

SYNTHESE / EXTENDED ABSTRACT
FRANÇAIS / ENGLISH

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

**UTILISATION OF GENOTOXICITY TESTS FOR MONITORING
EXPOSURE OF WORKERS IN WASTE TREATMENT
AND RECYCLING INDUSTRY**

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 – 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.

- ✓ En Bibliographie, le document dont est issue cette synthèse sera cité 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

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 -

▪ Contexte de l'étude

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, les industriels du déchet sont concernés par la prévention des risques cancérogènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction (CMR), réglementairement encadrée par le décret n° 2001-97 du 1^{er} février 2001. Celui-ci vise à réduire les risques de maladies professionnelles, en instaurant un mécanisme de traçabilité des expositions à tous les composés CMR entrant dans la composition des produits chimiques utilisés par les entreprises et par extension de leurs déchets. L'évaluation des risques sanitaires, notamment génotoxiques, chez les industriels du déchet apparaît cependant à l'heure actuelle complexe, essentiellement pour les raisons suivantes :

- difficulté d'accès à l'information et de traçabilité des agents CMR.
- 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, en tenant compte notamment des sous-produits de décomposition potentiellement dangereux ou non encore étudiés d'un point de vue toxicologique
- difficulté d'interprétation des résultats des études métrologiques appliquées aux polluants CMR, notamment pour définir les types de relations effets/doses pour les mélanges ou pour les produits agissant sur plusieurs organes cibles de façon cumulée.

Dans une démarche générale de prévention et d'évaluation des risques professionnels imposés à tout industriel depuis le décret n°2001-1016 du 5 novembre 2001 (Document Unique), l'évaluation des risques chimiques demeure donc un domaine particulièrement délicat à appréhender. Dans ce cadre, les tests de génotoxicité, définis littéralement comme des tests biologiques mettant en évidence une atteinte génotoxique, pourraient s'avérer particulièrement intéressants. La place qu'ils pourraient occuper, notamment dans l'industrie du déchet, reste néanmoins à préciser.

▪ Objectif et plan de l'étude

L'objectif du travail a été de faire l'état de l'art concernant la mise en application potentielle des tests de génotoxicité pour les salariés exposés aux déchets, en s'attachant notamment à déterminer si ces tests peuvent apporter un éclairage plus direct et global sur l'exposition aux agents génotoxiques de façon individuelle ou en ambiance de travail.

La première partie du rapport est consacrée à l'étude bibliographique de la nature du danger et de l'exposition dans l'industrie du déchet. Après avoir rappelé les différentes catégories de déchets (notamment dangereux et non dangereux), ainsi que la définition réglementaire des CMR, un état de l'art concernant la nature des toxiques rencontrés dans les déchets est présenté. Ce travail recense les principaux résultats connus actuellement dans ce domaine, avec essentiellement des études de l'Institut National de Recherche et de Sécurité (INRS). Les résultats d'analyse des risques (études ADEME, réseau santé-déchets, INRS, publications internationales...) sont ensuite présentés en les identifiant selon le type de traitement des déchets associé : incinération, traitement/valorisation des déchets d'équipement électrique et électronique, nettoyage et recyclage de fûts d'origine industrielle, récupération de matériaux non métalliques recyclables, regroupement des déchets diffus... Quelques études pour les populations vivant à proximité de sites pollués par les déchets d'activités industrielles complètent cette première partie.

La deuxième partie traite du cadre réglementaire de la surveillance du personnel dans l'industrie du déchet, notamment vis-à-vis des questions suivantes : quels salariés sont exposés ? quelle surveillance médicale doit être envisagée ? quelle prévention industrielle peut être développée ?

La partie 3 présente les principales conclusions des 26 interviews d'industriels du déchet ayant répondu à un questionnaire pré-établi (nature des agents CMR identifiés dans leur entreprise, voies d'exposition, évaluation des risques, référentiel préventif préconisé et appliqué, suivi atmosphérique et biologique en ambiance et sur le personnel, retombées sociétales attendues, budget pouvant être dégagé pour la mise en place des tests de génotoxicité. Les réponses ont été regroupées en 4 classes selon les types d'opérations industrielles réalisés.

La quatrième partie de l'étude est consacrée à une présentation des principes des différents types de tests de génotoxicité. Un rappel sur les mécanismes de la génotoxicité est également effectué dans cette partie.

La cinquième partie concerne l'utilisation des tests de génotoxicité en médecine du travail. Les applications sont présentées, tant pour la caractérisation des sites de travail que pour la surveillance biologique des personnels. Les atouts et limites/contraintes des tests de génotoxicité sont aussi abordés.

La sixième partie de l'étude est consacrée à l'utilisation des tests de génotoxicité dans l'industrie du déchet. Huit études rapportées dans la littérature sont analysées de façon précise.

La septième et dernière partie de l'étude concerne le retour d'expériences d'experts scientifiques et médicaux concernant les tests de génotoxicité, obtenu à l'aide d'interviews de ces experts.

Le rapport se conclut par la formulation de propositions d'action à entreprendre pour une meilleure surveillance des risques CMR chez les travailleurs de l'industrie du déchet.

▪ **Exposé des principaux résultats obtenus**

Si les risques professionnels générés par les activités de collecte et de traitement de déchets sont nombreux, les études bibliographiques à ce sujet le sont beaucoup moins. Les données concernant les risques sanitaires sont peu abondantes pour les salariés exposés aux déchets : les

études les plus complètes et les plus récentes sont celles réalisées par l'INRS. Au niveau des publications internationales, la majorité des études concernent les usines d'incinération d'ordures ménagères, mais les points de vue abordés le sont surtout sous l'angle de la « santé publique » et non « santé au travail ». Les études en santé au travail sont cependant 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 d'avoir des réponses à l'échelle individuelle. Les études les plus nombreuses recensées portent sur l'impact environnemental des sites industriels (travaux de l'ADEME notamment).

Pour les industriels du déchet interviewés pour 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 équipements de protection individuelle 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 site de travail 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).

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.

Ces test de génotoxicité sont de différents types. Certains mettent en évidence le pouvoir mutagène au niveau génique : 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 (Test d'Ames) ou des cellules eucaryotes (Test de mutation du locus de l'hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT), test de mutation du gène de la glycophorine A, test de mutation ponctuelle au locus TK (thymidine kinase) sur cellules de lymphome de souris L5178Y), se traduisant par un effet phénotypique détectable tel que, par exemple, une

Etude RECORD n° 07-0667/1A

croissance cellulaire modifiée. Un autre type de tests de génotoxicité vise à quantifier les lésions primaires de l'ADN, notamment les cassures de l'ADN, par des techniques d'électrophorèse en gel d'agarose (Test des comètes). Enfin, les tests cytogénétiques (Test d'aberrations chromosomiques, test des micronoyaux, test d'échange de chromatide sœurs) visent à détecter des anomalies chromosomiques et/ou chromatidiennes entraînées par l'exposition aux composés génotoxiques. Au final, différents types de tests de génotoxicité, explorant des stades variés de l'atteinte génotoxique, sont donc disponibles ; ils permettent de mettre en évidence des lésions primitives, pouvant être réparées, ou des lésions fixées. Ces tests de génotoxicité sont cependant sensibles à différents facteurs confondants, notamment l'âge, le tabac, le polymorphisme génétique d'expression de certaines enzymes du métabolisme et de la réparation..., qui doivent être pris en compte pour l'interprétation des tests ou la constitution de groupes contrôles.

L'emploi des tests de génotoxicité en médecine du travail peut se faire dans 2 cadres principaux: 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. En ce qui concerne ces tests de biosurveillance des personnels, nous avons pu analyser 752 articles s'y référant sur la période 1975-2007, par le biais d'une recherche bibliographique PubMed. Les résultats obtenus démontrent que la moyenne d'article publié par an est de 22,8 articles sur l'ensemble de la période d'étude; elle a augmenté jusqu'aux années 1985-1990 pour ensuite se stabiliser. Cela pourrait signifier que la demande scientifique et médicale pour le sujet étudié reste soutenue, mais sans croissance particulière récente.

Les domaines d'activité couverts dans ces études de biosurveillance du personnel sont surtout industriels (industrie minière, pétrolière, sidérurgique, chimique...) ; des applications dans les activités hospitalières, de l'industrie nucléaire et dans le monde agricole sont aussi rapportées. Les tests mis en jeu se sont avérés être majoritairement des tests cytogénétiques, et dans un moindre mesure, le test des comètes. Il faut remarquer qu'un nombre relativement important d'études fait cependant appel à plusieurs tests de génotoxicité, ce qui permet de comparer les données des différents tests employés, 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) 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 et il est par conséquent difficile de tirer des enseignements généraux de ces études en terme de comparaison des sensibilités et spécificités des différents types de test utilisés. Les protocoles mis en jeu font généralement appel à une large concertation préalable entre les médecins du travail, les scientifiques réalisant les tests et le personnel de direction et d'encadrement des industries. L'information et l'accord du personnel participant à ces études sont aussi des points importants à considérer. Les atouts, mais aussi les limites et les

contraintes des tests employés pour une utilisation en médecine du travail ont été recensés. La dimension éthique de l'utilisation des tests de génotoxicité a aussi été analysée.

L'utilisation des tests de génotoxicité spécifiquement dans l'industrie du déchet a fait l'objet d'une recherche bibliographique. D'assez nombreuses publications rapportent la caractérisation des effets génotoxiques de déchets ou de leurs résidus ; par contre, ces études ont principalement été réalisées 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. Concernant l'application à la biosurveillance des personnels, les tests de génotoxicité ont été relativement peu appliqués à la biosurveillance du personnel de l'industrie des déchets. Nous avons pu identifier 8 études que nous avons analysées en détail. 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 hydrocarbures aromatiques polycycliques (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.

Pour les experts médicaux et scientifiques interviewés dans notre étude, 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. De plus, selon les experts, les tests de génotoxicité sont très rarement utilisés pour contrôler les atmosphères de travail. Ils ne sont pas non plus utilisés pour le suivi médical des personnels de l'industrie du déchet. Le choix du ou des tests qui seraient à mettre en place dans le cadre d'un suivi médical va dépendre du mécanisme de

mutagénicité 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). Par ailleurs, selon 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 ; il n'y a donc pas de suivi individuel possible. Les experts ont également été tous unanimes sur le fait qu'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 en place des tests. Enfin, selon les experts interrogés, 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 en place des tests doit être subventionnée par une institution publique ou associative.

- **Analyse et commentaire de ces résultats**

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, 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. 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 fiches de données de sécurité (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.

Les interviews d'experts industriels confirment bien l'état du manque de connaissances bibliographiques concernant l'identification des CMR notamment dans les déchets et leur mode d'évaluation pour juger de l'exposition de leurs salariés. Pour arriver à affiner l'état des connaissances actuelles, il faudrait arriver à l'évaluation de l'exposition à l'échelle du poste de travail, et ainsi permettre une cartographie des risques en assurant un suivi approprié du personnel. Cela peut être envisagé en continuant les études de métrologies atmosphériques et en les couplant à des analyses biologiques à des échelles dans l'entreprise plus petites que celles considérées jusqu'ici.

En ce qui concerne les tests de génotoxicité, la surveillance du personnel de l'industrie du traitement et du recyclage des déchets ne fait pas, ou alors de façon très marginale, appel à ces 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 cancérogènes 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 d'informations (même si ces informations peuvent porter à discussion comme déjà discuté précédemment) sur la présence et les concentrations de composés potentiellement génotoxiques, avec des valeurs de référence parfois établies par les agences sanitaires, 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.

▪ **Conclusions**

L'utilisation des tests de génotoxicité pour la biosurveillance des personnels de l'industrie du déchet est à l'heure actuelle loin d'être validée, les données déjà obtenues étant de plus fragmentaires et très partielles. Ces tests présentent pourtant des atouts importants, liés notamment à la détection de marqueurs d'effets précoces et à la prise en charge d'exposition à des mélanges de composés génotoxiques.

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 en fait 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. L'utilisation des tests de génotoxicité devrait de plus être couplée à une identification métrologique aussi précise que possible des CMR auxquels les travailleurs de l'industrie sont susceptibles d'être exposés et la 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 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.

▪ **Study context**

Monitoring of workers towards exposure to mutagenic/carcinogenic chemicals constitute a major challenge in occupational medicine. Waste industrial staffs are concerned by this point, since workers of waste industries are likely to be exposed to various genotoxic compounds, especially to mixtures of chemicals. In addition, waste industrials have to comply to prevention of cancerogenic, mutagenic or reprotoxic (CMR) risks, regularly defined by the decree n° 2001-97 from 1^{er} february 2001. This decree is aimed at decrease the risk of occupational diseases through a precise report of all the exposures to CMR chemical compounds used by industries, and by extension, to their wastes. Evaluation of sanitary risks, especially genotoxic risks, by waste industrials, is however rather complex today, especially for the following reasons :

- The access to information and reports with respect to CMR compounds is often not easy.
- The knowledge of CMR mixtures in wastes is partial, due to the lack of standardized analytical tools or methods for acute identification and dosage of all CMR compounds found in wastes, including by-products which can be potentially dangerous for human health or which have not been characterized under a toxicological view.
- The interpretation of results from analytical studies of CMR pollutants is difficult, especially for characterizing dose-response relationships for mixtures or chemicals acting on different target organs in a cumulative way.

In the general application of prevention and evaluation of occupational risks which is obligatory for any industrial staff since the decree n°2001-1016 from 5 november 2001, evaluation of chemical risks remains in fact delicate to perform. In this context, genotoxicity tests, defined as biological tests allowing to demonstrate a genotoxic damage, could be particularly useful. The relevance of such tests, especially in the waste industry, remains however to be fully determine.

▪ **Aim and summary of the study**

The aim of the work was to perform a state of the art with respect to the potential use of genotoxicity tests for health risk management of waste industrial workers, with the specific goal of analyzing whether these tests can bring more new and general informations on exposure to genotoxic compounds for individual risk assessment or occupational environment.

The first part of the study is dedicated to the bibliographic analysis of the nature of the risk and of the exposure in waste industry. After having reported the different types of wastes (dangerous and not dangerous) as well as the reglementary definition of CMR, a state of the art with respect to the nature of toxics found in wastes is provided. This work takes into account the main results in this domain, especially with data from the french National Institute of Research and Security (INRS). Studies about risk evaluation (studies from ADEME, network health-wastes or INRS and international publications) are then shown, with

the indication of the type of waste treatment: incineration, treatment/refresher courses from electric/electronic equipments, cleaning and refresher course of industrial casks, recuperation of materials without metal, collecting of diffuse wastes...Some studies about people living near sites polluted by industrial activities are also reported and discussed.

The second part is about the reglementary rules of the supervision of workers in waste industrials, especially with respect to the following items: Who are the workers exposed to CMR? What medical control has to be preconised? What industrial prevention has to be developed?

The third part of the studie describes the main conclusions of 26 interviews of waste industry managers, who have answered to an established questionnaire (nature of the CMR agents identiyfied in their companies, exposure ways, risk evaluation, consequences for the society, financial budget available for performing genotoxicity tests). The replies are classified into four categories according to the nature of industrial processing performed.

The fourth part of the report is dedicated to the principles of different genotoxicity tests that can be used. Genotoxicity mechanisms are also briefly described in this part.

The fifth part concerns the use of genotoxicity tests in occupational medicine. Applications are described, for the characterization of occupational environment and for biological monitoring of workers. The advantages and limits of gentoxicity tests are also discussed.

The sixth part of the study reports the use of of genotoxicity tests in waste industry. Eight studies published in the international literature are precisely detailed.

The seventh and last part of the study is about the conclusions of the interviews of scientific and medical experts with respect to their own experience towards genotoxicity tests.

The report is ending by the proposal of actions that have to be considered for better taking into account risks due to CMR compounds for waste industry workers.

- **Main results reported in the study**

If occupational risks due to the activities of collecting and treating wastes are numerous, published studies about these points are much les numerous. Data with respect to health risks for workers exposed to wastes are scarce: studies that appear the most relevant are from INRS. Regarding international publications, studies usually concern incineration plants of domestic wastes, but the aim of these works often deals with public health, and not occupational health. Occupational studies are however more concluding in term of health than those about public health. In the former case, analytical studies have permitted to obtain some quantitative data, especially with respect to analysis of the atmosphere, whereas in the latter case, epidemiological data are often difficult to interpret, especially for individual responses. The main reported studies are about the environmetal impact of industrial sites (studies from ADEME).

For waste industry managers interviewed in our study, two main ways of exposure are inhalation and skin contact for all the types of activities and wastes. Results of health risks assessment methods, which are qualitative, and not quantitative, give risk levels important for the processing of packaging (exposure to solvents), and then for manual sorting. The wearing of individual protection equipment remains often the first priority of prevention. The setting of collective protection equipments is considered in the event of troubling results from analytical analyses of occupational atmosphere. Information and prevention issues are however regularly considered by the waste industrial companies, With respect to metrological analyses, only a quarter of the interviewed industrial managers have performed atmospheric samples in work places, with ponctual analysis of some families of environmental pollutants (dusts, silice, polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), volatil organic compounds such as benzene, toluene and xylene are the most often reported). In the majority of cases, workers are ongoing a strict medical supervision, without however specific biological test. If a specific biological following is established, main analyses are the dosage of lead and heavy metals (cadmium, chrome VI...).

Genotoxicity tests can permit to demonstrate alteration of genetic materials (deoxyribonucleic acid (DNA) or chromosomes) by chemical or physical compounds, that can result, if genotoxic lesions are not efficiently corrected by adequate repair enzymes, to mutation events. These tests will mainly detect damages of DNA or chromosomes, or their consequences (phenotypic effects of genic mutation). They do not directly detect cancerous or pre-cancerous cells, but normal cells subjected to genotoxic damage.

These genotoxicity tests are of different types: Some of them show up mutagenic capacity at the gene level: it is the case for the tests allowing to demonstrate the genototoxic potential of a substance, preparation or extract, through measuring appearance of a mutation of a particular gene in bacteria (Ames's test) or in eukaryotic cells (hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase test, glycoporphine A mutation test, thymidine kinase test with lymphoma mouse cells L5178Y), which results in detectable phenotypic effects (for example, change in cell growth). Another kind of test is aimed at measuring primary damage of DNA, including DNA strand breaks, through agarose electrophoresis (comet assay), Finally, cytogenetic assays (chromosomal aberrations, micronuclei test and sister-chromatid exchange test) can detect chromosomal lesions due to the exposure to genotoxic compounds. Overall, different genotoxicity assays investigating various stages of genotoxic injury, are available: they permit to characterize primary lesions, that can be repaired, or mutations. These genotoxicity tests are under the influence of various confounding factors, especially age, smoking, and polymorphism of some xenobiotic metabolizing enzymes or of DNA repair enzymes, which has to be taken into account for the interpretation of data and the constitution of control groups in genotoxicity studies.

The use of genotoxicity tests in occupational medicine can be performed in two different contexts: 1) for the characterization of the working place (genotoxicity tests on work atmosphere inhaled by workers or on substances or mixtures with them workers can be in contact, especially through the skin, eco-toxicological studies of the working place) and 2) for the direct biomonitoring of workers, using human samples (often blood samples) from workers. With respect to these tests

allowing medical/biological monitoring of workers, we have analyzed 752 published papers dealing with this subject, on the period 1975-2007, through a bibliographic research on the PubMed databank. Obtained results demonstrate that the mean of published papers by year is 22.8 papers; this mean has increased until the years 1985-1990 and remained next constant. This could indicate that the scientific and medical interest for this subject is noteworthy, but is presently not growing.

Activities leading to biomonitoring of workers using genotoxicity assays are mainly industrial (coal mines, petroleum industries, cokeries, plastics industries, foundries...); applications in medical/hospital activities, in nuclear industry and in farming are also described. The tests used for these analyses are often cytogenetic tests, and also the comet assay. It is noteworthy that some studies used several different genotoxicity tests, which permits comparison of the corresponding data, and also to use genotoxicity tests investigating various and complementary stages (for example, characterization of genotoxicity markers reflecting exposure to chemicals and concomitantly an early phenotypic effect). Some studies thus associated one assay exploring exposure to genotoxic compounds (for example, analysis at the urinary level with the Ames assay) with one or several tests measuring a genotoxic or mutagenic effect (for example the analysis of micronuclei or chromosomal aberrations in blood lymphocytes). Unfortunately, some genotoxicity tests can give positive results, whereas other tests performed in the same study remain negative and it is consequently difficult to draw common conclusions about the sensibility and the specificity of the used tests. The protocols used in these studies usually involve an extensive concertation between occupational physicians, scientifics performing tests and industrial managers. Information and agreement of workers enrolled in the study are also key parameters. The advantages, but also the limits of the tests used for occupational medicine have also be analyzed. Ethical features of the use of genotoxicity assays is also discussed.

The specific use of genotoxicity assays in waste industries has been the object of a special analysis. Many publications concern the characterization of waste products or by-products; these studies have however mainly be conducted under an environmental or eco-toxicological view, and are not primarily aimed at characterizing the work place of waste workers, in order to get information about the genotoxicity injury risk in such workers. With respect to biological monitoring of waste workers, there is only a few studies dedicated to this issue. We have identified 8 studies about this subject, and these studies have been analysed in details. These studies have usually compared different biomarkers of exposure or of biological effects obtained with genotoxicity assays, between a group of exposed workers and a group of control individuals, not exposed. Personal parameters such as smoking are well-described, in order to exclude confounding factors. Genotoxic effects have been analysed using blood samples; the major genotoxicity assays used in these studies are the comet assay and cytogenetic tests (chromosomal aberrations, micronuclei ot sister-chromatide exchange). Protocols sometimes include the analysis of urinary metabolites of PAH, especially 1-OH-pyrene. The studies have enrolled a limited number of workers, inferior to 100. Nevertheless, in spite of the small number of publications, it is noteworthy to observe that cytogenetic tests such as chromosomal aberrations and micronuclei are often positive in workers exposed to wastes. It also appears that waste industrie workers exposed to PAHs exhibit higher urinary concentrations of 1-OH-pyrene, when

compared to unexposed individuals, in agreement with data reported from PAH-exposed workers from other industries. Smoking seems to not modify the results of genotoxicity assays, but increases urinary concentrations of 1-OH-pyrène. Finally, one study has investigated the relationship between polymorphism of metabolizing enzymes and urinary levels of glucuronide of 1-OH-pyrène, a PAH metabolite, and also the number of DNA lesions. Results did not show a clear relationship between enzyme genotype and the formation of genotoxic lesions.

For medical and scientific experts interviewed in our study, it clearly appears, according to the opinion of the experts, that genotoxicity assays are not used for a usual following of workers occupationally exposed to mutagenic compounds. Otherwise, any reglementary rule prescribes the use of such genotoxicity assays in french occupational medicine. Genotoxicity tests are in fact punctually used, in response to a specific demand of an occupational physician, or more frequently, for a research purpose. Moreover, according to the experts, genotoxicity assays are very rarely used for controlling atmospheres of working places. They are also not used for the medical supervision of workers from waste industrials. The choice of the genotoxicity test that has to be conducted for the following of workers may depend on the nature of the genotoxic injury due to the studied or incriminated chemicals and also of the nature or the exposure (especially lenght) of workers. The Ames assay is often retained since it is easy to perform and not invasif and gives exposure biomarker data. Otherwise, according to the experts, besides the Ames test, other genotoxicity assays can be used only for the following of a group of exposed workers, and not for the following of exposed individuals. Indeed, the results of these tests will vary according to the individuals, owing the many confounding factors, including age and smolking; individual following is therefore not possible. The experts agree with the fact that a preliminary concertation is required before beginning to perform genotoxicity assays, especially for avoiding some problems, including ethical problems, if the results are positive. In particular, it is important to determine whether the company has the financial capacity to take prevention measures if positivity occurs. Moreover, occupational physicians have to be consulted for the project and its aims. Finally, according to the interviewed experts, the financial cost is very difficult to accurately evaluate. It notably depends on the type and the number of tests that will be performed and also of the number of subjects enrolled in the study. Nevertheless, the cost is usually rather expensive. This may be problematic for the industrials. For a research process, a subvention from public institution is therefore welcome.

▪ **Analysis and comments of the results**

Prevention of risks due to CMR for waste industrials is dependent of several reglementary texts. Interviews of waste industrials have shown that this prevention of risks can be problematic for the different stages of waste processing, including collecting, treatment and elimination. The limited knowledge that waste industrials have from the wastes they receive and collect (with respect to the composition, the mixture and the exact nature of chemicals found in the wastes) and of the danger linked to these wastes, makes uneasy the application of reglementary rules related to chemical risk. Waste industry managers and staff call to order their customs with respect to their obligation of informing about the nature of wastes, including the nature of chemicals found in these wastes. Unfortunately, the reglementary documents (tally-sheets of following of industrial wastes especially) do

not comprise the indication of CMR risk, remaining to the nature of wastes as specified by European classification (decree n° 2002-540 from 18 April 2002). Otherwise, many waste producers are already confronted to problems due to identification, traceability and gestion of risks due to CMR compounds of their wastes. The knowledge of these points is crucially required to better characterizing the risks of waste workers. In addition, bibliographic studies about the danger of wastes remain limited and recent. Such studies are likely to be very useful for industries treating wastes.

In fact, waste industries, especially those collecting wastes, are in uncomfortable situation, which however does not prevent them to get organized. Indeed, waste industries initiate by themselves the search of informations through the use of questionnaires addressed to the producers of wastes and through demanding specific security data cards and also through attentive reading of etiquettes of products. However, the reliability of the collected informations remains untrustworthy.

In parallel, it remains very hard to measure exposure of workers to CMR chemicals, since the obtention of accurate data is difficult. With respect to this point, the literature is restricted and only some populations, especially those living near incinerators of domestic wastes, have been well-investigated. To overcome these difficulties, the professionals carry into effect intervention strategy with simple principles. In the case of risks due to CMR, well-established or presumed, the method that will be retained is selected according to the constraints of the industrial site and the customer, with however the specific objective to markedly reduce the exposure of workers and thus to limit the risks due to these compounds.

For the industrial experts, the two main ways of exposure remain inhalation and skin contact for all types of activities and whatever the nature of the waste. Results of studies of risk evaluation, not quantitative for most of them, give firstly more higher levels of risks for repackaging operations (exposure to solvents) and secondly for manual tri. The wearing of individual protection equipment remains often the first priority of prevention. The introduction of collective protection equipment can not be considered as usual and sometimes depends on campaigns of analytical measures of atmospheric samples, which however may remain to be defined. Information and formation are nevertheless regularly performed in all the waste industries whose managers have been interviewed.

Interviews of industrial experts have also confirmed the lack of bibliographic data with respect to the identification of CMR in wastes and to the way of evaluation for judging exposure of workers. To increase the knowledges about these points, assessment of exposure at the scale of the working station will be beneficial, allowing an appropriate supervision of exposed individuals. That may be reached through performing analyses in atmospheric samples together with biological analyses at the level of the individual worker.

With respect to genotoxicity tests, supervision of workers of the waste industries does not use, or only in a very marginal manner, these assays; this is true both for characterizing environment of working station or for the biological monitoring of workers. This is well demonstrated by our bibliographic study and also by the opinion of the scientific and medical experts. It remains however interesting to consider the interest of such an approach, especially owing to the facts that waste industry workers can be exposed to genotoxic compounds found in mixtures, that the genotoxicity tests can bring specific informations (markers of exposure but also of early effects), that their technical feasibility is demonstrated and that many publications reported the interest of genotoxicity assays in

occupational medicine. Moreover, the scarce data available seems to indicate that exposure to wastes may be associated with genotoxic damages in workers.

This use of genotoxicity assays seems to be adequate primarily for the biomonitoring of workers since it can give important data about markers of early effects that can not be provided by classical analytical measurement of compounds or their metabolites in biological fluids (blood or urines) of individuals. By contrast, analytical measures in the environment of work place (atmospheric samples) allow to get some informations about the concentrations of genotoxic compounds (even if these informations may be controversial as underlined above), with sometimes referent corresponding toxicological values established by sanitaries agencies, which makes less priority to have recourse to genotoxicity assays for such purposes.

The use of genotoxicity tests for the biomonitoring of workers from waste industries will not escape from the limits of the use of these tests in occupational medicine, linked notably to the lack of reglementary rules, to the presence of confounding factors, to the financial cost of these studies, to ethical considerations and to eventual consequences for the companies. Interpretation of the results would also be difficult and methods can exhibit some invasive features (blood sampling). The constitution of a control unexposed group required in such studies also appears as an additional limit.

▪ **Conclusions**

The use of genotoxicity tests for the biomonitoring of workers from waste industries is today far from being validated and data about this point remain very partial and scarce. These tests exhibit however major advantages, notably linked to the detection of markers of early effects and to the analysis of exposure to mixtures of genotoxic compounds.

In the present state of the art, the setting of genotoxicity tests for biomonitoring workers of waste industries should be consequently mainly performed in the context of research in occupational medicine, with the aim of validation, and not be considered as a validated and robust tool for biomonitoring in occupational medicine. Such studies would moreover require a preliminary concertation and an adequate following with the different actors involved in the management and prevention of occupational diseases (managers of the industries, workers, occupational physicians, biologists performing the tests...). Such a concertation will allow to optimize the genotoxicity test(s) that will be retained in the study. A financial budget from public services is likely to be required, in order to limit the cost supported by the industries. Indeed, these studies are expensive and the present budgets dedicated to this topic by waste industries are most likely insufficient to allow actual development of genotoxicity assays. The use of genotoxicity assays should moreover be associated with that of analytical methods permitting accurate identification of CMR compounds to which workers of the waste industries are exposed. The setting of an epidemiological study aimed at analyzing the carcinogenic risk due to occupational exposure for workers of waste industries also constitutes a solution to be looked at, in order to better evaluate this risk and therefore to justify a putative more systemical use of genotoxicity assays in the future, for the biomonitoring of workers.