

La surveillance biologique de l'exposition aux toxiques industriels

Position actuelle et perspectives de développement

par R Lauwerys, MD, MIH, ScD, A Bernard, PhD¹

LAUWERYS R, BERNARD A. La surveillance biologique de l'exposition aux toxiques industriels: Position actuelle and perspectives de développement [Biological monitoring of toxic chemicals: The present position and perspectives of development]. *Scand J Work Environ Health* 11 (1985) 155–164. Biological monitoring of exposure to an industrial chemical may be defined as the evaluation of the internal dose (internal exposure) by a biological method with the view of assessing the associated health risk. Depending on the biological parameter selected and on the time of sampling, internal dose may mean the amount of chemical recently absorbed, the amount stored in one or several compartments of the organism, or, under ideal conditions, the amount bound to the sites of action. The estimation of the internal dose has usually relied on two categories of tests: those based on the determination of the chemical and/or its metabolites in various biological media (eg, alveolar air, blood, urine) and those based on the quantification of a nonadverse biological effect, the intensity of which is related to the internal dose. Biological tests providing information on the amount of active chemical bound to the critical sites of action (target dose) and noninvasive analytical methods which measure the amount of cumulative toxins stored in certain body compartments (eg, bone, liver, kidney) are currently being developed. The main criteria to be considered in the selection of the most appropriate biological monitoring test of exposure are the specificity of the parameter and its sensitivity with respect to the exposure level, the analytical and biological applicability, the convenience for the workers, the possible risks associated with its application, and, of course, the accuracy of the exposure and/or health risk evaluation. Normally, the biological approach of exposure monitoring is reserved for chemicals which enter the organism and may exert systemic toxic effects. When a biological monitoring test of exposure is applicable, it offers several advantages over ambient air monitoring. A biological parameter reflecting the internal dose is necessarily more closely related to the systemic adverse effect(s) than any environmental measurement. Biological monitoring of exposure integrates the exposure by all routes (pulmonary, oral, and cutaneous) and sources. It may also take into account several factors which determine the uptake and the absorption of the chemical (individual variability, work load, hygiene habits, etc). However, contrary to ambient monitoring, biological monitoring is applicable only when sufficient information has been gathered on the metabolism of the chemical, its toxicity or that of its metabolites, and when some of the relationships between external exposure, internal dose and adverse effects have been assessed. When a biological monitoring program is being developed, great attention should be devoted to various analytical and practical problems, such as the stability of the parameter to be analyzed, the use of a well-standardized method, and the implementation of regular quality control programs. Finally, since the biological approach uses man as an indicator of exposure, some ethical aspects, such as the confidentiality of the results and the informing of workers, cannot be neglected. (Article in French)

Key terms: biological monitoring, environmental monitoring, D-glucaric acid, genotoxicity, metallothioneines, pseudocholinesterase, review.

L'objectif principal de la toxicologie industrielle est la prévention des altérations de la santé susceptibles de résulter de l'exposition professionnelle à divers agents chimiques. Cet objectif ne peut être atteint que si des conditions d'exposition sont définies, qui n'entraînent pas un risque inacceptable pour la santé des travailleurs. Cela implique la définition de niveaux permmissibles d'exposition aux substances chimiques industrielles, c'est-à-dire de niveaux qui, sur la base de nos connaissances actuelles, ne devraient

entraîner aucun effet nocif décelable pendant toute la durée de vie des travailleurs. Afin d'apprécier si l'exposition professionnelle est maintenue à un niveau où le risque d'altération de la santé est négligeable, le médecin du travail et l'hygiéniste industriel doivent comparer les données relatives à l'exposition (récente ou intégrée dans le temps) des travailleurs avec les niveaux d'exposition considérés comme tolérables d'un point de vue sanitaire.

Pendant de nombreuses années, l'évaluation de l'exposition professionnelle aux substances chimiques fut principalement basée sur la mesure de la concentration de ces substances dans l'air ambiant aux postes de travail à l'aide d'appareils ou d'échantillonneurs personnels. Les limites et inconvénients de cette approche sont bien connus. Les travailleurs

¹ Unité de Toxicologie Industrielle et Médecine du Travail, Université Catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique.

Tirés à part: Prof R Lauwerys, Unité de Toxicologie Industrielle et Médecine du Travail, Université Catholique de Louvain, 30.54 Clos Chapelle-aux-Champs, B-1200 Bruxelles, Belgique.

ne peuvent être assimilés à un groupe homogène de sujets exposés à une substance aux caractéristiques physico-chimiques bien définies dans des conditions standardisées et reproductibles. Ils se distinguent l'un de l'autre à de nombreux égards: âge, sexe, taille, poids, aptitudes physiques, état physiologique et nutritionnel, etc... En outre, selon la nature de leurs activités professionnelles et leurs habitudes hygiéniques, ils peuvent être exposés à certaines substances non seulement par inhalation, mais aussi par les voies orale et cutanée. Aussi, pour une concentration déterminée d'un polluant dans l'air ambiant, des différences interindividuelles parfois très importantes dans l'exposition, l'absorption, la biotransformation, la distribution et l'excrétion de la substance pourront provoquer de larges fluctuations interindividuelles dans la quantité du métabolite actif qui atteint le(s) site(s) d'action. L'évaluation par une méthode biologique de la quantité de substance effectivement absorbée (dose interne) ou de sa fraction métaboliquement active ou, même déjà fixée aux sites d'action, permet de tenir compte de certains de ces facteurs individuels.

Principes généraux des méthodes de surveillance biologique de l'exposition aux toxiques industriels

Définition

La figure 1 illustre les cheminements possibles d'une substance exerçant une action systémique depuis l'environnement jusqu'aux molécules cibles dans l'organisme. Une fois absorbée et présente dans la circulation la substance se distribue dans différents compartiments de l'organisme. Elle peut être éliminée inchangée dans l'urine ou dans l'air expiré. La majorité des substances organiques est en partie biotransformée en dérivés plus hydrosolubles et plus aisément éliminés par les voies urinaire et biliaire que le corps initial. Celui-ci ou ses métabolites peuvent se fixer de manière réversible ou irréversible sur des molécules cibles. Lorsque cette fixation s'effectue sur des sites critiques, elle engendre des effets biologiques toxiques ("adverse effects") qui, à un stade précoce, ne causent que des lésions infracliniques mais qui, à un stade plus avancé de l'intoxication, engendrent des perturbations fonctionnelles.

Pour apprécier le risque sanitaire associé à l'exposition à un polluant dans l'environnement ou en milieu professionnel, trois types de programme de surveillance peuvent être appliqués, correspondant à différents niveaux du schéma de la figure 1.

Surveillance de l'environnement. La surveillance de l'environnement constitue une méthode indirecte d'évaluation du risque potentiel pour la santé par la détermination de la quantité de polluant présente

dans une ou plusieurs composantes de l'environnement: air, aliments, eau, etc. La surveillance de l'environnement tend à évaluer l'exposition externe des sujets. Dans l'industrie, cela consiste essentiellement en la mesure de la concentration des substances chimiques dans l'air ambiant. Selon le système d'échantillonnage sélectionné (statique, personnel); l'estimation du risque s'effectue à l'échelle d'un groupe de travailleurs ou à l'échelle individuelle. L'existence possible d'un risque est appréciée par référence à des concentrations atmosphériques permises.

Surveillance biologique de l'exposition. Il s'agit d'une méthode d'appréciation du risque pour la santé des sujets exposés à une substance chimique basée sur une estimation de l'exposition interne de l'organisme (dose interne). Cette évaluation est normalement effectuée sur une base individuelle.

La dose interne est généralement estimée par la mesure de la substance ou de ses métabolites dans divers milieux biologiques ou par la mesure d'effets biologiques non toxiques ("non adverse effects") corrélés avec la dose interne. Dans certains cas encore limités, on peut aussi apprécier directement la quantité de toxique fixé aux sites d'action critiques avant la survenue de répercussions pathologiques ("adverse effects"). La surveillance biologique de l'exposition est généralement réservée aux substances qui pénètrent dans la circulation et exercent des effets systémiques. L'existence possible d'un risque d'exposition excessive est appréciée par référence à une concentration biologique permise.

Dépistage des effets toxiques. Il importe de bien faire la distinction entre dépistage des effets toxiques et surveillance biologique de l'exposition. Alors que cette dernière vise à dépister les situations d'exposition insalubre (entachées d'un risque pour la santé), le dépistage des effets toxiques évalue l'état de santé des individus dans le but d'identifier ceux qui présentent déjà des manifestations d'intoxication ("adverse effects") (par exemple, élévation de l'activité plasmatique de diverses enzymes cytolitiques en cas d'exposition excessive à des hépatotoxiques; protéinurie accrue en cas d'exposition à des néphrotoxiques). La détection d'un effet biologique toxique indique que l'exposition est ou a été excessive et dès lors, un tel paramètre ne fait pas partie d'un programme de surveillance biologique de l'exposition, mais plutôt d'un programme de dépistage précoce d'altérations de la santé. Certes, la distinction entre effets toxiques et non-toxiques n'est pas toujours aisée. Au cours d'un symposium sur la surveillance biologique de l'exposition organisé conjointement par la Commission des Communautés Européennes, l'Organisation Mondiale de la Santé et l'"Environmental Protection Agency — USA" (3), la définition suivante a été proposée: un effet biologique est généré

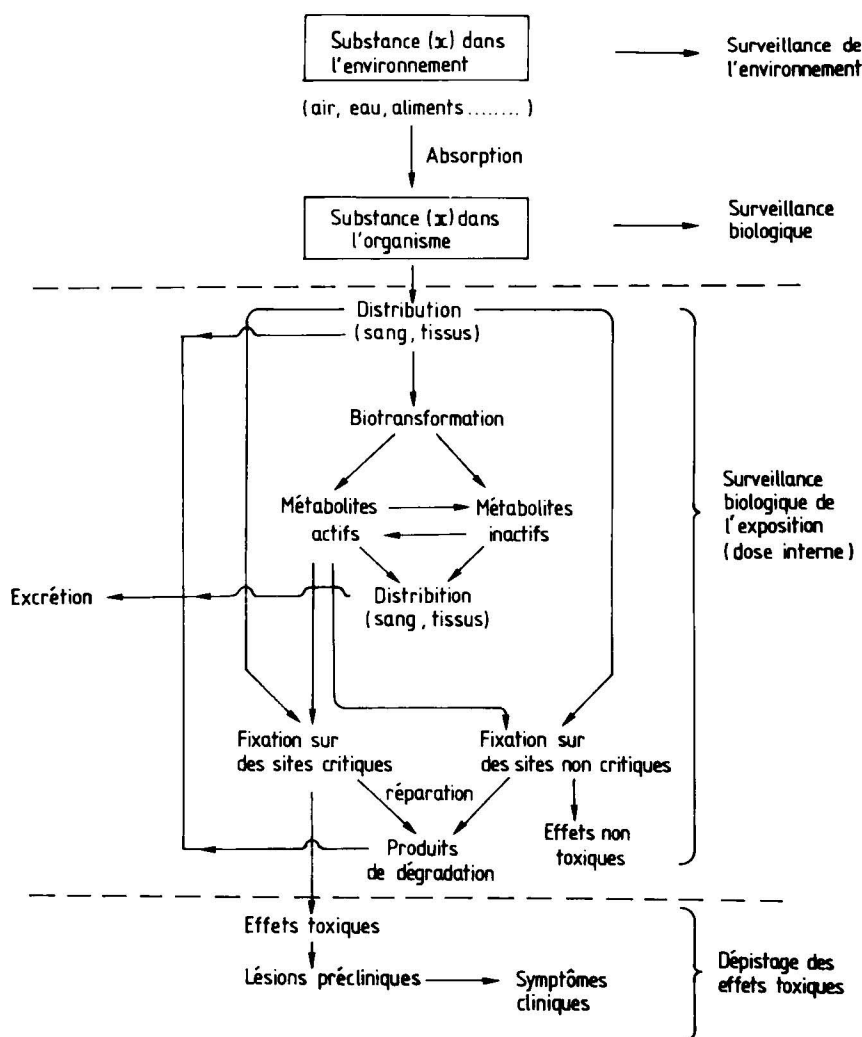


Figure 1. Transfert d'une substance chimique de l'environnement aux sites d'action et programmes de surveillance des sujets exposés correspondant aux différentes phases de ce processus.

ralement considéré comme toxique ("adverse") s'il existe une réduction de la capacité fonctionnelle, une réduction de la possibilité d'adaptation à des stress supplémentaires, une réduction de l'homéostasie, une susceptibilité accrue à d'autres facteurs d'environnement ou si les altérations fonctionnelles sont susceptibles de se manifester dans un proche avenir. L'application de ces critères à certains effets biologiques précoces, tels ceux engendrés par des substances génotoxiques (par exemple, dépistage d'adduits de l'ADN) est parfois difficile.

En pratique, ces divers programmes de surveillance (surveillance de l'environnement, surveillance biologique de l'exposition et dépistage des effets toxiques) sont souvent appliqués conjointement. Ils sont complémentaires. En effet, de nombreuses substances exercent non seulement des effets systémiques mais aussi des effets locaux. Les effets toxiques directs sur les voies respiratoires, les muqueuses oculaires ne peuvent être prévenus qu'en maintenant

la concentration ambiante des substances irritantes en deçà d'un niveau seuil.

D'autre part, la surveillance biologique de l'exposition se se prête généralement pas au dépistage d'expositions intenses de courte durée. Enfin, une exposition interne considérée comme sans danger sur la base de nos connaissances scientifiques actuelles peut néanmoins provoquer des effets toxiques chez certains individus plus sensibles.

Objectifs de la surveillance biologique de l'exposition

Au sens strict, la surveillance biologique de l'exposition vise à déterminer la dose interne d'une substance chimique. Selon la substance en cause et le paramètre biologique analysé, le terme dose interne couvre différents concepts. Il peut d'abord signifier la quantité de substance récemment absorbée. Ainsi, le para-

mètre mesuré peut refléter la quantité de substance absorbée très peu de temps avant l'échantillonnage (ce qui est habituellement le cas pour la concentration d'un solvant dans l'air alvéolaire ou dans le sang recueillis pendant la période de travail) ou pendant le jour précédant l'échantillonnage (ce que peut refléter la concentration d'un solvant dans l'air alvéolaire ou dans le sang prélevés 16 heures après la fin de l'exposition) ou pendant les derniers mois s'il s'agit de substances avec une demi-vie biologique suffisamment longue dans le compartiment échantillonné (tel est le cas pour la concentration de certains métaux dans le sang).

Dans d'autres circonstances, la dose interne peut signifier la quantité totale de substance stockée dans un ou plusieurs compartiments ou dans tout l'organisme. Ceci concerne principalement les toxiques très cumulatifs. Ainsi, la concentration des biphényles polychlorés ou de certains pesticides organochlorés dans le sang reflète la quantité accumulée dans le principal site de dépôt (tissu adipeux).

Enfin, dans les situations les plus favorables, le paramètre mesuré informe sur la quantité de substance ou de ses métabolites actifs fixés aux sites d'action critiques.

Avantages de la surveillance biologique de l'exposition

Pour les substances qui doivent pénétrer dans l'organisme pour exercer leurs effets toxiques, la surveillance biologique fournit une meilleure évaluation du risque pour la santé que la surveillance de l'environnement: un paramètre biologique reflétant la dose interne est nécessairement en relation plus directe avec les effets biologiques toxiques que l'on veut prévenir que n'importe quelle mesure dans l'environnement.

La surveillance biologique présente en outre l'avantage de prendre en considération toutes les sources d'exposition. Ainsi, s'il existe des expositions non professionnelles (par exemple, suite à l'utilisation de certains produits domestiques ou résultant des habitudes tabagiques) s'ajoutant aux expositions industrielles, elles seront prises en compte par une surveillance biologique.

La surveillance biologique intègre l'exposition par toutes les voies. En milieu professionnel, l'inhalation constitue la principale route d'exposition mais pour un certain nombre de corps chimiques, l'absorption par les voies cutanée et gastro-intestinale est loin d'être négligeable. Ainsi, nous avons pu observer dans une entreprise de fabrication de fibres acryliques, que le solvant, la diméthylformamide, utilisé pour la dissolution du polymère, était absorbé davantage par voie cutanée que par voie pulmonaire (10). L'exposition par voie orale peut aussi survenir particulièrement quand les travailleurs ne respectent pas certaines mesures d'hygiène, comme par exemple manger ou fumer aux postes de travail ou prendre les

repas sans au préalable enlever les vêtements de travail, voire se laver les mains.

Vu son aptitude à apprécier l'exposition globale, quelle que soit la voie d'entrée, la surveillance biologique présente aussi l'avantage d'être utilisable pour tester l'efficacité de diverses mesures préventives, telles le port de gants, de masques et l'application de crèmes barrière.

La surveillance biologique peut prendre en considération divers facteurs physico-chimiques et biologiques qui influencent la pénétration dans les voies respiratoires et digestives et l'absorption, tels par exemple les paramètres ventilatoires, la granulométrie des poussières, les différences individuelles dans l'absorption et le métabolisme. Par exemple, une charge physique de 100 watts augmente de 2 à 3 fois l'absorption pulmonaire du trichloréthylène par rapport à la situation au repos (11). Cet effet de l'exercice physique est plus marqué encore pour des solvants, tels le styrène et le xylène plus solubles dans le sang et les tissus que le trichloréthylène (1).

Un état de déshydratation de la peau et l'enlèvement de la couche lipidique modifie les propriétés du stratum corneum, ce qui peut favoriser l'absorption de certains solvants (14).

Connaissances préliminaires au développement de méthodes de surveillance biologique

Le métabolisme des substances étrangères (toxicocinétique)

La surveillance biologique découle en grande partie de nos connaissances sur la toxicocinétique des substances industrielles. Quand le paramètre biologique proposé consiste en la détermination de la substance elle-même ou de ses métabolites dans certains milieux biologiques, il est essentiel de préciser d'abord comment la substance est absorbée par les poumons, le tractus gastro-intestinal et la peau, se distribue ensuite dans les différents compartiments de l'organisme, est biotransformée et est finalement éliminée. Il importe également de déterminer si la substance s'accumule dans l'organisme.

La figure 2 illustre de manière schématique l'évolution de la concentration d'un solvant dans 3 compartiments différents de l'organisme pendant et après une période d'exposition de 8 heures. Quand l'exposition reste assez constante pendant cette période (A), la concentration de la substance dans les différents compartiments augmente progressivement.

Mais la vitesse d'accumulation varie selon l'affinité du solvant pour les divers tissus et leur degré de perfusion. Ainsi, pour de nombreux solvants, la concentration dans l'air alvéolaire et dans le sang augmente rapidement et atteint l'équilibre en quelques heures (courbe 1). Dans certains tissus peu vascularisés, comme le tissu adipeux, la vitesse d'accumulation est nettement plus faible (courbes 2 et 3).

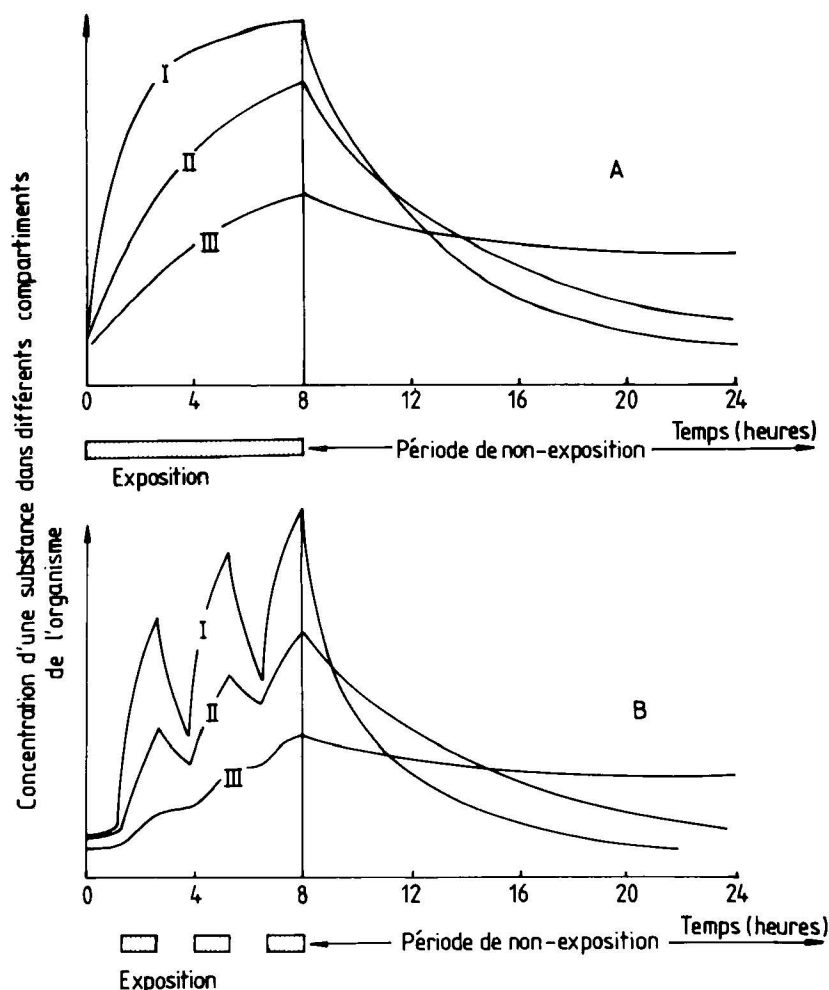


Figure 2. Evolution de la concentration d'un solvant dans trois compartiments différents de l'organisme pendant et après la période d'exposition. (A = exposition continue B = exposition discontinue)

A l'arrêt de l'exposition, l'élimination de la substance s'effectuera avec des demi-vies variables d'un compartiment à l'autre. Ainsi, l'élimination du tissu adipeux d'un solvant liposoluble est habituellement lente.

Quand l'exposition est discontinue, les phases d'accumulation et d'élimination alternent au cours d'une même période de travail et dès lors, la concentration du solvant dans les différents compartiments peut présenter d'importantes fluctuations. Dans ces circonstances, la détermination pendant l'exposition de la concentration de la substance dans l'air alvéolaire ou dans le sang offre généralement peu d'intérêt.

Par contre, la détermination de la concentration du solvant dans ces mêmes milieux plusieurs heures après l'arrêt de l'exposition (par exemple, le lendemain matin) peut constituer un reflet valable de l'exposition moyenne au cours de la période de travail précédente. Si, avant la reprise du travail, la concentration du solvant n'est pas retournée au niveau de

base, il faut craindre son accumulation progressive dans l'organisme au cours de la semaine de travail. Ces différents aspects toxicocinétiques doivent être soigneusement analysés afin de déterminer le moment le plus opportun pour prélever l'échantillon biologique.

Quand un corps chimique n'est pas toxique par lui-même, mais doit être activé dans l'organisme avant d'atteindre les sites critiques d'action, l'identification des métabolites actifs peut s'avérer utile. En effet, la détermination de leur concentration dans certains compartiments de l'organisme ou les excréta sera généralement plus informatrice pour l'évaluation du risque que la mesure de la substance mère ou de tout autre métabolite non doué de propriétés toxiques.

Le mécanisme d'action toxique (toxicodynamique)

La connaissance des effets toxiques précoces engendrés par une substance industrielle constitue

une condition préalable à l'évaluation précise du risque pour la santé et à la définition du niveau permmissible du paramètre biologique sélectionné. Plus intéressante encore est la connaissance du mécanisme pathogénique responsable de ces effets toxiques. Ainsi, la mesure du taux de carboxyhémoglobine ou de méthémoglobine constitue un exemple de l'application de telles connaissances pour évaluer l'exposition au monoxyde de carbone et aux agents méthémoglobinisants.

Relations entre exposition externe, dose interne et effets toxiques

La surveillance biologique de l'exposition n'a d'intérêt pratique que lorsque certaines relations entre exposition externe, dose interne et effets toxiques sont connus.

Généralement, la surveillance biologique n'est guère applicable pour apprécier l'exposition aux substances à action essentiellement locale (par exemple, une exposition aux irritants pulmonaires primaires) et peu absorbées. Dans ce cas, la relation entre l'exposition externe et l'intensité des effets locaux constitue la seule relation quantitative utile à définir. Pour les substances susceptibles de pénétrer dans la circulation et d'exercer une action systémique, un paramètre biologique peut fournir diverses informations selon l'état de nos connaissances sur les relations entre exposition externe, dose interne et risque d'effets toxiques (figure 3). Si seulement la relation (a) entre exposition externe et dose interne a été

précisée, le paramètre biologique peut être utilisé comme indice d'exposition, mais il ne fournit pas d'information directe sur l'importance du risque toxique.

Si la relation quantitative (c) entre la dose interne et les effets toxiques a été caractérisée (relations dose-effets et dose-réponse), la mesure d'un paramètre biologique peut fournir une évaluation directe du risque pour la santé. La proposition d'une valeur permmissible pour le paramètre biologique considéré découle d'ailleurs de la connaissance de cette relation. Si un paramètre biologique peut être corrélé d'une part avec la dose externe (a), et d'autre part, avec l'intensité des effets toxiques (c), sa mesure fournira des informations à la fois sur l'intensité d'exposition et les risques sanitaires associés. Il arrive que deux autres corrélations aient été précisées: celle entre l'exposition externe et la dose interne d'une part (a), et les effets toxiques d'autre part (b). Si la substance est essentiellement absorbée par inhalation, une concentration biologique permmissible peut, dans ce cas, être estimée sur la base de la concentration moyenne tolérable proposée dans l'air ambiant. Il est clair cependant que cette méthode, par extrapolation, est moins fiable que celle basée sur la connaissance des relations dose interne-effets toxiques. Enfin, il est évident que si tous les paramètres sont quantitativement corrélés, il est possible de proposer à la fois des niveaux permisibles dans l'environnement et les milieux biologiques.

A ce jour la majorité des travaux dans le domaine de la surveillance biologique ont concerné l'étude des relations entre dose interne et exposition externe. La connaissance des relations entre dose interne et effets toxiques, essentielle à la proposition de niveaux biologiques permisibles, est malheureusement plus limitée.

Principaux tests actuellement utilisés pour la surveillance biologique de l'exposition aux toxiques industriels

Ils ont fait l'objet d'une revue récente (8). Nous ne commenterons que quelques aspects généraux. Ces tests peuvent être groupés en trois catégories.

Détermination des substances industrielles ou de leurs métabolites dans les milieux biologiques

La majorité des tests actuellement utilisés pour la surveillance biologique de l'exposition aux toxiques industriels est basée sur la détermination des substances elles-mêmes ou de leurs métabolites dans les milieux biologiques. En pratique, les milieux biologiques les plus fréquemment utilisés sont l'urine, le sang et l'air alvéolaire.

Selon leur sélectivité, ces tests peuvent être classés en deux groupes.

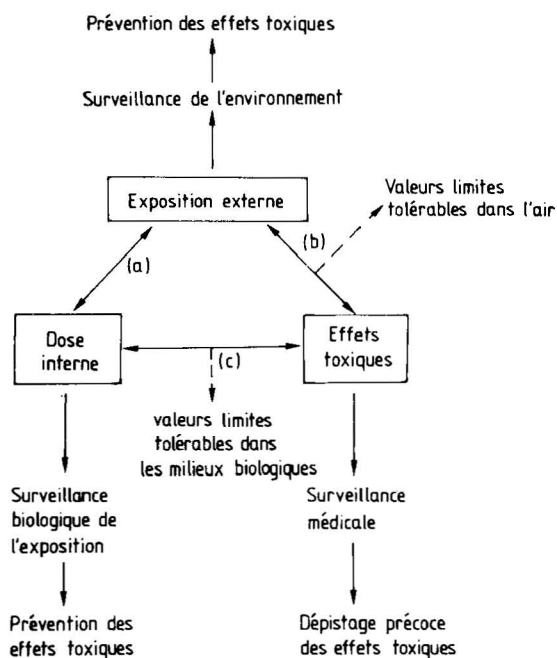


Figure 3. Relations entre exposition externe, dose interne et effets toxiques sous-tendant les programmes de surveillance en milieu du travail.

Tests sélectifs. La majorité des tests actuellement utilisés en médecine du travail appartient à ce groupe. Les substances auxquelles les travailleurs sont exposés sont dosées directement dans les milieux biologiques lorsqu'il s'agit de corps peu ou non biotransformés *in vivo* (par exemple, la majorité des corps inorganiques, certains solvants, tel le méthylchloroforme ou le tétrachloroéthylène) ou lorsque l'exposition est trop faible pour qu'une quantité suffisante de métabolite soit produite (par exemple: exposition faible au benzène) ou quand des problèmes de spécificité l'exigent. La détermination de la substance inchangée peut en effet constituer une analyse plus spécifique que celle d'un métabolite parfois commun à plusieurs substances. De nombreuses substances organiques sont rapidement métabolisées dans l'organisme en dérivés hydrosolubles, plus aisément excrétés par les voies urinaire et biliaire. L'exposition à de telles substances est habituellement évaluée par la mesure de métabolites urinaires spécifiques. Lorsque l'échantillon d'urine est recueilli au moment opportun, la concentration du métabolite urinaire est généralement moins influencée par l'exposition très récente que celle de la substance mère dans le sang ou l'air alvéolaire.

Tests non sélectifs. De tels tests ont été proposés comme indicateurs non spécifiques de l'exposition à certains groupes de substances chimiques. Comme exemples, nous pouvons citer:

1. La détermination des corps diazoïques dans l'urine. Ce test a été suggéré pour dépister une exposition aux amines aromatiques.

2. Le dosage des thioéthers urinaires. L'hypothèse a été émise que l'excrétion des thioéthers pourrait constituer un indicateur de l'exposition aux substances électrophiles et dès lors, indirectement, un reflet de l'absorption de substances mutagènes et cancérogènes. La spécificité de ce test est cependant très limitée: l'excrétion des thioéthers peut être augmentée suite à l'exposition à des substances non mutagènes ou non cancérogènes; diverses substances endogènes sont aussi éliminées dans l'urine sous forme de thioéthers et enfin, la consommation de tabac constitue un important facteur d'interférence.

3. La détermination du pouvoir mutagène des urines. Une augmentation du pouvoir mutagène des urines a été décelée parmi des travailleurs de l'industrie du caoutchouc et de cokeries, chez des sujets exposés à l'éphichlorhydrine et parmi le personnel hospitalier manipulant des cytostatiques. Comme pour la détermination des thioéthers, l'exposition à la fumée de tabac représente un facteur d'interférence non négligeable. L'interprétation des résultats individuels est dès lors difficile, mais la comparaison des résultats obtenus dans des groupes correctement

appariés, mais se distinguant par la nature de l'exposition professionnelle, pourrait s'avérer utile pour identifier des groupes à risque.

Mesure d'un effet biologique non toxique corrélé avec la dose interne

Un effet biologique est défini comme toute modification biochimique, fonctionnelle ou morphologique détectable, résultant, dans le cas qui nous occupe, de la réaction de l'organisme avec une substance étrangère. Nous avons indiqué plus haut dans quelles circonstances un tel effet peut être considéré comme non toxique. Des tests, basés sur la mesure d'effets non toxiques, permettent dans certains cas, d'estimer de manière indirecte la quantité de produit actif déjà fixé sur les sites d'action critiques. Le développement de tels tests suppose la connaissance du mécanisme d'action de la substance considérée, ce qui explique leur nombre encore limité.

Nous présentons ci-dessous quelques exemples de tests basés sur la détermination d'effets non toxiques:

1. Alkylation d'acides aminés dans les protéines circulantes

La plupart des mutagènes et des initiateurs du processus de cancérogenèse sont des substances électrophiles ou engendrant *in vivo* des molécules électrophiles capables de se fixer aux sites nucléophiles de l'ADN (cible critique), mais aussi des protéines circulantes. Les principaux acides aminés susceptibles d'être alkylés par les substances électrophiles sont la cystéine, l'histidine, la lysine et les acides aminés N-terminaux des protéines (2). Vu sa longue demi-vie et son isolement relativement aisé, l'hémoglobine a été proposée comme marqueur adéquat de la dose interne de substances électrophiles. Ainsi, Callemann et coll. (5) ont observé une relation dose-effet entre l'intensité d'exposition de travailleurs à l'oxyde d'éthylène et le degré d'alkylation de l'hémoglobine. Mais comme la perméabilité de la membrane érythrocytaire à certains cancérogènes peut être limitée, la mesure de l'alkylation de protéines sériques peut constituer un meilleur indice de l'exposition aux agents alkylants que l'apparition d'adduits avec l'hémoglobine. Ceux-ci ne peuvent refléter le risque génotoxique que si leur production est corrélée avec les adduits de l'ADN, c'est-à-dire si la dose fixée aux protéines est quantitativement corrélée avec la dose au niveau des sites critiques. Une telle relation a été démontrée par Segerback (17) chez la souris exposée à l'éthylène et à l'oxyde d'éthylène. Le degré d'alkylation de la guanine dans le foie, la rate et les testicules ne s'écarte pas plus d'un facteur 2 par rapport à la quantité estimée sur la base de l'alkylation de l'hémoglobine.

2. Inhibition de la pseudocholinestérase sérique

Elle constitue un second exemple d'un effet biologique non toxique utilisable pour surveiller l'exposition à certains agents chimiques, en particulier aux pesticides organophosphorés. Cependant, l'inhibition de cette enzyme n'est pas réellement le reflet de l'inhibition de l'acétylcholinestérase du système nerveux (sites d'action). L'activité de la pseudocholinestérase sérique peut être modifiée dans bien d'autres situations que l'exposition aux insecticides organophosphorés, telle l'hépatite, la cirrhose ou la prise de certains médicaments. En général, cette enzyme est aussi plus sensible à l'inhibition par les esters organophosphorés que l'acétylcholinestérase. La détermination de l'acétylcholinestérase érythrocytaire constitue dès lors un test plus fiable pour évaluer le risque d'intoxication par les pesticides organophosphorés. La mesure de l'activité de la pseudocholinestérase sérique reste néanmoins un test utile pour dépister une absorption de pesticides organophosphorés.

3. Métallothionéine urinaire

Suite à l'exposition à certains métaux, dont notamment le cadmium, l'organisme synthétise une protéine de faible poids moléculaire, appelée métallothionéine. Cette protéine est essentiellement une protéine de stockage de métaux. Sa concentration tissulaire est en corrélation étroite avec la quantité de métal inducteur accumulé.

Nous avons récemment étudié la signification de la concentration de la métallothionéine dans les urines chez les travailleurs exposés au cadmium (15). Quels que soient l'état de la fonction rénale et l'intensité d'exposition à ce métal, une excellente corrélation existe entre la concentration de la métallothionéine dans les urines et celle du cadmium. L'intérêt du dosage de cette protéine par rapport à celui du cadmium réside dans l'absence de tout risque de contamination exogène.

4. Excrétion de l'acide D-glucarique

La détermination de l'acide D-glucarique urinaire a été proposée comme méthode de dépistage d'exposition à des substances inductrices des enzymes microsomiques. Vu son manque de spécificité et de sensibilité, ce test n'est guère utilisé en médecine du travail. La détermination du bêta-hydroxycortisol pourrait s'avérer plus intéressante.

Estimation de la quantité de produit actif fixé sur les molécules cibles critiques

Contrairement aux tests précédents, ceux appartenant à cette catégorie tentent d'estimer directement la quantité de toxique qui a interagi avec les molécules cibles principales. Quand ils sont réalisables, ce qui suppose généralement une accessibilité aisée des

molécules cibles, ces tests permettent d'apprécier le risque pour la santé d'une manière beaucoup plus précise que les méthodes décrites ci-dessus.

Il est bon de rappeler que des tests de ce type sont utilisés en médecine du travail depuis de nombreuses années, comme par exemple la détermination du taux de carboxyhémoglobine pour évaluer l'exposition au monoxyde de carbone, la détermination de la méthémoglobine en cas d'exposition aux agents méthémoglobinisants. La mesure de l'acide delta-aminolévulinique urinaire, des porphyrines érythrocytaires libres et de l'activité de la déshydratase de l'acide delta-aminolévulinique et de la pyrimidine-5-nucléotidase intraérythrocytaires reflète, mais avec une sensibilité et une spécificité différentes selon le paramètre, l'effet inhibiteur du plomb sur la voie de synthèse de l'hème.

Des progrès dans cette voie d'approche de la surveillance biologique sont à prévoir, surtout grâce au développement d'une nouvelle génération de tests basés sur des techniques immunologiques. Ces méthodes ont, en effet, la possibilité de déceler avec une haute sensibilité et spécificité, de très légères modifications de structure de molécules cibles (par exemple: ADN et protéines) induites par les molécules actives. Parmi les adduits de l'ADN pour lesquels des tests immunologiques ont été décrits (6, 7, 13, 16) nous trouvons: aflatoxine B₁-ADN, benzo(a)pyrène-ADN, 2-acétylamino-fluorène-ADN et O-n-butyl-2-déoxyguanosine. Les adduits de l'ADN peuvent être détectés soit dans des hydrolysats de molécules d'ADN isolées de cellules sanguines ou dans les produits de dégradation libérés dans les milieux biologiques (par exemple l'urine).

Ces techniques sont cependant au stade de développement; elles n'ont pas encore été appliquées à des groupes de travailleurs exposés à des substances industrielles cancérogènes ou mutagènes.

Perspectives de développement de la surveillance biologique de l'exposition aux toxiques industriels

L'intérêt de la surveillance biologique pour détecter des expositions excessives aux toxiques industriels est maintenant bien établi. Malheureusement, le nombre d'applications pratiques est encore limité et d'importants développements s'imposent pour élargir l'éventail des substances chimiques se prêtant à ce type de surveillance.

Plusieurs voies de recherche se dessinent. Certaines sont déjà bien engagées:

1. Réalisation d'études humaines (groupes de travailleurs — volontaires) sur le métabolisme et le mécanisme d'action de divers produits industriels. Pour de nombreuses substances inorganiques et organiques déjà largement utilisées dans l'industrie, nos

connaissance sur ces processus, qui constituent les fondements de la surveillance biologique et donc d'une prévention efficace, sont encore insuffisantes.

2. Développement de tests fournissant plus d'information sur la probabilité d'interactions entre substances actives et cellules ou molécules cibles. Ainsi, la détermination dans les milieux biologiques des métabolites réactionnels responsables des effets toxiques ou mieux encore, la détermination de la quantité de ces métabolites fixés sur les molécules cibles constituent des approches en ce sens.

3. Définition des niveaux biologiques acceptables sur la base des relations dose interne — effets et dose interne — réponse plutôt que sur la base des relations dose externe — dose interne et dose externe-effets toxiques. Ainsi, les niveaux biologiques acceptables proposés pour le cadmium (10 $\mu\text{g/g}$ créatinine) et le mercure dans l'urine (50 $\mu\text{g/g}$ créatinine) dérivent de telles études (8). Une autre illustration de cette approche est fournie par les études de Mutti et coll. (12) établissant la relation entre la dose interne de styrène (métabolites urinaires) et la fréquence d'effets neuropsychologiques.

4. Pour les substances dont la demi-vie biologique est courte, développement de tests basés sur l'identification de paramètres intégrant la dose interne reçue pendant un intervalle de temps suffisamment long. La mesure de l'hémoglobine alkylée pour apprécier l'exposition interne à certains agents alkylants pendant la durée de vie des érythrocytes illustre l'intérêt de cette approche. Il faut espérer qu'à l'avenir, de tels tests seront applicables à des substances chimiques dont la demi-vie biologique est courte, mais qui sont transformées en produits réactionnels formant des complexes stables avec les macromolécules circulantes.

5. Développement de méthodes non sanglantes pour déterminer la quantité de certains toxiques cumulatifs stockés dans divers compartiments de l'organisme. Des méthodes basées sur la fluorescence RX, ou sur l'activation neutronique ont déjà été développées pour l'analyse du plomb dans les os, du cadmium dans le foie et le rein et du mercure dans les tissus superficiels de la tête (9).

6. Amélioration de la validité des tests existants. Une meilleure connaissance des facteurs interférents (par exemple: alcool, tabac, médicaments, âge, etc.) est nécessaire pour une interprétation plus fine des résultats. L'amélioration de la spécificité des méthodes analytiques doit aussi faire l'objet d'efforts soutenus. Ainsi, il est connu qu'un dérivé organo-arsénical de très faible toxicité et présent dans les organismes marins est, après absorption par le tube digestif,

excrété inchangé par voie urinaire. Le développement de méthodes mesurant spécifiquement dans l'urine la quantité d'arsenic inorganique et celle de ses deux métabolites (acide monométhylarsonique et acide diméthylarsinique) évite l'interférence de l'organoarsénical alimentaire et permet une évaluation plus précise de l'exposition professionnelle à l'arsenic inorganique (4).

Références

1. Åstrand I. Work load and uptake of solvents in tissues of man. In: Englund A, Ringen K, Mehlman MA, ed. *Occupational health hazards of solvents*. Princeton Scientific Publishers, Princeton NJ 1982, pp 141—152.
2. Bailey E, Connors TA, Farmer PB, Gorf SM, Richard J. Methylation of cysteine in haemoglobin following exposure to methylating agents. *Cancer Res* 41 (1981) 2514—2517.
3. Berlin A, Wolff AH, Hasegawa Y. The use of biological specimens for the assessment of human exposure to environmental pollutants. Martinus Nijhoff Publishers, The Hague, The Netherlands 1979.
4. Buchet JP, Lauwerys R, Roels H. Urinary excretion of inorganic arsenic and its metabolites after repeated ingestion of sodium metaarsenite by volunteers. *Int Arch Occup Environ Health* 48 (1981) 111—118.
5. Callemann CJ, Ehrenberg L, Jansson B, Osterman-Golkar S, Segerback DK, Svensson K, Wachtmeister CA. Monitoring and risk assessment by means of alkyl groups in hemoglobin in persons occupationally exposed to ethylene oxide. *J Environ Pathol Toxicol* 2 (1978) 427—442.
6. Haugen A, Groopman JD, Hsu IC, Goodrich GR, Wogan JN, Harris CC. Monoclonal antibody to aflatoxin B1 modified DNA detected by enzyme immunoassay. *Methods Cancer Res* 16 (1979) 291—345.
7. Kriek E, Van der Laken CJ, Welling M. Immunological detection and quantification of the reaction products of 2-acetylaminofluorene with guanine in DNA. In: Bartsch H, Armstrong B, ed. *Host factors in human carcinogenesis*. International Agency for Research on Cancer, Lyon 1981, pp 541—550. (IARC scientific publication 39).
8. Lauwerys RR. Industrial chemical exposure: Guidelines for biological monitoring. Biomedical Publications, Davis CA 1983.
9. Lauwerys RR. In vivo tests to monitor body burden of toxic metals in man. In: Brown JS, Savory J, ed. *Proceedings of the IUPAC 2nd International Conference in the Clinical Chemistry and Chemical Toxicology of Metals*. Academic Press, London 1983, pp 113—121.
10. Lauwerys RR, Kivits A, Lhoir M, Rigolet P, Houbreau D, Buchet JP, Roels H. Biological surveillance of workers exposed to dimethylformamide and the influence of skin protection on its percutaneous absorption. *Int Arch Occup Environ Health* 45 (1980) 189—203.
11. Monster AC, Boersma G, Duba WC. Pharmacokinetics of trichloroethylene in volunteers: Influence of workload and exposure concentration. *Int Arch Occup Environ Health* 38 (1976) 87—102.
12. Mutti A, Mazzachi A, Rustichelli P, Frigeri G, Arfini G, Franchini I. Exposure-effect and exposure-response relationship between occupational exposure to styrene and neuropsychological functions. *Am J Ind Med* 5 (1984) 275—286.
13. Poirer MC, Santella R, Weinstein IB, Grunberger D, Yuspa SH. Quantitation of benzo(a)pyrene-deoxyguanosine adducts by radioimmunoassay. *Cancer Res*

- 40 (1980) 412—416.
14. Riihimäki V. Percutaneous absorption of m-xylene from a mixture of m-xylene and isobutyl alcohol in man. *Scand J Work Environ Health* 5 (1979) 143—150.
 15. Roels H, Lauwerys R, Buchet JP, Bernard A, Garvey JS, Linton HJ. Significance of urinary metallothionein in workers exposed to cadmium. *Int Arch Occup Environ Health* 52 (1983) 159—166.
 16. Saffhill R, Strickland PT, Boyle JM. Sensitive radioimmunoassay for O⁶-n-butyldeoxyguanosine, O²-n-butylthymidine and O⁴-n-butylthymidine. *Carcinogenesis* 3 (1982) 547—552.
 17. Segerback DA. Alkylation of DNA and haemoglobin in the mouse following exposure to ethene and ethene oxide. *Chem Biol Interactions* 45 (1983) 139—151.