

## **Caractérisation de l'exposition aux fumées de soudage en atelier dans le secteur du BTP BIOSURVEILLANCE PAR APPLICATION DE DEUX BIOMARQUEURS D'EFFET GÉNOTOXIQUE : COMÈTES ET MICRONOYAUX**

**Céline Botta, Irène Sari-Minodier, Gwenaëlle Iarmarcovai, Michel de Méo,  
Thierry Orsière, Alain Botta**

Le test des comètes et le test des micronoyaux sur lymphocytes ont été choisis pour leur capacité à détecter différentes lésions du matériel génétique, pouvant être en rapport avec l'exposition aux métaux contenus dans les fumées de soudage : lésions primaires de l'ADN pour le test des comètes, c'est à dire lésions initiales, susceptibles d'être réparées, pouvant être la conséquence d'une génotoxicité directe ou indirecte via le stress oxydatif ; mutations chromosomiques ou génomiques pour le test des micronoyaux, c'est à dire modifications stables du génome se manifestant par des remaniements chromosomiques de structure ou de nombre.

### **Le test des micronoyaux sur lymphocytes**

Les micronoyaux (MN) sont des entités nucléaires indépendantes du noyau principal, provenant de la perte de fragments chromosomiques ou de chromosomes entiers pendant la division nucléaire, conséquences respectivement d'effets clastogènes (cassures double brin de la molécule d'ADN) ou d'effets aneugènes (altérations de l'appareil mitotique liées principalement à des interactions avec les protéines). Les MN sont quantifiés au microscope optique, après une mitose en culture, dans des lymphocytes binucléés (obtenus par blocage de la division cytoplasmique).

Dans son application à la biosurveillance, le test des MN se pratique sur un échantillon sanguin, prélevé sans contrainte temporelle vis-à-vis de l'exposition, car les lésions révélées par des MN sont persistantes. Ce test est d'interprétation exclusivement collective, sans extrapolation possible à l'échelle individuelle. Les conclusions sont portées sur la base de comparaisons entre populations exposée et témoin, la puissance de l'analyse statistique étant bien sûr conditionnée par les effectifs étudiés. La population témoin (non exposée professionnellement) doit avoir les mêmes caractéristiques que la population exposée en ce qui concerne les principaux facteurs de confusion connus pour ce test, à savoir l'âge, le sexe et le tabagisme. La signification, en terme de risque pour la santé, d'un taux élevé de MN au niveau d'un groupe de sujets n'est pas clairement établie à ce jour. Les résultats des études longitudinales conduites jusqu'à présent ne permettent pas de lui conférer une valeur prédictive vis-à-vis du risque de cancer.

### **Le test des comètes sur lymphocytes isolés**

Simple et sensible, le test des comètes permet la quantification directe de dommages primaires à l'ADN chez des cellules eucaryotes isolées. Celles-ci sont incluses dans un gel d'agarose et déposées sur une lame de microscope. Le test se réalise dans sa version alcaline, permettant la détection des cassures de l'ADN simple et double brin : après lyse des membranes cellulaires, l'ADN est dénaturé en milieu fortement alcalin et une courte électrophorèse va permettre la migration des fragments lésés donnant ainsi un aspect de "comètes" aux cellules. L'ADN intact quant à lui ne migre pas et apparaît sous forme d'une sphère. Un nombre réduit de cellules est requis et le test est indépendant du cycle cellulaire. Du fait de l'hétérogénéité des réponses, son interprétation est complexe et nécessite de réaliser une régression non linéaire des fréquences de distribution des lésions. On détermine un paramètre appelé OTM Chi 2 (Olive Tail Moment Chi 2), corrélé au degré de lésion de l'ADN, représentant la sensibilité individuelle à un génotoxique. Il peut être comparé de façon individuelle ou collective aux OTM Chi 2 des populations témoins.

L'intérêt principal de ce test est de mettre en évidence un événement immédiat lié à une exposition génotoxique, susceptible toutefois de subir une réparation rapide. Ceci nécessite donc la réalisation de deux prélèvements, en début et fin de poste, avant toute activité, et la prise en compte de phénomènes interférents liés au stress oxydatif endogène (fièvre, activité physique). La principale limitation de ce test réside dans la connaissance imparfaite de la signification biologique des cassures de brin au niveau de l'ADN et leur éventuelle relation avec un processus de cancérogenèse.