

**Tests de genotoxicite:
Utilite en medecine du travail
Difficultes lors de son application
a la surveillance medicale des
travailleurs**

**Genotoxicity tests:
Usefulness in occupational health
Difficulties encountered in their
application to the workers medical
survey**

by

Ortega Eslava M.I. ¹

Résumé

Les tests de génotoxicité sont déjà appliqués depuis longtemps dans le monde pour la surveillance du risque mutagène/cancérogène chez des travailleurs exposés à des agents génotoxiques.

Ils sont un outil, le seul pour l'instant, pour pouvoir évaluer les effets précoces, prédictifs du risque de cancer, de l'exposition à des agents génotoxiques.

¹ SEPP MSR-Famedi
Quai aux Pierres de Taille 16
B-1000 Brussels

En Belgique ces tests ne sont encore que très peu utilisés.

Les principaux problèmes rencontrés lors de son application à la surveillance du risque cancérigène chez les travailleurs exposés à des agents antinéoplasiques étaient:

– Peur dans les entreprises, principalement au niveau des employeurs, des possibles conséquences de l'application de ces tests. On a peur de faire face à une évaluation du risque cancérigène, pour ne pas générer des inquiétudes parmi le personnel.

– Prix encore relativement élevé de ces tests pour être appliqués d'une façon routinière ou systématique dans le contexte de la médecine du travail.

L'application des tests de génotoxicité à la surveillance du risque cancérigène des travailleurs exposés à des agents génotoxiques devrait être encouragée, vu leur utilité et prédictivité du risque de cancer, notamment en ce qui concerne le test des aberrations chromosomiques et celui des micronoyaux.

Mots clé: *génotoxicité, médecine du travail, agents antinéoplasiques, cancérigènes, mutagènes*

Abstract

Genotoxicity tests have already been applied for a long time in order to survey mutagenic/carcinogenic risk among workers that are exposed to genotoxic agents.

They form a toolbox, the only one for the moment, to be able to evaluate the premature effects, as predictors of cancer risk, of the exposure to genotoxic agents.

For the moment, these tests are rarely applied in Belgium.

The principal problems encountered when applying them to survey carcinogenic risk among workers that are exposed to antineoplastic agents, are:

– Fear on behalf of the companies, especially on the part of the employees, for the possible consequences of the application of these tests. Fear exists regards the outcome of cancer risk evaluations and the general unrest the mere application of these tests can generate among the workers.

– *The price of applying these tests in a routine and systematic way in the context of occupational health is still relatively high.*

The application of genotoxicity tests in order to survey cancer risk among workers that are exposed to genotoxic agents should be encouraged, given its usefulness and predictive power regarding cancer risk, especially concerning the test of chromosomal aberrations and the test of micronucleus.

Keywords: *genotoxicity, occupational health, antineoplastic agents, carcinogens, mutagens.*

Introduction

A différence des tests de susceptibilité génétique, qui évaluent l'information génétique d'un sujet afin de savoir, par exemple, si celui-ci pourrait être plus susceptible de développer une maladie suite à une exposition ou s'il va biotransformer d'une façon déterminée une substance (dépistage génétique), les tests de génotoxicité sont des **bio-marqueurs d'effet précoce** (biomonitoring génétique) qui permettent de mettre en évidence des *altérations à niveau des chromosomes suite à l'exposition à des agents mutagènes/cancérogènes génotoxiques*.

Le processus toxicologique des cancérogènes chimiques est un processus long, progressif et multiphasique.

Lorsqu'un travailleur est exposé d'une façon répétitive à des agents génotoxiques, ceux-ci peuvent donner lieu à des altérations irréversibles sur la cellule (initiation). La cellule affectée se divise et ainsi la lésion reste fixée (mutation: altération fixée, stable et définitive de l'ADN) et est transmise aux cellules-filles (fixation). Les cellules initiées peuvent recevoir un stimulus sélectif et répété pendant longtemps qui va les pousser à proliférer (promotion), donnant lieu à un néoplasme. Ce néoplasme peut évoluer vers la malignité (progression). Finalement, la cellule cancéreuse peut quitter son endroit d'origine et se diriger à un autre endroit (invasivité).

Dans toutes ces étapes il y a des possibles mécanismes d'inactivation du processus cancérologique.

Pour qu'il y ait un cancer, il faut donc une séquence ordonnée de mutations et il faut que la cellule soit susceptible aux mutations. Pour cela, les gènes qui déterminent la réparation de l'ADN jouent un grand rôle: s'ils sont altérés, la cellule acquiert un phénotype mutateur et, avec des mutations successives, peut se transformer en une cellule cancéreuse.

L'objectif de la surveillance de l'exposition et du dépistage des effets biologiques chez des sujets exposés à des agents cancérogènes est d'essayer de trouver des indicateurs valides, le plus précoce possible, pour détecter si une personne ou un groupe de personnes est à risque de développer un cancer professionnel (1, 2).

Dans ce sens, les tests de génotoxicité sont le seul outil qui permet de faire une évaluation du risque cancérogène chez les travailleurs exposés à des agents génotoxiques, de voir s'il y a un risque accru du fait d'être professionnellement exposés à des agents cancérogènes. Ce sont des biomarqueurs d'effet précoce, qui permettent d'évaluer si l'exposition à des agents génotoxiques se traduit par des lésions prédictives du risque de cancer.

L'utilité des tests de génotoxicité est spécialement importante lorsqu'il y a une exposition multiple à des agents génotoxiques.

Un autre avantage de ces tests est qu'ils évaluent les effets au niveau du cible, le matériel génétique.

Un aspect que l'on doit considérer lorsqu'on parle d'agents cancérogènes est la notion de dose-seuil. En fait, il n'est pas prouvé que l'on peut parler de seuil lorsqu'on est confronté à ce type de substances. Une évaluation de l'exposition au moyen de la détermination des substances ou ses métabolites, si techniquement possible, dans les milieux biologiques n'indique pas si les concentrations mesurées entraînent un risque pour la santé, seulement qu'elles ont été absorbées suite à une exposition, et un résultat négatif peut être dû à que les limites de détection ne sont pas suffisamment basses, ou que la substance a été transformée, et donner une fausse idée de manque d'exposition. Par contre, avec les tests de génotoxicité on pourra savoir s'il y a un risque accru chez les exposés.

Il ne faut pas oublier non plus que la législation exige une évaluation de l'exposition et des effets précoces chez les travailleurs exposés aux agents mutagènes/cancérogènes, et que l'entreprise est tenue de faire une analyse de risques. Dans ce sens, les tests de génotoxicité permettent de satisfaire à toutes ces obligations en cas d'exposition à des agents mutagènes/cancérogènes génotoxiques (la plupart des agents mutagènes/cancérogènes).

Les tests de génotoxicité évaluent les mutations au niveau du chromosome. Elles peuvent être de deux types:

– Chromosomiques: concernent l'ensemble des modifications qualitatives des chromosomes, de la structure des chromosomes; elles

surviennent à la suite d'une exposition à un agent clastogène, qui provoque des cassures des chromosomes.

– Génomiques: font référence aux anomalies chromosomiques quantitatives, à une modification du nombre de chromosomes; elles surviennent à la suite d'un événement aneugène, qui affecte des chromosomes entiers.

Les principaux tests de génotoxicité sont:

1) Aberrations chromosomiques (CA): Ces anomalies se produisent comme conséquence de cassures de l'ADN; par après, les fragments peuvent rejoindre le chromosome à son emplacement original, à un autre emplacement ou pas rejoindre le chromosome. Ces deux derniers types de lésions sont observables au microscope dans les cellules en métaphase, principalement dans les lymphocytes périphériques.

Les aberrations chromosomiques peuvent être chromatidiennes (échanges, cassures,...) ou chromosomiques (affectant les deux chromatides du chromosome: fragments acentriques, dicentriques, translocations,...).

Les aberrations chromosomiques indiquent un *dommage stable* et persistant (mutation) qui représente un événement potentiellement initiateur dans le processus qui mène à la néoplasie. Le test est un *biomarqueur d'effet précoce*.

Les CA persistent pendant la durée de vie des lymphocytes, ce qui fait que ce test soit applicable à l'évaluation d'une *exposition cumulée*. Le grand avantage de ce test est qu'il est le seul pour l'instant à avoir une *valeur prédictive de la fréquence de CA pour le risque de cancer*. Les *relations dose-réponse* entre CA et risque cancérogène n'ont été suggérées qu'au niveau du *groupe*.

L'analyse est justifiée, à l'échelle du *groupe*, lorsqu'une exposition *clastogène* est soupçonnée. A l'échelle du *groupe*, la mise en évidence de CA peut être considérée comme une preuve d'un risque génotoxique demandant des *actions pour diminuer l'exposition*.

2) Echanges entre chromatides sœurs (SCE): L'échange entre chromatides sœurs reflète des réarrangements de l'ADN à l'intérieur d'un même chromosome; il s'agit d'un échange complet et réciproque entre les deux chromatides. Le test mesure le taux d'échanges entre chromatides sœurs survenus durant une mitose réalisée in vitro.

Il évalue un *événement stable*, pas nécessairement une lésion fixée, exprimant la conséquence d'une exposition à des agents génotoxiques. Il est plutôt considéré comme un biomarqueur d'exposition.

L'analyse est justifiée, à l'échelle du *groupe*, lorsqu'une exposition à des agents génotoxiques est soupçonnée. Les SCE persistent dans

le lymphocyte entre 4 et 16 semaines. Le test peut être applicable à l'évaluation d'une exposition ou des changements *au cours des dernières semaines*.

Il faut bien contrôler les *facteurs confondants*, spécialement le tabac, lors de son interprétation.

3) Micronoyaux (MN): Les micronoyaux sont constitués de chromosomes entiers perdus au cours de la mitose précédente (phénomène aneugène) ou de fragments chromosomiques acentriques exclus du noyau de la cellule fille pendant la division cellulaire (phénomène clastogène).

Le test évalue l'exposition à des *agents clastogènes et/ou aneugènes*. C'est à la fois un test de mutations chromosomiques et de mutations génomiques. *Il est un biomarqueur d'effet précoce, qui semblerait aussi prédictif du risque de cancer.*

Les MN constituent un dommage stable et persistant, qui persiste dans la cellule pendant la durée de vie de celle-ci.

Il peut être aussi utile pour évaluer une *exposition récente (heures, jours)*. Lors du design de l'étude il faut tenir compte de l'âge, sexe et habitudes tabagiques des sujets.

Il faut tenir compte du fait que la *sensibilité* de ces tests n'est pas la même pour les différentes substances. Il faudra *choisir le(s) test(s) en fonction de la nature de l'agent* génotoxique à l'aide d'un *spécialiste*.

Il ne faut pas oublier que le test des aberrations chromosomiques est le seul pour l'instant à avoir une *valeur prédictive de la fréquence de CA pour le risque de cancer*, et que le test des micronoyaux évalue l'exposition à des *agents clastogènes et aneugènes* et semblerait aussi *prédictif* du risque de cancer.

Il est toujours préférable d'appliquer *plus d'un test*, afin de confirmer les résultats.

Pour appliquer ces tests, il faut faire préalablement un design soigneux:

- Il faut qu'il y ait une exposition (significative) à agent génotoxique.
- Il faut faire le choix du test ou des tests à appliquer en fonction du mode d'action des agents, avec assistance du spécialiste
- Les analyses devront être effectuées par un laboratoire compétent et expérimenté dans ce domaine. Il faut les contacter pour convenir avec eux les modalités pratiques.
- Il faut chercher un groupe «contrôle», de préférence des non exposés dans la même entreprise, afin de pouvoir comparer les résultats avec ceux des exposés à l'échelle du groupe. Les sujets doivent être si possible *paillés* pour le sexe, l'âge (ex. par tranches de 10 ans) et le tabagisme (ex. par niveaux de tabagisme: non fumeur, puis par tranches de 10 cigarettes).
- Eventuellement faire des sous-groupes parmi les exposés.

- Tenir compte des possibles facteurs confondants au moyen d'un questionnaire.
- Avoir bien clair que l'interprétation ne peut se faire qu'à l'échelle du groupe. En fait, il peut y avoir des variations interindividuelles importantes entre les sujets. Ainsi, si un sujet présente individuellement des valeurs plus élevées que le reste on ne peut pas conclure. Si l'on communiquait des résultats à niveau individuel, on risquerait d'alarmer inutilement quelques travailleurs. Le but de l'évaluation est de savoir si le groupe des exposés dans l'entreprise a un risque accru par rapport à la population générale (groupe contrôle), en voyant s'il y a des différences significatives à l'échelle du groupe. S'il y avait des différences significatives à l'échelle du groupe, on devrait prendre des actions afin de minimiser encore plus l'exposition professionnelle aux agents génotoxiques. Le présenter ainsi préalablement dans l'entreprise: à la direction, au CPPT –Comité de Prévention et Protection au Travail- et aux travailleurs concernés.
- Les actions à prendre comme conséquence des résultats doivent être définies au préalable.

Methode

Mon expérience se centre sur l'application de ces tests dans le cadre de surveillance travailleurs exposés à des antinéoplasiques. Dans ce contexte, ils sont déjà appliqués dans quelques (très peu) entreprises en Belgique.

Afin d'apprécier quel est l'intérêt et le degré d'application de ces tests en Belgique pour la surveillance des travailleurs, on a contacté les médecins du travail des grands hôpitaux-cliniques de Bruxelles où il y a des travailleurs manipulant des antinéoplasiques.

Resultats et discussion

On a constaté que les tests de génotoxicité n'étaient pas encore appliqués dans le secteur hospitalier, mais que les médecins du travail étaient conscients qu'il s'agissait des meilleurs tests pour la surveillance du risque cancérigène et étaient intéressés à les appliquer. Ils ont manifesté être à l'attente de voir d'abord ce que se fait dans les autres hôpitaux-cliniques, avant de proposer de le faire dans leurs institutions. On peut constater donc qu'on se trouve dans un état de pré-implantation des tests de génotoxicité d'une forme généralisée pour la surveillance des travailleurs exposés aux antinéoplasiques dans le milieu hospitalier.

Les principaux problèmes rencontrés lorsqu'on a essayé d'appliquer ces tests dans les entreprises (hôpitaux, industrie pharmaceutique,...) étaient :

A. Peur dans les entreprises, principalement à niveau des employeurs, des possibles conséquences de l'application de ces tests.

On a peur de faire face à une évaluation du risque cancérigène, de faire un état de la situation à ce sujet, pour ne pas générer des inquiétudes parmi le personnel, ne pas altérer leur confiance, ne pas avoir des doutes au sujet de que «tout va bien et tout est maîtrisé».

1. L'inquiétude est surtout sur ce qu'on va faire en cas d'avoir des résultats positifs, c'est à dire, en cas de trouver de différences significatives par rapport au groupe contrôle. Comment va-t-on le communiquer aux travailleurs?

Avant d'appliquer les tests, il faut bien insister à niveau des employeurs, du CPPT –Comité de Prévention et Protection au Travail- et des travailleurs participant que l'interprétation des résultats se fait à l'échelle du groupe, et pas individuellement.

On ne pourra donc communiquer les résultats individuels à un sujet, mais si les résultats à l'échelle du groupe.

Il s'agit d'évaluer s'il y a un risque accru de cancer chez les exposés, s'il y a une différence significative par rapport au groupe contrôle, et éventuellement d'évaluer s'il y a des différences entre des sous-groupes avec différent niveau d'exposition, défini au préalable.

2. Si l'on réalise ce type de tests, qui évaluent un risque cancérigène, comment peut-on distinguer, en cas de résultats positifs, si ceux-ci étaient dus à l'exposition professionnelle ou à d'autres facteurs?

Ces tests sont des biomarqueurs d'effet précoce; ils n'indiquent pas qu'on va développer un cancer, l'effet évalué n'est pas «irréversible», mais indiquent plutôt qu'on a un risque accru en cas de ne pas minimiser l'exposition. Ils intègrent toutes les expositions professionnelles et extra-professionnelles génotoxiques. Le sens de comparer les niveaux du groupe exposé et du groupe contrôle (idéalement le groupe contrôle devrait être formé par des gens de la même entreprise pairés avec les exposés quant à l'âge, sexe et tabagisme) est justement de voir les différences du fait de l'exposition professionnelle. D'autre part, des questionnaires à propos des possibles facteurs confondants seront intégrés dans l'étude.

3. Que faire si l'on constate un risque accru pour le groupe exposé?

S'il y a un risque accru du fait de l'exposition, on doit minimiser celle-ci, en agissant sur les conditions de travail. Il serait conseillé de répéter l'évaluation après un certain temps (6 mois ou 1 an, par exemple), après les modifications.

4. Que fait-on en cas des résultats élevés chez un travailleur isolé du groupe des exposés?

On ne peut rien conclure. Il n'y aura donc aucune démarche comme conséquence.

5. Que fait-on si les travailleurs concernés veulent avoir les résultats?

On ne pourra pas donner les résultats individuels aux travailleurs. On pourra seulement informer des résultats à l'échelle du groupe.

6. Que faire si le groupe des contrôles a des valeurs significativement plus élevés que celles des exposés?

Le but de l'étude étant d'évaluer s'il y a un risque accru chez les exposés, on donnera comme conclusion seulement qu'on n'a pas mis en évidence un risque accru chez les exposés.

7. Que faire si l'on ne constate pas une différence significative entre contrôles et exposés?

On peut conclure qu'il n'y a pas un risque accru chez les exposés par rapport à la population générale. Il semblerait donc que les conditions sont adéquates. En tout cas, il faudrait continuer à faire de telle sorte que l'exposition soit le plus basse possible. On pourrait envisager une réévaluation de la situation après un certain temps ou en cas de modifications importantes.

8. Pourrait-on effectuer une déclaration au FMP –Fonds de Maladies Professionnelles?

Pas au niveau individuel, car pas d'interprétation au niveau individuel. Eventuellement l'envisager en cas de résultats positifs répétés au niveau du groupe.

B. Un des grands problèmes rencontrés lors de l'application de ces tests reste le prix très élevé de ceux-ci.

- Il faut tenir compte du fait qu'il est conseillé d'appliquer plus d'un test par individu, et qu'il y a non seulement le groupe des exposés mais aussi le groupe contrôle.
- De plus, les analyses exigent pour l'instant un personnel hautement qualifié et un investissement de temps très important, ce qui justifie leur prix.
- Les prix pourraient éventuellement être plus abordables dans le futur si les analyses pourraient se faire d'une façon plus automatisée et s'ils étaient appliqués d'une façon plus généralisée.

C. Autres:

1. Parfois on signale qu'il faut payer un prix trop élevé (prix et risque de générer inquiétudes parmi le personnel) pour arriver à conclure que ce qu'il y a lieu de faire est d'améliorer les conditions de travail. Il ne faut pas oublier que le but recherché par tout le monde est de minimiser le risque chez les exposés. Ceci doit être toujours appliqué, indépendamment de si l'on fait ou non ce type de tests.
2. Parfois on signale qu'on ne veut pas appliquer des tests qui «sortent du classique», qui sont à niveau «expérimental». Ces tests de génotoxicité sont déjà appliqués depuis longtemps dans le monde pour la surveillance du risque mutagène/cancérogène chez des travailleurs exposés à des antinéoplasiques. Ils ne sont pas en phase expérimentale. Ils sont un outil, le seul pour l'instant, pour pouvoir évaluer les effets précoces, prédictifs du risque de cancer, de l'exposition à des agents génotoxiques.

Conclusion

Les tests de génotoxicité sont déjà appliqués depuis longtemps dans le monde pour la surveillance du risque mutagène/cancérogène chez des travailleurs exposés à des agents génotoxiques.

Ils sont un outil, le seul pour l'instant, pour pouvoir évaluer les effets précoces, prédictifs du risque de cancer, de l'exposition à des agents génotoxiques.

En Belgique ces tests ne sont encore que très peu utilisés.

Les principaux problèmes rencontrés lors de son application à la surveillance du risque cancérogène chez les travailleurs exposés à des agents antinéoplasiques étaient:

– Peur dans les entreprises, principalement au niveau des employeurs, des possibles conséquences de l'application de ces tests. On a peur de faire face à une évaluation du risque cancérogène, de faire un état de la situation à ce sujet, pour ne pas générer des inquiétudes parmi le personnel, ne pas altérer leur confiance, ne pas avoir des doutes au sujet de que «tout va bien et tout est maîtrisé».

– Prix encore relativement élevé de ces tests pour être appliqués d'une façon routinière ou systématique dans le contexte de la médecine du travail.

L'application des tests de génotoxicité à la surveillance du risque cancérogène des travailleurs exposés à des agents génotoxiques devrait

être encouragée, vu leur utilité et prédictivité du risque de cancer, notamment en ce qui concerne le test des aberrations chromosomiques et celui des micronoyaux.

References

1. Ortega Eslava Maria Isabel. Exposition professionnelle aux antinéoplasiques: surveillance du risque cancérigène. Revue de la littérature. Médecine du Travail et Ergonomie 2000; Vol XXXVII (2): 57-81.
2. CRIOS (Carcinogenic Risk in Occupational Settings), in <http://cdfc.rug.ac.be/HealthRisk/>