenus par blocage de la division cytoplasmique par de la cytochalasine B après une division nucléaire complète (Mateuca *et al.*, 2006). L'avantage de cette technique est de ne comptabiliser que les lésions génotoxiques hérissables (micronoyaux dans les seuls lymphocytes binucléés) répondant seules à la définition stricte de la mutation. Le test est, de plus, associable à une étude de la qualité du matériel génétique contenu dans le micronoyau (présence ou non de centromères, type de chromosome altéré, nature exacte de l'altération) par hybridation " in situ " fluorescente (technique FISH), ce qui apporte des éléments mécanistiques fondamentaux à l'interprétation des résultats (la détection des centromères dans les micronoyaux orientant vers un effet aneugène tandis que l'absence de cette détection oriente plus vers un effet clastogène) (Lewinska *et al.*, 2007). Le test des micronoyaux peut aussi être pratiqué directement sans culture préalable des lymphocytes recueillis par ponction sanguine chez les sujets exposés.

Le test des micronoyaux est relativement facile à mettre en œuvre. Il ne détecte cependant pas toutes les aberrations chromosomiques. Il requiert aussi nécessairement un prélèvement cellulaire et présente donc de ce fait un certain caractère invasif. L'analyse cellule par cellule permet néanmoins d'avoir un grand nombre de données, ce qui peut permettre un traitement statistique performant des résultats.

Les facteurs confondants à considérer sont notamment l'âge, le tabac et le polymorphisme d'expression enzymatique (Iarmarcovai *et al.*, 2007). La nature exacte de ces facteurs confondants, notamment du tabac, reste cependant controversée (Nersesyan, 2006).

Le test des micronoyaux fait enfin l'objet d'une ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques, applicable cependant aux érythrocytes de mammifères (ligne 474).

#### V.4. Echange de chromatides sœurs (SCE)

Ce test analyse des anomalies chromatidiennes survenant en réponse à l'exposition à un génotoxique (Sram and Binkova, 2000). Les échanges de chromatides sœurs entre chromosomes découlent de cassures dans l'ADN et de la réversion des fragments brisés à une position presque équivalente après échange entre les deux chromatides sœurs d'un même chromosome et par conséquent leur formation dépend de la phase S du cycle cellulaire ou des processus de duplication de l'ADN. Les génotoxiques ou agents clastogènes augmentent la fréquence de SCE par cellules, ce qui serait lié à une action sur la réparation au cours de la phase S. Le test est applicable pour tester *in vitro* l'effet d'un composé sur des cellules mais aussi pour évaluer les effets d'une exposition *in vivo* à des agents génotoxiques. Il est donc utilisable pour la mesure du potentiel génotoxique d'un composé donné, mais aussi pour la surveillance de personnels exposés (Maki-Paakkanen, 1987; Cavallo *et al.*, 2006).

La réalisation pratique du test nécessite d'effectuer une culture des cellules étudiées (souvent des lymphocytes) pour obtenir une mitose *in vitro* et un marquage des chromatides néosynthétisées lors de la mitose au bromo-desoxy-uridine, puis de procéder à une analyse caryotypique ou les chromosomes présentant des échanges de chromatides sœurs vont pouvoir être détectés. Le test va évaluer un événement stable, mais pas nécessairement une lésion fixée, exprimant la conséquence d'une exposition à des agents génotoxiques ; il n'est donc pas synonyme d'effet mutagène (Tableau 8). Le test d'échange de chromatides sœurs n'est d'ailleurs pas prédictif du risque de cancers (Norppa *et al.*, 2006). Les échanges de chromatides sœurs persistent dans le lymphocyte entre 4 et 16 semaines. Le test peut donc être applicable à l'évaluation chez un sujet d'une exposition au cours des dernières semaines.

Le test d'échange des chromatides sœurs est relativement fastidieux à pratiquer ; il nécessite notamment la réalisation de cultures cellulaires. Il a l'inconvénient de ne pas détecter forcément des lésions fixées. Il requiert pour la surveillance du personnel exposé un prélèvement cellulaire et peut donc à ce titre être considéré comme invasif.

Le test d'échange des chromatides sœurs est sensible à certains facteurs confondants, notamment le tabac (Lei *et al.*, 2002; Milic *et al.*, 2008) et aussi la consommation d'alcool (Karaoguz *et al.*, 2005). Le polymorphisme d'expression enzymatique constitue aussi un facteur interférent (Wong *et al.*, 2003; Norppa, 2004).

Le test d'échange des chromatides sœurs fait l'objet d'une ligne directrice de l'OCDE pour les essais de produits chimiques (ligne 479).

## VI. Détection des adduits chimiques ou des dommages oxydatifs à l'ADN

Le suivi du personnel exposé peut faire appel à la mesure des adduits chimiques ou des dommages oxydatifs à l'ADN déclenchés par les substances génotoxiques, ce qui doit ici être considéré plus comme un marqueur d'exposition que comme un marqueur d'effet (Farmer *et al.*, 1996).

La détection directe des adduits à l'ADN formés par les produits chimiques peut se faire par post-marquage au phosphore 32 (McClellan *et al.*, 2007), par immunomarquage à l'aide d'anticorps dirigés contre les adduits quand ils sont disponibles (c'est par exemple le cas d'anticorps dirigé contre certains adduits formés par des HAP tels que le benzo(a)pyrène) (Galati *et al.*, 2001) et par des méthodes chromatographiques souvent couplées à la spectrométrie de masse (Angerer *et al.*, 2007). Ces techniques sont notamment applicables en médecine du travail pour l'analyse des adduits au niveau des leucocytes sanguins (Tuominen *et al.*, 2002). Un prélèvement cellulaire, souvent sanguin, est donc nécessaire, ce qui montre le caractère relativement invasif de ce type d'analyse. De plus, en raison de la durée de vie courte de la plupart des adduits à l'ADN (moins de 2 jours), il est nécessaire de collecter les échantillons le plus rapidement possible après une exposition aiguë ou à la fin d'une exposition chronique.

Les techniques chromatographiques, ainsi que des techniques immunologiques (ELISA), sont aussi utilisées pour analyser les dommages oxydatifs à l'ADN telles que les bases oxydées de l'ADN (type 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine ou 8-oxo-dG), formés en réponse aux espèces réactives de l'oxygène produites directement ou indirectement par certains contaminants (Marczynski *et al.*, 2002; Marczynski *et al.*, 2006). Cette détection des bases oxydées de l'ADN peut se faire au niveau de l'ADN des cellules sanguines des sujets exposés (Sorensen *et al.*, 2003), mais aussi dans leur urine (Rossner *et al.*, 2007; Cooke *et al.*, 2008), ce qui présente alors l'intérêt de ne pas être invasif. Il faut noter que les adduits oxydatifs ne sont pas spécifiques du type de toxique chimique responsable, contrairement aux adduits chimiques.

Au total, les techniques de mesure d'adduits à l'ADN s'apparentent dans leur approche et leur philosophie plus aux techniques analytiques de dosages métrologiques des contaminants ou de leur métabolites qu'aux tests fonctionnels de génotoxicité présentés précédemment.

La présence d'adduits chimiques à l'ADN, notamment ceux de type volumineux (« bulky ») formés notamment par les métabolites des HAP, pourrait être prédictive du risque de cancers (Veglia *et al.*, 2008), même si cette conclusion s'appliquerait surtout aux fumeurs et est controversée pour les non-fumeurs (Castano-Vinyals *et al.*, 2007). Il faut remarquer que les adduits chimiques sont des lésions susceptibles d'être réparées, et donc non fixées, et reflètent donc un effet génotoxique, pas un effet mutagène (Tableau 8).

La formation d'adduits semble dépendre de facteurs confondants tel que le tabac (Pavanello *et al.*, 2006; Taioli *et al.*, 2007) ; l'âge pourrait aussi être un facteur à prendre en compte, notamment en ce qui concerne les dommages oxydatifs à l'ADN (Siomek *et al.*, 2007). Ces facteurs confondants restent cependant controversés (Hu *et al.*, 2008). La formation d'adduits peut enfin être modulée par le polymorphisme d'expression enzymatique (Sram, 1998), notamment celui lié aux isoformes de glutathion S-transférases (Pavanello *et al.*, 2004) ou ceux liés à des enzymes de réparation (Crew *et al.*, 2007).

## VII. Autres tests

### VII.1. SOS chromotest

Ce test est basé sur la mise en œuvre du système SOS activé chez les bactéries suite aux dommages à l'ADN (Quillardet *et al.*, 1982). Ce test détecte donc indirectement ces dommages à l'ADN. La lecture se fait grâce à la mise en évidence d'une activité  $\beta$ -galactosidase artificiellement couplée à l'induction de la réponse SOS dans la souche bactérienne utilisée (E Coli). Ce test est réalisable en microméthode (plaque 96 puits). Il est notamment applicable aux extraits de sol, sédiments, à l'eau et à l'atmosphère (Bian *et al.*, 2004; Jolibois and Guerbet, 2006; Skarek *et al.*, 2007).

### VII.2. Mutatox assay

Ce test est également basé sur l'activation du système SOS en réponse aux dommages à l'ADN, se traduisant par la restauration de la luminescence dans une souche mutante de la bactérie marine *Vibrio fuchseri* (l'activation de SOS entraîne la synthèse d'une protéase qui clive un répresseur de la voie de la luminescence chez cette bactérie). Ce test est applicable en environnement (sédiments, eau...) (Bian *et al.*, 2004).

## VIII. Conclusion

Différents types de tests de génotoxicité, explorant des stades variés de l'atteinte génotoxique, sont donc disponibles. Concernant la bio-surveillance du personnel, ils permettent de fournir soit des biomarqueurs stricts d'exposition (Test d'Ames sur urines) ou soit des biomarqueurs d'effet génotoxique (Test des comètes sur lymphocytes sanguins) ou d'effet mutagène (Test des micronoyaux ou Test des aberrations chromosomiques sur lymphocytes sanguins) et ils peuvent donc apparaître comme complémentaires.



## IX. Références

- Ames BN (1973) Carcinogens are mutagens: their detection and classification. *Environ Health Perspect* **6**:115-118.
- Ames BN, Durston WE, Yamasaki E and Lee FD (1973) Carcinogens are mutagens: a simple test system combining liver homogenates for activation and bacteria for detection. *Proc Natl Acad Sci U S A* **70**:2281-2285.
- Ammenheuser MM, Bechtold WE, Abdel-Rahman SZ, Rosenblatt JI, Hastings-Smith DA and Ward JB, Jr. (2001) Assessment of 1,3-butadiene exposure in polymer production workers using HPRT mutations in lymphocytes as a biomarker. *Environ Health Perspect* **109**:1249-1255.
- Anderson D (1999) Factors contributing to biomarker responses in exposed workers. *Mutat Res* **428**:197-202.
- Angerer J, Ewers U and Wilhelm M (2007) Human biomonitoring: state of the art. *Int J Hyg Environ Health* **210**:201-228.
- Au WW, Badary OA and Heo MY (2001) Cytogenetic assays for monitoring populations exposed to environmental mutagens. *Occup Med* **16**:345-357.
- Bentham G, Wolfreys AM, Liu Y, Cortopassi G, Green MH, Arlett CF and Cole J (1999) Frequencies of hprt(-) mutations and bcl-2 translocations in circulating human lymphocytes are correlated with United Kingdom sunlight records. *Mutagenesis* **14**:527-532.
- Bian Q, Xu LC, Wang SL, Xia YK, Tan LF, Chen JF, Song L, Chang HC and Wang XR (2004) Study on the relation between occupational fenvalerate exposure and spermatozoa DNA damage of pesticide factory workers. *Occup Environ Med* **61**:999-1005.
- Boffetta P, van der Hel O, Norppa H, Fabianova E, Fucic A, Gundy S, Lazutka J, Cebulska-Wasilewska A, Puskaierova D, Znaor A, Kelecsenyi Z, Kurtinaitis J, Rachtan J, Forni A, Vermeulen R and Bonassi S (2007) Chromosomal aberrations and cancer risk: results of a cohort study from Central Europe. *Am J Epidemiol* **165**:36-43.
- Bolt HM, Foth H, Hengstler JG and Degen GH (2004) Carcinogenicity categorization of chemicals-new aspects to be considered in a European perspective. *Toxicol Lett* **151**:29-41.
- Bonassi S, Znaor A, Ceppi M, Lando C, Chang WP, Holland N, Kirsch-Volders M, Zeiger E, Ban S, Barale R, Bigatti MP, Bolognesi C, Cebulska-Wasilewska A, Fabianova E, Fucic A, Hagmar L, Joksic G, Martelli A, Migliore L, Mirkova E, Scarfi MR, Zijno A, Norppa H and Fenech M (2007) An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis* **28**:625-631.
- Bridges BA (1980) The fluctuation test. *Arch Toxicol* **46**:41-44.
- Burlinson B, Tice RR, Speit G, Agurell E, Brendler-Schwaab SY, Collins AR, Escobar P, Honma M, Kumaravel TS, Nakajima M, Sasaki YF, Thybaud V, Uno Y, Vasquez M and Hartmann A (2007) Fourth International Workgroup on Genotoxicity testing: results of the in vivo Comet assay workgroup. *Mutat Res* **627**:31-35.
- Castano-Vinyals G, Talaska G, Rothman N, Alguacil J, Garcia-Closas M, Dosemeci M, Cantor KP, Malats N, Real FX, Silverman D, Serra C, Carrato A, Tardon A, Garcia-Closas R, Kogevinas M and Vermeulen R (2007) Bulky DNA adduct formation and risk of bladder cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **16**:2155-2159.
- Cavallo D, Ursini CL, Bavazzano P, Cassinelli C, Frattini A, Perniconi B, Di Francesco A, Ciervo A, Rondinone B and Iavicoli S (2006) Sister chromatid exchange and oxidative DNA damage in paving workers exposed to PAHs. *Ann Occup Hyg* **50**:211-218.
- Chen Y, Bai Y, Yuan J, Chen W, Sun J, Wang H, Liang H, Guo L, Yang X, Tan H, Su Y, Wei Q and Wu T (2006) Association of polymorphisms in AhR, CYP1A1, GSTM1, and GSTT1 genes with levels of DNA damage in peripheral blood lymphocytes among coke-oven workers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **15**:1703-1707.
- Cimino MC (2006) Comparative overview of current international strategies and guidelines for genetic toxicology testing for regulatory purposes. *Environ Mol Mutagen* **47**:362-390.
- Collins AR (2004) The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations. *Mol Biotechnol* **26**:249-261.
- Compton PJ, Hooper K and Smith MT (1991) Human somatic mutation assays as biomarkers of carcinogenesis. *Environ Health Perspect* **94**:135-141.
- Cooke MS, Olinski R and Loft S (2008) Measurement and meaning of oxidatively modified DNA lesions in urine. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **17**:3-14.

- Crew KD, Gammon MD, Terry MB, Zhang FF, Zablotska LB, Agrawal M, Shen J, Long CM, Eng SM, Sagiv SK, Teitelbaum SL, Neugut AI and Santella RM (2007) Polymorphisms in nucleotide excision repair genes, polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts, and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **16**:2033-2041.
- Dixon DR, Pruski AM, Dixon LR and Jha AN (2002) Marine invertebrate eco-genotoxicology: a methodological overview. *Mutagenesis* **17**:495-507.
- Farmer PB, Sepai O, Lawrence R, Autrup H, Sabro Nielsen P, Vestergard AB, Waters R, Leuratti C, Jones NJ, Stone J, Baan RA, van Delft JH, Steenwinkel MJ, Kyrtopoulos SA, Souliotis VL, Theodorakopoulos N, Bacalis NC, Natarajan AT, Tates AD, Haugen A, Andreassen A, Ovrebø S, Shuker DE, Amaning KS, Castelain P and *et al.* (1996) Biomonitoring human exposure to environmental carcinogenic chemicals. *Mutagenesis* **11**:363-381.
- Faust F, Kassie F, Knasmüller S, Boedeker RH, Mann M and Mersch-Sundermann V (2004) The use of the alkaline comet assay with lymphocytes in human biomonitoring studies. *Mutat Res* **566**:209-229.
- Forster R, Green MH and Priestley A (1980) Optimal levels of S9 fraction in the Ames and fluctuation tests: apparent importance of diffusion of metabolites from top agar. *Carcinogenesis* **1**:337-346.
- Galati R, Zijno A, Crebelli R, Falasca G, Tomei F, Iecher F, Carta P and Verdina A (2001) Detection of antibodies to the benzo(a)pyrene diol epoxide-DNA adducts in sera from individuals exposed to low doses of polycyclic aromatic hydrocarbons. *J Exp Clin Cancer Res* **20**:359-364.
- Gichner T, Patkova Z, Szakova J and Demnerova K (2006) Toxicity and DNA damage in tobacco and potato plants growing on soil polluted with heavy metals. *Ecotoxicol Environ Saf* **65**:420-426.
- Green MH and Muriel WJ (1976) Mutagen testing using TRP+ reversion in *Escherichia coli*. *Mutat Res* **38**:3-32.
- Green MH, Petit-Frere C, Clingen PH, Bentham G, Cole J and Arlett CF (1999) Possible effects of sunlight on human lymphocytes. *J Epidemiol* **9**:S48-57.
- Guengerich FP (2000) Metabolism of chemical carcinogens. *Carcinogenesis* **21**:345-351.
- Ha M, Yoo KY and Cho SH (2002) Glycophorin A mutant frequency in radiation workers at the nuclear power plants and a hospital. *Mutat Res* **501**:45-56.
- Honma M, Zhang LZ, Sakamoto H, Ozaki M, Takeshita K, Momose M, Hayashi M and Sofuni T (1999) The need for long-term treatment in the mouse lymphoma assay. *Mutagenesis* **14**:23-29.
- Hu Y, Li G, Xue X, Zhou Z, Li X, Fu J, Cohen B, Roy N, Li D, Sun J, Nan P, Tang MS and Qu Q (2008) PAH-DNA adducts in a Chinese population: relationship to PAH exposure, smoking and polymorphisms of metabolic and DNA repair genes. *Biomarkers* **13**:27-40.
- Iarmarcovai G, Bonassi S, Botta A, Baan RA and Orsiere T (2007) Genetic polymorphisms and micronucleus formation: A review of the literature. *Mutat Res*.
- Jolibois B and Guerbet M (2006) Hospital wastewater genotoxicity. *Ann Occup Hyg* **50**:189-196.
- Karaoguz MY, Cosar B, Arikan Z, Basaran F, Menevse A and Menevse S (2005) Increased frequency of sister chromatid exchanges in peripheral lymphocytes of alcoholics and cigarette smokers. *Cell Biol Int* **29**:165-168.
- Kuljucka-Rabb T, Nylund L, Vaaranrinta R, Savela K, Mutanen P, Veidebaum T, Sorsa M, Rannug A and Peltonen K (2002) The effect of relevant genotypes on PAH exposure-related biomarkers. *J Expo Anal Environ Epidemiol* **12**:81-91.
- Lee KH, Lee J, Ha M, Choi JW, Cho SH, Hwang ES, Park CG, Strickland PT, Hirvonen A and Kang D (2002) Influence of polymorphism of GSTM1 gene on association between glycophorin a mutant frequency and urinary PAH metabolites in incineration workers. *J Toxicol Environ Health A* **65**:355-363.
- Lei YC, Hwang SJ, Chang CC, Kuo HW, Luo JC, Chang MJ and Cheng TJ (2002) Effects on sister chromatid exchange frequency of polymorphisms in DNA repair gene XRCC1 in smokers. *Mutat Res* **519**:93-101.
- Lewinska D, Palus J, Stepnik M, Dziubaltowska E, Beck J, Rydzynski K, Natarajan AT and Nilsson R (2007) Micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes and buccal mucosa cells of copper smelter workers, with special regard to arsenic exposure. *Int Arch Occup Environ Health* **80**:371-380.
- Livingston GK, Falk RB and Schmid E (2006) Effect of occupational radiation exposures on chromosome aberration rates in former plutonium workers. *Radiat Res* **166**:89-97.

- Maki-Paakkanen J (1987) Chromosome aberrations, micronuclei and sister-chromatid exchanges in blood lymphocytes after occupational exposure to low levels of styrene. *Mutat Res* **189**:399-406.
- Marczynski B, Raulf-Heimsoth M, Preuss R, Kappler M, Schott K, Pesch B, Zoubek G, Hahn JU, Mensing T, Angerer J, Kafferlein HU and Bruning T (2006) Assessment of DNA damage in WBCs of workers occupationally exposed to fumes and aerosols of bitumen. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **15**:645-651.
- Marczynski B, Rihs HP, Rossbach B, Holzer J, Angerer J, Scherenberg M, Hoffmann G, Bruning T and Wilhelm M (2002) Analysis of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine and DNA strand breaks in white blood cells of occupationally exposed workers: comparison with ambient monitoring, urinary metabolites and enzyme polymorphisms. *Carcinogenesis* **23**:273-281.
- Maron DM and Ames BN (1983) Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutat Res* **113**:173-215.
- Marzin D (1999) New approaches to estimating the mutagenic potential of chemicals. *Cell Biol Toxicol* **15**:359-365.
- Mateuca R, Lombaert N, Aka PV, Decordier I and Kirsch-Volders M (2006) Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. *Biochimie* **88**:1515-1531.
- McClellan MD, Wiencke JK, Kelsey KT, Varkonyi A, Ngo L, Eisen EA and Herrick RF (2007) DNA adducts among asphalt paving workers. *Ann Occup Hyg* **51**:27-34.
- Mielynska D, Braszczynska Z, Siwinska E, Smolik E, Bubak A and Sokal JA (1997) Exposure of coke-oven workers to polycyclic aromatic hydrocarbons based on biological monitoring results. *Am Ind Hyg Assoc J* **58**:661-666.
- Milic M, Kasuba V, Orescanin V, Zeljezic D, Kopjar N and Rozgaj R (2008) Chromosome damage in workers in cigarette manufacturing industry. *J Appl Toxicol* **28**:399-404.
- Mitchell AD, Auletta AE, Clive D, Kirby PE, Moore MM and Myhr BC (1997) The L5178Y/tk+/- mouse lymphoma specific gene and chromosomal mutation assay a phase III report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutat Res* **394**:177-303.
- Moller P, Knudsen LE, Loft S and Wallin H (2000) The comet assay as a rapid test in biomonitoring occupational exposure to DNA-damaging agents and effect of confounding factors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **9**:1005-1015.
- Narod SA, Neri L, Risch HA and Raman S (1988) Lymphocyte micronuclei and sister chromatid exchanges among Canadian federal laboratory employees. *Am J Ind Med* **14**:449-456.
- Nersesyan AK (2006) Does cigarette smoking induce micronuclei in buccal cells? *Am J Clin Nutr* **84**:946-947; author reply 947-948.
- Norppa H (2004) Cytogenetic biomarkers and genetic polymorphisms. *Toxicol Lett* **149**:309-334.
- Norppa H, Bonassi S, Hansteen IL, Hagmar L, Stromberg U, Rossner P, Boffetta P, Lindholm C, Gundy S, Lazutka J, Cebulka-Wasilewska A, Fabianova E, Sram RJ, Knudsen LE, Barale R and Fucic A (2006) Chromosomal aberrations and SCEs as biomarkers of cancer risk. *Mutat Res* **600**:37-45.
- Olsen LS, Nielsen LR, Nexø BA and Wassermann K (1996) Somatic mutation detection in human biomonitoring. *Pharmacol Toxicol* **78**:364-373.
- Ostling O and Johanson KJ (1984) Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochem Biophys Res Commun* **123**:291-298.
- Pavanello S, Pulliero A, Saia BO and Clonfero E (2006) Determinants of anti-benzo[a]pyrene diol epoxide-DNA adduct formation in lymphomonocytes of the general population. *Mutat Res* **611**:54-63.
- Pavanello S, Siwinska E, Mielzynska D and Clonfero E (2004) GSTM1 null genotype as a risk factor for anti-BPDE-DNA adduct formation in mononuclear white blood cells of coke-oven workers. *Mutat Res* **558**:53-62.
- Purves D, Harvey C, Tweats D and Lumley CE (1995) Genotoxicity testing: current practices and strategies used by the pharmaceutical industry. *Mutagenesis* **10**:297-312.
- Quillardet P, Huisman O, D'Ari R and Hofnung M (1982) SOS chromotest, a direct assay of induction of an SOS function in Escherichia coli K-12 to measure genotoxicity. *Proc Natl Acad Sci U S A* **79**:5971-5975.
- Rapp A, Hausmann M and Greulich KO (2005) The comet-FISH technique: a tool for detection of specific DNA damage and repair. *Methods Mol Biol* **291**:107-119.
- Rojas E, Lopez MC and Valverde M (1999) Single cell gel electrophoresis assay: methodology and applications. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* **722**:225-254.

- Rossner P, Jr., Svecova V, Milcova A, Lnenickova Z, Solansky I, Santella RM and Sram RJ (2007) Oxidative and nitrosative stress markers in bus drivers. *Mutat Res* **617**:23-32.
- Singh NP, Danner DB, Tice RR, Pearson JD, Brant LJ, Morrell CH and Schneider EL (1991) Basal DNA damage in individual human lymphocytes with age. *Mutat Res* **256**:1-6.
- Singh NP, McCoy MT, Tice RR and Schneider EL (1988) A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* **175**:184-191.
- Siomek A, Gackowski D, Rozalski R, Dziaman T, Szpila A, Guz J and Olinski R (2007) Higher leukocyte 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine and lower plasma ascorbate in aging humans? *Antioxid Redox Signal* **9**:143-150.
- Skarek M, Janosek J, Cupr P, Kohoutek J, Novotna-Rychetska A and Holoubek I (2007) Evaluation of genotoxic and non-genotoxic effects of organic air pollution using in vitro bioassays. *Environ Int* **33**:859-866.
- Smith CJ, Bombick DW, Ryan BA, Morgan WT and Doolittle DJ (2000) Urinary mutagenicity in nonsmokers following exposure to fresh diluted sidestream cigarette smoke. *Mutat Res* **470**:53-70.
- Sorensen M, Autrup H, Moller P, Hertel O, Jensen SS, Vinzents P, Knudsen LE and Loft S (2003) Linking exposure to environmental pollutants with biological effects. *Mutat Res* **544**:255-271.
- Sram RJ (1998) Effect of glutathione S-transferase M1 polymorphisms on biomarkers of exposure and effects. *Environ Health Perspect* **106 Suppl 1**:231-239.
- Sram RJ, Beskid O, Binkova B, Chvatalova I, Lnenickova Z, Milcova A, Solansky I, Tulupova E, Bavorova H, Ocadlikova D and Farmer PB (2007a) Chromosomal aberrations in environmentally exposed population in relation to metabolic and DNA repair genes polymorphisms. *Mutat Res* **620**:22-33.
- Sram RJ and Binkova B (2000) Molecular epidemiology studies on occupational and environmental exposure to mutagens and carcinogens, 1997-1999. *Environ Health Perspect* **108 Suppl 1**:57-70.
- Sram RJ, Rossner P, Beskid O, Bavorova H, Ocadlikova D, Solansky I and Albertini RJ (2007b) Chromosomal aberration frequencies determined by conventional methods: Parallel increases over time in the region of a petrochemical industry and throughout the Czech Republic. *Chem Biol Interact* **166**:239-244.
- Taioli E, Sram RJ, Binkova B, Kalina I, Popov TA, Garte S and Farmer PB (2007) Biomarkers of exposure to carcinogenic PAHs and their relationship with environmental factors. *Mutat Res* **620**:16-21.
- Takaro TK, Engel LS, Keifer M, Bigbee WL, Kavanagh TJ and Checkoway H (2004) Glycophorin A is a potential biomarker for the mutagenic effects of pesticides. *Int J Occup Environ Health* **10**:256-261.
- Tates AD, van Dam FJ, van Mossel H, Schoemaker H, Thijssen JC, Woldring VM, Zwinderman AH and Natarajan AT (1991) Use of the clonal assay for the measurement of frequencies of HPRT mutants in T-lymphocytes from five control populations. *Mutat Res* **253**:199-213.
- Teschke K, Hertzman C, Van Netten C, Lee E, Morrison B, Cornista A, Lau G and Hundal A (1989) Potential exposure of cooks to airborne mutagens and carcinogens. *Environ Res* **50**:296-308.
- Tuominen R, Baranczewski P, Warholm M, Hagmar L, Moller L and Rannug A (2002) Susceptibility factors and DNA adducts in peripheral blood mononuclear cells of aluminium smelter workers exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Arch Toxicol* **76**:178-186.
- Veglia F, Loft S, Matullo G, Peluso M, Munnia A, Perera F, Phillips DH, Tang D, Autrup H, Raaschou-Nielsen O, Tjonneland A and Vineis P (2008) DNA adducts and cancer risk in prospective studies: a pooled analysis and a meta-analysis. *Carcinogenesis*.
- Vodicka P, Stetina R, Koskinen M, Soucek P, Vodickova L, Hlavac P, Kuricova M, Necasova R and Hemminki K (2002) New aspects in the biomonitoring of occupational exposure to styrene. *Int Arch Occup Environ Health* **75 Suppl**:S75-85.
- Wong RH, Wang JD, Hsieh LL and Cheng TJ (2003) XRCC1, CYP2E1 and ALDH2 genetic polymorphisms and sister chromatid exchange frequency alterations amongst vinyl chloride monomer-exposed polyvinyl chloride workers. *Arch Toxicol* **77**:433-440.
- Zhan L, Sakamoto H, Sakuraba M, Wu DS, Zhang LS, Suzuki T, Hayashi M and Honma M (2004) Genotoxicity of microcystin-LR in human lymphoblastoid TK6 cells. *Mutat Res* **557**:1-6.
- Zhao XH, Jia G, Liu YQ, Liu SW, Yan L, Jin Y and Liu N (2006) Association between polymorphisms of DNA repair gene XRCC1 and DNA damage in asbestos-exposed workers. *Biomed Environ Sci* **19**:232-238.



## **PARTIE V : APPLICATIONS DES TESTS DE GENOTOXICITE EN MEDECINE DU TRAVAIL**



## I. Introduction

Les tests de génotoxicité peuvent être théoriquement employés dans 2 cadres principaux en médecine du travail : 1) pour la caractérisation du site de travail (tests de génotoxicité sur l'atmosphère de travail inhalé par les travailleurs ou sur les substances et mélanges avec lesquels les travailleurs peuvent être en contact, notamment par voie cutanée, études éco-toxicologiques du site de travail) et 2) pour la surveillance directe du personnel, via notamment des tests de génotoxicité réalisés sur des prélèvements effectués sur les travailleurs. Pour chacun de ces cadres, nous avons effectué un état des lieux et avons procédé à un recensement des atouts mais aussi des contraintes et limites de ces techniques en médecine du travail. Pour cela, nous avons effectué une recherche bibliographique sur la base Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>) et aussi interrogé différents experts scientifiques et médicaux dans le domaine (confère la partie VII retour d'expériences dans le présent rapport).

## II. Etat des lieux

### II.1. Utilisation des tests de génotoxicité pour la caractérisation du site de travail

#### *II.1.1. Analyse de l'atmosphère de travail*

Elle va consister à analyser l'atmosphère de travail à l'aide de tests de génotoxicité. La première étape consiste à effectuer des prélèvements atmosphériques sur les lieux de travail, qu'il s'agisse de milieux confinés ou non, grâce à des systèmes de piégeage passif ou actif (à l'aide d'une pompe). Ce prélèvement peut de plus être réalisé sur un point fixe ou par le biais d'un système portable, éventuellement miniaturisé, situé sur le travailleur, ce qui permet ainsi de refléter au mieux l'atmosphère de travail au sein de laquelle les travailleurs évoluent (Al Zabadi et al., 2008). Les substances organiques et/ou particulaires atmosphériques piégées sont alors extraites avec des solvants polaires ou non et une éventuelle étape de sonication, puis fractionnées et concentrées (Claxton et al., 2004). La génotoxicité des extraits obtenus est alors testée à l'aide d'un test approprié (Figure 3).

Bien que réalisable sur le plan méthodologique, l'approche couplant prélèvement atmosphérique et test de génotoxicité est très peu pratiquée pour la surveillance des milieux professionnels, les extraits atmosphériques collectés étant surtout analysés par métrologie pour déterminer les concentrations de substances chimiques d'intérêt présentes dans l'atmosphère de travail (Rihs et al., 2005; Al Zabadi et al., 2008). Ainsi aucun des experts interrogés dans le cadre de notre étude n'a l'expérience directe ou indirecte de l'utilisation de tests de génotoxicité pour la surveillance des ambiances de travail en milieu professionnel. L'étude de la bibliographie indique cependant la faisabilité avérée d'une telle approche. Ainsi, le test d'Ames a été utilisé pour la surveillance des atmosphères des fours à coke (Dobias et al., 1999) ou le monitoring de l'air ambiant au cours de la fabrication de médicaments cytotoxiques dans l'industrie pharmaceutique (Sorsa et al., 1988); le test d'Ames et le test des comètes ont aussi été



employés pour démontrer la génotoxicité d'extraits organiques de particules aériennes collectées dans des usines de caoutchouc (Monarca et al., 2001). Une telle utilisation, bien que rare, permet ainsi une approche de la caractérisation du danger de certaines atmosphères de travail ; elle n'est cependant pas définie réglementairement pour la caractérisation des atmosphères de travail et n'est donc à priori pas opposable.

Les tests de génotoxicité ont par contre été employés à une plus large échelle pour la surveillance et le suivi de la pollution atmosphérique environnementale (Skarek et al., 2007), notamment celle en relation avec le trafic routier et les émissions de gaz d'échappement automobile (de Kok et al., 2006), mais aussi avec des activités industrielles dans des zones urbaines (Vargas, 2003; Du Four et al., 2005). Les tests utilisés sont notamment le test d'Ames (très largement utilisé dans ce type d'étude), le test des comètes ou celui des micronoyaux et la recherche d'adduits chimiques ou de dommages oxydatifs de l'ADN (8-oxo-dG), les cultures de bactéries ou de cellules eucaryotes étant alors mises au contact des extraits de particules atmosphériques de façon à juger des effets génotoxiques de ces particules (Claxton and Woodall, 2007).

#### *II.1.2. Utilisation des tests de génotoxicité pour la caractérisation des substances, mélanges et composés potentiellement en contact avec les travailleurs*

L'analyse du pouvoir génotoxique des substances, mélanges et composés potentiellement en contact avec les travailleurs peut se faire par les différents types de test de génotoxicité existants. Ce type d'étude peut se faire *in vitro* en testant les produits purifiés ou des extraits de substances, éventuellement après extraction et concentration ; elle peut aussi en théorie se faire *in vivo* après exposition d'animaux de laboratoires aux agents à caractériser.

L'étude des produits purs peut s'apparenter à l'analyse des composés en cours de développement dans l'industrie pharmaceutique, qui est très bien codifiée et réglementée (Lorge et al., 2007), et requiert l'utilisation d'une batterie d'au moins 3 tests différents : un test d'Ames, un test cytogénétique sur cultures cellulaires exposées *in vitro* à l'agent chimique et un test cytogénétique réalisé sur cellules hématopoïétiques de rongeurs exposés *in vivo* à l'agent chimique.

L'analyse des mélanges peut s'apparenter à l'étude de la génotoxicité de milieux complexes tels que les sols, les boues et les sédiments contaminés, qui utilise souvent le test d'Ames comme test de référence pratiqué sur des extraits ou des lixiviats des milieux à analyser (White and Claxton, 2004). L'utilisation d'autres tests tels que le test des comètes a aussi été rapportée (Lah et al., 2008).

Les données issues de ces tests visant à caractériser le pouvoir génotoxique de composés et mélanges avec lesquels les personnels peuvent être en contact vont aider théoriquement à caractériser le danger auquel ils peuvent être soumis. Ils ne sont cependant pas considérés habituellement de façon prioritaire et réglementaire en médecine du travail pour la caractérisation du danger, qui est basée le plus souvent sur l'identification des toxiques présents et la mesure de leur concentration par des études

métrologiques ou sur la déduction de leur présence du fait des procédés mis en jeu et la confrontation de avec les bases de données existantes sur leur toxicité.

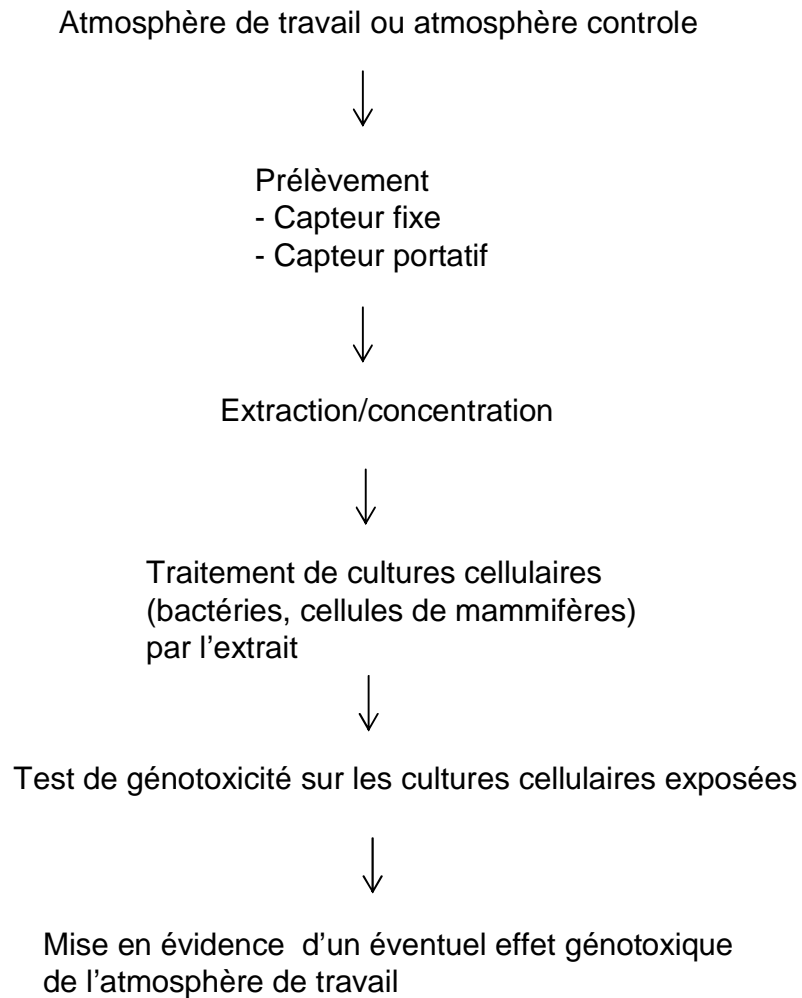


Figure 3 : Principales étapes de l'analyse de l'atmosphère de travail par un test de génotoxicité.

### *II.1.3. Utilisation des tests de génotoxicité en éco-toxicologie pour l'analyse et le suivi des sites de travail*

Les tests de génotoxicité peuvent être employés en éco-toxicologie pour déterminer les atteintes génotoxiques de plantes, d'invertébrés, d'organismes aquatiques ou d'animaux (petits mammifères) sentinelles présents au niveau des sites de travail fréquentés par les personnels. Dans ce cadre la détection d'atteintes génotoxiques au niveau écologique constituera un témoin pouvant alerter sur la dangerosité potentielle du site en ce qui concerne l'action génotoxique des espèces chimiques s'y trouvant, ce qui peut correspondre à un indicateur indirect d'alerte pour les travailleurs présents sur le site, à intégrer cependant aux autres biomarqueurs utilisés en éco-toxicologie (Borras and Nadal, 2004). Le principe des tests utilisés sur les plantes et sur les animaux invertébrés ou vertébrés est similaire à ceux déjà décrits pour les cellules humaines et de mammifères ; les tests mis en jeu sont notamment le test des comètes (Cotelle and Ferard, 1999; Avishai et al., 2003; Jha, 2008) et le test des micronoyaux (Repetto et al., 2001; Mouchet et al., 2005) ; des études cytogénétiques peuvent aussi être envisagés chez les petits mammifères servant d'animaux sentinelles (Talmage and Walton, 1991). Le test des comètes et celui des micronoyaux ont ainsi été appliqués pour le suivi de rongeurs au niveau de mines de charbon (da Silva et al., 2000).

Il faut au final garder en mémoire que l'intérêt réel et l'applicabilité de ces tests de génotoxicité en éco-toxicologie, qui semblent rester du domaine de la recherche, à la caractérisation des dangers, de l'exposition et du risque en médecine du travail restent à établir actuellement.

## II.2. Utilisation des tests de génotoxicité pour la surveillance biologique du personnel

### *II.2.1 Généralités*

L'utilisation des tests de génotoxicité pour la surveillance du personnel lors d'exposition professionnelles est attestée par de nombreuses publications. Ainsi en interrogeant la base PubMed, nous avons pu identifier de nombreux articles s'y référant sur la période 1975-2007.

Les mots clés utilisés pour cette recherche ont été les suivants :

- « Workers »

et

- « Genotoxicity », - « Mutagenicity » - « DNA damage » - « Chromosome damage » - « Chromosomal damage » - « Ames » - « Glycophorin A » - « HPRT » - « DNA adducts » - « Comet » - « Chromosome aberrations » - « Chromosomal aberrations » - « Sister chromatid exchanges » ou « SCE » - « Micronuclei » - « 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine » ou « 8-oxo-dG » - « 8-hydroxydeoxyguanosine » - « Oxidative DNA damage »

Nous avons retenu uniquement les articles rédigés en anglais, et disposant d'un abstract accessible sur la base de données Pubmed. Après élimination d'articles non pertinents quant à l'étude réalisée (utilisation des tests de génotoxicité pour la surveillance de travailleurs), nous avons pu sélectionner un total de 752 articles sur la période 1975-2007.

Les résultats obtenus démontrent que la moyenne d'article publié par an est de 22,8 article sur l'ensemble de la période d'étude; elle a augmenté jusqu'aux années 1985-1990 pour ensuite se stabiliser (Figure 4). Cela pourrait signifier que la demande scientifique et médical pour le sujet étudié reste soutenue, mais sans croissance particulière récente.

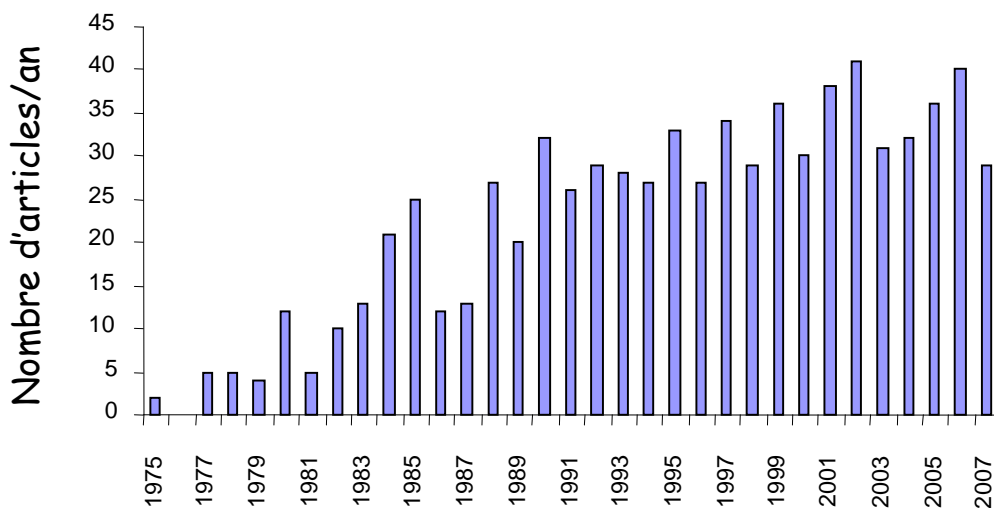


Figure 4 : Répartition par année du nombre d'articles relatifs à l'utilisation des tests de génotoxicité pour la biosurveillance de personnels en situation d'exposition professionnelle (après interrogation de la base PubMed)

### II.2.2. Domaines d'activités couverts

Les domaines d'activités couverts par l'utilisation des tests de génotoxicité pour la surveillance du personnel en médecine du travail sont divers. Une analyse fine de 166 publications sur la période la plus récente (2003-2007) montre que les domaines principaux sont les suivants :

1) Activités industrielles : correspondent à environ 63% des articles

Nous retrouvons notamment ici à titre d'exemple et sans que cela soit exhaustif des domaines couverts:

- l'industrie minière, notamment les mines de charbon (Schins et al., 1995; Donbak et al., 2005) et d'uranium (Loomis et al., 1990; Schins et al., 1995; Shanahan et al., 1996; Wolf et al., 2004).

- les cokeries (Arnould et al., 2000; Mensing et al., 2005; Liu et al., 2006) et l'industrie sidérurgique et métallurgique (Krokje et al., 1988; Santella et al., 1993; Topaktas et al., 2002; Lu et al., 2006).
- l'industrie pétrolière et pétrochimique (Edwards and Priestly, 1993; Carere et al., 1995; Garte et al., 2005) et les industries de production de matières plastiques (exposition notamment au styrène et au 1,3 butadiène) (Hogstedt et al., 1983; Anwar and Shamy, 1995) et de caoutchouc (Falck et al., 1980; Fracasso et al., 1999; Laffon et al., 2006a).
- l'industrie de construction et de réparation automobile et mécanique (Sardas et al., 1994; Lemasters et al., 1997; Zhu et al., 2001)
- l'industrie chimique (production de peintures, colorants, solvants...) (Haglund et al., 1980; Donbak et al., 2006; Guerbet et al., 2007)
- l'industrie de construction navale (Kelsey et al., 1990; Artuso et al., 1995).
- les tanneries (Medeiros et al., 2003; Hilali et al., 2007)
- l'industrie du verre (Sram et al., 1985; Vuyyuri et al., 2006)

#### 2) Activités hospitalières : correspondent à environ 15 % des articles

Il s'agit ici principalement des activités de préparation et de reconstitution des médicaments cytostatiques par les pharmaciens hospitaliers et/ou les infirmières (Pilger et al., 2000; Hessel et al., 2001), des activités de radiologie et/ou de médecine nucléaire concernant du personnel médical exposé aux radiations et/ou aux radioéléments (radiologie et médecine nucléaire) (Cardoso et al., 2001; Ballardin et al., 2007) et de l'exposition aux gaz anesthésiques (Bilban et al., 2005) ou utilisés pour la stérilisation du matériel médico-chirurgical (Laurent et al., 1984).

#### 3) Activités liées à l'industrie nucléaire : correspondent environ à 5 % des articles

Nous retrouvons ici les activités liées notamment aux centrales nucléaires (Evans et al., 1979; Chung et al., 1996; Whitehouse et al., 1998; Ha et al., 2002).

#### 4) Activités agricoles : correspondent à environ 5% des articles

Les tests de génotoxicité sont ici employés dans le but d'analyser notamment les conséquences d'une exposition aux pesticides (Carbonell et al., 1990; Rupa et al., 1991; Venegas et al., 1998).

#### 5) Activités diverses : correspondent à 12% des articles

Il s'agit ici notamment des activités du bâtiment et des travaux publics, notamment celles en relation avec le goudronnage des routes (Burgaz et al., 1998; Jarvholm et al., 1999; Cavallo et al., 2006a), des activités professionnelles en contact avec le trafic routier (chauffeurs de bus, policiers) (Fredga et al., 1982; Loft et al., 1999; Sreedevi et al., 2006), des activités liés à la prise en charge des déchets (qui sont détaillées dans la partie VI suivante du présent rapport), des activités de laboratoire (Almeida Santos et al., 2005) et des activités de service et de commerce (Bolognesi et al., 1993). Il est sans doute judicieux de citer aussi dans ce cadre les tests de génotoxicité qui ont été pratiqués sur les personnels et volontaires ayant

participé au nettoyage des plages suite aux marées noires, notamment celle liée au naufrage du navire « Prestige » au large des côtes espagnoles en 2002 (Perez-Cadahiac et al., 2006 ; Laffon et al., 2006b ; Perez-Cadahiac et al., 2007).

### II.2.3. Type de test de génotoxicité utilisé

L'analyse relative du type de test de génotoxicité effectué dans ces études indique que les tests cytogénétiques (aberrations chromosomiques, micronoyaux et échange de chromatide sœurs) sont les plus réalisés (Figure 5) ; les tests d'aberrations chromosomiques et d'échange de chromatides sœurs sont ainsi retrouvés dans environ 25% des articles analysés tandis que le test des micronoyaux a été effectué dans environ 15 % des articles. Le test des comètes est aussi très présent, notamment quand l'analyse est restreinte aux articles parus le plus récemment sur la période 2003-2007, puisqu'il représente dans ce cadre environ 20 % des articles, ce qui reflète la mise au point relativement récente de ce test pour l'étude de la génotoxicité. Les autres tests de génotoxicité correspondent à environ 5% ou moins de 5% des articles analysés. L'analyse restreinte à la période la plus récente (2003-2007) par comparaison à la période globale d'étude (1975-2007) montre une diminution de la fréquence relative des tests ayant recours à la détection des adduits chimiques et une augmentation de celle des tests explorant les dommages oxydatifs à l'ADN (8-oxo-dG).

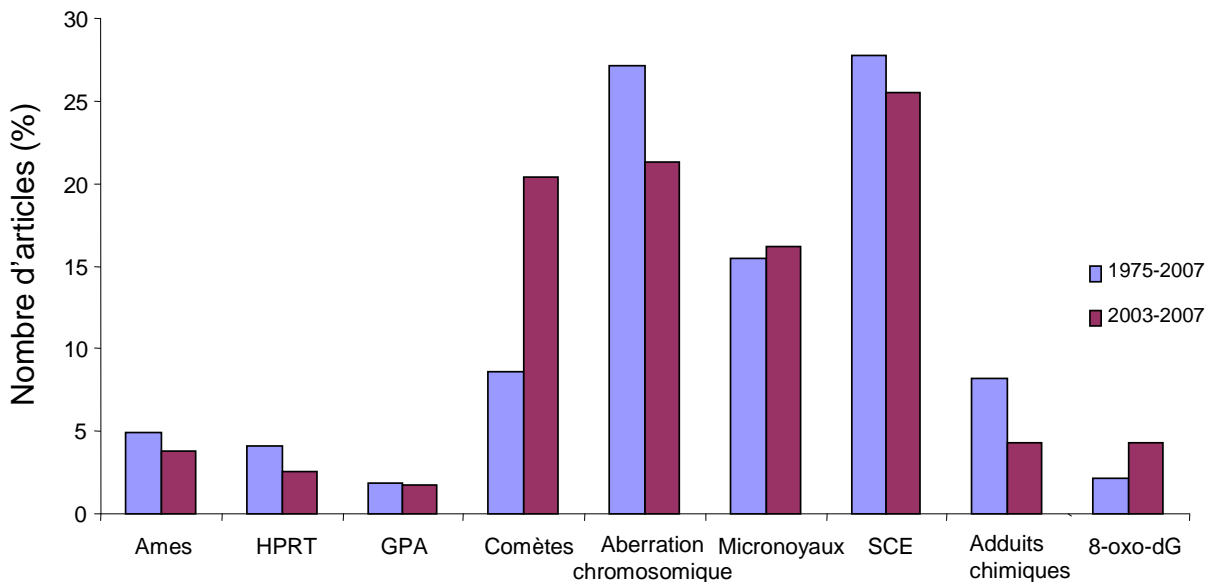


Figure 5 : Répartition relative des tests de génotoxicité utilisés pour la biosurveillance de personnels en situation d'exposition professionnelle (après interrogation de la base PubMed)

Il faut remarquer qu'un nombre relativement important d'études fait cependant appel à plusieurs tests de génotoxicité (Somorovska et al., 1999; Aksoy et al., 2006), ce qui permet de comparer les données des différents tests employés (Hartmann et al., 1998) et d'utiliser des tests de génotoxicité aux finalités différentes mais complémentaires (mise en évidence de marqueurs génotoxiques d'exposition et d'effets dans la même étude). Certaines études associent ainsi un test de génotoxicité mesurant l'exposition à des composés génotoxiques (par exemple l'analyse des urines par le test d'Ames) à un ou plusieurs tests mesurant un effet génotoxique, voir mutagène (par exemple la mesure des micronoyaux ou la détermination des aberrations chromosomiques dans les lymphocytes sanguins) (Siwinska et al., 2004). Il faut noter que certains tests de génotoxicité peuvent donner des résultats positifs alors que d'autres tests au sein de la même étude conduisent à des résultats négatifs (Forni, 1994; Maluf and Erdtmann, 2000). Ainsi, lors d'une étude sur le 1,3-butane-diène, l'exposition professionnelle à ce composé a été corrélée avec des tests positifs d'aberrations chromosomiques et d'échange de chromatide-sœurs alors que les tests de micronoyaux et des comètes n'ont pas retrouvé cette corrélation (Sram et al., 1998). Il est cependant difficile de tirer des enseignements généraux de ces études en terme de comparaison des sensibilités et spécificités des différents types de test utilisés. Ainsi, sur 21 études où à la fois le test des micronoyaux et celui des comètes ont été utilisés, les résultats (Tableau 10) montrent une concordance des résultats pour les 2 tests dans 71% des études et une discordance pour les 29% restants : 9,5 % des études ont un test des micronoyaux positif alors que celui des comètes est négatif et, alternativement, 19,5 % des études ont un test des comètes positif alors que celui des micronoyaux est négatif.

Référence	Test des comètes	Test des micronoyaux
(Moretti et al., 1996)	-	+
(Tates et al., 1996)	-	-
(Sram et al., 1998)	-	-
(Pitarque et al., 1999)	+	-
(Somorovska et al., 1999)	+	+
(De Boeck et al., 2000)	-	-
(Maluf and Erdtmann, 2000)	+	-
(Garaj-Vrhovac and Zeljezic, 2001)	+	+
(Cavallo et al., 2002)	+	-
(Garaj-Vrhovac and Zeljezic, 2002)	+	+
(Laffon et al., 2002)	+	+
(Xiao et al., 2002)	+	+
(Siwinska et al., 2004)	-	+
(Deng et al., 2005)	+	+
(Cavallo et al., 2006b)	+	-
(Chen et al., 2006b)	+	+
(Hongping et al., 2006)	+	+
(Roma-Torres et al., 2006)	+	+
(Vuyyuri et al., 2006)	+	+
(Yang et al., 2007)	+	+
(Zeljezic et al., 2007)	+	+

*Tableau 10 : Comparaison des résultats du test des comètes et du test des micronoyaux dans des études d'exposition professionnelle faisant appel à ces 2 types de test; + : présence d'une corrélation avec l'exposition, - : absence de corrélation avec l'exposition.*

#### *II.2.4. Protocole employé dans les études de biosurveillance du personnel utilisant des tests de génotoxicité*

Les protocoles d'étude employés dans les différents articles sont très généralement similaires (Figure 6). Le plus souvent, le groupe de personnel exposé est comparé à un groupe de personnel non exposé, similaire en ce qui concerne le sexe-ratio et les facteurs confondants (âge, nombre de fumeurs) ; le statut du polymorphisme d'expression d'enzymes du métabolisme des xénobiotiques ou du système de



réparation est de plus parfois renseigné (Laffon et al., 2006a). Parfois, la comparaison est effectuée chez les mêmes sujets avant et après exposition (Lemasters et al., 1997; Marczynski et al., 2005), ce qui permet en théorie d'éliminer l'interférence de facteurs confondants ou du polymorphisme d'expression enzymatique.

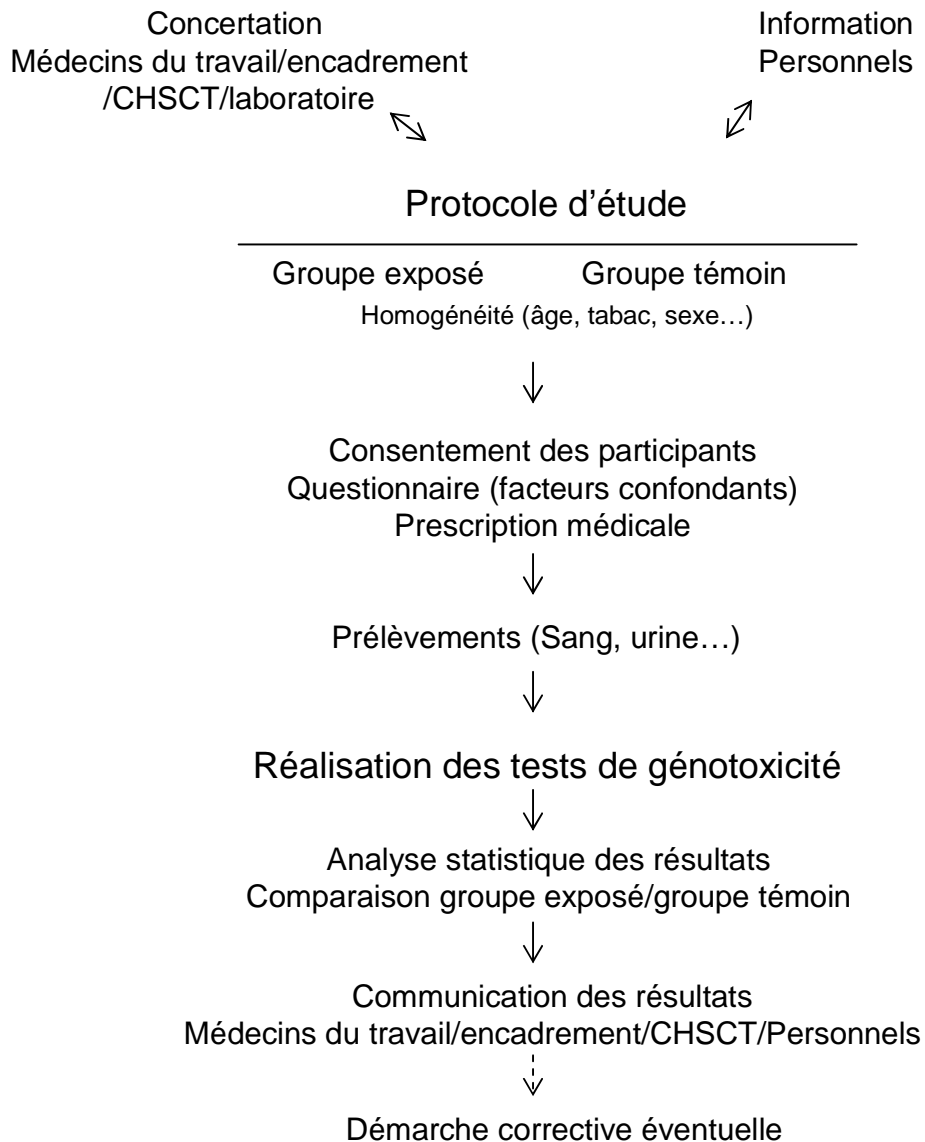


Figure 6 : Principales étapes d'une étude de biosurveillance de l'exposition professionnelle de travailleurs par un test de génotoxicité

La mise en œuvre et le protocole des tests de génotoxicité sont définis en étroite collaboration avec le médecin du travail, l'encadrement et le comité d'hygiène, de sécurité et des conditions de travail (CHSCT) de l'entreprise (Figure 6). L'information du personnel participant à l'étude est effectuée de façon rigoureuse, notamment quant aux enjeux et objectifs de l'étude et à la nature des résultats et de leur communication et gestion et aux mesures correctives qu'ils peuvent entraîner. Le consentement écrit des participants peut être recueilli avant la réalisation des tests de génotoxicité. Les modalités exactes de communication des résultats des tests aux travailleurs sont aussi idéalement définies lors de cette étape initiale.

Les données obtenues concernant les tests de génotoxicité dans le groupe exposé et dans le groupe contrôle de personnel non exposé sont ensuite analysées de façon statistique, de façon à montrer s'il y a ou non une association significative entre l'exposition et une atteinte génotoxique. La nature de l'exposition est attestée par un questionnaire, par des mesures métrologiques des concentrations des toxiques suspectés dans l'atmosphère de travail (Van Hummelen et al., 1993) ou par des dosages analytiques des toxiques ou de leur métabolites dans les prélèvements sanguins ou urinaires réalisés chez les sujets exposés ou non. Les études de génotoxicité s'intéressant à l'exposition professionnelle aux HAP comportent ainsi fréquemment un dosage de métabolites urinaires de ces composés, notamment le 1-hydroxy-pyrène (Burgaz et al., 1998; van Delft et al., 1998), ou de la caractérisation analytique de ces composés dans l'atmosphère de travail (Cavallo et al., 2006b) tandis que celles concernant le plomb peuvent comporter une mesure de la plombémie sanguine (Danadevi et al., 2003). L'étude peut de plus rechercher une influence des facteurs confondants, notamment l'âge ou le tabac, à la fois dans le groupe exposé et le groupe control (Apostoli et al., 1989; Kalina et al., 1998; Zhang et al., 2000).

Les résultats obtenus dans les études peuvent ou non retrouver une association entre l'exposition professionnelle et une positivité des tests de génotoxicité. Il faut remarquer que souvent seule la comparaison du groupe exposé/groupe témoin est effectuée. Les données individuelles ne sont pas considérées comme interprétables en raison notamment des variations interindividuelles de réponse et des facteurs confondants ; il y aurait de plus un problème éthique certain à appréhender des résultats de tests de génotoxicité concernant un individu particulier, renforcé par le manque de fiabilité de ces données individuelles déjà soulignée précédemment. De plus, pour l'analyse d'un même type d'exposition professionnelle, les résultats peuvent être opposés. Ainsi des données divergentes ont été rapportées quant aux conséquences génotoxiques d'une exposition aux médicaments cytotoxiques pour le personnel hospitalier ; certaines études retrouvent ainsi une corrélation avec l'exposition (Norppa et al., 1980; Mahrous et al., 1998), contrairement à d'autres études (Roth et al., 1994; Hessel et al., 2001). Ces variations pourraient être liées à des différences méthodologiques concernant plus particulièrement les variations des conditions d'exposition des populations d'intérêt et le type de test de génotoxicité utilisé. Un bilan global exhaustif est donc délicat à effectuer. Il semble tout de fois intéressant de noter que certains résultats pourraient confirmer les effets génotoxiques chez les personnels d'une exposition professionnelle aux HAP (Perera et al., 1993; Kalina et al., 1998), au styrène (Anwar and Shamy, 1995),

au 1,3-butanediène (Ammenheuser et al., 2001), aux pesticides (Antonucci and de Syllos Colus, 2000; Bhalli et al., 2006), ou aux radiations (Barquinero et al., 1993; Chung et al., 1996; Boyaci et al., 2004). De même, l'exposition au fioul des personnels et volontaires ayant participé au nettoyage des plages et des oiseaux mazoutés suite à la pollution liée au naufrage du navire « Prestige » s'est traduit par une atteinte génotoxique avérée constatée au niveau des lymphocytes par le test d'échange de chromatide-sœur, le tests des micro-noyaux et le test des comètes (Perez-Cadahiac et al., 2006 ; Perez-Cadahiac et al., 2007).

Il est de plus important de remarquer que, quand plusieurs tests de génotoxicité sont réalisés au sein d'une même étude, certains peuvent être positifs, alors que d'autres sont négatifs. Comme déjà indiqué précédemment, les tests des comètes et des micronoyaux peuvent ainsi parfois avoir des résultats différents (Tableau 10). Les discordances peuvent aussi concerner d'autres types de tests de génotoxicité : à titre d'exemple, lors de l'exploration d'une exposition professionnelle au 1,3-butanediène, documentée par le biais de détecteurs passifs personnels, une corrélation a été retrouvée entre l'exposition et les résultats du test d'aberrations chromosomiques, mais pas avec ceux du test des micronoyaux ou du test des comètes (Sram et al., 1998).

Il faut enfin remarquer que l'utilisation des tests de génotoxicité en médecine du travail est actuellement effectuée dans un cadre ponctuel et non routinier. Selon tous les experts scientifiques et médicaux que nous avons interrogés, elle se situe par conséquent plus dans un cadre de recherche médicale en santé au travail que dans un cadre de surveillance biologique effective des travailleurs. Elle n'est d'ailleurs pas encadrée réglementairement actuellement et n'est donc pas à priori opposable juridiquement. Bien que réalisés en France sur prescription du médecin de travail, les tests de génotoxicité ne sont pas par ailleurs pas codifiés et répertoriés dans la nomenclature des actes de biologie médicale. Le nombre d'études réalisées ou en cours de réalisation semble de plus très faible par rapport au grand nombre de situations d'exposition professionnelle à des composés de type CMR qui pourrait sur un plan théorique justifier d'un recours à des tests de génotoxicité dans le cadre de la médecine du travail.

### **III. Atouts de l'utilisation des tests de génotoxicité en médecine du travail**

#### **III.1. Pour la caractérisation du site de travail**

L'utilisation des tests de génotoxicité pour la caractérisation du site de travail, notamment pour l'analyse de l'atmosphère de travail, présente l'avantage de correspondre à un test pleinement fonctionnel, démontrant directement l'activité intrinsèquement génotoxique d'éléments du site de travail (atmosphère, composés avec lesquels les personnels peuvent être en contact...). Cette approche peut être qualifiée de dynamique, par opposition aux dosages métrologiques usuels pouvant apparaître comme statiques. Cette conclusion s'applique notamment aux tests de type éco-toxicologique, qui

prennent en compte les interactions du site sur le plan atmosphérique et du sol avec les organismes vivants s'y trouvant (Fent, 2004).

Les tests de génotoxicité peuvent notamment être particulièrement intéressants dans le cadre de la présence de mélanges ou de substances chimiques complexes sur le site de travail, dont la nature exacte, et donc la dangerosité potentielle, peuvent ne pas être connues (Ong et al., 1990; Brooks et al., 1998; Malachova, 1998). Le test de génotoxicité peut alors donner une réponse globale quant à l'action génotoxique de ces mélanges complexes (Lewtas et al., 1993), qui peuvent être particulièrement difficiles à étudier par les méthodes analytiques conventionnelles. De plus, d'éventuels synergies ou antagonismes d'action en ce qui concerne les effets génotoxiques pourront être abordés (Zeljezic et al., 2006; Bakare et al., 2007). Le danger génotoxique de ces mélanges est délicat à appréhender par la démarche classique consistant à s'adresser aux valeurs toxicologiques de référence, qui ne concernent en général pas les mélanges, mais les substances toxiques prises une à une, et les tests de génotoxicité constituent par conséquent vraisemblablement une approche originale pour l'étude globale de ces mélanges.

L'approche faisant appel aux tests de génotoxicité peut aussi être particulièrement intéressante dans le cadre où la nature exacte des composants présents au niveau du site de travail n'est pas ou ne peut pas être exactement connue et peut varier, ce qui peut correspondre au cas notamment des rejets atmosphériques dans l'industrie sidérurgique (Humfrey et al., 1996) et des déchets solides ou liquides (Rannug and Ramel, 1977), mais peut aussi se produire plus généralement au cours de différents types de processus dans l'industrie (Muller et al., 2002).

L'utilisation des tests de génotoxicité peut également permettre de juger sur un plan fonctionnel des effets d'un traitement de décontamination au niveau d'un sol pollué, après notamment remédiation (Plaza et al., 2005). Elle peut apporter des arguments pour choisir tel composé chimique plutôt qu'un autre pour un procédé industriel et constituer ainsi une aide à la substitution (Kleber et al., 2002).

### III.2. Pour la surveillance biologique du personnel

L'utilisation des tests de génotoxicité pour la biosurveillance du personnel en médecine du travail présente indéniablement certains atouts (Tableau 11) :

- en analysant des prélèvements biologiques réalisés chez les travailleurs exposés, elle permet de refléter à la fois l'exposition et le danger (effet génotoxique), et donc au total d'appréhender le risque. Cela constitue indéniablement un avantage par rapport notamment aux techniques analytiques analysant les concentrations de toxiques ou de ses métabolites dans l'atmosphère de travail (estimation indirecte de l'exposition) ou dans les prélèvements biologiques (estimation directe de l'exposition, mais pas d'un potentiel ou d'un effet génotoxique).
- elle permet d'obtenir des biomarqueurs d'exposition ou d'effets prenant en charge de façon fonctionnelle et intégrative l'ensemble de l'exposition professionnelle à des génotoxiques. Ce point est particulièrement important à souligner car les travailleurs sont souvent exposés à des mélanges complexes de substances

génomiques (Schoket et al., 1999). Les résultats obtenus ont de plus l'intérêt d'avoir une signification potentiellement fonctionnelle contrairement aux dosages analytiques métrologiques.

- elle conduit avec certains types de tests, notamment le test des micronoyaux et des aberrations chromosomiques, à obtenir des biomarqueurs d'effets précoces indicateurs d'effets mutagènes, qui pourraient selon certains être prédictifs ou associés avec un risque accru de cancer, dans un domaine (évaluation du risque génotoxique lié à l'exposition professionnelle à des substances CMR) où il n'y a pas d'autre alternative pour obtenir de tels biomarqueurs d'effets. Ces tests de génotoxicité peuvent donc apparaître comme particulièrement précieux et même incontournables en raison du type d'information qu'ils peuvent apporter.

- différents types de tests de génotoxicité sont disponibles, explorant différents types de génotoxicité et de mutagenèse, ce qui permet éventuellement de pouvoir choisir le type de test le plus adéquat, en fonction de la nature de l'exposition et du toxique. La réalisation combinée de plusieurs types de tests de génotoxicité est également possible, renforçant ainsi la valeur des résultats qui seront obtenus.

- la réalisation de tests de génotoxicité peut être combiné à des analyses explorant le polymorphisme d'expression enzymatique, permettant ainsi de mieux cerner les facteurs de risque, qu'elle peut de plus permettre de valider d'un point de vue fonctionnel (Abdel-Rahman et al., 2003; Chen et al., 2006a).

- les paramètres explorés par les tests de génotoxicité peuvent être considérés comme très en amont du processus cancéreux établi, qui est un processus complexe et multi-étapes, ce qui doit permettre, même en cas de résultats positifs, de mettre en place des actions correctrices préventives au niveau des entreprises. En d'autres termes, les tests de génotoxicité détectent une atteinte génotoxique ou un effet mutagène chez les personnels exposés, pas un cancer. De plus la lésion détectée n'est pas forcément fixée en fonction du type de test ; les dommages à l'ADN détectés par le test des comètes sont ainsi susceptibles d'être réparés.

- les tests de génotoxicité peuvent être associés à des mesures classiques d'analyse des polluants dans l'atmosphère de travail ou à des dosages sanguins ou urinaires des toxiques ou de leurs métabolites dans le sang ou les urines. Il en résulte l'obtention de données complémentaires permettant de cerner au mieux l'exposition professionnelle et le risque génotoxique inhérent.

- certains tests de génotoxicité, notamment le test d'Ames urinaire ou la détection d'adduits chimiques au niveau des leucocytes sanguins, peuvent être effectués avant et après la mise en place de mesures de prévention et de substitution, ce qui permet de juger de leur efficacité.

- le bénéfice potentiel pour l'entreprise de la communication de « bons » résultats des tests de génotoxicité (absence d'effets génotoxiques en lien avec l'exposition professionnelle) vis-à-vis de ses salariés, mais aussi éventuellement de ses clients, peut représenter un atout de la réalisation de tests de génotoxicité.

- la mise en place des tests de génotoxicité peut conduire à une sensibilisation du personnel au risque génotoxique et donc à une meilleure observance des règles de sécurité et de prévention.

- les nombreuses études publiées sur la réalisation de tests de génotoxicité en médecine du travail ont enfin montré la faisabilité technique de ces tests, même si ces techniques n'ont pas fait l'objet d'une

validation reconnue et de conférences de consensus pour leur application en médecine du travail pour la biosurveillance des travailleurs exposés

---

Tests fonctionnels  
Variété des tests  
Obtention de biomarqueurs d'effets  
Prise en compte de l'exposition à des mélanges de génotoxiques  
Faisabilité technique avérée  
Aspect complémentaire des tests métrologiques  
Aide à la mise en place de mesures de prévention  
Gestion des retombées de « bons » résultats  
Couplage possible avec l'étude de polymorphismes

---

*Tableau 11 : Principaux atouts de l'utilisation des tests de génotoxicité pour la biosurveillance du personnel en médecine du travail*

#### **IV. Limites et contraintes de l'utilisation des tests de génotoxicité en médecine du travail**

##### IV.1 Pour la caractérisation du site de travail

Les limites et contraintes de l'utilisation des tests de génotoxicité pour la caractérisation du site de travail sont notamment :

- L'absence de cadre réglementaire pour l'utilisation des tests de génotoxicité.
- La difficulté d'interprétation des résultats obtenus en raison de l'absence de normes concernant les données, notamment au niveau du seuil acceptable pour un effet génotoxique observé au niveau par exemple d'une atmosphère de travail, et de l'absence de techniques de référence pleinement validées pouvant permettre d'effectuer des comparaisons inter-laboratoires. Les VLEP font ainsi référence uniquement à des données métrologiques et il est difficile de leur comparer des données issues de tests de génotoxicité.
- L'absence de détection des composés cancérigènes non génotoxiques.
- La difficulté d'extrapoler les données à l'évaluation des situations d'exposition humaine en condition réelle, notamment en raison des étapes techniques (étapes de piégeage, de concentrations et de fractionnement) pouvant être requises pour générer au final des signaux exploitables lors de la réalisation des tests de génotoxicité. En d'autres termes, la concentration de prélèvements atmosphériques particuliers lors des mesures peut conduire à détecter un effet génotoxique de ces prélèvements, qui

correspond en fait à la présence de façon très diluée de composés génotoxiques dans les conditions natives d'exposition. Les différences inter-espèces de métabolisme et de sensibilité aux agents génotoxiques (Moore et al., 2004) peuvent également contribuer fortement à rendre délicat l'extrapolation de données éco-toxicologiques générées sur les sites de travail aux situations d'exposition humaines.

- Le faible nombre d'études jusqu'à présent consacrées à l'utilisation des tests de génotoxicité pour la caractérisation du site du travail, suggérant qu'il s'agit pleinement d'un domaine du ressort de la recherche, à développer certes, mais dont les retombées directes applicatives en médecine du travail ne sont pas à attendre à court ou moyen terme.

- Le prix de revient des tests de génotoxicité, qui est relativement onéreux. Ce coût est en fait difficile à évaluer précisément car la très grande majorité, sinon la totalité, des études de génotoxicité en médecine du travail se fait dans le cadre de travaux de recherche, subventionnés dans ce cadre spécifiquement par des financements obtenus sur appel d'offres auprès des pouvoirs publics, d'organismes sociaux ou d'associations à but non lucratif, et les charges de personnel et l'amortissement des appareillages requis ne sont souvent pas pris en charge ou de façon marginale uniquement. Néanmoins, les experts scientifiques et médicaux que nous avons interrogés suggèrent un coût unitaire global d'au moins environ 50 à 100 euros HT pour le test d'Ames, de 300 euros HT pour les études cytogénétiques (test des micronoyaux et test d'aberrations chromosomiques) et la recherche d'adduits chimiques (par post-marquage au phosphore 32) et d'environ 500 euros HT pour le test des comètes (avec analyse d'image). Il faut de plus rajouter au coût de ces tests celui des étapes d'amont, par exemple celui du prélèvement atmosphérique et de son traitement (étapes d'extraction).

- Le faible nombre actuel de laboratoires, qui sont le plus souvent des laboratoires universitaires de recherche, pouvant réaliser et interpréter les tests de génotoxicité. Cela constitue incontestablement un frein à l'utilisation des tests de génotoxicité en médecine de travail. Ainsi contrairement à des examens de biologie médicale type numération et formule sanguine qui peuvent être facilement réalisés dans n'importe quel type de laboratoire d'analyses et de biologie médicale en France, la mise en œuvre des tests de génotoxicité fait appel à de rares laboratoires hautement spécialisés. La réalisation de ces tests de génotoxicité requiert de plus un personnel présentant un degré élevé de qualification et d'expertise requis pour la réalisation des tests de génotoxicité, ce qui correspond également à un facteur limitant potentiellement l'usage de ces techniques en médecine du travail.

#### IV.2. - Pour la biosurveillance du personnel

Les contraintes et limites de l'utilisation des tests de génotoxicité pour la surveillance du personnel en médecine du travail sont pour partie, les mêmes que celles décrites précédemment pour la caractérisation des sites de travail (Tableau 12). Elles sont notamment liées à :

- L'absence de cadre réglementaire pour la réalisation de ces tests. Le domaine dont relèvent ces tests (recherche biomédicale ou tests de routine ?) n'est pas fixé et la nécessité ou non de faire appel à un

comité de protection des personnes lors de la mise en œuvre des tests de génotoxicité peut par conséquent faire débat.

- La difficulté d'interprétation de ces tests, reflétant notamment l'absence de validation et de normes pour les méthodes techniques employées, ce qui rend difficile les comparaisons inter et même intra-laboratoires, la présence de nombreux facteurs confondants (notamment le tabac et l'âge), même si ceux-ci sont parfois controversés, et l'interférence de polymorphisme d'expression enzymatique. Cette difficulté d'interprétation des tests est notamment illustrée par les résultats souvent contradictoires rapportés dans la littérature concernant les effets génotoxiques d'une même exposition professionnelle. Elle est aussi attestée par les variations observées selon les études pour les valeurs de bases observées dans les groupes témoins non exposés. Ainsi pour le test des micronoyaux, l'analyse de 12 articles montre que le taux de lymphocytes présentant un micronoyau, exprimé par rapport à 1000 lymphocytes, varie dans les groupes contrôles non exposés de 0,3 à 12,5 (Tableau 12); une telle variation des niveaux de base selon les études rend logiquement difficile les comparaisons inter-études. De plus, les taux retrouvés dans les groupes exposés sont également souvent dispersés (Tableau 12). Les variations entre groupe exposé et contrôle peuvent de plus être quantitativement faibles, bien que significatives sur le plan statistique, et les taux de cellules présentant des micronoyaux dans les groupes exposés dans certaines études sont proches de ceux retrouvés dans les groupes témoins d'autres études. Cela peut aussi contribuer à rendre difficile l'interprétation des données dans l'absolu et confirme que toute interprétation d'un résultat individuel considéré isolément est difficilement envisageable.

- L'absence de détection de l'exposition à des composés cancérigènes non génotoxiques, indiquant que l'ensemble des composés cancérigènes n'est pas couvert.

- L'absence de prise en compte possible des données individuelles des tests de génotoxicité, en raison notamment des facteurs confondants et du polymorphisme d'expression enzymatique et des variations inter-individuelles dans la susceptibilité à l'action de composés génotoxiques. Les données doivent être obligatoirement analysées à l'échelle de groupe, notamment un groupe exposé par référence à un groupe témoin, ou alternativement, un même groupe avant et après exposition. Cela oblige donc nécessairement les études de génotoxicité en médecine du travail à considérer un groupe de sujets exposés et un groupe de sujets témoins, dont les effectifs sont souvent d'une trentaine de personnes par groupe, ce qui alourdit forcément le lancement d'une telle étude.

- Le coût économique onéreux des tests de génotoxicité, déjà cité précédemment. De plus, à ce coût important, viennent se greffer les coûts liés aux prélèvements biologiques, à leur acheminement jusqu'au laboratoire faisant les analyses. Il faut aussi ajouter la prise en charge financière de la gestion des résultats et de leur analyse statistique.



---

Absence de cadre réglementaire  
 Difficulté d'interprétation des résultats  
 Absence de détection des composés cancérigènes non génotoxiques  
 Absence de normes  
 Influence des facteurs confondants (âge, tabac...)  
 Relative lourdeur des études  
 Absence de prise en compte de résultats individuels  
 Coût onéreux  
 Nombre limité de laboratoires pouvant réaliser les tests  
 Problèmes éthiques et sociétaux  
 Gestion des retombées de « mauvais » résultats

---

*Tableau 12 : Principales contraintes et limites de l'utilisation des tests de génotoxicité pour la biosurveillance du personnel en médecine du travail*

---

Référence	Taux (pour 1000) de lymphocytes avec micronoyaux	
	Groupe témoin	Groupe exposé
(Siwinska et al., 2004)	3,0	6,0
(Deng et al., 2005)	4,4	8,0
(Chen et al., 2006b)	1,9	7,8
(Hongping et al., 2006)	3,1	13,7
(Sailaja et al., 2006)	0,3	1,2
(Sari-Minodier et al., 2007)	12,5	15,0
(Celik et al., 2007)	6,6	8,2
(Roma-Torres et al., 2006)	2,0	4,1
(Pinto et al., 2000)	0,3	1,2
(Testa et al., 2002)	4,0	8,4
(Maffei et al., 2005)	4,9	7,1
(Minozzo et al., 2004)	1,5	3,9

---

*Tableau 13 : Taux de lymphocytes (pour 1000 lymphocytes) présentant des micronoyaux dans différentes études d'exposition professionnelle.*

- Le faible nombre de laboratoires compétents pour réaliser les tests, qui nécessitent de plus un personnel qualifié, ce qui constitue un frein pour une utilisation importante de ces tests pour la biosurveillance du personnel en médecine du travail.
- Les problèmes éthiques et sociétaux liés à l'utilisation des tests de génotoxicité qui touche un sujet très sensible (le risque cancérigène), notamment en ce qui concerne l'information et la communication des données aux travailleurs exposés participant à l'étude. Cette dimension éthique a été soulignée par la plupart des experts scientifiques que nous avons interrogés ; elle nécessite une information claire et précise avant, pendant et après la réalisation des tests de génotoxicité, en lien avec le médecin de travail de l'entreprise, l'encadrement et le CHSCT. D'autre part, les résultats individuels doivent être couverts par le secret médical ; ils peuvent ne pas être habituellement communiqués aux travailleurs qui n'auront que le bilan global. Ces résultats individuels peuvent d'ailleurs de plus être codés pour garantir l'anonymat des données recueillies. Ce point d'absence ou non de rendu direct des résultats aux personnels peut néanmoins faire l'objet de débats.
- Les conséquences potentielles pour l'entreprise en terme de mesures correctives à prendre en cas de résultats traduisant un effet génotoxique significatif de l'exposition professionnelle et de gestion de ces « mauvais » résultats vis-à-vis des salariés bien sûr, mais éventuellement vis-à-vis de ses clients. Il s'agit bien sur ici d'une contrainte incontournable à laquelle l'entreprise doit idéalement se préparer dès le lancement de l'étude au cas où.

## V. Conclusion

L'utilisation des tests de génotoxicité en médecine du travail reste aujourd'hui plus du domaine de la recherche en santé au travail que de celui d'une pratique régulière et routinière, même si de nombreuses études montrent sa faisabilité technique, notamment en ce qui concerne la biosurveillance du personnel. Elle présente cependant des atouts indéniables, notamment pour l'étude de l'exposition à des mélanges complexes qu'elle peut analyser de façon globale et fonctionnelle contrairement aux techniques analytiques classiques. Elle permet aussi d'obtenir des biomarqueurs d'effet précoce, traduisant un effet génotoxique, et ne pouvant pas être obtenus avec des techniques analytiques classiques. L'interprétation des tests de génotoxicité reste néanmoins délicate à effectuer.

## VI. Références

- Abdel-Rahman SZ, El-Zein RA, Ammenheuser MM, Yang Z, Stock TH, Morandi M and Ward JB, Jr. (2003) Variability in human sensitivity to 1,3-butadiene: Influence of the allelic variants of the microsomal epoxide hydrolase gene. *Environ Mol Mutagen* **41**:140-146.
- Aksoy H, Yilmaz S, Celik M, Yuzbasioglu D and Unal F (2006) Genotoxicity study in lymphocytes of offset printing workers. *J Appl Toxicol* **26**:10-15.
- Al Zabadi H, Ferrari L, Laurent AM, Tiberghent A, Paris C and Zmirou-Navier D (2008) Biomonitoring of complex occupational exposures to carcinogens: the case of sewage workers in Paris. *BMC Cancer* **8**:67.

- Almeida Santos MF, Ferrari I and Luna H (2005) Chromosomal aberration analysis in workers exposed to chemical and biological hazards in research laboratories. *Environ Res* **97**:330-334.
- Ammenheuser MM, Bechtold WE, Abdel-Rahman SZ, Rosenblatt JI, Hastings-Smith DA and Ward JB, Jr. (2001) Assessment of 1,3-butadiene exposure in polymer production workers using HPRT mutations in lymphocytes as a biomarker. *Environ Health Perspect* **109**:1249-1255.
- Antonucci GA and de Syllos Colus IM (2000) Chromosomal aberrations analysis in a Brazilian population exposed to pesticides. *Teratog Carcinog Mutagen* **20**:265-272.
- Anwar WA and Shamy MY (1995) Chromosomal aberrations and micronuclei in reinforced plastics workers exposed to styrene. *Mutat Res* **327**:41-47.
- Apostoli P, Leone R, Porru S, Fracasso ME and Alessio L (1989) Urinary mutagenicity tests in lead-exposed workers. *Mutat Res* **222**:245-251.
- Arnould JP, Kubiak R, Belowski J, Belegaud J and Szczeklik J (2000) Detection of benzo[a]pyrene-DNA adducts in leukocytes of coke oven workers. *Pathol Biol (Paris)* **48**:548-553.
- Artuso M, Angotzi G, Bonassi S, Bonatti S, De Ferrari M, Gargano D, Lastrucci L, Miligi L, Sbrana C and Abbondandolo A (1995) Cytogenetic biomonitoring of styrene-exposed plastic boat builders. *Arch Environ Contam Toxicol* **29**:270-274.
- Avishai N, Rabinowitz C and Rinkevich B (2003) Use of the comet assay for studying environmental genotoxicity: comparisons between visual and image analyses. *Environ Mol Mutagen* **42**:155-165.
- Bakare AA, Pandey AK, Bajpayee M, Bhargav D, Chowdhuri DK, Singh KP, Murthy RC and Dhawan A (2007) DNA damage induced in human peripheral blood lymphocytes by industrial solid waste and municipal sludge leachates. *Environ Mol Mutagen* **48**:30-37.
- Ballardin M, Antonelli A, Cipollini M, Fallahi P, Scarpato R, Tomei A, Traino C and Barale R (2007) Induction of chromatid-type aberrations in peripheral lymphocytes of hospital workers exposed to very low doses of radiation. *Mutat Res* **626**:61-68.
- Barquinero JF, Barrios L, Caballin MR, Miro R, Ribas M, Subias A and Egozcue J (1993) Cytogenetic analysis of lymphocytes from hospital workers occupationally exposed to low levels of ionizing radiation. *Mutat Res* **286**:275-279.
- Bhalli JA, Khan QM and Nasim A (2006) DNA damage in Pakistani pesticide-manufacturing workers assayed using the Comet assay. *Environ Mol Mutagen* **47**:587-593.
- Bilban M, Jakopin CB and Ogrinc D (2005) Cytogenetic tests performed on operating room personnel (the use of anaesthetic gases). *Int Arch Occup Environ Health* **78**:60-64.
- Bolognesi C, Parrini M, Merlo F and Bonassi S (1993) Frequency of micronuclei in lymphocytes from a group of floriculturists exposed to pesticides. *J Toxicol Environ Health* **40**:405-411.
- Borras M and Nadal J (2004) Biomarkers of genotoxicity and other end-points in an integrated approach to environmental risk assessment. *Mutagenesis* **19**:165-168.
- Boyaci B, Yalcin R, Cengel A, Erdem O, Dortlemez O, Dortlemez H and Sardas S (2004) Evaluation of DNA damage in lymphocytes of cardiologists exposed to radiation during cardiac catheterization by the COMET ASSAY. *Jpn Heart J* **45**:845-853.
- Brooks LR, Hughes TJ, Claxton LD, Austern B, Brenner R and Kremer F (1998) Bioassay-directed fractionation and chemical identification of mutagens in bioremediated soils. *Environ Health Perspect* **106 Suppl 6**:1435-1440.
- Burgaz S, Erdem O, Karahalil B and Karakaya AE (1998) Cytogenetic biomonitoring of workers exposed to bitumen fumes. *Mutat Res* **419**:123-130.
- Carbonell E, Puig M, Xamena N, Creus A and Marcos R (1990) Sister chromatid exchange in lymphocytes of agricultural workers exposed to pesticides. *Mutagenesis* **5**:403-405.
- Cardoso RS, Takahashi-Hyodo S, Peitl P, Jr., Ghilardi-Neto T and Sakamoto-Hojo ET (2001) Evaluation of chromosomal aberrations, micronuclei, and sister chromatid exchanges in hospital workers chronically exposed to ionizing radiation. *Teratog Carcinog Mutagen* **21**:431-439.
- Carere A, Antoccia A, Crebelli R, Degrassi F, Fiore M, Iavarone I, Isacchi G, Lagorio S, Leopardi P, Marcon F and et al. (1995) Genetic effects of petroleum fuels: cytogenetic monitoring of gasoline station attendants. *Mutat Res* **332**:17-26.
- Cavallo D, Iavicoli I, Setini A, Marinaccio A, Perniconi B, Carelli G and Iavicoli S (2002) Genotoxic risk and oxidative DNA damage in workers exposed to antimony trioxide. *Environ Mol Mutagen* **40**:184-189.

- Cavallo D, Ursini CL, Bavazzano P, Cassinelli C, Frattini A, Perniconi B, Di Francesco A, Ciervo A, Rondinone B and Iavicoli S (2006a) Sister chromatid exchange and oxidative DNA damage in paving workers exposed to PAHs. *Ann Occup Hyg* **50**:211-218.
- Cavallo D, Ursini CL, Carelli G, Iavicoli I, Ciervo A, Perniconi B, Rondinone B, Gismondi M and Iavicoli S (2006b) Occupational exposure in airport personnel: characterization and evaluation of genotoxic and oxidative effects. *Toxicology* **223**:26-35.
- Celik M, Donbak L, Unal F, Yuzbasioglu D, Aksoy H and Yilmaz S (2007) Cytogenetic damage in workers from a coal-fired power plant. *Mutat Res* **627**:158-163.
- Chen Y, Bai Y, Yuan J, Chen W, Sun J, Wang H, Liang H, Guo L, Yang X, Tan H, Su Y, Wei Q and Wu T (2006a) Association of polymorphisms in AhR, CYP1A1, GSTM1, and GSTT1 genes with levels of DNA damage in peripheral blood lymphocytes among coke-oven workers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **15**:1703-1707.
- Chen Z, Lou J, Chen S, Zheng W, Wu W, Jin L, Deng H and He J (2006b) Evaluating the genotoxic effects of workers exposed to lead using micronucleus assay, comet assay and TCR gene mutation test. *Toxicology* **223**:219-226.
- Chung HW, Ryu EK, Kim YJ and Ha SW (1996) Chromosome aberrations in workers of nuclear-power plants. *Mutat Res* **350**:307-314.
- Claxton LD, Matthews PP and Warren SH (2004) The genotoxicity of ambient outdoor air, a review: Salmonella mutagenicity. *Mutat Res* **567**:347-399.
- Claxton LD and Woodall GM, Jr. (2007) A review of the mutagenicity and rodent carcinogenicity of ambient air. *Mutat Res*.
- Cotelle S and Ferard JF (1999) Comet assay in genetic ecotoxicology: a review. *Environ Mol Mutagen* **34**:246-255.
- da Silva J, de Freitas TR, Heuser V, Marinho JR and Erdtmann B (2000) Genotoxicity biomonitoring in coal regions using wild rodent *Ctenomys torquatus* by Comet assay and micronucleus test. *Environ Mol Mutagen* **35**:270-278.
- Danadevi K, Rozati R, Saleha Banu B, Hanumanth Rao P and Grover P (2003) DNA damage in workers exposed to lead using comet assay. *Toxicology* **187**:183-193.
- De Boeck M, Lardau S, Buchet JP, Kirsch-Volders M and Lison D (2000) Absence of significant genotoxicity in lymphocytes and urine from workers exposed to moderate levels of cobalt-containing dust: a cross-sectional study. *Environ Mol Mutagen* **36**:151-160.
- de Kok TM, Drieste HA, Hogervorst JG and Briede JJ (2006) Toxicological assessment of ambient and traffic-related particulate matter: a review of recent studies. *Mutat Res* **613**:103-122.
- Deng H, Zhang M, He J, Wu W, Jin L, Zheng W, Lou J and Wang B (2005) Investigating genetic damage in workers occupationally exposed to methotrexate using three genetic end-points. *Mutagenesis* **20**:351-357.
- Dobias L, Kusova J, Gajdos O, Vidova P, Gajdosova D, Havrankova J, Fried M, Binkova B and Topinka J (1999) Bioassay-directed chemical analysis and detection of mutagenicity in ambient air of the coke oven. *Mutat Res* **445**:285-293.
- Donbak L, Rencuzogullari E, Topaktas M and Sahin G (2006) A biomonitoring study on the workers from textile dyeing plants. *Genetika* **42**:757-762.
- Donbak L, Rencuzogullari E, Yavuz A and Topaktas M (2005) The genotoxic risk of underground coal miners from Turkey. *Mutat Res* **588**:82-87.
- Du Four VA, Janssen CR, Brits E and Van Larebeke N (2005) Genotoxic and mutagenic activity of environmental air samples from different rural, urban and industrial sites in Flanders, Belgium. *Mutat Res* **588**:106-117.
- Edwards JW and Priestly BG (1993) Sister chromatid exchanges in lymphocytes of petroleum retailers. *Br J Ind Med* **50**:149-154.
- Evans HJ, Buckton KE, Hamilton GE and Carothers A (1979) Radiation-induced chromosome aberrations in nuclear-dockyard workers. *Nature* **277**:531-534.
- Falck K, Sorsa M, Vainio H and Kilpikari I (1980) Mutagenicity in urine of workers in rubber industry. *Mutat Res* **79**:45-52.
- Fent K (2004) Ecotoxicological effects at contaminated sites. *Toxicology* **205**:223-240.
- Forni A (1994) Comparison of chromosome aberrations and micronuclei in testing genotoxicity in humans. *Toxicol Lett* **72**:185-190.

- Fracasso ME, Franceschetti P, Mossini E, Tieghi S, Perbellini L and Romeo L (1999) Exposure to mutagenic airborne particulate in a rubber manufacturing plant. *Mutat Res* **441**:43-51.
- Fredga K, Davring L, Sunner M, Bengtsson BO, Elinder CG, Sigtryggsson P and Berlin M (1982) Chromosome changes in workers (smokers and nonsmokers) exposed to automobile fuels and exhaust gases. *Scand J Work Environ Health* **8**:209-221.
- Garaj-Vrhovac V and Zeljezic D (2001) Cytogenetic monitoring of croatian population occupationally exposed to a complex mixture of pesticides. *Toxicology* **165**:153-162.
- Garaj-Vrhovac V and Zeljezic D (2002) Assessment of genome damage in a population of Croatian workers employed in pesticide production by chromosomal aberration analysis, micronucleus assay and Comet assay. *J Appl Toxicol* **22**:249-255.
- Garte S, Popov T, Georgieva T, Bolognesi C, Taioli E, Bertazzi P, Farmer P and Merlo DF (2005) Biomarkers of exposure and effect in Bulgarian petrochemical workers exposed to benzene. *Chem Biol Interact* **153-154**:247-251.
- Guerbet M, Brisorgueil E, Jolibois B, Caillard JF and Gehanno JF (2007) Evaluation of urinary mutagenicity in azo dye manufacture workers. *Int J Occup Med Environ Health* **20**:137-145.
- Ha M, Yoo KY and Cho SH (2002) Glycophorin A mutant frequency in radiation workers at the nuclear power plants and a hospital. *Mutat Res* **501**:45-56.
- Haglund U, Lundberg I and Zech L (1980) Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in Swedish paint industry workers. *Scand J Work Environ Health* **6**:291-298.
- Hartmann A, Fender H and Speit G (1998) Comparative biomonitoring study of workers at a waste disposal site using cytogenetic tests and the comet (single-cell gel) assay. *Environ Mol Mutagen* **32**:17-24.
- Hessel H, Radon K, Pethran A, Maisch B, Grobmair S, Sautter I and Fruhmann G (2001) The genotoxic risk of hospital, pharmacy and medical personnel occupationally exposed to cytostatic drugs--evaluation by the micronucleus assay. *Mutat Res* **497**:101-109.
- Hilali A, Anane R, Jaaouani N, Creppy EE and Verschaeve L (2007) Cytogenetic analysis of tannery workers in Morocco. *J Appl Toxicol*.
- Hogstedt B, Akesson B, Axell K, Gullberg B, Mitelman F, Pero RW, Skerfving S and Welinder H (1983) Increased frequency of lymphocyte micronuclei in workers producing reinforced polyester resin with low exposure to styrene. *Scand J Work Environ Health* **9**:241-246.
- Hongping D, Jianlin L, Meibian Z, Wei W, Lifen J, Shijie C, Wei Z, Baohong W and Jiliang H (2006) Detecting the cytogenetic effects in workers occupationally exposed to vincristine with four genetic tests. *Mutat Res* **599**:152-159.
- Humfrey CD, Levy LS and Faux SP (1996) Potential carcinogenicity of foundry fumes: a comparative in vivo-in vitro study. *Food Chem Toxicol* **34**:1103-1111.
- Jarvholm B, Nordstrom G, Hogstedt B, Levin JO, Wahlstrom J, Ostman C and Bergendahl C (1999) Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and genotoxic effects on nonsmoking Swedish road pavement workers. *Scand J Work Environ Health* **25**:131-136.
- Jha AN (2008) Ecotoxicological applications and significance of the comet assay. *Mutagenesis* **23**:207-221.
- Kalina I, Brezani P, Gajdosova D, Binkova B, Salagovic J, Habalova V, Mrackova G, Dobias L and Sram RJ (1998) Cytogenetic monitoring in coke oven workers. *Mutat Res* **417**:9-17.
- Kelsey KT, Smith TJ, Hammond SK, Letz R and Little JB (1990) Sister-chromatid exchanges in lymphocytes from styrene-exposed boat builders. *Mutat Res* **241**:215-221.
- Kleber M, Blaszkewicz M, Lucas S, Bolt HM and Follmann W (2002) Mutagenic effects of cutting fluids and components in the Salmonella typhimurium mutagenicity assay. *Toxicol Ind Health* **18**:425-433.
- Krokje A, Tiltnes A, Mylius E and Gullvag B (1988) Testing for mutagens in an aluminium plant. The results of Salmonella typhimurium tests on urine from exposed workers. *Mutat Res* **204**:163-172.
- Laffon B, Pasaro E and Mendez J (2002) Evaluation of genotoxic effects in a group of workers exposed to low levels of styrene. *Toxicology* **171**:175-186.
- Laffon B, Teixeira JP, Silva S, Roma-Torres J, Perez-Cadahia B, Mendez J, Pasaro E and Mayan O (2006a) Assessment of occupational genotoxic risk in the production of rubber tyres. *Ann Occup Hyg* **50**:583-592.

- Laffon B, Fraga-Iriso R, Pérez-Cadahía B and Méndez J (2006b) Genotoxicity associated to exposure to Prestige oil during autopsies and cleaning of oil-contaminated birds. *Food Chem Toxicol* **44**:1714-1723.
- Lah B, Vidic T, Glasencnik E, Cepeljnik T, Gorjanc G and Marinsek-Logar R (2008) Genotoxicity evaluation of water soil leachates by Ames test, comet assay, and preliminary Tradescantia micronucleus assay. *Environ Monit Assess* **139**:107-118.
- Laurent C, Frederic J and Leonard AY (1984) Sister chromatid exchange frequency in workers exposed to high levels of ethylene oxide, in a hospital sterilization service. *Int Arch Occup Environ Health* **54**:33-43.
- Lemasters GK, Livingston GK, Lockey JE, Olsen DM, Shukla R, New G, Selevan SG and Yiin JH (1997) Genotoxic changes after low-level solvent and fuel exposure on aircraft maintenance personnel. *Mutagenesis* **12**:237-243.
- Lewtas J, Claxton L, Mumford J and Lofroth G (1993) Bioassay of complex mixtures of indoor air pollutants. *IARC Sci Publ*:85-95.
- Liu AL, Lu WQ, Wang ZZ, Chen WH, Lu WH, Yuan J, Nan PH, Sun JY, Zou YL, Zhou LH, Zhang C and Wu TC (2006) Elevated levels of urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, lymphocytic micronuclei, and serum glutathione S-transferase in workers exposed to coke oven emissions. *Environ Health Perspect* **114**:673-677.
- Loft S, Poulsen HE, Vistisen K and Knudsen LE (1999) Increased urinary excretion of 8-oxo-2'-deoxyguanosine, a biomarker of oxidative DNA damage, in urban bus drivers. *Mutat Res* **441**:11-19.
- Loomis DP, Shy CM, Allen JW and Saccomanno G (1990) Micronuclei in epithelial cells from sputum of uranium workers. *Scand J Work Environ Health* **16**:355-362.
- Lorge E, Gervais V, Becourt-Lhote N, Maisonneuve C, Delongéas JL and Claude N (2007) Genetic toxicity assessment: employing the best science for human safety evaluation part IV: a strategy in genotoxicity testing in drug development: some examples. *Toxicol Sci* **98**:39-42.
- Lu Y, Morimoto K and Nakayama K (2006) Health practices and leukocyte DNA damage in Japanese hard-metal workers. *Prev Med* **43**:140-144.
- Maffei F, Hrelia P, Angelini S, Carbone F, Cantelli Forti G, Barbieri A, Sanguinetti G, Mattioli S and Violante FS (2005) Effects of environmental benzene: micronucleus frequencies and haematological values in traffic police working in an urban area. *Mutat Res* **583**:1-11.
- Mahrous HS, Ismail SR, Hashishe MM and Kohail HM (1998) Sister chromatid exchanges and chromosome aberrations in lymphocytes of medical personnel handling cytostatic drugs. *J Egypt Public Health Assoc* **73**:297-323.
- Malachova K (1998) Mutagenicity tests on the bacteria and the detection of genotoxicity of industrial complex mixtures containing PAHs. *Cent Eur J Public Health* **6**:307-313.
- Maluf SW and Erdtmann B (2000) Follow-up study of the genetic damage in lymphocytes of pharmacists and nurses handling antineoplastic drugs evaluated by cytokinesis-block micronuclei analysis and single cell gel electrophoresis assay. *Mutat Res* **471**:21-27.
- Marczynski B, Preuss R, Mensing T, Angerer J, Seidel A, El Mourabit A, Wilhelm M and Bruning T (2005) Genotoxic risk assessment in white blood cells of occupationally exposed workers before and after alteration of the polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) profile in the production material: comparison with PAH air and urinary metabolite levels. *Int Arch Occup Environ Health* **78**:97-108.
- Medeiros MG, Rodrigues AS, Batoreu MC, Laires A, Rueff J and Zhitkovich A (2003) Elevated levels of DNA-protein crosslinks and micronuclei in peripheral lymphocytes of tannery workers exposed to trivalent chromium. *Mutagenesis* **18**:19-24.
- Mensing T, Marczynski B, Engelhardt B, Wilhelm M, Preuss R, Kappler M, Angerer J, Kafferlein HU, Scherenberg M, Seidel A and Bruning T (2005) DNA adduct formation of benzo[a]pyrene in white blood cells of workers exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Int J Hyg Environ Health* **208**:173-178.
- Minozzo R, Deimling LI, Gigante LP and Santos-Mello R (2004) Micronuclei in peripheral blood lymphocytes of workers exposed to lead. *Mutat Res* **565**:53-60.
- Monarca S, Feretti D, Zanardini A, Moretti M, Villarini M, Spiegelhalder B, Zerbini I, Gelatti U and Lebbolo E (2001) Monitoring airborne genotoxicants in the rubber industry using genotoxicity tests and chemical analyses. *Mutat Res* **490**:159-169.

- Moore MN, Depledge MH, Readman JW and Paul Leonard DR (2004) An integrated biomarker-based strategy for ecotoxicological evaluation of risk in environmental management. *Mutat Res* **552**:247-268.
- Moretti M, Villarini M, Scassellati-Sforzolini G, Monarca S, Libraro M, Fatigoni C, Donato F, Leonardis C and Perego L (1996) Biological monitoring of genotoxic hazard in workers of the rubber industry. *Environ Health Perspect* **104 Suppl 3**:543-545.
- Mouchet F, Gauthier L, Mailhes C, Ferrier V and Devaux A (2005) Comparative study of the comet assay and the micronucleus test in amphibian larvae (*Xenopus laevis*) using benzo(a)pyrene, ethyl methanesulfonate, and methyl methanesulfonate: establishment of a positive control in the amphibian comet assay. *Environ Toxicol* **20**:74-84.
- Muller P, Stock T, Bauer S and Wolff I (2002) Genotoxicological characterisation of complex mixtures. Genotoxic effects of a complex mixture of perhalogenated hydrocarbons. *Mutat Res* **515**:99-109.
- Norppa H, Sorsa M, Vainio H, Grohn P, Heinonen E, Holsti L and Nordman E (1980) Increased sister chromatid exchange frequencies in lymphocytes of nurses handling cytostatic drugs. *Scand J Work Environ Health* **6**:299-301.
- Ong T, Stewart JD and Whong WZ (1990) Use of bacterial assay system for monitoring genotoxic complex mixtures in the occupational setting. *IARC Sci Publ*:101-106.
- Perera FP, Tang DL, O'Neill JP, Bigbee WL, Albertini RJ, Santella R, Ottman R, Tsai WY, Dickey C, Mooney LA and et al. (1993) HPRT and glycophorin A mutations in foundry workers: relationship to PAH exposure and to PAH-DNA adducts. *Carcinogenesis* **14**:969-973.
- Perez-Cadahia B, Laffon B, Pasaro E and Mendez J (2006) Genetic damage induced by accidental environmental pollutants. *ScientificWorldJournal* **25**: 1221-1237.
- Perez-Cadahia B, Lafuente A, Cabaleiro T, Pasaro E, Mendez J and Laffon B (2007). Initial study on the effects of Prestige oil on human health. *Environ Int* **33** : 176-185.
- Pilger A, Kohler I, Stettner H, Mader RM, Rizovski B, Terkola R, Diem E, Franz-Hainzl E, Konnaris C, Valic E and Rudiger HW (2000) Long-term monitoring of sister chromatid exchanges and micronucleus frequencies in pharmacy personnel occupationally exposed to cytostatic drugs. *Int Arch Occup Environ Health* **73**:442-448.
- Pinto D, Ceballos JM, Garcia G, Guzman P, Del Razo LM, Vera E, Gomez H, Garcia A and Gonsebatt ME (2000) Increased cytogenetic damage in outdoor painters. *Mutat Res* **467**:105-111.
- Pitarque M, Creus A, Marcos R, Hughes JA and Anderson D (1999) Examination of various biomarkers measuring genotoxic endpoints from Barcelona airport personnel. *Mutat Res* **440**:195-204.
- Plaza G, Nalecz-Jawecki G, Ulfing K and Brigmon RL (2005) Assessment of genotoxic activity of petroleum hydrocarbon-bioremediated soil. *Ecotoxicol Environ Saf* **62**:415-420.
- Rannug U and Ramel C (1977) Mutagenicity of waste products from vinyl chloride industries. *J Toxicol Environ Health* **2**:1019-1029.
- Repetto G, Jos A, Hazen MJ, Molero ML, del Peso A, Salguero M, Castillo PD, Rodriguez-Vicente MC and Repetto M (2001) A test battery for the ecotoxicological evaluation of pentachlorophenol. *Toxicol In Vitro* **15**:503-509.
- Rihs HP, Pesch B, Kappler M, Rabstein S, Rossbach B, Angerer J, Scherenberg M, Adams A, Wilhelm M, Seidel A and Bruning T (2005) Occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in German industries: association between exogenous exposure and urinary metabolites and its modulation by enzyme polymorphisms. *Toxicol Lett* **157**:241-255.
- Roma-Torres J, Teixeira JP, Silva S, Laffon B, Cunha LM, Mendez J and Mayan O (2006) Evaluation of genotoxicity in a group of workers from a petroleum refinery aromatics plant. *Mutat Res* **604**:19-27.
- Roth S, Norppa H, Jarventaus H, Kyyronen P, Ahonen M, Lehtomaki J, Sainio H and Sorsa M (1994) Analysis of chromosomal aberrations, sister-chromatid exchanges and micronuclei in peripheral lymphocytes of pharmacists before and after working with cytostatic drugs. *Mutat Res* **325**:157-162.
- Rupa DS, Reddy PP and Reddi OS (1991) Clastogenic effect of pesticides in peripheral lymphocytes of cotton-field workers. *Mutat Res* **261**:177-180.
- Sailaja N, Chandrasekhar M, Rekhadevi PV, Mahboob M, Rahman MF, Vuyyuri SB, Danadevi K, Hussain SA and Grover P (2006) Genotoxic evaluation of workers employed in pesticide production. *Mutat Res* **609**:74-80.

- Santella RM, Hemminki K, Tang DL, Paik M, Ottman R, Young TL, Savela K, Vodickova L, Dickey C, Whyatt R and et al. (1993) Polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in white blood cells and urinary 1-hydroxypyrene in foundry workers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **2**:59-62.
- Sardas S, Karakaya AE and Furtun Y (1994) Sister chromatid exchanges in workers employed in car-painting workshops. *Int Arch Occup Environ Health* **66**:33-35.
- Sari-Minodier I, Orsiere T, Auquier P, Martin F and Botta A (2007) Cytogenetic monitoring by use of the micronucleus assay among hospital workers exposed to low doses of ionizing radiation. *Mutat Res* **629**:111-121.
- Schins RP, Schilderman PA and Borm PJ (1995) Oxidative DNA damage in peripheral blood lymphocytes of coal workers. *Int Arch Occup Environ Health* **67**:153-157.
- Schoket B, Poirier MC, Mayer G, Torok G, Kolozsi-Ringelmann A, Bogner G, Bigbee WL and Vincze I (1999) Biomonitoring of human genotoxicity induced by complex occupational exposures. *Mutat Res* **445**:193-203.
- Shanahan EM, Peterson D, Roxby D, Quintana J, Morely AA and Woodward A (1996) Mutation rates at the glycophorin A and HPRT loci in uranium miners exposed to radon progeny. *Occup Environ Med* **53**:439-444.
- Siwinska E, Mielzynska D and Kapka L (2004) Association between urinary 1-hydroxypyrene and genotoxic effects in coke oven workers. *Occup Environ Med* **61**:e10.
- Skarek M, Janosek J, Cupr P, Kohoutek J, Novotna-Rychetska A and Holoubek I (2007) Evaluation of genotoxic and non-genotoxic effects of organic air pollution using in vitro bioassays. *Environ Int* **33**:859-866.
- Somorovska M, Szabova E, Vodicka P, Tulinska J, Barancokova M, Fabry R, Liskova A, Riegerova Z, Petrovska H, Kubova J, Rausova K, Dusinska M and Collins A (1999) Biomonitoring of genotoxic risk in workers in a rubber factory: comparison of the Comet assay with cytogenetic methods and immunology. *Mutat Res* **445**:181-192.
- Sorsa M, Pyy L, Salomaa S, Nylund L and Yager JW (1988) Biological and environmental monitoring of occupational exposure to cyclophosphamide in industry and hospitals. *Mutat Res* **204**:465-479.
- Sram RJ, Hola N, Kotesovec F and Novakova A (1985) Cytogenetic analysis of peripheral blood lymphocytes in glass workers occupationally exposed to mineral oils. *Mutat Res* **144**:277-280.
- Sram RJ, Rossner P, Peltonen K, Podrazilova K, Mrackova G, Demopoulos NA, Stephanou G, Vlachodimitropoulos D, Darroudi F and Tates AD (1998) Chromosomal aberrations, sister-chromatid exchanges, cells with high frequency of SCE, micronuclei and comet assay parameters in 1, 3-butadiene-exposed workers. *Mutat Res* **419**:145-154.
- Sreedevi V, Hemaprasad M, Sandhyadevi G and Reddy PP (2006) Induction of sister chromatid exchanges in traffic policemen exposed to vehicular exhaust. *Mutat Res* **606**:80-84.
- Talmage SS and Walton BT (1991) Small mammals as monitors of environmental contaminants. *Rev Environ Contam Toxicol* **119**:47-145.
- Tates AD, van Dam FJ, de Zwart FA, Darroudi F, Natarajan AT, Rossner P, Peterkova K, Peltonen K, Demopoulos NA, Stephanou G, Vlachodimitropoulos D and Sram RJ (1996) Biological effect monitoring in industrial workers from the Czech Republic exposed to low levels of butadiene. *Toxicology* **113**:91-99.
- Testa A, Ranaldi R, Carpineto L, Pacchierotti F, Tirindelli D, Fabiani L, Giuliani AR, Urso M, Rossini A, Materazzo F, Petyx M and Leoni V (2002) Cytogenetic biomonitoring of workers from laboratories of clinical analyses occupationally exposed to chemicals. *Mutat Res* **520**:73-82.
- Topaktas M, Rencuzogullari E, Ila HB and Kayraldiz A (2002) Chromosome aberration and sister chromatid exchange in workers of the iron and steel factory of Iskenderun, Turkey. *Teratog Carcinog Mutagen* **22**:411-423.
- van Delft JH, Steenwinkel MJ, van Asten JG, van Es J, Kraak A and Baan RA (1998) Monitoring of occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in a carbon-electrode manufacturing plant. *Ann Occup Hyg* **42**:105-114.
- Van Hummelen P, Gennart JP, Buchet JP, Lauwerys R and Kirsch-Volders M (1993) Biological markers in PAH exposed workers and controls. *Mutat Res* **300**:231-239.
- Vargas VM (2003) Mutagenic activity as a parameter to assess ambient air quality for protection of the environment and human health. *Mutat Res* **544**:313-319.
- Venegas W, Zapata I, Carbonell E and Marcos R (1998) Micronuclei analysis in lymphocytes of pesticide sprayers from Concepcion, Chile. *Teratog Carcinog Mutagen* **18**:123-129.



- Vuyyuri SB, Ishaq M, Kuppala D, Grover P and Ahuja YR (2006) Evaluation of micronucleus frequencies and DNA damage in glass workers exposed to arsenic. *Environ Mol Mutagen* **47**:562-570.
- White PA and Claxton LD (2004) Mutagens in contaminated soil: a review. *Mutat Res* **567**:227-345.
- Whitehouse CA, Tawn EJ and Riddell AE (1998) Chromosome aberrations in radiation workers with internal deposits of plutonium. *Radiat Res* **150**:459-468.
- Wolf G, Arndt D, Kotschy-Lang N and Obe G (2004) Chromosomal aberrations in uranium and coal miners. *Int J Radiat Biol* **80**:147-153.
- Xiao C, Chen S, Li J, Hai T, Lu Q, Sun E, Wang R, Tanguay RM and Wu T (2002) Association of HSP70 and genotoxic damage in lymphocytes of workers exposed to coke-oven emission. *Cell Stress Chaperones* **7**:396-402.
- Yang X, Zheng J, Bai Y, Tian F, Yuan J, Sun J, Liang H, Guo L, Tan H, Chen W, Tanguay RM and Wu T (2007) Using lymphocyte and plasma Hsp70 as biomarkers for assessing coke oven exposure among steel workers. *Environ Health Perspect* **115**:1573-1577.
- Zeljezic D, Garaj-Vrhovac V and Perkovic P (2006) Evaluation of DNA damage induced by atrazine and atrazine-based herbicide in human lymphocytes in vitro using a comet and DNA diffusion assay. *Toxicol In Vitro* **20**:923-935.
- Zeljezic D, Vrdoljak AL, Radic B, Fuchs N, Berend S, Orescanin V and Kopjar N (2007) Comparative evaluation of acetylcholinesterase status and genome damage in blood cells of industrial workers exposed to carbofuran. *Food Chem Toxicol* **45**:2488-2498.
- Zhang J, Ichiba M, Feng Y, Pan G, Hanaoka T, Yamano Y, Hara K, Takahashi K and Tomokuni K (2000) Aromatic DNA adducts in coke-oven workers, in relation to exposure, lifestyle and genetic polymorphism of metabolic enzymes. *Int Arch Occup Environ Health* **73**:127-135.
- Zhu CQ, Lam TH and Jiang CQ (2001) Lymphocyte DNA damage in bus manufacturing workers. *Mutat Res* **491**:173-181.

## **PARTIE VI : APPLICATIONS DES TESTS DE GENOTOXOCITE DANS L'INDUSTRIE DU DECHET**



## I. Introduction

Les tests de génotoxicité vont théoriquement pouvoir être employés dans l'industrie du déchet dans les 2 cadres précédemment définis en médecine du travail , à savoir : 1) pour la caractérisation du site de travail (tests de génotoxicité sur l'atmosphère de travail inhalé par les travailleurs ou sur les substances et mélanges présents dans les déchets et avec lesquels les travailleurs peuvent être en contact, notamment par voie cutanée, études éco-toxicologiques des sites de traitement et de stockage des déchets) et 2) pour la surveillance directe du personnel, via notamment des tests de génotoxicité réalisés sur des prélèvements effectués sur les travailleurs. Pour chacun de ces cadres, nous avons effectué un état des lieux. Pour cela, nous avons effectué une recherche bibliographique sur la base Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>), en croisant notamment les mots clés utilisés précédemment (voir page 93) avec les mots « Waste » ou « Incineration ». Les données recueillies et s'appliquant strictement à la surveillance du personnel sont peu nombreuses, suggérant qu'il y a eu peu d'applications des tests de génotoxicité jusqu'à présent dans le domaine d'intérêt. Cette conclusion a été validée par les différents experts scientifiques et médicaux que nous avons interrogés puisque aucun de ces experts n'avait connaissance d'études concernant spécifiquement les tests de génotoxicité et l'industrie du déchet, que ce soit pour la caractérisation des sites de traitement des déchets ou pour la biosurveillance du personnel.

## II. Utilisation des tests de génotoxicité pour la caractérisation des sites de traitement, de recyclage et de stockage des déchets

D'assez nombreuses publications rapportent la caractérisation des effets génotoxiques de déchets ou de leurs résidus, notamment :

- des rejets d'incinérateurs, dont la mutagénicité a pu être testée et prouvée à l'aide du test d'Ames (Lundberg et al., 1983; Pani et al., 1983; Watts et al., 1989; Watts et al., 1992).
- des cendres provenant de la combustion de déchets, dont la génotoxicité peut être appréciée par notamment le test d'Ames (Shane et al., 1993), mais aussi par des tests éco-toxicologiques (Lapa et al., 2002).
- des lixiviats et rejets aqueux de déchets, analysés en particulier par des tests éco-toxicologiques (Chandra et al., 2004; Feng et al., 2007; Lah et al., 2008). Le test d'Ames et celui des comètes ont également été employés sur des lixiviats de déchets solides (Lambolez et al., 1994; Bakare et al., 2007).
- des sols contaminés par les déchets, étudiés en particulier par des approches éco-toxicologiques (Bekaert et al., 2002; Mouchet et al., 2006).

Il faut cependant remarquer que ces études sont effectuées le plus souvent dans un cadre environnemental et/ou éco-toxicologique, et ne sont pas effectués dans l'optique de caractériser le site de travail des travailleurs de l'industrie du déchet en vue de préciser leur risque d'atteinte génotoxique en

réponse à leur exposition, même si elles peuvent indirectement conduire à des informations sur ce point. Elles ne rentrent donc pas directement dans le cadre de la présente étude visant à étudier l'usage des tests de génotoxicité pour la surveillance du personnel de l'industrie du traitement et du recyclage des déchets.

### III. Utilisation des tests de génotoxicité pour la biosurveillance du personnel de l'industrie du traitement et du recyclage des déchets

#### III.1 Généralités

Les tests de génotoxicité ont été relativement peu appliqués à la biosurveillance du personnel de l'industrie des déchets. Une interrogation de la base PubMed retrouve 8 études traitant du sujet (Tableau 14). Nous allons détailler les résultats de ces 8 études, puis proposer une synthèse des résultats obtenus.

Type d'activités	Type de tests mis en oeuvre
<i>Stockage de déchets</i>	
- Gonsebatt et al., 1995	Echanges de chromatides sœurs/Aberrations chromosomiques
- Fender and Wolf, 1998	Echanges de chromatides sœurs/Aberrations chromosomiques
- Hartmann et al., 1998	Echanges de chromatides sœurs/Aberrations chromosomiques/Test des comètes
<i>Incinération</i>	
- Lee et al., 2002	Adduits à l'ADN (post-marquage)
- Sul et al., 2003	Test des comètes
- Yoshida et al., 2003	Dosage de 8-oxo-dG urinaire et sanguin
- Oh et al., 2005	Test des comètes
<i>Manipulation et transport de déchets</i>	
- Celik et al., 2007	Echanges de chromatides sœurs/Aberrations chromosomiques/Test des micronoyaux

Tableau 14 : Etudes de biosurveillance de personnels de l'industrie du déchet utilisant des tests de génotoxicité

III.2. Analyse détaillée des études de biosurveillance de personnels de l'industrie du déchet utilisant des tests de génotoxicité

*III.2.1. Etude 1: Monitoring génotoxique de travailleurs d'un site de stockage de déchets à Mexico (Gonsebatt et al., 1995)*

**Objectif:** Cette étude entre dans le cadre d'un programme de biomonitoring d'individus travaillant sur un site de stockage de déchets dangereux au Mexique. Elle a pour objectif de déterminer si un risque génotoxique est associé à la manipulation de ces déchets sur le site de stockage. Les effets génotoxiques potentiellement générés lors de l'exposition à des substances mutagènes ont été évalués par une étude cytogénétique.

**Méthodes :** 12 individus employés sur le site de stockage constituent le groupe « exposé » et 7 individus habitant un village éloigné du site composent le groupe « témoin ». L'analyse cytogénétique comprend un test d'échange de chromatides sœurs (SCE) et un test d'aberrations chromosomiques qui ont été réalisés sur des lymphocytes cultivés en présence d'un mitogène (PHA) respectivement pendant 48 h et 72 h. Un questionnaire portant sur les habitudes et hygiène de vie a été rempli par chaque participant.

**Résultats :** Le nombre de SCE par lymphocyte n'est pas significativement différente entre les deux groupes d'individus ( $6,3 \pm 1,1$  vs  $6,5 \pm 2,2$ ). En revanche, le nombre d'aberrations chromosomiques dans le groupe « exposé » (255/100 cellules) est beaucoup plus important que celui mesuré dans le groupe « témoin » (34/100 cellules). De plus les résultats mettent en évidence une corrélation positive significative entre la durée d'exposition (en mois) sur le site de stockage et le pourcentage d'aberrations chromosomiques.

**Conclusions :** La manipulation des déchets dangereux sur ce site de stockage est associée à une augmentation significative du nombre d'aberrations chromosomiques. Cette activité professionnelle génère donc un risque et des effets génotoxiques.

*III.2.2. Etude 2: Investigations cytogénétiques chez des employés de sites de stockage de déchets (Fender and Wolf, 1998)*

**Objectif:** L'activité professionnelle sur les sites de stockage des déchets expose les travailleurs à des gaz et des particules pouvant contenir des substances génotoxiques, le plus souvent sous forme de mélanges complexes. Le but de cette étude est d'évaluer le risque génotoxique associé à ce travail par la mise en oeuvre d'une analyse cytogénétique.

**Méthodes** : 82 individus travaillant sur 2 sites de stockage de déchets en Allemagne et 71 individus non exposés constituent respectivement les groupes « exposés » et « témoin ». Un questionnaire est rempli par chaque participant afin de connaître la consommation de tabac. L'analyse cytogénétique comporte une recherche d'échange de chromatides sœurs (SCE) et une recherche d'aberrations chromosomiques après 48 h de culture des globules blancs.

**Résultats** : Le pourcentage de cellules aberrantes est significativement plus élevé dans les prélèvements sanguins des individus du groupe « exposé » que dans ceux des individus du groupe « témoin » ( $1,4 \pm 0,7$  vs  $0,9 \pm 0,5$ ). Les aberrations chromosomiques les plus nombreuses correspondent aux excès de chromosomes dicentriques ( $> 2$  et surtout  $> 5$  chromosomes par cellule analysée). Le nombre de SCE par cellule sanguine analysée n'est en revanche pas significativement augmenté chez les individus du groupe « exposé » par rapport à ceux du groupe « témoin ». L'exposition moyenne des travailleurs sur les sites de stockages des déchets est d'environ 5 années. Aucune corrélation n'a été mise en évidence entre la durée de cette exposition et les résultats des tests cytogénétiques. Le fait de fumer ne modifie significativement le pourcentage de cellules aberrantes ni chez les individus du groupe « exposé » ni chez ceux du groupe « témoin ». Cependant, le nombre de SCE est significativement plus élevé chez les individus fumeurs que chez les individus non fumeurs du groupe «témoin ».

**Conclusions** : L'exercice d'une activité professionnelle sur les 2 sites de stockage de déchets allemands est associé à un risque significatif d'effets génotoxiques mis en évidence par les résultats des tests d'aberrations chromosomiques. Etre fumeur ne modifie pas ce risque.

*III.2.3. Etude 3 : Etude comparative du biomonitoring de travailleurs d'un site de stockage de déchets à l'aide de tests cytogénétiques et du test des comètes (Hartmann et al., 1998).*

**Objectif**: Cette étude a pour objectif de déterminer si les mélanges complexes de polluants présents sur des sites de stockage d'ordures peuvent générer des effets génotoxiques chez les individus manipulant ces déchets. Pour cela, une analyse cytogénétique et un test des Comètes ont été réalisés sur des échantillons de sang prélevés chez des individus exposés ou non.

**Méthodes** : Ce travail porte sur 43 individus exposés (employés travaillant sur un site de stockage d'ordures en Allemagne) et sur 47 individus non exposés (groupe contrôle). Ces 2 groupes sont composés d'une très grande majorité d'hommes. 41 % et 49 % des individus sont fumeurs

respectivement dans le groupe « exposés » et dans le groupe « contrôle ». L'analyse cytogénétique réalisée sur des lymphocytes en culture comprend un test d'aberrations chromosomiques mené sur 1000 cellules par échantillon et un test d'échanges de chromatides sœur (ECS) réalisé sur 50 cellules. Le test des Comètes a été réalisé sur 100 globules blancs par échantillon.

**Résultats :** Les données montrent qu'il existe un pourcentage significativement plus élevé de cellules aberrantes ( $1,3 \pm 0,7$ ) dans le groupe « exposés » que dans le groupe « contrôle » ( $0,8 \pm 0,5$ ) et plus particulièrement un nombre plus élevé de fragments acentriques par lymphocyte ( $6 \pm 0,4$  vs  $3 \pm 0,3$ ). Le test des comètes montre également qu'un nombre significativement plus important de lésions de l'ADN est détectable dans les globules de blancs prélevés chez les individus exposés. Le fait d'être fumeur ou non ne modifie pas significativement le nombre d'aberrations chromosomiques ou celui de lésions à l'ADN chez les individus des deux groupes. De plus, aucune corrélation n'apparaît entre les données de l'analyse cytogénétiques et celles du Test des Comètes.

**Conclusions :** L'activité professionnelle sur le site allemand de stockage d'ordures est associée à une augmentation du nombre de lésions génotoxiques détectées dans les globules blancs employés exposés. Ces résultats indiquent donc une exposition plus importante des personnes à des composés génotoxiques et la présence d'un risque génotoxique.

*III.2.4 Etude 4 : Influence du genotype M1 sur l'association entre le génotype GSTM1, les adduits aromatiques à l'ADN et les concentrations urinaires en métabolites des HAP, chez les travailleurs d'une usine d'incinération sud-coréenne (Lee et al. , 2002).*

**Objectif:** Les individus travaillant dans les usines d'incinération sont exposés à différents produits de pyrolyse, notamment les HAP. Les HAP sont des substances mutagènes formant des adduits à l'ADN. Ces composés sont bioactivés par le cytochrome P450 1A1 en métabolites électrophiles réactifs et sont métabolisés en composés moins toxiques par des glutathion transférases, telle que la GSTM1. L'objectif de cette étude a été d'étudier l'impact du polymorphisme des gènes codant pour le CYP1A1, la GSTM1 et la GSTT1 (une autre glutathion transférase) sur les niveaux d'adduits à l'ADN et les concentrations urinaires du glucuronide de 1-hydroxy-pyrène (1-OHPG), un métabolite utilisé comme marqueur d'exposition aux HAP.

**Méthodes :** 29 individus, travaillant dans une usine d'incinération de déchets industriels sud coréenne, et affectés aux procédés d'incinération constituent le groupe « exposés ». 21 individus de cette usine travaillant dans le bâtiment administratif représentent le groupe « contrôle ». Des prélèvements sanguins et urinaires ont été pratiqués sur chaque individu afin de doser respectivement les adduits à l'ADN des



globules blancs (méthode du post-labelling) et les concentrations de 1-OHPG. Le génotypage des individus a été réalisé par des méthodes utilisant la PCR.

**Résultats :** Les concentrations urinaires de 1-OHPG sont significativement plus élevées chez les individus exposés que chez les individus du groupe « contrôle ». Les niveaux de ce métabolite sont encore plus importants chez les individus fumeurs des deux groupes et sont corrélés au nombre de cigarette consommé. Les niveaux d'adduits à l'ADN ne varient pas significativement entre les deux groupes mais sont corrélés aux concentrations urinaires de 1-OHPG des 50 individus et à leur consommation de cigarette. Les études de génotypage montrent que les concentrations de 1-OHPG (exprimées en log transformé) sont corrélées au génotype GSTM1. Les individus ayant une invalidation de ce gène ont des concentrations plus élevées. Aucune autre corrélation n'a pu être mise en évidence quel que soit le génotype ou le paramètres d'exposition étudié.

**Conclusions :** Cette étude confirme l'augmentation des concentrations urinaires de 1-OHPG chez les individus exposés aux HAP par le biais de leur activité au sein de l'usine d'incinération. En revanche, les résultats des études de génotypage ne montrent aucune association particulière avec les biomarqueurs d'exposition des HAP, hormis une corrélation entre le génotype GSTM1 et les taux urinaires de 1-OHPG. L'augmentation des concentrations de 1-OHPG pourrait résulter d'un déplacement des voies de détoxification des métabolites des HAP vers la voie de glucuronidation chez les individus ayant une invalidation du gène codant pour la GSTM1 et donc une voie déficiente de conjugaison au glutathion par cette enzyme.

L'étude publiée dans **J Occup Health** par la même équipe (**Lee et al**) en **2003** présente déjà la corrélation entre le génotype GSTM1 et les taux urinaires de 1-OHPG chez ces individus.

*III.2.5 Etude 5: Lésion à l'ADN dans les globules blancs de travailleurs d'usines d'incinération sud-coréenne exposés aux hydrocarbures aromatiques polycycliques (Sul et al. , 2003)*

**Objectif:** Cette étude a pour objectif de comparer les lésions à l'ADN dans les lymphocytes T, B et dans les granulocytes chez des travailleurs exposés aux HAP, notamment dans les usines d'incinération en Corée du Sud.

**Méthodes :** 28 employés d'une usine d'incinération sud coréenne (Ansan) constituent le groupe « exposé » et 43 individus sains non exposés composent le groupe « témoin ». Chaque individu a rempli un questionnaire sur ses habitudes (notamment le fait de fumer ou non). Un prélèvement urinaire et une prise de sang ont été collectés pour tous les participants. Les différents types de cellules sanguines ont

été isolés par sélection positive avec des billes magnétiques couplés au CD3 (lymphocytes T), au CD19 (lymphocytes B) ou au CD15 (granulocytes). Les lésions à l'ADN ont été quantifiées sur ces cellules par le test des Comètes. Des dosages de 1-hydroxypyrene (1-OHP) et de 2-naphtol ont été réalisés sur les prélèvements d'urines afin de comparer les niveaux d'exposition aux HAP des individus.

**Résultats** : les individus travaillant dans l'usine d'incinération ont des concentrations urinaires de 1-OHP et de 2-naphtol 14 et 3 fois plus importantes que celles des individus du groupe « témoin ». Les résultats des tests des Comètes indiquent que, dans le groupe « témoin », les lésions à l'ADN sont plus nombreuses dans les granulocytes que dans les lymphocytes B ou T. Les individus du groupe « exposé » ont un nombre de lésions à l'ADN significativement plus élevé dans les lymphocytes T et B que celui des individus du groupe « témoin ». L'augmentation du nombre de lésions est cependant plus nette dans les lymphocytes B que dans les lymphocytes T. Les résultats du test des Comètes sont comparables entre les granulocytes des deux groupes d'individus. Le fait de fumer ne modifie pas le résultat du test des Comètes dans le groupe « exposé ».

**Conclusions** : Les individus employés dans l'usine d'incinération sud-coréenne sont significativement plus exposés aux HAP que les sujets du groupe « témoin ». La plus forte exposition aux HAP est associée à une augmentation significative du nombre de lésions à l'ADN détectées par le Test des Comètes. Dans les conditions expérimentales du test des Comètes mis en place dans cette étude, les lymphocytes B sont les cellules les plus sensibles aux effets génotoxiques des gaz et vapeurs auxquels sont exposés les travailleurs de l'usine d'incinération.

*III.2.6 Etude 6 : Association entre les niveaux de stress oxydatif et la durée d'exposition aux cendres volatils chez des travailleurs employés dans des incinérateurs municipaux (Yoshida et al., 2003).*

**Objectif**: La combustion des ordures ménagères dans les incinérateurs municipaux génère différents types de résidus et notamment des cendres volatiles. Ces cendres contiennent différents types de substances chimiques telles que des HAP, des métaux lourds ou encore des dioxines. Les travaux exposant de façon chronique à ces cendres augmenteraient l'incidence de maladies ischémiques cardiaques ou du cancer du poumon. Les métaux lourds et les HAP sont connus pour induire *in vivo* et *in vitro* un stress oxydant qui peut contribuer au développement de ces pathologies. L'objectif de cette étude est de déterminer s'il existe une association entre l'exposition professionnelle aux cendres d'incinérateurs municipaux et le niveau de stress oxydant systémique.

**Méthodes** : l'étude porte sur 3 groupes d'employés travaillant dans 4 usines d'incinération d'une même ville japonaise. Le groupe G<sub>31</sub> est constitué de 30 personnes fortement exposées aux cendres et

travaillant depuis plus de 10 ans dans une usine d'incinération. Le groupe G<sub>3</sub>2 est constitué de 22 personnes fortement exposées aux cendres mais travaillant depuis moins de 10 ans dans une usine d'incinération. Le groupe G<sub>3</sub>3 qui contient 29 personnes non exposées aux cendres d'incinération, constitue le groupe « contrôle ». Des prélèvements de sang et d'urine sont obtenus pour chaque participant le matin avant le petit déjeuner afin de quantifier les marqueurs de stress suivants : dosages urinaires et sanguins de 8-hydroxy-2'-déoxyguanosine (8-oxo-dG), dosage sanguin de malondialdéhyde et de peroxydes lipidiques et dosage urinaire de biopyrrins.

**Résultats** : aucun dosage ne varie significativement entre les 3 groupes d'individus. Toutefois, lorsque l'on prend en compte la variable « durée d'exposition », une tendance significative se dégage avec les résultats des dosages urinaires de 8-oxo-dG: plus le temps d'exposition aux cendres produites par l'incinérateur augmente et plus le niveau urinaire de 8-oxo-dG est élevé.

**Conclusions** : Les travaux exposant aux cendres volatiles dans ces usines d'incinération municipales japonaises sont associés à une augmentation des taux urinaires de 8-OH-dG lors d'activité à long terme. La présence de 8-oxo-dG dans les urines proviendrait des produits de réparation de l'ADN oxydé, de l'élimination de la dG oxydée du pool de nucléotides et du turnover cellulaire. Cette association significative reflèterait donc l'induction d'un stress oxydant lors de l'exposition chronique aux cendres d'incinération.

*III.2.7 Etude 7 : Evaluation de l'immunotoxicité et de la reprotoxicité et de l'association entre les paramètres immunotoxiques et génotoxiques chez des travailleurs de centre d'incinération de déchets (Oh et al., 2005)*

**Objectif**: Les travailleurs employés dans les usines d'incinération des ordures sont exposés aux HAP. Ces substances chimiques sont des composés CMR dotés également de propriétés immunotoxiques. L'objectif de cette étude est de quantifier les lésions à l'ADN dans les globules blancs d'individus travaillant dans une usine d'incinération sud coréenne et d'évaluer les effets immunotoxiques associés.

**Méthodes** : 31 individus travaillant dans une usine d'incinération de déchets (Corée du Sud, Ansan) constituent le groupe « exposé » et 84 individus sains non exposés composent le groupe « témoin ». Pour chaque individu, un prélèvement d'urine et une prise de sang sont réalisés. Les urines sont utilisées pour doser deux métabolites des HAP, le 1-hydroxy-pyrène (1-OHP) et le 2-naphtol. Les lésions à l'ADN sont quantifiées sur les lymphocytes et les granulocytes par le test des comètes. Pour chaque échantillon de sang, l'expression des marqueurs de surface des lymphocytes est évaluée par cytométrie en flux.

**Résultats** : Les concentrations urinaires en 1-OHP et 2-naphtol sont 8,8 et 4,6 fois plus élevées dans le groupe « exposé » que dans le groupe témoin. Les lésions à l'ADN évaluées par le test des comètes sont

significativement plus nombreuses dans les lymphocytes des sujets exposés que celles des sujets témoins ( $2,13 \pm 0,39$  vs  $1,34 \pm 0,16$ ). En revanche, ce test ne montre pas de différences nettes pour les granulocytes. Les résultats de cytométrie en flux montrent une réduction significative du nombre de lymphocytes cytotoxiques CD8+ mais une augmentation du nombre total de lymphocytes T activés (CD3 + CD69). Le fait de fumer ne modifie pas les résultats du test des comètes réalisé sur les lymphocytes d'individus du groupe « exposé » mais augmente les concentrations urinaires des métabolites des HAP. Il ne semble pas qu'il y ait d'association significative particulière entre le niveau de lésions à l'ADN et le niveau d'expression des marqueurs de surface lymphocytaire dans le groupe « exposé ».

**Conclusion :** Les individus exposés aux HAP dans l'usine d'incinération sud-coréenne ont des niveaux de métabolites urinaires beaucoup plus élevés que ceux des sujets du groupe « témoin ». Cette activité professionnelle est associée à un nombre significativement plus important de lésions à l'ADN évaluées par le test des comètes. Ces travailleurs ont également un pourcentage de lymphocytes T activés plus élevé. En revanche, il n'y a pas de corrélation entre les effets génotoxiques et les effets immunotoxiques des gaz et vapeurs auxquels sont exposés les travailleurs de l'usine d'incinération.

### *III.2.8 Etude 8 : Dommages cytogénétiques chez des travailleurs manipulant et transportant des déchets de centrales thermiques à charbon (Celik et al., 2007)*

**Objectif:** Les centrales thermiques à charbon en Turquie sont une source importante de pollution environnementale. En effet, la combustion du charbon produit des gaz et des particules contenant des mélanges complexes de substances toxiques (métaux lourds, HAP, oxydes d'azote, ...). La manipulation des déchets de combustion (cendres) dans la centrale puis leur transport sur les sites de stockage exposent les travailleurs aux mélanges toxiques par voie respiratoire et cutanée. L'objectif de l'étude est de déterminer si la manipulation et le transport de ces déchets sont associés à des effets génotoxiques chez les employés exposés.

**Méthodes :** 48 individus (hommes) assurant le transport sur le site de stockage des déchets de la centrale thermique turque Afsin-Elbistan, construite en 1983, constituent le groupe « exposé ». 30 hommes sains, non fumeurs et non exposés composent le groupe « témoin ». Les effets génotoxiques associés à l'activité professionnelle ont été évalués par une analyse cytogénétique sur lymphocytes sanguins. Cette analyse porte sur la recherche d'échange de chromatide sœur (SCE), d'aberrations chromosomiques et de micronoyaux.

**Résultats :** L'exposition aux produits de combustion du charbon est associée à une augmentation significative (multiplication par 3) du nombre d'aberrations chromosomiques par cellule et du pourcentage de cellules aberrantes ( $3,12 \pm 0,19$  vs  $0,93 \pm 0,13$ ). Le type d'aberration le plus fréquent est la cassure de chromatide. Le nombre de SCE par cellule et le pourcentage de micronoyaux sont également

significativement plus élevés chez les individus du groupe « exposé » que chez ceux du groupe « témoin » ( $6,08 \pm 0,12$  vs  $4,6 \pm 0,11$  SCE/cellules et  $8,2 \pm 0,61$  vs  $6,56 \pm 0,43$  % de micronoyaux). Une corrélation positive significative a été mise en évidence entre la durée d'exposition aux produits de combustion du charbon (mesurée en année, moyenne d'exposition = 20 ans) et d'une part le nombre d'aberrations chromosomiques par cellule et d'autre part le pourcentage de micronoyaux.

**Conclusions :** La manipulation et le transport des déchets issus de la combustion du charbon dans la Centrale thermique turque sont associés à un risque génotoxique significatif. Les effets génotoxiques résultant de l'exposition aux cendres de charbon ont été mis en évidence par les trois tests cytogénétiques utilisés. Le plus sensible est celui portant sur la recherche d'aberrations chromosomiques. L'augmentation de la durée d'exposition est également associée à une fréquence plus élevée des effets génotoxiques.

### III.3. Synthèse des résultats

Alors que la réalité de l'exposition de travailleurs de l'industrie du déchet à des substances toxiques, notamment mutagènes, semble bien établie, seulement 9 articles ont étudié les effets génotoxiques secondaires à ces expositions. Aucune publication ne porte sur une étude française.

Ces études ont comparé différents biomarqueurs d'exposition et/ou d'effets biologiques entre deux groupes d'individus « témoins » et « exposés ». Les caractéristiques individuelles de chaque participant ont toujours été bien décrites afin d'identifier des facteurs confondants, notamment la consommation de tabac. Les effets génotoxiques ont été recherchés à partir de prélèvements sanguins ; les principaux tests de génotoxicité utilisés ont été le test des comètes, le test des aberrations chromosomiques, le test des micronoyaux et les échanges de chromatides soeur. Les protocoles d'études ont parfois inclus une recherche dans les urines de métabolites des HAP, généralement le 1-OH-pyrène.

L'ensemble des études a porté sur un nombre limité d'individus exposés ou non, généralement inférieur à 100. L'ensemble des résultats doit donc être considéré avec précaution. Toutefois, malgré le petit nombre de publications, il apparaît de façon assez nette dans ces études que les tests d'aberrations chromosomiques et des micronoyaux sont généralement positifs chez les individus exposés au cours de leur activité professionnelle. Ces personnes présentent un nombre de lésions génotoxiques significativement plus élevé que celles non exposées. Il apparaît également, comme cela a déjà été démontré dans d'autres secteurs industriels, que les individus exposés aux HAP ont des concentrations urinaires en 1-OH-pyrène plus élevées. Le fait de consommer du tabac ne semble pas modifier les résultats des tests de génotoxicité mais renforce les concentrations urinaires de 1-OH-pyrène. Enfin, une étude s'est intéressée à l'impact du polymorphisme d'enzymes de biotransformation sur les niveaux urinaires du glucuronide de 1-OH-pyrène, un métabolite des HAP, et sur le nombre de lésions à l'ADN des cellules sanguines. Les résultats ne montrent pas de tendance claire entre le génotype de ces enzymes et la susceptibilité aux lésions génotoxiques.

En résumé, les résultats de ces articles de recherche suggèrent un risque supérieur de lésions génotoxiques lors de la manipulation et de l'incinération de déchets industriels et ménagers. Cependant, étant donné le très petit nombre d'études publiées (parfois anciennes d'ailleurs) et les effectifs modérés d'individus, ces résultats demandent des confirmations.

#### IV. Conclusion

L'application des tests de génotoxicité pour l'analyse des sites de travail ou la biosurveillance du personnel de l'industrie des déchets dans un cadre de médecine du travail est aujourd'hui très peu répandue. Les rares études disponibles, mais aussi les plus nombreuses données disponibles concernant l'étude des déchets dans un cadre de santé environnementale, montrent néanmoins la faisabilité d'études de génotoxicité dans l'industrie du déchet. De plus, les quelques données obtenues sur le biomonitoring du personnel de l'industrie du déchet semblent indiquer que l'exposition aux déchets pourrait être corrélée à une atteinte génotoxique. Les atouts et les limites et contraintes d'une telle utilisation sont ceux décrits précédemment pour l'utilisation des tests de génotoxicité en médecine du travail (voir partie V du rapport). Il faut néanmoins ici rappeler que les travailleurs de l'industrie du déchet peuvent être potentiellement exposés à des mélanges pouvant contenir de nombreux composés génotoxiques, dont la nature n'est pas toujours connue ; les tests de génotoxicité, par leur approche globale et fonctionnelle applicable notamment à l'exposition à des mélanges complexes, peuvent par conséquent représenter une approche particulièrement intéressante pour l'industrie du déchet.

#### V. Références

- Bakare AA, Pandey AK, Bajpayee M, Bhargav D, Chowdhuri DK, Singh KP, Murthy RC and Dhawan A (2007) DNA damage induced in human peripheral blood lymphocytes by industrial solid waste and municipal sludge leachates. *Environ Mol Mutagen* **48**:30-37.
- Bekaert C, Ferrier V, Marty J, Pfohl-Leskowicz A, Bispo A, Jourdain MJ, Jauzein M, Lambolez-Michel L and Billard H (2002) Evaluation of toxic and genotoxic potential of stabilized industrial waste and contaminated soils. *Waste Manag* **22**:241-247.
- Celik M, Donbak L, Unal F, Yuzbasioglu D, Aksoy H and Yilmaz S (2007) Cytogenetic damage in workers from a coal-fired power plant. *Mutat Res* **627**:158-163.
- Chandra S, Chauhan LK, Pande PN and Gupta SK (2004) Cytogenetic effects of leachates from tannery solid waste on the somatic cells of *Vicia faba*. *Environ Toxicol* **19**:129-133.
- Fender H and Wolf G (1998) Cytogenetic investigations in employees from waste disposal sites. *Toxicol Lett* **96-97**:149-154.
- Feng S, Wang X, Wei G, Peng P, Yang Y and Cao Z (2007) Leachates of municipal solid waste incineration bottom ash from Macao: heavy metal concentrations and genotoxicity. *Chemosphere* **67**:1133-1137.
- Gonsebatt ME, Salazar AM, Montero R, Diaz Barriga F, Yanez L, Gomez H and Ostrosky-Wegman P (1995) Genotoxic monitoring of workers at a hazardous waste disposal site in Mexico. *Environ Health Perspect* **103 Suppl 1**:111-113.
- Hartmann A, Fender H and Speit G (1998) Comparative biomonitoring study of workers at a waste disposal site using cytogenetic tests and the comet (single-cell gel) assay. *Environ Mol Mutagen* **32**:17-24.

- Lah B, Vidic T, Glasencnik E, Cepeljnik T, Gorjanc G and Marinsek-Logar R (2008) Genotoxicity evaluation of water soil leachates by Ames test, comet assay, and preliminary Tradescantia micronucleus assay. *Environ Monit Assess* **139**:107-118.
- Lambolez L, Vasseur P, Ferard JF and Gisbert T (1994) The environmental risks of industrial waste disposal: an experimental approach including acute and chronic toxicity studies. *Ecotoxicol Environ Saf* **28**:317-328.
- Lapa N, Barbosa R, Morais J, Mendes B, Mehu J and Santos Oliveira JF (2002) Ecotoxicological assessment of leachates from MSWI bottom ashes. *Waste Manag* **22**:583-593.
- Lundberg P, Cederberg I, Wiklund L and Pettersson B (1983) Effects of waste incineration combustion emissions measured by some toxicity test systems. *Toxicol Lett* **19**:97-105.
- Mouchet F, Gauthier L, Mailhes C, Jourdain MJ, Ferrier V, Triffault G and Devaux A (2006) Biomonitoring of the genotoxic potential of aqueous extracts of soils and bottom ash resulting from municipal solid waste incineration, using the comet and micronucleus tests on amphibian (*Xenopus laevis*) larvae and bacterial assays (Mutatox and Ames tests). *Sci Total Environ* **355**:232-246.
- Oh E, Lee E, Im H, Kang HS, Jung WW, Won NH, Kim EM and Sul D (2005) Evaluation of immuno- and reproductive toxicities and association between immunotoxicological and genotoxicological parameters in waste incineration workers. *Toxicology* **210**:65-80.
- Pani B, Laurenzi U, Babudri N, Collareta A, Venturini S, Ferri R, Carrozzi M, Burlini F and Monti-Bragadin C (1983) Mutagenicity test of extracts of airborne dust from the municipal incinerator of Trieste. *Environ Mutagen* **5**:23-32.
- Shane BS, Gutenmann WH and Lisk DJ (1993) Variability over time in the mutagenicity of ashes from municipal solid-waste incinerators. *Mutat Res* **301**:39-43.
- Watts R, Fitzgerald B, Heil G, Garabedian H, Williams R, Warren S, Fradkin L and Lewtas J (1989) Use of bioassay methods to evaluate mutagenicity of ambient air collected near a municipal waste combustor. *Japca* **39**:1436-1439.
- Watts RR, Lemieux PM, Grote RA, Lowans RW, Williams RW, Brooks LR, Warren SH, DeMarini DM, Bell DA and Lewtas J (1992) Development of source testing, analytical, and mutagenicity bioassay procedures for evaluating emissions from municipal and hospital waste combustors. *Environ Health Perspect* **98**:227-234.
- Yoshida R, Ogawa Y, Mori I, Nakata A, Wang R, Ueno S, Shioji I and Hisanaga N (2003) Associations between oxidative stress levels and total duration of engagement in jobs with exposure to fly ash among workers at municipal solid waste incinerators. *Mutagenesis* **18**:533-537.

## **PARTIE VII : RETOUR D'EXPERIENCES INTERVIEWS D'EXPERTS SCIENTIFIQUES**





Nous avons sollicité un large groupe de personnalités expertes en toxicologie et médecine du travail (médecins, pharmaciens, scientifiques) afin de connaître leurs points de vue sur l'utilisation des tests de génotoxicité en milieu professionnel et plus particulièrement dans l'industrie du déchet. Nous leur avons proposé de répondre à 7 questions, portant notamment sur l'intérêt des tests de génotoxicité pour la surveillance du personnel exposé à des substances mutagènes et sur la mise en place de ces tests en milieu professionnel. Nous avons ainsi contacté 22 experts par messagerie électronique et/ou par téléphone en leur proposant d'étudier le questionnaire avant d'y répondre lors d'un rendez-vous téléphonique. Neuf experts ont accepté une interview.

Nous avons résumé leurs réponses ci-dessous :

### **1- Les tests de génotoxicité sont-ils utilisés en médecine du travail pour une surveillance ponctuelle ou régulière du personnel exposé à des substances mutagènes ?**

Il apparaît clairement, et de l'avis général des experts, que les tests de génotoxicité ne sont jamais utilisés pour un suivi médical régulier des travailleurs exposés à des substances mutagènes. D'ailleurs, aucun cadre réglementaire n'impose, aujourd'hui en France, l'utilisation de ces tests en médecine du travail. Les tests de génotoxicité sont en fait utilisés très ponctuellement, lors par exemple d'une demande du médecin du travail, ou le plus souvent dans un cadre de recherche. La mise en œuvre de ces tests a pour objectif de déterminer si l'exposition à des substances mutagènes au cours de l'activité professionnelle impacte, ou non, le génome des travailleurs exposés. Le suivi de l'exposition du personnel aux substances mutagènes inclut en revanche, plus fréquemment, une biométrie urinaire qui correspond au dosage analytique de métabolites des substances surveillées. Par exemple, le 1-hydroxy-pyrène est un métabolite des HAP, très souvent utilisé comme biomarqueur d'exposition et facilement quantifiable dans les urines.

### **2- Les tests de génotoxicité sont-ils utilisés en médecine du travail pour le contrôle des atmosphères de travail ?**

Pour l'ensemble des experts, les tests de génotoxicité sont très rarement utilisés pour contrôler les atmosphères de travail. La législation sur les substances CMR prévoit uniquement une métrologie analytique de ces ambiances de travail. Toutefois, plusieurs experts ont précisé la possibilité de tester la génotoxicité des atmosphères par le test d'Ames. La réalisation de ce test pourrait d'ailleurs être un pré requis important avant la mise en place des tests de génotoxicité chez le travailleur. En effet, la connaissance du potentiel mutagène des atmosphères serait une information complémentaire des résultats de la métrologie.

### **3- A votre avis, les tests de génotoxicité ont-ils déjà été utilisés pour la surveillance du personnel de l'industrie des déchets ? Connaissez-vous des exemples ?**

De l'avis unanime des experts, les tests de génotoxicité ne sont pas utilisés pour le suivi médical des travailleurs de l'industrie des déchets. Certains experts ont en revanche insisté sur l'intérêt de bien identifier les dangers et les voies d'exposition de ces personnels. Une métrologie des atmosphères, et la détermination de leur pouvoir mutagène, pourraient être un préalable à l'utilisation des tests de génotoxicité. Toutefois, il est noté que les déchets manipulés contiennent parfois des mélanges complexes de substances chimiques dont la caractérisation analytique et la toxicité sont difficiles à définir.

### **4- Quels sont les meilleurs tests de génotoxicité à mettre en œuvre dans le cadre d'une surveillance de travailleurs ?**

Le choix du ou des tests mis en place dans le cadre d'un suivi médical va dépendre du mécanisme de mutagenicité de la substance chimique étudiée et du type d'exposition (notamment la durée d'exposition) des travailleurs. Le test d'Ames, qui est réalisé sur des urines, est souvent préconisé pour sa relative simplicité, son caractère non invasif et son intérêt comme biomarqueur d'exposition (biosurveillance). Dans ce cadre, le test d'Ames permet de vérifier l'efficacité d'une mesure de prévention chez un individu, en le réalisant avant et rapidement après la mise en place de cette mesure. Pour des expositions de courtes durées, la détection des adduits à l'ADN et le test des comètes peuvent être également utilisés. Le test des comètes met en évidence, le plus souvent, des lésions primaires telles que des cassures simple brin qui peuvent être réparées très rapidement et donc être moins prédictives. Pour des expositions de plus longue durée, les tests d'aberrations chromosomiques et des micronoyaux sont fréquemment utilisés pour leur robustesse. Ces tests mettent en évidence des lésions définitives pouvant avoir une répercussion sur la cellule. Toutefois ces tests ne sont pas faciles à mettre en œuvre et sont beaucoup plus longs à réaliser et à interpréter. Ils ne sont pas applicables au suivi individuel et pourraient poser selon certains experts des problèmes éthiques particulièrement importants en raison de leur possible corrélation avec un excès de risque de survenue de cancer chez l'homme.

### **5- Les tests de génotoxicité sont-ils applicables au suivi individuel ou suivi de groupes de travailleurs exposés aux substances mutagènes ?**

De l'avis de tous les experts, hormis le test d'Ames, tous les autres tests de génotoxicité ne sont utilisables que pour un suivi de groupe d'individus exposés. En effet, les résultats de ces tests vont grandement fluctuer d'un individu à l'autre en raison de nombreux facteurs confondants, tels que la consommation de tabac et l'âge. Cela impose donc de devoir comparer les résultats des tests à ceux de tests réalisés sur un groupe « contrôle » de personnels non exposés. Un expert nous a précisé qu'idéalement le groupe « contrôle » devrait contenir 30 personnes mais qu'en pratique une dizaine

d'individus pouvait suffire avec l'utilisation de tests statistiques non paramétriques lors de l'exploitation des résultats.

**6- Quelles démarches, en terme de communication, de suivi médical et d'organisation du travail, doit-on entreprendre lorsque les résultats des tests de génotoxicité menés chez du personnel exposé sont positifs ?**

Une réflexion en amont est indispensable avant la mise en place des tests de génotoxicité afin d'éviter des problèmes, le plus souvent d'ordre éthique, si les résultats de ces tests sont positifs. En particulier, il est au préalable indispensable de déterminer si l'entreprise a les moyens financiers de mettre en oeuvre des mesures correctives de prévention en cas de positivité des tests. De plus, il est important d'informer au mieux le médecin du travail (ou de prévention) et les travailleurs sur le but recherché lors de la mise place des tests. Ces tests permettent de conclure s'il existe ou non un danger associé à l'activité professionnelle des travailleurs (impact sur le génome). Ils ne permettent en aucun cas de prédire formellement et individuellement la survenue d'un cancer. Un consentement écrit est demandé à chaque participant. Le laboratoire réalisant les tests doit s'engager à produire à la fin de l'étude un rapport clair sur les tests utilisés et les résultats obtenus. Ces résultats s'adressent à l'ensemble du groupe de personnels étudiés et ne sont pas remis individuellement aux travailleurs. Un expert a tenu à préciser que certains médecins du travail ont un avis très réservé sur l'utilisation des tests de génotoxicité pour la surveillance médicale des travailleurs, étant donné les problèmes éthiques pouvant survenir.

**7- Quel est le coût approximatif par travailleur de la mise en oeuvre des tests de génotoxicité ?**

Le coût financier de la mise en oeuvre des tests de génotoxicité est très difficile à évaluer. Celui-ci dépend de nombreux facteurs, notamment, du type et du nombre de tests mis en oeuvre et du nombre de participants. Toutefois, ces tests sont généralement onéreux, car le plus souvent très longs à réaliser. La mise en place en routine de ces tests serait donc très coûteuse financièrement pour l'entreprise demandeuse. Dans un cadre de recherche, la mise place des tests doit être subventionnée par une institution publique ou associative.



## **CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS**



Comme cette étude l'a rappelé, la prévention des risques CMR pour les industriels du déchet est encadrée par plusieurs textes réglementaires. Les interviews d'experts ont permis de faire le point sur la situation délicate à laquelle collecteurs, éliminateurs et traiters de déchets doivent faire face dans ce domaine. La connaissance généralement très partielle qu'ont les entreprises de leurs déchets et notamment de leurs dangers rend en effet difficile l'application de la réglementation en vigueur pour le risque chimique. Les professionnels du déchet, alertés, rappellent régulièrement à leurs clients leurs obligations en matière d'information sur la nature des déchets qu'ils leur confient. Malheureusement, les documents réglementaires (bordereaux de suivi des déchets industriels notamment) n'intègrent pas la mention de risque CMR (propriétés de danger H7, H10 et H11), s'en tenant à la nature des déchets telle que spécifiée dans la classification européenne (décret 2002-540 du 18 avril 2002). Par ailleurs, la plupart des producteurs de déchets sont déjà confrontés aux problèmes que leur pose l'identification, la traçabilité et la gestion des risques liés aux substances CMR pour leurs produits. Il va de soi que la connaissance de ces paramètres pour les déchets implique que cette problématique soit déjà maîtrisée. De plus, les études bibliographiques concernant l'étude de dangerosité des déchets sont assez récentes et encore parcellaires. Certaines d'entre elles citées ici (Gérardin *et al.*, 2008) démontrent la présence anormale de certains composés présents dans les déchets, prouvant encore une fois le manque de traçabilité entre producteurs et éliminateurs. On mesure ainsi l'ampleur de la tâche pour les traiters au vu de l'hétérogénéité des déchets.

Dans les faits, les professionnels des déchets, et en particulier les collecteurs, restent pour l'heure dans une situation délicate, ce qui ne les empêche pas de s'organiser. En effet, les industriels en sont réduits à initier eux-mêmes la recherche d'information au moyen de questionnements de leurs interlocuteurs, en réclamant les FDS, et également via la lecture attentive des étiquettes des produits. Toutefois, en raison de la difficulté de cette recherche, la fiabilité des informations collectées reste sujette à caution.

Parallèlement, il est de la sorte très délicat de mesurer l'exposition aux risques CMR du personnel, l'obtention de mesures représentatives étant très ardue si le besoin est ressenti de mesurer la spéciation des substances considérées. Là encore, la littérature à ce sujet est relativement restreinte et abonde seulement pour certains types d'expositions, notamment celles des riverains d'incinérateurs d'ordures ménagères. Pour pallier ces difficultés, la profession met en œuvre une stratégie d'intervention reposant sur des principes simples. En cas de risque CMR avéré ou de présomption, la méthode et les moyens humains / techniques sont choisis en fonction des contraintes du site et du client, mais aussi de manière à limiter au maximum les manipulations de substances CMR et à éviter la création de nouveaux risques.

Pour les experts de notre étude, les 2 voies d'exposition citées restent l'inhalation et le contact cutané pour tous les types d'activité et de déchets. Les résultats des méthodes d'évaluation des risques, pour la plupart non quantitatives, donnent les niveaux de risque les plus importants pour les opérations de reconditionnement (exposition à des solvants notamment) en première position, puis pour les opérations de tri manuel. Le port des EPI reste souvent la première priorité de prévention. La mise en place



d'équipements de protection collective n'est en effet pensée qu'au cas par cas et dépend parfois de résultats de campagnes de prélèvements atmosphériques à définir. Les actions d'information et de formation sont cependant régulièrement menées pour toutes les entreprises interrogées.

Pour l'aspect métrologique, seul un quart des entreprises interviewées ont réalisé des prélèvements atmosphériques sur le personnel avec des recherches le plus souvent ponctuelles de certaines familles de composés (poussières non spécifiques, silice, métaux, hydrocarbures aromatiques polycycliques, composés organiques volatils et benzène – toluène - xylène, pour les familles les plus citées). Dans la grande majorité des cas, les salariés sont en surveillance médicale renforcée sans autre examen biologique de réalisé. S'il y a un suivi biologique complémentaire, les indices biologiques d'exposition les plus recherchés sont d'abord le plomb puis les métaux lourds (cadmium, mercure, chrome VI).

Pour pouvoir appliquer la réglementation en vigueur et affiner le niveau de connaissance du risque, il faudrait arriver à l'évaluation de l'exposition au poste de travail, ce qui commence à être le cas pour certaines activités de traitement, d'après les récentes études de l'INRS essentiellement. Une entreprise interviewée est en ce sens demandeuse de « kits biologiques » permettant de cartographier les risques et d'assurer un suivi du personnel à l'échelle du poste de travail, et si possible par famille de déchets. Concernant la mise en place potentielle de tests de génotoxicité, les industriels se montrent majoritairement favorables, à condition d'une mise en évidence certaine de la relation de cause à effet entre une exposition strictement professionnelle à un agent CMR et un résultat positif à un test de génotoxicité. Il reste également à savoir comment délivrer une telle information aux salariés.

La surveillance du personnel de l'industrie du traitement et du recyclage des déchets ne fait pas, ou alors de façon très marginale, appel aux tests de génotoxicité, que ce soit pour l'analyse des ambiances de travail ou pour le biomonitoring des travailleurs ; cela est bien démontré tant par l'analyse de la bibliographie que par les interviews d'experts scientifiques. Il est pourtant légitime de se poser la question de l'intérêt d'une telle démarche, en raison notamment de l'exposition possible du personnel du déchet à des composés génotoxiques, pouvant être présents sous forme de mélange, de la nature spécifique des informations apportés potentiellement par les tests de génotoxicité dans un domaine important en santé au travail (risque lié à l'exposition aux composés canacérogènes et mutagènes) et de la faisabilité technique des tests de génotoxicité, attestée pour la biosurveillance en médecine du travail par de nombreuses publications. De plus, les rares données publiées sur le biomonitoring du personnel de l'industrie du déchet à l'aide de tests de génotoxicité semblent indiquer que l'exposition aux déchets pourrait être corrélée à une atteinte génotoxique.

Cette utilisation des tests génotoxicité pourrait apparaître aujourd'hui surtout envisageable pour le biomonitoring du personnel car elle peut alors apporter des données uniques (biomarqueurs d'effet précoce) qui ne sont pas fournis par une démarche classique d'exposiologie type dosage analytique de

composés et/ou de leurs métabolites dans les milieux biologiques (sang, urine) des sujets. Par contre, les dosages analytiques dans les milieux de travail apportent déjà un niveau notable et fiable d'informations sur la présence et les concentrations de composés potentiellement génotoxiques, avec des valeurs de référence parfois établies, rendant par conséquent sans doute moins prioritaire le recours aux tests de génotoxicité dans ce cadre.

L'utilisation des tests de génotoxicité pour le biomonitoring du personnel de l'industrie du déchet pratiqués n'échappera pas à toutes les contraintes et limites de l'application de ces techniques en médecine du travail, liées notamment à l'absence de normes et de textes réglementaires, à l'influence possible de facteurs confondants, au coût de telles études, aux problèmes éthiques et sociétaux posés par la réalisation de ces tests et aux éventuels enjeux et répercussions pour les entreprises concernées. L'interprétation des résultats peut aussi se révéler difficile et les méthodes peuvent présenter un certain caractère invasif (prise de sang). L'accès à un groupe témoin non exposé constitue aussi une contrainte supplémentaire.

En dépit des difficultés liées à la mise en œuvre des tests de génotoxicité, il est possible de formuler des propositions d'action à entreprendre pour une meilleure surveillance des risques CMR chez les travailleurs de l'industrie du déchet. Celles-ci sont au nombre de 3 et sont résumées dans le tableau 15 :

*1. Mise en place d'une étude pilote de tests de génotoxicité chez les travailleurs de l'industrie du déchet*

Dans l'état actuel de l'art, la mise en place de tests de génotoxicité pour la biosurveillance du personnel de l'industrie du déchet devrait se faire dans un cadre de recherche en santé au travail, à fins exploratoires et de validation, et non être considérée comme un réel outil validé et robuste de surveillance en médecine du travail. La réalisation de telles études devra de plus nécessiter une concertation préalable importante ainsi qu'un suivi organisé avec les différents acteurs (direction et encadrement de l'entreprise, personnel, médecins du travail, membres du CHSCT, biologistes réalisant les tests) ; une telle concertation permettra notamment d'optimiser le ou les tests qui sera ou seront pratiqué(s). Un financement au moins partiel par des subventions publiques ou associatives sera sans doute nécessaire, de façon à limiter la part prise en charge par les entreprises, dont les budgets actuellement dévolus à de telles analyses semblent très insuffisants pour permettre en fait leur réalisation effective.

*2. Identification métrologique des CMR auxquels les travailleurs de l'industrie du déchet sont susceptibles d'être exposés*

Il serait en effet intéressant de coupler les tests de génotoxicité avec l'analyse métrologique des principaux contaminants génotoxiques auxquels le personnel est susceptible d'être exposé ; cette analyse peut se faire au niveau des prélèvements biologiques bien sur, mais aussi au niveau des atmosphères et elle devrait conduire à pouvoir comparer exposition estimée par les méthodes

classiques analytiques et exposition et effets génotoxiques précoces déterminés par les tests de génotoxicité. L'identification précise des substances cancérigènes/mutagènes avec lesquels les personnels de l'industrie du déchet sont en contact est sans doute aussi un enjeu important à prendre en compte.

*3. Mise en place d'une étude épidémiologique pour analyser le risque cancérigène lié à l'exposition professionnelle chez les personnels de l'industrie du déchet.*

Le recours à des enquêtes épidémiologiques pour analyser le risque cancérigène lié à l'exposition professionnelle chez les personnels de l'industrie du déchet constitue également une solution à envisager pour mieux évaluer ce risque et justifier éventuellement un recours plus systématique à terme aux tests de génotoxicité pour le biomonitoring du personnel.

- 
1. Mise en place d'une étude pilote de tests de génotoxicité chez les travailleurs de l'industrie du déchet
  2. Identification métrologique des CMR auxquels les travailleurs de l'industrie du déchet sont susceptibles d'être exposés
  3. Mise en place d'une étude épidémiologique pour analyser le risque cancérigène lié à l'exposition professionnelle chez les personnels de l'industrie du déchet.

---

*Tableau 15 : Propositions d'action à entreprendre pour une meilleure surveillance des risques cancérigènes/mutagènes chez les travailleurs de l'industrie du déchet.*

L'ensemble de ces propositions d'action a bien évidemment un coût financier non négligeable et il apparaît important pour les entreprises d'estimer ces dépenses et de rechercher en collaboration avec les agences de financement de la recherche et les pouvoirs publics les solutions permettant d'assurer un financement correct de ces propositions d'action à fins exploratoire. Le bilan des résultats de ces actions devra ensuite être effectué pour juger de la pertinence des données obtenues et de leur intérêt pour le suivi des travailleurs. Une mise en place ultérieure plus routinière et plus systématique des tests de génotoxicité dans l'industrie du déchet pourrait alors être le cas échéant considérée, en prenant de nouveau en compte le coût d'une telle démarche et sa faisabilité pratique et éthique pour les entreprises.

## **ANNEXES**



## Annexe 1 : Classification et étiquetage des substances CMR

- R 40 : effet cancérigène suspecté – preuves insuffisantes  
 R 45 : peut provoquer le cancer  
 R 46 : peut provoquer des altérations génétiques héréditaires  
 R 49 : peut provoquer le cancer par inhalation  
 R 46 : peut provoquer des altérations génétiques héréditaires  
 R 60 : peut altérer la fertilité  
 R 61 : risque pendant la grossesse d'effet néfaste pour l'enfant  
 R 62 : risque possible d'altération de la fertilité  
 R 63 : risque possible pendant la grossesse d'effets néfastes pour l'enfant  
 R 68 : possibilité d'effets irréversibles

**Tableau 1 : Etiquetage des substances classées CMR**

Classement	Symbole	Phrase de risque
<b>Cancérogène</b>		
Catégorie 1	T	R 45 ou R 49
Catégorie 2	T	R 45 ou R49
Catégorie 3	Xn	R 40
<b>Mutagène</b>		
Catégorie 1	T	R 46
Catégorie 2	T	R 46
Catégorie 3	Xn	R 68
<b>Toxique pour la reproduction</b>		
Catégorie 1	T	R 60 ou/et R 61
Catégorie 2	T	R 60 ou/et R 61
Catégorie 3	Xn	R 62 ou/et R 63

Tableau 2 : Classification et étiquetage des préparations CMR

Classement	Symbole	Phrase de risque	Seuil préparation non gazeuse <sup>3</sup>	Seuil préparation gazeuses <sup>3</sup>
<b>Cancérogène</b>				
Catégorie 1	T	R 45 ou R 49	≥ 0,1 %	≥ 0,1%
Catégorie 2	T	R 45 ou R49	≥ 0,1 %	≥ 0,1%
Catégorie 3	Xn	R 40	≥ 1 %	≥ 1 %
<b>Mutagène</b>				
Catégorie 1	T	R 46	≥ 0,1 %	≥ 0,1%
Catégorie 2	T	R 46	≥ 0,1 %	≥ 0,1%
Catégorie 3	Xn	R 68	≥ 1 %	≥ 1 %
<b>Toxique pour la reproduction</b>				
Catégorie 1	T	R 60 ou/et R 61	≥ 0,5 %	≥ 0,2 %
Catégorie 2	T	R 60 ou/et R 61	≥ 0,5 %	≥ 0,2 %
Catégorie 3	Xn	R 62 ou/et R 63	≥ 5 %	≥ 1 %

<sup>3</sup> les seuils de classification et d'étiquetage cités sont des seuils généraux, certaines substances CMR peuvent avoir des limites spécifiques de classification et d'étiquetage plus basses. (Exemple sulfate de cadmium, R45 à partir de 0.01% ; fluorure de cadmium).

**Annexe 2 : Ebauche de trame EME d'interview expert industriel du déchet**

Type d'entreprise (secteur d'activité, taille, code NAF....)	Opération unitaire (procédé) déchets	Agents CMR suspectés ou identifiés dans les déchets	Voie d'exposition	Quantification de l'exposition réelle aux déchets			
		Par l'industriel		Mode opérateur	Quantité	Fréquence	Durée d'exposition



Préventions préconisées (procédures ISO...)	Préventions appliquées réellement	Suivi de l'exposition dans l'entreprise			Aspects économiques (budget prévu pour tests/suivi) et retombées sociétales attendues
		Chimique		Biologique (IBE, tests de génotoxicité...)	
		Ambiance générale	Personnel	Personnel	

### **Annexe 3 : Détail des réponses obtenues lors des échanges avec les industriels pour les différents groupes définis à la partie III du rapport**

#### **I. Agents CMR identifiés dans les déchets par les industriels**

Pour le *groupe A*, aucun composé n'est généralement identifié pour l'heure, mais des recherches sont en cours pour les agents CMR des déchets ménagers spéciaux.

Pour les industriels du *groupe B*, dans un seul cas, une demande est adressée au client pour savoir si le seuil CMR est supérieur à 0,1% pondéral dans le déchet entrant. Si tel est le cas, la fiche d'acceptation préalable (FAP) mentionne cette caractéristique. Les industriels de ce groupe nous ont rappelé la réalisation de tests de lixiviation conformément aux requêtes de leurs arrêtés préfectoraux dans le cadre du classement (le cas échéant) en tant qu'installation classée pour la protection de l'environnement (ICPE).

Concernant le *groupe C*, une connaissance de certains CMR potentiels existe pour certains déchets spécifiques. Ainsi le noir de carbone a été cité pour une entreprise de récupération de DEEE, le perchloréthylène pour les déchets issus de pressings, les HAP pour la récupération des huiles usagées et les produits pétroliers, le toluène cité une fois pour la dangerosité des solvants organiques reçus. En outre, il n'y a pas de procédure d'étude spécifique établie pour mieux appréhender le danger des déchets manipulés. Seul 2 entreprises ont engagé une étude avec un accompagnement de leur service de santé au travail pour analyser les FDS de tous leurs clients. La majorité des réponses obtenues pour ce groupe (4 réponses) mentionne l'absence de connaissance ou d'études en cours sur les CMR potentiels.

Pour le *groupe D*, aucun composé CMR n'est identifié.

#### **III. Evaluation des risques :**

Pour les opérations « amont » de collecte, tri et prétraitement du *groupe A*, l'évaluation des risques montre les niveaux les plus élevés sur :

- Les unités de pré traitement de filtres à huile (une étude de l'INRS est en cours sur ce sujet) (2 réponses)
- Les postes de déconditionnement (2 réponses)
- Les postes de tri (2 réponses)

Pour les industriels du *groupe B* l'évaluation des risques montre les niveaux les plus élevés sur :

- le dépotage (importantes émissions de vapeurs) (1 réponse)

- les opérations de stabilisation et de stockage des DID (1 réponse)
- les opérations de transport (1 réponse)
- la mise en chantier/recueil (1 réponse)
- la maintenance effectuée en interne (1 réponse)

Concernant le *groupe C*, les méthodes d'évaluations semi-quantitatives (type INRS) ont souvent été abandonnées par manque de personnel qualifié pour les mettre à jour, soit en dérive en étant simplifiées (2 cas). Par exemple, pour une entreprise, une méthode d'évaluation non scorée passe par 3 étapes que sont :

- l'établissement d'une liste de substances potentiellement dangereuses (par les FDS des clients et une recherche bibliographique via les bases de données toxicologiques de l'INRS, INERIS et des CRAM)
- la connaissance des voies de pénétration des toxiques dans l'organisme
- le regroupement selon les activités de l'entreprise

Pour la majorité des cas (7 réponses), l'évaluation des risques est plus subjective, et se base essentiellement sur la connaissance du poste de travail par les opérateurs et les responsables sécurité.

Avec ces différentes approches pour l'évaluation, les postes qui apparaissent comme les plus risqués pour les industriels sont :

- le regroupement/conditionnement manuels (surtout des solvants en fûts au-dessus de cuves) (5 réponses)
- le tri manuel (3 réponses) avec un problème de traçabilité dû à des défaillances d'étiquetage le plus souvent.
- le nettoyage haute pression de cuves (raffinerie, métallurgie, papeterie, pharmacie et automobile) (1 réponse)
- les opérations de charge et décharge (1 réponse)
- les postes de compacteurs (1 réponse)

Pour l'incinération des OM (*groupe D*), les opérations les plus risquées sont les phases de maintenance selon les industriels.

#### **IV. Référentiel des préventions préconisées :**

Pour le *groupe A*, les normes ISO 14001 ou OSHAS 18001 sont citées comme référentiels de l'entreprise.

Pour les industries du *groupe B*, nous avons reçu comme réponse les normes ISO 14000 (2 réponses) et ISO 18000 (1 réponse). On retrouve également la norme OSHAS 18001 citée 1 fois.

Pour cette question, les industriels du *groupe C*, nous ont donné comme référence le code du travail (7 réponses), associé aux normes ISO 9001 (2 réponses), ISO14001 (4 réponses), OSHAS 18001 (1 réponse), réglementation ADR (1 réponse), ICPE (1 réponse). Trois industriels nous ont dit faire de la veille concernant les recommandations CRAM/INRS et REACH.

Pour le *groupe D*, le référentiel « code du travail » a été cité.

## V. Système préventif en place

Pour le *groupe A*, les points essentiels de la prévention reposent sur :

- La traçabilité systématique des FDS des produits finis des producteurs (1 réponse)
- Formations sécurité aux postes, en particulier sur :
  - l'utilisation des équipements de protection individuelle (EPI) (1 réponse)
- Moyens mis en place pour les équipements de protection collective (EPC):
  - aspiration sur les bacs de traitement des liquides (captage à la source pour les solvants) (1 réponse)
- Moyens mis en place pour les EPI : demi masques à cartouche, lunettes de sécurité, gants, casques, chaussures de sécurité (2 réponses)

Pour les industries du *groupe B*:

- Formation du personnel :
  - connaissance des dangers intrinsèques des produits (création de FDS simplifiées) (1 réponse)
- Moyens mis en place pour les EPC:
  - aspiration sur compacteur (1 réponse)

Une entreprise nous a dit attendre les résultats de campagnes de prélèvements atmosphériques avant de mettre en place des EPC.

- Moyens mis en place pour les EPI : demi masques à cartouche, lunettes de sécurité, gants, casques, chaussures de sécurité (2 réponses)

Pour les industriels réalisant toutes les opérations de collecte, tri, traitement et stockage du *groupe C*, les aspects préventifs sont :

- des actions de sensibilisation et de formation
  - au port des EPI (3 réponses)
  - par rapport aux protocoles sécurité (1 industrie prend ses références sur les sites internet des industriels de métaux, du bois...qui sont ses clients) (2 réponses)
  - lors de l'accueil sécurité (1 réponse)
  - sur un risque donné (exemple l'amiante) (1 réponse)
- l'information des salariés par la rédaction de fiches de sécurité au poste (3 réponses) et le rappel de règles d'hygiène (2 réponses)
- la mise en place de mesure de type organisationnel (1 réponse) : par exemple éviter le contact direct avec les déchets par changement de procédé
- la discussion avec les clients pour la substitution des produits les plus dangereux
- la mise en place de moyens de protection collective :
  - par exemple des lignes de tri mises en dépression en prévision des abaissments des VLEP des poussières alvéolaires (1 réponse)
  - par exemple des bras aspirant au poste de travail (1 réponse)
- Moyens mis en place pour les équipements de protection individuelle (EPI) : demi masques à cartouche, lunettes de sécurité, gants, casques, chaussures de sécurité (2 réponses)

Pour le *groupe D*, des actions de sensibilisation et de formation/information des salariés par la rédaction de fiches de sécurité au poste ainsi que le rappel de règles d'hygiène de base sont les principaux moyens de prévention en place.

## **VI. Suivi de l'exposition dans les entreprises**

### VI.1. Contrôle atmosphérique

#### *VI.1.1. En ambiance générale*

- Pour le groupe A, une seule entreprise a pu réaliser un contrôle atmosphérique grâce à une étude menée par l'INRS sur le prétraitement des filtres à huile.

Le reste des réponses ne mentionnait aucun contrôle passé ou futur.

- Pour le *groupe B* :
  - Une recherche d'indicateurs de présence bactérienne pour les OM et déchets industriels banaux (DIB) est réalisée dans 1 cas

- Pour les opérations réalisées avec les déchets industriels dangereux (DID) (1 réponse)
  - taux d'empoussièrement (poussières non spécifiques et recherche de métaux dans les poussières : plomb, cadmium et HAP)
  - Mesure de COV
  - Mesure de BTX
  - Mesure de HAP
- Pour le *groupe C* :

Plusieurs campagnes de prélèvements ont été réalisées dans le cadre d'études de la CRAM. Pour 1 entreprise de recyclage de DEEE. Il s'agissait d'une recherche de styrène, de poussières alvéolaires non spécifiques et de COV. Les résultats ont été trouvés très inférieurs aux VLEP.

Une autre étude de la CRAM a été réalisée pour une industrie d'assainissement, collecte de déchets dangereux liquides, pâteux et solides, DTQD et déchets de maintenance industrielle. Des campagnes de repérage au Dräger (COV, CHV, BTX, hydrocarbures totaux dont baP, aldéhydes dont formaldéhyde) ont été réalisées pour cette entreprise. Les résultats ne nous ont pas été donnés. De futures campagnes de contrôle pour les fibres céramiques réfractaires et PCB devront suivre.

Une entreprise de collecte et traitement d'huiles usagées, filtres à huile, peinture, solvants et carburants mentionne la recherche ponctuelle de poussières spécifiques dans le cadre d'arrêtés préfectoraux, mais l'absence de contrôle dans le cadre de l'exposition professionnelle.

Deux autres campagnes ont été faites ponctuellement pour 2 autres entreprises. Pour une entreprise de collecte, transport et traitement de déchets liquides et solides conditionnés, dangereux diffus (essentiellement des produits de laboratoire, déchets dangereux des ménages, aérosols, piles, batteries, tubes fluorescents...), une campagne par atelier pour la recherche de benzène et de COV a donné des résultats très inférieurs aux VLEP. Une recherche de poussières non spécifiques pour une entreprise de collecte, traitement et centre de tri, stockage et compostage (CSDU classe 2) a également été menée.

- Pour le *groupe D* :

Une recherche ponctuelle de fibres d'amiante a été conduite via une campagne de prélèvements atmosphériques.

Plusieurs campagnes ont été réalisées pour rechercher et quantifier :

- Le taux d'empoussièrement (poussières non spécifiques + recherche de plomb dans les poussières)
- Les dioxines

#### VI.1.2. Sur le personnel

- Pour le *groupe A* : aucun suivi n'a été signalé
- Pour le *groupe B* :
  - Recherche des COV (2 réponses)
  - Poussières non spécifiques + recherche de métaux dans les poussières : plomb, cadmium et HAP (1 réponse)
  - Recherche de BTX (1 réponse)
  - Recherche de HAP (1 réponse)
- Pour le *groupe C* :
  - Une entreprise a mis en place plusieurs campagnes de suivi pour les salariés (poussières de silice)
  - Pour le reste des entreprises (7 réponses), aucun suivi n'est réalisé pour le personnel au niveau de prélèvement d'air inspiré aux postes de travail, 1 entreprise nous a cependant indiqué une forte volonté de mise en place d'un suivi.
- Pour le *groupe D* : aucun suivi n'a été réalisé jusqu'à présent

#### VI.2. Suivi biologique

- Pour le *groupe A* :
  - Une surveillance médicale renforcée (SMR) sans recherche de toxique spécifique est réalisé
- Pour le *groupe B*, plusieurs cas de figures se dégagent :
  - SMR + analyses urinaires/ recherche de métaux lourds (1 réponse)
  - SMR + analyses sanguines/ recherche de plomb, cadmium + pour les chantiers de dépollution analyses urinaires/ recherche de mercure et de chrome VI (1 réponse)

- *Groupe C* :
  - Dans la plupart des cas (7 réponses), une SMR sans recherche de toxique spécifique est réalisée
  - Un suivi (indice biologique d'exposition, IBE) pour le benzène est réalisé dans certains cas spécifiques des industries spécialisées dans la collecte et l'assainissement (avant, pendant et à la fin de chantiers de nettoyage de cuves pétrolières notamment) (1 réponse)
  - Des suivis (IBE) sont réalisés pour le plomb au cas par cas selon l'exposition (1 réponse en collecte/assainissement)

Une entreprise du *groupe C* mentionne le besoin d'avoir un « kit » biologique qui permettrait d'avoir l'identification et le risque au poste de travail quelque soit la famille de toxiques considérée. Une autre entreprise du groupe C souhaiterait pouvoir disposer d'une cartographie spécifique dans l'entreprise avec un test par type de famille de déchets.

- *Groupe D* : recherche de plomb sanguin lors du suivi SMR

## VII. Retombées sociétales attendues :

Pour les 3 groupes : les tests sont accueillis de façon favorable dans l'ensemble puisque nous avons obtenu pour 8 grilles d'interview sur 12, la réponse « cela permettrait une meilleure connaissance des dangers pour les salariés de l'entreprise » voire « une meilleure information concernant le risque chimique pour les populations avoisinantes » (1 réponse).

Cependant, les entreprises mentionnent que les retombées sont à considérer suivant les interprétations données et la mise en évidence certaine de la relation de cause à effet pour une exposition strictement professionnelle. Une entreprise pense qu'il serait difficile de réaliser des tests par type de déchets, étant donné qu'on ne pourrait au mieux travailler que par familles chimiques (acides minéraux, solvants organiques...); la mise en évidence de la relation de cause à effet semble d'autant plus difficile par conséquent. Les industriels soulignent bien évidemment la nécessité de ne pas délivrer de résultat à ce type de test sans rentrer dans des campagnes de sensibilisation et d'information préalable. Une entreprise du *groupe C* nous a même confié ses craintes de conflit entre employeurs et salariés suite à ces tests de génotoxicité.

Une entreprise ne s'est pas prononcée sur cet aspect.



### **VIII. Budget annuel pouvant être dégagé pour la mise en place des tests de génotoxicité**

Le budget n'est souvent pas déterminé ou connu (10 réponses). Les chiffres donnés sont très variables : une entreprise du *groupe A* nous a dit pouvoir dégager 1000 euros pour les tests sur un an contre un chiffre de 10 000 euros pour une entreprise du *groupe D*. Le budget actuel (entreprise *groupe B*) est de 30 euros/ an et par personne (visite médicale + suivi atmosphérique et biologique). Une entreprise du *groupe C* nous a dit n'avoir pas de limite budgétaire supérieure, étant donné la priorité du groupe de protéger l'homme.

Une entreprise ne s'est pas prononcée sur cet aspect.

#### Annexe 4 : Définitions des VLEP

Valeur limite 8 heures : Elle correspond à la valeur limite de moyenne d'exposition (VME) évoquée dans la circulaire du 19 juillet 1982 modifiée. Il s'agit de la valeur admise pour la moyenne dans le temps des concentrations auxquelles **un travailleur est effectivement exposé au cours d'un poste de 8 heures**. La valeur limite 8 heures est destinée à protéger les travailleurs des effets d'une exposition prolongée à des agents chimiques

Valeur limite court terme : Il s'agit d'une valeur limite qui se rapporte à une **période de référence de 15 minutes** (sauf indication contraire) pendant le pic d'exposition. La valeur limite court terme vise à protéger les travailleurs des effets néfastes sur la santé dus à des pics d'exposition. Il faut distinguer cette valeur limite court terme de la valeur limite d'exposition (VLE) définie dans la circulaire du 19 juillet 1982 modifiée. En effet, la VLE est une valeur qui ne devrait jamais être dépassée et qui est mesurée sur une durée maximale de 15 minutes : le prélèvement est limité à la durée du pic d'exposition (quand cela est techniquement possible) sans dépasser 15 minutes. La définition de la VLE ne concerne que les VLEP fixées par circulaire et pour les gaz de fumigation. La définition de la valeur limite court terme concerne toutes les VLEP réglementaires contraignantes fixées par décret en Conseil d'Etat (à l'exception des gaz de fumigation) et indicatives fixées par arrêté.

La valeur limite 8 heures peut être dépassée sur des courtes périodes, mais sans jamais dépasser la valeur limite court terme si elle existe. Suivant les effets toxicologiques des substances, les textes fixent une valeur limite 8 heures, ou une valeur limite court terme, ou les deux si nécessaire. En effet, une même substance peut avoir à la fois des effets immédiats et des effets différés, mais de nature différente. On opère donc une distinction entre toxicité aiguë (ou toxicité à court terme) et toxicité chronique (toxicité à long terme).

Comme les VLEP s'expriment en concentrations dans l'atmosphère des lieux de travail, la seule voie de pénétration envisagée est la voie respiratoire. Cependant, les travailleurs peuvent être aussi exposés à des contacts cutanés, dont il faut tenir compte. Lorsqu'il y a la possibilité, pour un agent chimique, d'une pénétration cutanée importante, la mention « peau » est ajoutée à la valeur limite. Les valeurs limites biologiques (VLB) permettent de prendre en compte l'exposition globale en tenant compte de l'absorption respiratoire, cutanée et orale.

Les VLEP sont des concentrations d'agents chimiques dans l'air, elles sont exprimées :

- soit en ppm (parties par million), c'est-à-dire centimètres cube d'agent chimique par mètre cube d'air, et en mg/m<sup>3</sup>, c'est-à-dire en milligrammes d'agent chimique par mètre cube d'air pour les gaz et les vapeurs ;
- soit en mg/m<sup>3</sup> uniquement, pour les aérosols liquides et solides.

## Annexe 5 : Les différentes VLEP existantes

Les VLEP contraignantes :

- Les VLEP contraignantes pour les agents CMR :
  - benzène (article R. 231-58 du code du travail) ;
  - poussières de bois (article R. 231-58) ;
  - chlorure de vinyle monomère (article R. 231-58) ;
  - plomb métallique et ses composés (article R. 231-58) ;
  - N,N-diméthylacétamide (article R. 231-58) ;
    - amiante (décret n°96-98 du 7 février 1996 modifié qui sera prochainement inséré au code du travail)
    -
- Les VLEP contraignantes pour les ACD :
  - poussières totales et alvéolaires (article R. 232-5-5) ;
  - acide chlorhydrique, ammoniac, azide de sodium, chloroforme, cyclohexanone, diméthylamine, heptane-3-one, 4-méthylpentane-2-one, 1,1,1-trichloroéthane (article R. 231-58) ;
  - bromométhane, cyanure d'hydrogène, phosphore d'hydrogène (gaz de fumigation) (décret du 26 avril 1988) ;
    - silice cristalline (décret du 10 avril 1997)
    -

Les VLEP indicatives :

- environ 540 valeurs limites indicatives établies par voie de circulaire
  - circulaire du 19 juillet 1982 complétée par les circulaires du 21 mars 1983, du 1er décembre 1983, du 10 mai 1984, du 5 mars 1985, du 5 mai 1986, du 13 mai 1987, du 7 juillet 1992, du 12 juillet 1993, du 12 janvier 1995 et du 21 août 1996 ;
  - circulaire du 13 juillet 1999 ;
  - circulaire du 14 mai 1985.

La note documentaire de l'INRS ND 2098 reprend la liste consolidée de toutes les valeurs limites indicatives établies par circulaire.

- les valeurs limites indicatives réglementaires prises en application du III de l'article R. 232-5-5. – 53 valeurs limites indicatives fixées par l'arrêté du 30 juin 2004 modifié.

*NB : La note documentaire de l'INRS ND 2098 reprend la liste consolidée de toutes les valeurs limites d'exposition professionnelles.*

**Annexe 6 : Extraits de la circulaire DRTn°12 du 24 mai 2006 concernant la liste des salariés exposés et la fiche d'exposition**

<p><b>LISTE de SALARIES EXPOSES</b></p> <p><small>Selon les articles R. 231-54-15 et R. 231-56-10</small></p>	<p>Date : _____ Fiche n° : _____</p> <p>Entreprise : _____</p> <p align="right"><small>Tampon entreprise</small></p>
---	--

Nom prénom – date naissance	Nature	Exposition	Durée	Niveau

<p><b>FICHE d' EXPOSITION aux agents chimiques dangereux et CMR</b></p> <p><small>Selon les articles R. 231-54-15 et R. 231-56-10 du Code du Travail</small></p>	<p align="center"><b>Travailleur</b></p> <p>Nom prénom : _____</p> <p>Date naissance : _____</p> <p>Entreprise : _____</p> <p>Poste de travail : _____</p>	<p align="center"><b>Fiche</b></p> <p>Fiche mise à jour le : _____</p> <p>Copie au médecin du travail le : _____</p>
--	--	--

EXPOSITION <small>Période d'exposition Date début-fin</small>	Poste de travail <small>Nature des travaux</small>	Caractéristiques des produits <small>(Nom, phrases de risques, VLEP, VLB, etc.)</small>	CONTROLE d' EXPOSITION au poste de travail		Mesures préventives prises*	Autres RISQUES / NUISANCES <small>Origine physique, chimique, biologique...</small>
			Date(s)	Résultats		

Dates des expositions accidentelles	Durée et importance des expositions accidentelles

\* Informations nécessaires pour établir l'attestation d'exposition.

Double à envoyer au médecin du travail