

**MEMOIRE POUR LE DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
EN MEDECINE DU TRAVAIL**

ANNEE 2003-2004

**EVALUATION ET PREVENTION DU RISQUE
CANCEROGENE, MUTAGENE ET TOXIQUE
POUR LA REPRODUCTION DANS
UNE ENTREPRISE DE BIOTECHNOLOGIE**

28 avril 2004

Béatrice LE GALL-REGIS

**Sous la direction de :
Docteur D.BEAUMONT**

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS

1-INTRODUCTION.....	1
2-METHODES.....	2
3-RESULTATS :DONNEES TOXICOLOGIQUES.....	4
3.1- acrylamide.....	4
3.2- dichlorométhane.....	7
3.3- N,N-diméthylformamide.....	11
3.4- 1,2-dichloroéthane.....	14
4-RESULTATS : EVALUATION DE L'EXPOSITION.....	18
4.1- études de poste.....	18
4.2- métrologie.....	21
5-DISCUSSION.....	24
6.1- évaluation du risque.....	24
6.2- contexte réglementaire.....	26
6.3- propositions de moyens de prévention technique.....	28
6.4- propositions de suivi médical.....	30
6-CONCLUSION.....	34
ANNEXES.....	35
BIBLIOGRAPHIE.....	47
RESUME.....	50

LISTE DES ABREVIATIONS

Par ordre d'apparition dans le texte :

CMR : cancérogène, mutagène et toxique pour la reproduction

CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer

SMR : standardized mortality ratio

IC : intervalle de confiance

DMF : NN-diméthylformamide

SIR : standardized incidence ratio

VME : valeur limite moyenne d'exposition sur 8 h

DFG : Deutsche Forschungsgemeinschaft

BAT : Biologischer Arbeitsstoff-Tolerance-Wert (valeur biologique tolérée en milieu professionnel)

ACGIH : American Conference of Governmental Industrial Hygienists

IBE : indice biologique d'exposition

1- INTRODUCTION

Le secteur des biotechnologies est en pleine expansion depuis les années 80. Après l'utilisation industrielle des microorganismes et des enzymes dans la fabrication de produits alimentaires, les progrès de la biologie moléculaire et du génie génétique ont permis des avancées technologiques dans le domaine de la santé (synthèses d'hormones et de protéines, mise au point de réactifs d'analyse biologique et de tests diagnostiques), de l'agriculture et de l'élevage (création de plantes transgéniques, de biopesticides, contrôle de la reproduction des animaux), et de l'alimentation (utilisation des techniques d'immunodétection et d'amplification génique pour le contrôle qualité : détection de la flore bactérienne, reconnaissance des espèces animales ou végétales employées).

L'impact économique des biotechnologies est majeur avec des chiffres d'affaires estimés à 38 milliards de dollars en 2005, sur un marché potentiel de 100 milliards de dollars. [1]

L'entreprise dont il est question dans ce travail, est une entreprise internationale spécialisée dans la production d'ADN et d'ARN, dont les principaux clients sont des centres de recherche médicale ou agronomique. Elle emploie environ 40 salariés sur le site étudié.

Dans ce secteur d'activité nouveau et peu étudié, le risque d'exposition des salariés à des produits cancérogènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction (CMR) a motivé l'initiation d'une démarche d'évaluation de ce risque, afin de mettre en place des mesures de prévention adaptées et d'informer les salariés.

2- METHODES

Le secteur de la recherche et celui de la biotechnologie industrielle partagent une caractéristique commune : l'utilisation de très nombreux produits chimiques, certains étant cancérigènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction. Or, selon le système CAREX (système international d'information sur l'exposition professionnelle aux agents cancérigènes en Europe), 31.06 % des 1.298.000 salariés des instituts scientifiques et centres de recherches sont potentiellement exposés à des substances cancérigènes, principalement le formaldéhyde (6260 salariés exposés), l'acrylamide (5120 salariés exposés), les colorants contenant de la benzidine (2476 salariés exposés), le dichlorométhane (2000 salariés) et le perchloréthylène (2000 salariés) [2].

Le groupe professionnel des salariés des laboratoires de recherche, auquel peut être assimilé cette entreprise, n'a pas été évalué par le CIRC (Centre international de recherche sur le cancer).

Cependant, différentes études épidémiologiques apportent des arguments concordants en faveur d'un excès de certaines localisations de cancers, notamment des cancers lymphatiques et hématopoïétiques, des cancers du cerveau, de la prostate, du pancréas et du côlon, alors que la mortalité par cancer toutes localisations confondues est plus faible parmi les personnels de laboratoire de recherche qu'en population générale. Dans ces études, aucun agent, chimique, physique ou biologique, n'a pu être particulièrement identifié comme responsable, étant donné les multiples expositions de ces employés [3].

Contrairement à d'autres laboratoires de recherche en biotechnologie, l'entreprise étudiée n'utilise pas d'agents infectieux. L'évaluation du risque cancérigène, mutagène et toxique pour la reproduction s'est donc centrée sur l'analyse des agents chimiques.

La démarche suivie se décompose en plusieurs étapes [4] :

- **Identification du danger**

A partir de l'inventaire des produits manipulés [annexe 1], fourni par l'entreprise, quatre substances cancérigènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction, ont été identifiées par analyse des informations réglementaires d'étiquetage, catégories de danger et

phrases de risque notamment. Il s'agit de l'acrylamide, du dichlorométhane, du 1,2-dichloroéthane et du NN diméthylformamide. Une recherche bibliographique a permis d'apporter des données toxicologiques plus précises sur ces substances : études de cancérogénèse et de reprotoxicité, expérimentales et épidémiologiques, mais aussi toxicité générale et métabolisme. Enfin, les classifications du CIRC et de l'Union Européenne ont également été recherchées, cette dernière constituant un élément important en raison des implications réglementaires en matière de prévention pour les produits classés CMR de catégorie 1 ou 2.

• **Evaluation de l'exposition**

Des études de poste ont été menées afin de déterminer les conditions d'exposition des salariés aux quatre substances identifiées comme CMR (quantité manipulée, fréquence d'utilisation, présentation physique du produit, moyens de prévention techniques collectifs et individuels en place, notion d'effort physique au poste...).

Les informations issues des études de poste ont permis d'établir une stratégie de prélèvements atmosphériques. Des prélèvements, ambiants et individuels, des produits CMR ont donc été réalisés et les résultats comparés aux valeurs limites d'exposition de chaque substance. Les méthodes analytiques mises en œuvre sont les suivantes :

- pour l'acrylamide : prélèvement d'air par pompe (débit de 0.7 L/minute), reliée à une solution de barbotage (eau) dans laquelle se solubilise l'acrylamide. Les échantillons sont analysés par chromatographie en phase liquide.
- pour le dichlorométhane et le 1,2 dichloroéthane : prélèvement d'air par pompe (débit de 1L/minute), reliée à un tube de charbon actif, où sont piégés les solvants. Après désorption, l'analyse est faite par chromatographie en phase gazeuse.
- le NN diméthylformamide n'a pas été prélevé.

• **Evaluation et gestion du risque CMR**

L'analyse de ces éléments de danger et d'exposition a permis de proposer une évaluation du risque pour chaque poste concerné par une ou plusieurs des quatre substances étudiées. Au terme de cette évaluation, des moyens de prévention techniques ont été hiérarchisés dans le but d'atteindre, conformément à la réglementation, un niveau d'exposition aussi bas que possible. Parmi ces mesures, la substitution des produits CMR occupe la première place. Une réflexion sur la surveillance médicale des salariés est également proposée, portant en particulier sur l'intérêt d'une surveillance biologique de l'exposition.

3- RESULTATS : DONNEES TOXICOLOGIQUES

L'analyse de l'inventaire des produits utilisés a permis de mettre en évidence quatre substances présentant un potentiel cancérigène, mutagène et/ou toxique pour la reproduction. Il s'agit de l'acrylamide, du dichlorométhane, du NN diméthylformamide et du 1,2-dichloro-éthane, pour lesquels sont détaillés dans ce chapitre les principaux éléments toxicologiques.

3.1- ACRYLAMIDE (n° CAS 79-06-1)

- **Utilisations** [5]

L'acrylamide sert principalement à la fabrication de polymères hydrosolubles utilisés comme flocculants pour la purification de l'eau, modificateur de viscosité dans l'industrie pétrolière, gel d'électrophorèse dans les laboratoires de biotechnologie, adjuvant dans la fabrication du papier...

L'acrylamide est produit par hydratation de l'acrylonitrile et est commercialisé sous forme de solution aqueuse à 30 ou 50%, peu volatile (tension de vapeur=0.3 Pa à 25°C).

- **Métabolisme** [5]

Son absorption peut se faire par voie orale, respiratoire ou cutanée. Compte tenu de sa faible volatilité, la principale voie de pénétration en milieu de travail est le passage trans-cutané après contact direct de la solution sur la peau.

L'acrylamide est distribué dans tout l'organisme, partiellement transformé en glycidamine, puis métabolisé par conjugaison avec le glutathion. L'élimination se fait essentiellement par voie urinaire, la N-acétylcystéine-S-β-propionamide représente le principal métabolite urinaire.

- **Toxicité expérimentale** [5], [6]

Chez l'animal, la toxicité de l'acrylamide est essentiellement neurologique et se manifeste par une atteinte du système nerveux central et périphérique. C'est également un irritant cutané et oculaire.

- **Toxicité humaine** [5], [6]

Chez l'homme, l'intoxication aiguë (par ingestion ou inhalation) entraîne des troubles neurologiques centraux (troubles de la conscience, confusion, troubles mnésiques...) qui sont au premier plan, parfois suivis à distance de troubles périphériques.

L'intoxication chronique (contact cutané répété) se manifeste par une neuropathie périphérique sensitivo-motrice, d'installation progressive et régressant, le plus souvent complètement, à l'arrêt de l'exposition. Elle est parfois associée à un syndrome cérébelleux ou à des signes d'atteinte du système nerveux autonome. L'irritation cutanée précède, de manière quasiment constante, l'atteinte neurologique.

En cas de nouvelle exposition, la symptomatologie réapparaît pour des niveaux d'exposition plus faibles.

- **Cancérogénèse**

Les études à long terme menées chez l'animal ont mis en évidence le potentiel cancérogène de l'acrylamide chez différentes espèces de rongeurs et par plusieurs voies d'administration.

On note en effet, selon les études, une augmentation de l'incidence de tumeurs bénignes et malignes endocriniennes (thyroïde, surrénales, sein), cutanées et séreuses (mésothéliome scrotal), pulmonaires, et cérébrales. [7]

Chez l'homme, deux études de cohortes ont été réalisées chez des salariés exposés à l'acrylamide :

- La première a analysé, en 1983, les causes de mortalité d'une cohorte de 371 salariés, employés dans une entreprise américaine de production et de polymérisation d'acrylamide entre 1955 et 1979, et les a comparé à celles de la population américaine. Cette étude s'est en particulier intéressée aux sites de cancers identifiés par l'expérimentation animale. L'exposition à l'acrylamide a été évaluée à partir des résultats des prélèvements atmosphériques réalisés dans les ateliers. Les concentrations varient selon la période : avant 1957 <1 mg/m³, de 1957 à 1970 <0.6 mg/m³ et après 1970 <0.1 mg/m³.
Résultats : il n'y a aucun excès de mortalité significatif par cancer quelque soit son site, et parmi les 11 décès par cancer, aucun ne concerne les sites retrouvés chez l'animal.

Cependant, parmi les limites de cette étude, il faut souligner la faiblesse des effectifs et en conséquence le peu de puissance statistique à détecter de faible augmentation de mortalité. [8]

- La seconde étude (1983) est du même type mais porte sur des effectifs supérieurs, il s'agit d'une cohorte de 8854 salariés masculins de quatre entreprises, dont 2293 étaient exposés à l'acrylamide entre 1925 et 1973. Les niveaux d'expositions ont été estimés pour chaque poste à partir des données météorologiques existantes et de l'analyse rétrospective des procédés utilisés, une diminution de l'exposition a été constatée avec le développement des mesures de prévention. Est considéré comme exposé tout salarié dont l'exposition cumulée est >0.001 mg/m³-années, ce qui correspond à une moyenne quotidienne de 0.3 mg/m³.

Les SMR ont été calculés en comparant d'une part la mortalité des salariés non exposés avec celle de la population générale, et d'autre part la mortalité des salariés exposés à celle des salariés non exposés, avec un appariement sur le tabagisme, la latence depuis le début de l'exposition et l'ethnie. Une analyse par catégories croissantes d'exposition cumulée (0.001 à 0.03 mg/m³, 0.03 à 0.3 mg/m³ et >0.3 mg/m³) a également été réalisée.

Résultats : aucun excès de mortalité par cancer, en général ou par site, n'a été mis en évidence chez les salariés exposés, même parmi les salariés les plus exposés.

Dans cette étude également, les effectifs de sujets n'offrent qu'une faible puissance statistique pour détecter les excès de mortalité par site de cancer ou par catégorie d'exposition. [9]

L'extension du suivi de la cohorte jusqu'en 1994 (1115 décès supplémentaires) confirme ces données. Seul un excès significatif de mortalité par cancer du pancréas (SMR=2.26, CI 1.03-4.29) est noté parmi les salariés les plus exposés, cependant sans qu'une relation dose-réponse puisse être établie. [10]

Ainsi, concernant le caractère cancérigène de l'acrylamide, le CIRC conclue à l'existence de preuves suffisantes chez l'animal et de données insuffisantes chez l'homme, compte tenu des éléments complémentaires concernant la génotoxicité et les mécanismes d'action (formation d'adduits de l'ADN et de l'hémoglobine) de cette substance, la classification retenue est «cancérigène probable pour l'homme » (2A). [7]

La classification réglementaire européenne place l'acrylamide dans la catégorie 2 pour le potentiel cancérigène et le potentiel mutagène (« substance devant être assimilée à une substance cancérigène pour l'homme » et « substance devant être assimilée à une substance mutagène pour l'homme »). [11]

- **Reprotoxicité**

Des expérimentations réalisées chez des rongeurs mâles ont mis en évidence une toxicité testiculaire (atrophie testiculaire, altérations des spermatozoïdes aux derniers stades de la spermatogénèse). Aucun effet sur la fertilité des femelles, ni sur le fœtus n'a été rapporté.

Nous ne disposons pas de données concernant la toxicité pour la reproduction chez l'homme. [5], [7]

L'Union Européenne a classé l'acrylamide dans la catégorie 3 (R62) : « substance préoccupante pour la fertilité dans l'espèce humaine ». [11]

3.2- DICHLOROMETHANE (n° CAS 75-09-2)

- **Utilisation** [12]

Le dichlorométhane est un solvant d'utilisation variée : formulation d'aérosols, de décapants pour peinture, dégraissage industriel, extraction d'épices et d'arômes dans l'industrie agro-alimentaire, fabrication de polyuréthane expansé, de film de triacétate de cellulose. C'est également un solvant d'extraction dans l'industrie pharmaceutique.

Le dichlorométhane est un liquide incolore, très volatile (tension de vapeur à 20°C=46.5 kPa), dont le seuil de perception olfactive se situe entre 200 et 300 ppm.

- **Métabolisme** [12]

Ce solvant peut être absorbé par toutes les voies, mais en raison de sa volatilité, l'inhalation de vapeurs est la première voie de pénétration dans l'organisme en milieu professionnel.

Plus de la moitié du dichlorométhane inhalé est éliminée par voie pulmonaire sous forme inchangée. Le reste est métabolisé par deux voies : la voie du cytochrome P450 entraînant une production de monoxyde de carbone, et la voie du glutathion avec formation de formaldéhyde.

- **Toxicité expérimentale** [12], [13]

Chez l'animal, la toxicité du dichlorométhane est neurologique (dépression du système nerveux central).

- **Toxicité humaine** [12], [13]

Chez l'homme, l'exposition à de fortes concentrations entraîne des manifestations neurologiques sévères pouvant aller jusqu'au coma, et une irritation respiratoire. L'exposition aiguë à des concentrations de l'ordre de 300 ppm, peut induire des céphalées, des troubles de l'équilibre et de la coordination ainsi qu'une altération globale des performances psychomotrices.

La production métabolique de monoxyde de carbone entraîne une augmentation du taux de carboxyhémoglobine des salariés dès l'exposition aiguë à des concentrations de 250 ppm. Quelques cas d'infarctus du myocarde ont été décrits, mais le dichlorométhane ne semble pas induire de majoration de l'excitabilité cardiaque. Enfin, contrairement à d'autres solvants chlorés, le dichlorométhane n'est pas hépatotoxique.

La toxicité chronique du dichlorométhane n'est quant à elle pas clairement établie. Si l'absence d'hépatotoxicité à long terme a été démontrée, les effets d'une augmentation chronique du taux de carboxyhémoglobine ne sont pas encore précisés bien qu'aucune des quatre études de cohortes ayant étudié la mortalité cardio-vasculaire des salariés exposés n'ait retrouvé de surmortalité. Par ailleurs, on peut supposer, comme pour tout solvant lipophile, un risque de syndrome psycho-organique.

- **Cancérogénèse**

Plusieurs études de cancérogénèse expérimentales ont été menées avec différentes espèces et différentes voies d'exposition. Parmi les études par inhalation, les deux études réalisées chez les souris retrouvent une augmentation de l'incidence des tumeurs bénignes et malignes du poumon et du foie, les trois études menées chez des rats concluent à une augmentation de l'incidence ou du nombre de tumeurs mammaires bénignes pour les

femelles, mais concernant les mâles, une seule étude retrouve une majoration de l'incidence de telles tumeurs.

Les autres études (rongeurs par voie orale, hamster par inhalation et souris par voie intrapéritonéale) sont négatives. [14]

Les données épidémiologiques [15], issues de huit cohortes rétrospectives et de deux études cas-témoins, ne permettent pas d'affirmer un éventuel pouvoir cancérigène du dichlorométhane pour l'homme :

- une seule étude retrouve un excès significatif de décès par cancer pancréatique : huit cas en 1981 (SMR=2.50), sans mettre en évidence de relation dose-réponse avec l'intensité de l'exposition. Cet excès se limite par ailleurs à une seule cohorte de l'étude, la cohorte 1964-1970 comprenant 1013 salariés de cette usine de production de triacétate exposés à des concentrations de dichlorométhane allant de 30 à 120 ppm, et on note une atténuation (SMR=1.78) après poursuite du suivi jusqu'en 1988. Il est également important de souligner que des facteurs de confusion tels que la consommation d'alcool et le tabagisme n'ont pas été pris en compte.
- Une autre étude identifie un excès de mortalité par cancer des voies biliaires et du foie (SMR=2.98, IC 0.81-7.63), basé sur 4 cas parmi une cohorte de 1271 salariés d'une usine de fabrication de triacétate de cellulose, exposés au dichlorométhane à des concentrations variant de 5 à 690 ppm.
- Deux études de cohorte identifient des excès non significatifs de cancers cérébraux : avec un SMR de 1.45 (IC : 0.40-3.72) basé sur 4 cas pour l'une et un SMR à 1.67 (IC : 0.34-4.88) basé sur 3 cas pour l'autre.
- Une étude cas-témoin a été menée, incluant 300 cas de cancers cérébraux astrocytaires. Dans cette étude, l'évaluation des expositions à six solvants dont le dichlorométhane a été réalisée avec une matrice emploi-exposition. Les résultats montrent une association prépondérante entre cancer cérébral et exposition au dichlorométhane. Par ailleurs les odds ratio croissent avec la probabilité d'exposition (OR de 1.0, 1.6 et 2.4 pour des probabilités d'exposition respectivement faible, moyenne ou forte), avec l'intensité et avec l'ancienneté dans l'emploi (OR 1.2 et 1.7 pour des anciennetés respectivement

supérieures à 2 ans et supérieures à 20 ans) évoquant une relation dose-réponse. Cependant le mode de recueil des informations concernant les expositions antérieures (interrogatoire de la famille) est une limite pour l'étude, les données manquant de précision.

- Seules deux des études réalisées avec des cohortes professionnelles incluent des femmes (respectivement 50 et 30% de l'effectif), aucune ne retrouve d'excès de mortalité par cancer du sein.
- Une étude cas-témoins a étudié l'association entre cancer mammaire et différentes substances chimiques dont le dichlorométhane. L'étude a inclus 33509 cas chacun apparié à quatre témoins. Les résultats montrent une association entre cancer du sein et forte exposition au dichlorométhane (OR=1.17 avec IC de 1.1 à 1.3 pour les femmes blanches, et OR=1.46 avec IC de 1.2 à 1.7 pour les noires). Là également, le mode de recueil des informations sur les expositions sont approximatives (matrice emploi-exposition) et les facteurs de risques extra-professionnels ne sont pas pris en compte.

Le CIRC a évalué le dichlorométhane comme un « cancérogène possible pour l'homme » (2B), estimant les preuves de cancérogénèse suffisantes chez l'animal et insuffisantes chez l'homme, et tenant compte des données expérimentales existantes sur la génotoxicité du dichlorométhane et des hypothèses concernant son mécanisme d'action pathogène. [14] L'Union Européenne a classé le dichlorométhane en catégorie 3, « substance préoccupante pour l'homme en raison d'effets cancérogènes possibles ». Il n'est pas classé quant à sa mutagénicité.[11]

• **Reprotoxicité**

Les études expérimentales ont mis en évidence des malformations squelettiques mineures dans la descendance de rongeurs exposés à fortes doses par voie respiratoire.

Il n'y a pas d'éléments sur la reprotoxicité chez l'homme. [12], [14].

Le dichlorométhane n'est pas classé toxique pour la reproduction par l'Union Européenne.

[11]

3.3- NN-DIMETHYLFORMAMIDE (n° CAS 68-12-2)

- **Utilisation** [16], [17], [18]

Le NN-diméthylformamide (DMF) est principalement utilisé comme solvant de matières plastiques (production de fibres synthétiques, de cuirs artificiels, de caoutchouc de synthèse) Il sert également de solvant de peintures, colles et encres, de solvant d'extraction, d'intermédiaire de synthèse ou de catalyseur dans l'industrie chimique. On le trouve aussi dans certains produits vétérinaires.

Il s'agit d'un liquide incolore, de faible odeur aminée, faiblement volatile (tension de vapeur=0.35 kPa à 20°C).

- **Métabolisme** [16], [17], [18]

Le DMF peut être absorbé par voie digestive, respiratoire ou cutanée. L'absorption respiratoire est rapide, mais en raison de sa faible volatilité, les concentrations atmosphériques en DMF en milieu de travail sont habituellement basses, et l'absorption de DMF par inhalation est en conséquence limitée. Chez les salariés la principale voie d'absorption est donc la voie cutanée, soit par contact direct du solvant avec la peau, soit par contact avec les vapeurs.

Le DMF est métabolisé au niveau hépatique en hydroxyméthylméthylformamide (HMMF), hydroxyméthylformamide (HMF), N-méthylformamide (NMF) et en un métabolite toxique de nature non déterminée. Ces composés sont éliminés par voie urinaire, essentiellement sous forme de HMMF, AMCC (N-acétyl-S-[N-méthylcarbamoyl]-cystéine), NMF et HMF. Le DMF est faiblement excrété dans les urines sous forme inchangée.

- **Toxicité expérimentale** [16], [17], [18]

Chez l'animal, l'intoxication aiguë se manifeste par une dépression du système nerveux central et surtout une hépatite cytolitique. Une discrète atteinte tubulaire rénale est parfois notée.

Les expositions répétées sont responsables de lésions hépatiques, dont la sévérité dépend de la dose (stéatose, puis cytolysse centro-lobulaire), ainsi que d'une élévation de la cholestérolémie et d'une inhibition des aldéhydes deshydrogénases.

- **Toxicité humaine** [16], [17], [18]

Chez l'homme, exposé par voie cutanée ou respiratoire, l'intoxication aiguë associe quatre syndromes : un syndrome neurologique (asthénie, céphalées, vertiges) qui apparaît rapidement et régresse à l'arrêt de l'exposition, un syndrome douloureux abdominal (épigastralgies, nausées, vomissements) qui apparaît quelques heures à quatre jours après l'exposition et régresse ensuite dans les mêmes délais, une hépatite cytolytique ou mixte à prédominance cytolytique survenant dans 72 heures et disparaissant ensuite en plusieurs jours, et enfin un syndrome antabuse en cas de consommation d'alcool dans les quelques jours suivant l'exposition. Le DMF est également modérément irritant pour la peau et les muqueuses.

L'exposition chronique, respiratoire ou cutanée, entraîne la même symptomatologie : syndrome neurologique, syndrome douloureux abdominal, syndrome antabuse et hépatite cytolytique ou mixte. On note qu'aucune élévation des transaminases n'a été retrouvée chez des salariés exposés à des concentrations inférieures à 30 mg/m³, les autres signes y compris la cholestase sont possibles en dessous de ce seuil.

Enfin, l'exposition répétée peut être responsable d'une irritation de la peau, de l'œil et des voies respiratoires.

- **Cancérogénèse**

Les études expérimentales de cancérogénèse n'ont pas mis en évidence d'augmentation d'incidence de tumeurs, mais les effectifs étudiés sont faibles et les durées de suivi trop brèves pour évaluer la cancérogénicité du DMF. [18], [19]

Deux études rapportent un excès de cancers testiculaires parmi des salariés exposés au DMF :

- la première, menée dans une tannerie après la découverte de trois cas de cancers du testicule, a comparé l'incidence de ce cancer dans une cohorte de 80 salariés avec celle de la population générale. Les niveaux d'exposition au DMF n'ont pas été mesurés, les niveaux des autres produits chimiques utilisés étaient en dessous des valeurs limites recommandées. Le dépistage n'a retrouvé aucun nouveau cas (taux de participation de 61%), le Standardized Incidence Ratio est de 40.5 (IC 95% : 8.15 à 118.45). [20]
- la seconde, réalisée dans 3 ateliers de réparation d'avions, met en évidence un excès significatif de cancer du testicule dans les deux ateliers ayant utilisé le DMF, par rapport

au nombre de cas attendus d'après le taux national d'incidence : trois cas parmi 153 salarié pour l'un, et 4 cas parmi 446 salariés pour l'autre ($p < 0.01$). Aucun cas n'a été décelé dans le troisième atelier où le DMF n'avait jamais été utilisé. [21]

- Une autre étude de cohorte, portant sur 3859 salariés masculins d'une usine de production de fibres acryliques exposés au DMF entre 1950 et 1970, a étudié les incidences des cancers entre 1956 et 1984 (d'après le registre des cancers de la compagnie) et les a comparée aux taux de l'entreprise et aux taux nationaux. L'évaluation de l'exposition a été réalisée pour chaque poste par un groupe de salariés d'après la fréquence des contacts cutanés et de la perception olfactive du DMF (en l'absence de données métrologiques pour la période concernée).

Résultats : Parmi les salariés exposés uniquement au DMF (2530 personnes), les neuf cas de cancers de la cavité buccale et du pharynx constituent un excès significatif d'incidence par rapport au nombre de cas attendus dans la compagnie (1.6) et au niveau national (3.3), sans relation dose-effet (intensité ou durée de l'exposition). Cet excès n'est pas retrouvé lorsqu'on analyse l'ensemble des salariés exposés au DMF (1329 salariés exposés au DMF et à l'acrylonitrile et 2530 exposés uniquement au DMF). Par ailleurs les neuf cas présentent tous un facteur de risque extra-professionnel (tabagisme important ou consommation d'alcool excessive).

L'excès de mélanome malin dans la cohorte « exposition au DMF seul », significatif par rapport au taux national, ne l'est plus lorsqu'on considère le taux d'incidence au niveau local (sud des Etats-Unis).

Un seul cas de cancer du testicule a été noté parmi les 3859 salariés (1.7 cas attendus) et aucun cancer hépatique (organe cible du DMF) n'a été enregistré. [22]

-Une étude cas-témoins complémentaire a été réalisée dans le même groupe industriel pour déterminer si les excès de cancers de la cavité buccale et du pharynx, du foie, de la prostate, des testicules, ou de la peau étaient liés à l'exposition au DMF. Les cas, définis comme salariés de sexe masculin, atteints d'un des cancers précités inscrit au registre de la société entre 1956 et 1985, ont été appariés à deux témoins (salariés non exposés).

L'évaluation de l'exposition a été faite à partir de données concernant les postes de travail, les résultats biométrologiques antérieurs, et les données métrologiques.

Résultats : aucune relation statistiquement significative n'est identifiée pour les sites étudiés, que ce soit pour l'ensemble des sujets inclus ou pour les sujets présentant le plus fort niveau

d'exposition. Il faut cependant souligner la faible puissance statistique de l'étude liée au petit effectif pour chaque site de cancer, et surtout le biais que représente l'absence de prise en compte des cas de cancers survenus chez des salariés ayant quitté l'entreprise. [23]

L'ensemble de ces éléments, qui constitue des données insuffisantes de cancérogénicité pour l'homme et suggère une absence de cancérogénicité pour l'animal, a fait classer le DMF dans le groupe 3 du CIRC (« substance non classable quant à sa cancérogénicité pour l'homme »). [19]

Pour l'Union Européenne, le DMF n'est pas classé comme cancérogène, ni comme mutagène. [11]

- **Reprotoxicité**

Le DMF n'a pas de toxicité expérimentale sur les testicules ou les ovaires. Il est embryotoxique et foetotoxique dans plusieurs espèces, mais des effets tératogènes n'ont été observés que chez le lapin (hydrocéphalie, éventrations) et la souris (anomalies osseuses).

Deux études signalent une augmentation des avortements spontanés chez des salariées exposées. [18],[19]

L'Union Européenne a considéré le DMF comme une « substance devant être assimilée à une substance causant des effets toxiques sur le développement dans l'espèce humaine » (catégorie 2, R61) [11]

3.4- 1,2 DICHLOROETHANE (n° CAS : 107-06-2)

- **Utilisation** [24], [25]

Le 1,2 dichloroéthane trouve son usage principal dans la synthèse du chlorure de vinyle. Il est également utilisé comme solvant industriel d'extraction ou de dégraissage, et comme stabilisant du plomb tétraéthyle dans l'essence. Son emploi comme fumigant est désormais interdit par la Communauté Européenne.

La substance se présente sous forme de liquide incolore, volatile (tension de vapeur de 8.5 kPa à 20°C). Son seuil de perception olfactive varie entre 3 et 100 ppm.

- **Métabolisme** [24], [25]

Le 1,2 dichloroéthane peut être absorbé par toutes les voies, cependant sa volatilité explique que la voie respiratoire soit prépondérante en milieu professionnel. Après inhalation, il est partiellement éliminé dans l'air expiré sous forme inchangé, la fraction absorbée est métabolisée par le foie, mettant en jeu le cytochrome P450 et la glutathion-S-transférase. Ce sont les métabolites formés qui sont responsables des effets toxiques du 1,2 dichloroéthane, expliquant ainsi la latence observée entre le début de l'exposition et la survenue des troubles. Ces composés sont rapidement éliminés par voie urinaire.

- **Toxicité expérimentale** [24], [25]

L'intoxication aiguë par voie orale ou respiratoire peut engendrer des troubles neurologiques sévères et des lésions multiviscérales entraînant le décès. De graves lésions irritatives de l'œil ou de la peau sont possibles en cas de contact prolongé. L'exposition répétée d'animaux de laboratoire à des concentrations inférieures à 100 ppm est sans effet toxique. Par contre, tous les rongeurs et lapins meurent après seulement quelques expositions à plus de 1000 ppm, et présentent à l'autopsie des lésions hépatiques, rénales, surrénales et pulmonaires.

- **Toxicité humaine** [24], [25]

Plusieurs cas d'intoxications aiguës, par voie digestive ou pulmonaire, ont été rapportés. Après une phase de latence de plusieurs heures, apparaissent des troubles neurologiques (céphalées, agitation, troubles de conscience) et digestifs, suivis d'une aggravation rapide avec défaillance multiviscérale conduisant au décès.

Les conséquences d'une exposition chronique sont mal connues. Sont décrits, chez des salariés exposés, des troubles digestifs aspécifiques, des troubles des fonctions hépatiques et rénales, une asthénie, des dermatites d'irritation.

- **Cancérogénèse**

Les deux études réalisées par voie orale chez des rongeurs retrouvent des excès de tumeurs bénignes ou malignes en plusieurs sites : poumon, foie, sein, utérus, estomac, tissus hématopoïétiques et conjonctifs (hémangiosarcomes). Deux autres études chez des rongeurs, par voie inhalée cette fois, ont également mis en évidence des augmentations d'incidence de tumeurs pulmonaires, hépatiques, mammaires, utérines, et des tissus conjonctifs (fibrome,

hémangiosarcome, mésothéliome péritonéal). Deux autres études du même type étaient négatives mais présentaient des erreurs méthodologiques. Enfin, l'application cutanée répétée de 1,2 dichloroéthane chez des souris a conduit à un excès de cancers pulmonaires. [26]

Cinq études de cohortes ont été menées chez des salariés potentiellement exposés au 1,2 dichloroéthane :

- le premier travail a porté sur la mortalité d'une cohorte de 175 ouvriers de production d'oxyde d'éthylène, employés entre 1941 et 1977, entre 1961 et 1977. L'exposition est complexe (1,2 dichloroéthane, oxyde d'éthylène, éthylène chlorhydrine, bis-2chloroéthyl-éther) et non quantifiée.

Résultats : Parmi le groupe exposé en continu (n=37), on note une surmortalité significative par cancer (9 cas pour 3.4 attendus) et particulièrement pour l'estomac (3 cas pour 0.4 attendus) et pour les leucémies (2 cas pour 0.14 attendus). [27]

- le second étudie une cohorte de 2510 hommes, salariés d'une usine pétrochimique entre 1952 et 1977, et exposés à plusieurs substances chimiques (1,2 dichloroéthane, chlorure de vinyle monomère, plomb tétraéthyle, plomb inorganique, éthylène dibromide), dont les niveaux d'exposition respectifs sont inconnus.

Résultats : Aucun excès significatif de mortalité pour les différents sites de cancers étudiés, par rapport aux taux nationaux, mais la puissance de l'étude à détecter de faibles augmentations est limitée par le petit nombre de cas par site de cancer. [28]

- La troisième étude analyse la mortalité par cancer de 278 salariés d'une unité de production d'éthylène chlorhydrine entre 1925 et 1967, suivis jusqu'en 1988. Ces salariés étaient exposés, sans plus de précision, à l'éthylène chlorhydrine mais également à deux intermédiaires de synthèse : le 1,2 dichloroéthane et le bis-chloroéthyl éther.

Résultats : L'ensemble de la cohorte présente une surmortalité par cancer du pancréas (SMR=492 avec IC 95%=158-1140) avec 8 cas, et par cancers lymphatiques et hématopoiétiques (SMR=294 avec IC 95%=127-580) avec 8 cas. La comparaison avec les salariés non exposés d'une autre usine, révèle des RR significatifs et croissants avec l'ancienneté pour ces deux sites. S'appuyant sur les données toxicologiques des différentes substances présentes sur l'unité, les auteurs attribuent ces excès de cancers à l'exposition au 1,2 dichloroéthane. [29]

- une autre étudie la mortalité par cancer d'une cohorte de 1361 salariés masculins ayant travaillé dans une des quatre usines de production d'éthylène et de propylène chlorhydrine d'un même groupe. Ces salariés étaient donc potentiellement exposés au 1,2 dichloroéthane sans évaluation des niveaux d'exposition.

Résultats : Aucun excès significatif de cancer, quelque que soit le site considéré. Une élévation significative du risque relatif de cancer hématopoiétique est notée pour les salariés totalisant entre 10 et 20 ans d'ancienneté mais cela n'est pas confirmé chez les salariés ayant plus de 20 ans d'expérience. [30]

- enfin, la dernière étude de cohorte porte sur 6588 salariés d'une usine pétrochimique employés entre 1941 et 1977 et potentiellement exposés au 1,2 dichloroéthane. Par rapport aux taux nationaux de mortalité, les auteurs retrouvent un excès non significatif de mortalité par cancer cérébral (SMR=1.6 avec IC 95%=0.8-2.8) basé sur 12 cas. [26]

-Les mêmes auteurs ont donc conduit une étude cas-témoins, étudiant la relation entre cancer du cerveau et différentes substances chimiques dont le 1,2 dichloroéthane. Aucun lien n'a été mis en évidence. [26]

Pour le CIRC, ces éléments sont suffisants pour parler de cancérogénicité du 1,2 dichloroéthane chez l'animal, mais insuffisants chez l'homme. En conséquence le 1,2 dichloroéthane est classé dans le groupe 2B « cancérogène possible pour l'homme ». [26] La Communauté Européenne a quant à elle classé ce produit en catégorie 2 « substance devant être assimilée à une substance cancérogène pour l'homme ». Il n'est pas classé comme mutagène. [11]

- **Reprotoxicité**

Les études expérimentales n'ont pas signalé d'effets sur la fertilité ni d'effets tératogènes liés au 1,2-dichloroéthane. Il n'existe pas de données chez l'homme. [24], [25] Ce produit n'est pas classé toxique pour la reproduction par l'Union Européenne. [11]

4- RESULTATS : EVALUATION DE L'EXPOSITION

4.1- ETUDES DE POSTES

• Atelier de synthèse

Les techniciens de synthèse travaillent en 3 X 8. Sur la durée de son poste, un technicien passe environ 4 heures dans l'atelier de synthèse et 4 heures dans les locaux attenants pour des opérations de saisie informatique.

L'atelier de synthèse est une pièce close d'environ 13 mètres sur 8, munie d'un système de ventilation générale, où sont placés 18 synthétiseurs d'ADN. Ces synthétiseurs sont reliés à des bouteilles contenant chacune 2.5 litres de réactif et aux flacons de nucléotides. La majeure partie de ces réactifs est constituée par l'acétonitrile (90%), les autres produits utilisés en synthèse sont le 1,2-dichloroéthane (5%), le dichlorométhane, le méthylimidazole, la pyridine, l'acide acétique et l'acide trifluoroacétique.

Les synthétiseurs fonctionnent de façon automatisée, pendant la fabrication de l'ADN les opérateurs ont donc un rôle de surveillance. En effet, la séquence de nucléotides à produire est programmée par un ordinateur pilote, et une fois la synthèse initiée, les bases nucléotidiques (arginine, guanine, thymine et cytosine) sont automatiquement mises en contact avec les réactifs pour former l'ADN. L'opération terminée, les techniciens recueillent l'ADN dans un flacon. Ces flacons sont ensuite placés dans des cuves contenant de l'ammoniac sous forme gazeuse pendant une heure. Ces cuves d'ammoniac sont placées sous une sorbonne fermée, elle-même située dans un local distinct. [annexe 2 : photo 1]

Les salariés effectuent d'autres tâches manuellement :

- La préparation des nucléotides : l'opérateur travaille sur un poste situé sous un flux de ventilation descendant, équipé de gants en latex. Il remplit, de manière semi-automatique, une seringue d'acétonitrile, rejette l'excédent de solvant dans un bécher ouvert, puis injecte le solvant à travers les capsules des flacons contenant les bases de nucléotides. Les

bases initialement sous forme de poudre sont ainsi solubilisées. Il place ensuite les flacons sur un agitateur, puis va les brancher sur les synthétiseurs. Le béccher est vidé dans un fût fermé, servant au recueil des solvants. L'opération dure environ 3 minutes et est répétée par des opérateurs différents 3 à 5 fois par jour.

- Le changement de réactifs : le technicien, muni d'un masque à cartouche type « gaz et vapeurs organiques et ammoniac » et de gants en latex, remplace les bouteilles de solvants vides, pour cela il retire la plaque de plexiglass placée devant les bouteilles, dévisse les flacons usagés préalablement dépressurisés, les retire et en replace de nouveaux. Une fois les bouteilles en place, le système de pressurisation est remis en fonction pour obtenir une pression de 1.5 bar.

Cette phase dure environ 2 minutes et est réalisée 4 à 5 fois par jour par des opérateurs différents. [annexe 2 : photo 2]

- Le rassemblement des réactifs: il s'agit de réunir dans une bouteille, les fonds de bouteilles entamées, à l'aide d'un entonnoir. Cette manipulation est réalisée dans une petite pièce isolée du reste de l'atelier, sous un dispositif d'aspiration à la source. Au quotidien, les salariés n'utilisent pas le cobra mais portent un masque à cartouche pour faire cette opération. Cette activité est en général effectuée par les techniciens de nuit. [annexe 2 : photo 3]

Les masques à cartouches sont stockés dans l'atelier même, et les cartouches ne sont pas changées régulièrement, les utilisateurs se fient à leur odorat pour estimer la qualité du masque. Des gants en latex et des gants en nitrile sont à disposition des techniciens, qui portent par ailleurs une blouse à manches longues et des lunettes de protection.

• **Maintenance**

Bien que n'ayant pas assisté à des opérations de réparation ou de maintenance, il semble que les ouvriers de maintenance présentent eux aussi un risque d'expositions au 1,2-dichloro-éthane et au dichlorométhane lors de leurs interventions sur les synthétiseurs, en raison du risque de fuite de solvants.

• **Laboratoire de chimie et de purification**

Dans ce laboratoire, équipé de hottes aspirantes, plusieurs activités se côtoient : les activités de recherche et développement d'une part, et les activités de purification de l'ADN et de l'ARN produits d'autre part.

Les opérateurs de « recherche et développement » travaillent avec de nombreux réactifs, dont le NN-diméthylformamide, utilisé en très petite quantité et de façon ponctuelle.

Les opérations de purification se font principalement par HPLC (chromatographie liquide à haute pression) et spectrométrie de masse, avec utilisation d'acétonitrile, et dans une moindre mesure par électrophorèse sur gel de polyacrylamide. Alors que la purification par HPLC et spectrométrie de masse est très automatisée, l'électrophorèse nécessite quant à elle plusieurs étapes : dépôts des séquences d'ADN dans les puits de la plaque, migration dans le gel sous l'effet d'une différence de potentiel, démoulage du gel et révélation sous UV, recueil des séquences purifiées par traitement chimique (à base d'acides et de bases faibles).

Pour ces tâches, les salariés sont équipés d'une blouse à manches longues et de lunettes de protection.

• **Préparation des gels de polyacrylamide**

Trois techniciens se partagent la fabrication des gels de polyacrylamide destinés au contrôle et à la purification, par électrophorèse, des brins d'ADN produits. Une moyenne de dix à douze gels est réalisée par jour, représentant un travail quotidien de 2 heures à ce poste.

L'opérateur commence par assembler, au moyen d'un ruban adhésif, deux plaques de verre entre lesquelles sera coulé le gel. Il prépare ensuite la solution d'acrylamide : pour cela, il verse dans une bouteille les différents constituants du mélange (urée sous forme cristallisée, sels de borate sous forme liquide, eau purifiée). L'acrylamide est quant à lui introduit via une solution d'acrylamide et de bisacrylamide, à raison d'environ un litre pour cinq litres de gel (soit 10 plaques). La bouteille contenant cette solution est ensuite refermée et placée sur un agitateur, permettant l'homogénéisation du mélange et son chauffage à environ 50°C.

Avant de couler les gels, l'opérateur ajoute à la solution d'acrylamide refroidie quelques millilitres de catalyseurs de polymérisation.

Il verse ensuite entre les deux plaques de verre environ 500 mL de ce liquide qui polymérise en 5 minutes, formant ainsi un gel de polyacrylamide. [annexe 2 : photo 4]

Les plaques sont enfin rincées à l'eau et stockées dans un bac.

Le technicien réalise le mélange et la coulée sur une paillasse démunie de système de ventilation spécifique (pas de hotte, pas de dispositif d'aspiration à la source) et située à proximité d'autres postes ; durant ces opérations il porte une blouse, des lunettes de sécurité et des gants en latex non poudrés qu'il change fréquemment. Pendant la coulée, l'excédent de solution d'acrylamide est recueilli sur du papier absorbant placé sur la paillasse.

4.2- METROLOGIE

Plusieurs campagnes de prélèvements ont été menées depuis 2001, les résultats concernant les quatre substances CMR sont présentés par poste.

• Atelier de synthèse

Avril 2002

PRELEVEMENTS	DUREE	1,2-dichloroéthane VME=40 mg/m ³	Dichlorométhane VME=180 mg/m ³
AMBIANT (sur la paillasse entre deux synthétiseurs)	8 heures	2.37	0.56
	24 heures	1.49	0.11
INDIVIDUEL Opérateur de synthèse	8 heures	0.73	<0.43
INDIVIDUEL Changement de réactifs (15 min), préparation des nucléotides (40 min), changement des poubelles	1 heure	81.79	3.05
INDIVIDUEL Opération de maintenance courante sur un synthétiseur	45 min	7.29	<3.43

Décembre 2003

PRELEVEMENTS	DUREE	1,2 dichloroéthane VME=40 mg/m3
AMBIANT (salle DPG)	1 heure 12	3.2
AMBIANT (entre 2 synthétiseurs à hauteur des voies respiratoires)	1 heure 34	2.4
AMBIANT (entre 2 synthétiseurs à hauteur des voies respiratoires)	1 heure 34	1.1
AMBIANT (sur la paillasse entre 2 synthétiseurs)	1 heure 32	4
INDIVIDUEL Opérateur de synthèse	1 heure 35	2.2

• **Laboratoire de chimie et de purification**

Avril 2001

PRELEVEMENT	DUREE	Acrylamide VME=0.3 mg/m3
AMBIANT Au dessus d'un appareil d'électrophorèse en fonctionnement	1 heure 13	0.03

Janvier 2004

PRELEVEMENT	DUREE	Acrylamide VME=0.3 mg/m3
AMBIANT Au dessus d'un appareil d'électrophorèse à l'arrêt	2 heures	<0.005

Aucune campagne de mesure n'a recherché les concentrations en NN-diméthylformamide, compte tenu de son utilisation très ponctuelle et irrégulière.

• **Préparation des gels de polyacrylamide**

Avril 2001

PRELEVEMENT	DUREE	Acrylamide VME=0.3 mg/m3
AMBIANT Sur la paillasse de coulée des gels	1 heure 8	0.15
AMBIANT Sur la paillasse située à 1 mètre de la coulée des gels	1 heure 15	0.07
INDIVIDUEL Pendant la coulée des gels	1 heure 15	0.12

Janvier 2004

PRELEVEMENT	DUREE	Acrylamide VME=0.3 mg/m3
AMBIANT Au milieu du poste de préparation des gels à hauteur des voies respiratoires	1 heure 30	0.01
AMBIANT A 3 mètres du poste, à hauteur des voies respiratoires	1 heure 30	0.01
INDIVIDUEL Pendant la préparation de la solution	30 min	0.7
INDIVIDUEL Pendant la coulée des gels	50 min	0.02

5- DISCUSSION

5.1- EVALUATION DU RISQUE

L'analyse critique des résultats métrologiques et des observations issues des études de postes, couplées aux connaissances toxicologiques sur les substances permet une évaluation du risque. Elle est détaillée par poste dans ce chapitre.

• Atelier de synthèse

L'étude de poste a dans un premier temps mis en évidence des tâches particulièrement susceptibles d'exposer les techniciens par voie respiratoire mais aussi cutanée. Il s'agit des opérations réalisées manuellement : préparation des nucléotides, changement des réactifs, transvasement des fonds de bouteilles, changement de poubelles. D'autant que les moyens de prévention existants ne sont pas forcément bien utilisés : port du masque préféré au cobra, masques stockés dans l'atelier même avec en conséquence saturation passive des cartouches, omission du port de gants...

Des sources de pollution chronique ont aussi été identifiées : les cartons ouverts servants de poubelles pour les gants, le papier absorbant et autres déchets toxiques, les béciers ouverts contenant des solvants, le système de récupération des solvants usagés qui, bien que relativement clos, peut présenter des fuites.

Enfin des pics d'exposition se produisent certainement lors des éclatements de bouteilles de solvants, problème rencontré de façon récurrente dans cette entreprise soit au moment de la mise sous pression des flacons, soit accidentellement lors des manipulations.

Les prélèvements d'atmosphère, confirment ces données : les 6 prélèvements d'ambiance et les 2 prélèvements individuels représentatifs de l'activité habituelle en salle de synthèse montrent de façon concordante des concentrations en 1,2 dichloroéthane inférieures à 10% de la VME, mais le prélèvement effectué sur une heure sur un technicien réalisant un changement de réactif, une préparation de nucléotides et un changement de poubelles met en évidence une exposition au 1,2 dichloroéthane de 2 fois la VME.

Que ce soit en activité de base ou lors des tâches exposantes, les concentrations en dichlorométhane restent quant à elle très faibles (<2% de la VME), ceci s'expliquant probablement par les quantités très réduites mises en œuvre. Le risque lié au dichlorométhane est donc très faible.

• **Laboratoire de chimie et de purification**

Aucune campagne de mesure n'a recherché les concentrations en NN-diméthylformamide, compte tenu de son utilisation très limitée, ponctuelle et irrégulière. Dans ces conditions d'utilisation on peut, même sans données métrologiques, parler d'un risque minime.

L'acrylamide a été mesuré lors d'une électrophorèse sur gel de polyacrylamide : sa concentration était de 10% la VME. Lorsque les plaques sont placées dans l'appareil à l'arrêt, la concentration est inférieure à 0.005 mg/m³. Le premier résultat est satisfaisant au regard de la réglementation française, mais pas si on le compare à la valeur limite américaine, qui est de 0.03 mg/m³. Le risque lié à l'acrylamide persiste donc pendant l'électrophorèse, bien que le produit soit alors polymérisé.

• **Préparation des gels de polyacrylamide**

Entre les deux campagnes de prélèvements, d'importants efforts ont été réalisés pour améliorer la propreté du poste et nettoyer tout débordement de solution sur les paillasses et sur le sol, ce qui explique probablement la réduction des concentrations en acrylamide. En effet, les prélèvements individuels au moment des coulées passent de valeurs atteignant 50 % de la VME à 7% de la VME, ceci restant cependant à relativiser par rapport à la valeur limite américaine (0.02 mg/m³ représentent 70 % de cette valeur). Les prélèvements d'ambiance au niveau du poste passent quant à eux de 50 à 25 % de la VME française (soit de 200 à 30 % de la valeur américaine). A distance du poste, la concentration en acrylamide est de 3 % la VME (30 % la valeur limite américaine).

La préparation des solutions est l'étape la plus préoccupante de l'activité avec un pic d'exposition de 2 fois la VME sur 30 minutes.

- **Maintenance**

Le prélèvement individuel sur l'opérateur de maintenance lors d'une intervention habituelle sur un synthétiseur révèle une exposition respiratoire au 1,2 dichloroéthane relativement importante (20% de la VME sur 45 minutes). Par ailleurs, des contacts cutanés sont très probables si l'opérateur ne change pas de gants en cours de réparation.

5.2- CONTEXTE REGLEMENTAIRE

Les « règles particulières de prévention à prendre contre les risques d'exposition aux agents cancérogènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction » sont définies aux articles R.231-56 et suivants du Code du Travail [annexe 3].

Elles s'appliquent pour les produits classés CMR de catégorie 1 ou 2 par l'Union Européenne, comme, dans le cas de cette entreprise, l'acrylamide (C2 M2 R3), le 1,2-dichloroéthane (C2) et le NN-diméthylformamide (R2).

L'employeur doit évaluer la nature, le degré et la durée de l'exposition des salariés pour toute activité susceptible de présenter un risque d'exposition à des agents CMR. Cette évaluation doit être renouvelée régulièrement pour tenir compte de l'évolution des connaissances sur les produits et lors de toute modification des conditions de travail pouvant modifier l'exposition (article R.231-56-1).

Les mesures de prévention applicables sont hiérarchisées, avec par ordre de priorité :

- la réduction de l'utilisation d'un agent CMR, notamment en le remplaçant, lorsque c'est techniquement possible, par une substance, une préparation ou un procédé qui n'est pas ou est moins dangereux pour la santé (article R.231-56-2)
- l'usage de l'agent CMR en système clos (article R.231-56-3)
- la réduction du niveau d'exposition à un niveau aussi bas qu'il est techniquement possible (article R.231-56-3)

Dans tous les cas, l'employeur doit (article R.231-56-3) :

- limiter les quantités de produit CMR
- limiter le nombre de travailleurs exposés
- éviter ou minimiser le dégagement d'agents CMR
- utiliser des méthodes de mesure adaptées en particulier pour la détection précoce des expositions anormales
- appliquer des procédures et des méthodes de travail appropriées
- mettre en place des mesures de prévention collectives ou « si l'exposition ne peut être évitée par d'autres moyens », des mesures de prévention individuelles
- respecter des mesures d'hygiène des locaux
- délimiter les zones à risques
- prévoir des dispositifs pour les cas d'urgence susceptibles d'entraîner des expositions anormalement élevées
- prévoir des moyens de stockage, manipulation et transport sûrs des produits et des déchets
- interdire de manger, boire et fumer dans les zones de travail à risque (article R.231-56-8)
- fournir et entretenir les équipements de protection (article R.231-56-8)

Les mesures nécessaires doivent être prises pour réduire l'exposition des salariés lors des activités d'entretien (article R.231-56-6).

L'employeur est aussi tenu d'informer les salariés et de les former à la sécurité. Une information particulière doit être délivrée afin de sensibiliser les salariés aux risques concernant la reproduction (article R.231-56-9).

Pour chaque salarié exposé, une fiche d'exposition doit être établie (article R.231-56-10).

L'employeur, et le médecin du travail, doivent remplir une attestation d'exposition et la remettre au salarié à son départ de l'entreprise (article R.231-56-11).

Enfin, les femmes enceintes et allaitantes ne peuvent être affectées ou maintenues à un poste les exposant à des agents avérés toxiques pour la reproduction (article R.231-56-12).

5.3- PROPOSITION DE MOYENS DE PREVENTION TECHNIQUE

Les connaissances actuelles sur la cancérogénèse ne permettent pas de déterminer de seuil d'exposition en dessous duquel il n'y aurait pas de risque. Le respect des VME ne suffit donc pas à la protection des salariés, il convient alors, comme le demande la loi, d'obtenir des niveaux d'expositions aussi bas que possible. Plusieurs moyens sont envisageables dans cette entreprise.

➤ Dans la salle de synthèse

Le risque CMR est quasi exclusivement lié au 1,2 dichloroéthane, la première mesure que nous avons proposée est donc la substitution de ce solvant par un autre moins dangereux. Cette substitution du 1,2 dichloroéthane par l'acétonitrile est étudiée par l'entreprise, mais ceci nécessite un certain temps, en raison des modifications de procédés de production induites par une substitution de réactifs.

D'autres mesures plus simples à mettre en œuvre ont donc été recommandées, tout d'abord l'installation de dispositifs d'aspiration à la source au niveau des postes de préparation des nucléotides et de changement des réactifs, ce qui permettra de limiter l'exposition respiratoire des salariés lors de ces tâches, très polluantes, tout en supprimant la contrainte du port de masque. Ceux-ci, choisis pour être efficaces contre les gaz et vapeurs organiques, les acides et l'ammoniac, seront réservés aux situations exceptionnelles de pollution, et pourront donc être stockés sans gêne hors de l'atelier. Les agents de maintenance bénéficieront également de cette aspiration lors de leurs interventions sur les synthétiseurs.

[annexe 2 : photo 5]

Ensuite, il convenait de remédier au problème d'éclatement des bouteilles de réactifs, qui génèrent des pics de pollution. Pour cela l'entreprise a choisi un système de confinement des flacons en matière plastique, servant de bac de rétention au solvant en cas de bris.

Enfin, l'utilisation des poubelles fermées est nécessaire.

Sur le plan de la prévention individuelle, le choix des gants mérite d'être revu, en effet les gants actuellement à disposition des salariés sont en latex ou en nitrile (ces derniers étant réservés aux deux techniciens allergiques au latex), or ces deux matériaux présentent un temps de perméation au 1,2 dichloroéthane, au dichlorométhane et à l'acétonitrile inférieur à 1 heure et surtout un risque de dégradation au contact de ces produits, contre-indiquant leur

utilisation même pour des manipulations très brèves. Par contre, des gants en PVA (polyalcool viny1) offriraient une bonne protection contre l'acétonitrile (temps de perméation compris entre 1 et 4 heures) et les solvants chlorés (temps de perméation supérieur à 4 heures), tout en évitant le risque allergique lié au latex. [31]

La souplesse des gants en PVA est certes moindre que celle des gants en latex ou en nitrile, mais permet cependant une dextérité suffisante pour les tâches à effectuer.

➤ Au poste de purification

Le risque liée au NN-diméthylformamide est minime, mais le risque lié à l'acrylamide n'est pas négligeable au moment du fonctionnement des appareils d'électrophorèse ce qui justifie qu'elle se fasse sous hotte.

➤ Au poste de préparation des gels

Une mesure de prévention a déjà été prise puisque l'entreprise a partiellement remplacé la purification par électrophorèse par une technique de purification par spectrométrie de masse. Cette technique de purification concerne désormais 75% de la production, réduisant considérablement le volume d'acrylamide utilisé.

Le risque résiduel le plus important se situe au moment de la préparation des solutions d'acrylamide, il est donc essentiel que cette étape soit réalisée sous un dispositif d'aspiration. Par ailleurs, dans le but de réduire autant que possible les concentrations en produit cancérigène, le poste doit être isolé du reste des locaux et correctement ventilé. Enfin, la pratique consistant à préparer les solutions dans un bécher est à proscrire, car le récipient reste ouvert au moment de l'agitation et du chauffage, ce qui favorise les émissions de vapeurs.

Etant donné l'importance du risque d'absorption cutanée de l'acrylamide, le choix des gants est capital. Les gants en latex ne sont pas recommandés en raison d'un temps de perméation inférieur à 1 heure et du risque de dégradation chimique du gant. Avec un temps de perméation entre 4 et 8 heures, le nitrile est plus adapté à cette activité. [32]

5.4- PROPOSITION DE SUIVI MEDICAL

La surveillance médicale des salariés exposés à des substances cancérigènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction est détaillée à l'article R.231-56-11 du Code du Travail. [annexe 3] Elle a pour but de recueillir les éléments de l'exposition, de définir l'aptitude du salarié à son poste, de dépister les pathologies liées aux agents CMR et d'informer les salariés des risques encourus. [4]

Une attention particulière mérite d'être portée sur la biométrie des substances CMR. En effet, la surveillance biologique d'une substance chimique, d'un métabolite ou d'une modification biochimique caractéristique de cette substance permet d'affiner l'évaluation de l'exposition des salariés exposés.

Complémentaire des mesures atmosphériques, cette approche présente plusieurs intérêts : elle prend en compte l'ensemble des voies d'absorption, ce qui est particulièrement important pour les substances à pénétration cutanée, elle permet de mesurer l'exposition réelle intégrant des facteurs professionnels susceptibles de modifier l'absorption de la substances (charge physique induisant une hyperventilation, expositions multiples, température) ou de la diminuer (efficacité des équipements de protection individuels) mais aussi des facteurs extra-professionnels (hygiène individuelle, exposition chimique dans le cadre des loisirs). Cela permet une analyse individuelle de l'exposition, tenant également compte des variations inter-individuelles liées aux variations de métabolisme, à l'état de santé et aux prises médicamenteuses, au mode de vie (tabagisme, consommation d'alcool, alimentation...).

Il existe cependant des limites à l'utilisation de la biométrie. Tout d'abord des limites scientifiques : en effet, nous ne disposons pas d'indicateur pertinent pour toutes les substances rencontrées dans le monde professionnel, et quand un indicateur existe, les connaissances ne permettent pas toujours d'en déterminer une valeur limite validée. Par ailleurs, les contraintes méthodologiques, au moment du recueil (horaire, matériel, conservation, risque de contamination,..) et de l'analyse (limites de la méthode analytique elle-même en terme de sensibilité et de spécificité, ou de la qualité du laboratoire) constituent également un frein à la mise en œuvre de la surveillance biologique.

En conséquence, l'interprétation doit être prudente : un résultat individuel supérieur à la valeur limite ne signifie pas automatiquement risque pour la santé, et inversement un résultat

inférieur n'exclut pas tout risque. Ceci est particulièrement vrai pour les substances cancérogènes, pour lesquelles on ne peut déterminer de valeur-seuil en dessous de laquelle il n'existerait aucun risque.

L'intérêt et les limites de la biométrie étant rappelés, nous pouvons évoquer les dosages existants pour les quatre substances CMR identifiées dans l'entreprise étudiée.

• **Acrylamide** [33]

Seuls les hygiénistes allemands de la DFG proposent un indicateur biologique pour l'acrylamide. Il s'agit de dosage de la N-(2-carbonamide-éthyl)-valine intra-érythrocytaire. La DFG ne propose pas de valeur limite biologique mais se base sur les données de la littérature mettant en relation la concentration en acrylamide dans l'air et la concentration en N-(2-carbonamide-éthyl)-valine dans le sang chez des travailleurs exposés. Ces données ont permis, par extrapolation, de déterminer la valeur de cet indicateur correspondant à la valeur limite atmosphérique. Ainsi, pour une concentration atmosphérique en acrylamide de 0.03 mg/m³, la concentration en N-(2-carbonamide-éthyl)-valine est de 5 µg/L de sang. La concentration sanguine en N-(2-carbonamide-éthyl)-valine chez les non-exposés n'est pas détectable.

Cet indicateur n'est pas corrélé aux effets sur la santé, et les valeurs indiquées par la DFG ne tiennent pas compte du passage percutané, mais il permet le dépistage d'expositions actuelles et antérieures.

• **Dichlorométhane** [34], [35]

Il existe plusieurs indicateurs possibles pour ce solvant, tous bien corrélés à l'intensité de l'exposition :

- le dosage de la carboxyhémoglobine sanguine, immédiatement en fin de poste, est un bon reflet de l'exposition du jour même. La valeur allemande BAT (valeur biologique tolérée en milieu professionnel) est de 5% de carboxyhémoglobine en fin de poste.

L'interprétation de ce dosage nécessite la connaissance préalable du taux d'HbCO de base, en raison de l'interférence avec le tabac.

- Le dosage du dichlorométhane sanguin, immédiatement en fin de poste, témoigne de l'exposition du jour. La BAT est de 1mg/L. Il existe une bonne corrélation entre concentration atmosphérique et concentration sanguine .
- Le dosage du dichlorométhane urinaire, en fin de poste, offre une bonne corrélation avec l'intensité de l'exposition. L'ACGIH propose une IBE de 0.2 mg/L, en précisant que l'interprétation quantitative est incertaine.
- Le dosage du dichlorométhane dans l'air expiré, 2 à 4 heures après la fin du poste, est également possible. Il reflète l'exposition très récente du sujet. Cette méthode ne traduit cependant que l'exposition par voie respiratoire et présente donc peu d'intérêt par rapport à la métrologie.

• **NN diméthylformamide** [35] [36]

- Le dosage du N-méthylformamide urinaire, en fin de poste. est proposé par l'ACGIH (IBE=15mg/L) et par la DFG (BAT=35mg/L). La valeur guide française est de 40 mg/g de créatinine. Cet indicateur est le témoin de l'exposition du jour, il est spécifique du NN diméthylformamide, son excrétion présente des variations interindividuelles. La corrélation avec la concentration atmosphérique est faible en raison de l'importance du passage cutané. On note des interférences avec la consommation d'alcool, qui inhibe le métabolisme du DMF et avec le toluène qui diminue l'excrétion de l'indicateur.
- Le dosage de la N-acétyl-S-[N-méthyl carbamoyl]-cystéine (AMCC) urinaire en début de poste et fin de semaine de travail, reflète l'exposition moyenne des jours précédents. Sa concentration est bien corrélée à la survenue d'effets toxiques. L'IBE et la BAT sont de 40mg/L.
- Le dosage du DMF urinaire a aussi été proposé.

• **1,2-dichloroéthane**

Il n'existe aucun indicateur biologique validé pour ce solvant.

En pratique, s'il semble intéressant de proposer une surveillance biologique pour l'acrylamide et le NN diméthylformamide, dont la principale voie d'absorption est cutanée, la biométrie du dichlorométhane ne paraît pas adaptée (absorption principalement

respiratoire bien estimée par les prélèvements atmosphériques) et est de plus techniquement difficile en raison de l'évaporation du solvant.

L'usage très ponctuel et irrégulier qui est fait du NN diméthylformamide dans l'entreprise, rendrait difficile la mise en place d'une biométrie et l'interprétation des résultats. En effet les dosages disponibles ne permettent qu'une estimation de l'exposition du jour (NMF urinaire) ou des quelques jours (AMCC) précédant le prélèvement, ceux-ci n'étant pas forcément représentatifs de l'exposition moyenne.

C'est pour l'acrylamide que l'indication de la surveillance biologique est la plus nette : absorption principalement cutanée, manipulations régulières par trois opérateurs définis. Lors de l'interprétation, des taux en N-(2-carbonamide-éthyl)-valine sanguins supérieurs aux taux attendus pour l'exposition respiratoire mettraient en évidence un certain degré d'absorption cutanée.

On se heurte cependant aux limites de l'indicateur lui-même, encore mal évalué, pour lequel on ne dispose pas de valeur limite validée. Par ailleurs, l'intérêt du dosage serait limité car étant donné le type de manipulation, l'exposition cutanée peut être correctement évaluée par l'étude de poste.

L'indication de la surveillance biologique paraît donc réduite, celle-ci risquant plutôt d'entraîner des difficultés d'interprétation et de restitution auprès des salariés.

CONCLUSION

La démarche d'évaluation des risques CMR dans cette entreprise de biotechnologie, mettant en œuvre des procédés de production complexes et de multiples produits chimiques, a permis de clarifier les risques encourus et de hiérarchiser les mesures de prévention à mettre en place. Compte tenu de la relative nouveauté de ce secteur industriel, peu d'études de ce type ont été menées dans les entreprises de biotechnologie, ce qui explique peut-être la méconnaissance des salariés, mais aussi celle des responsables de l'entreprise, sur les risques induits par leur activité. Il est ainsi frappant de constater le peu de place accordée au risque cancérogène, et plus généralement au risque chimique, dans la proposition de Document Unique faite en CHSCT par l'entreprise.

L'absence d'effets immédiatement perceptibles, le manque de culture d'entreprise concernant la gestion du risque dans cette jeune entreprise, et probablement aussi un certain déni devant la gravité potentielle des effets sur la santé, semblent être une difficulté dans la prise en compte du risque CMR.

Il est alors d'autant plus important que les différents acteurs de la prévention des risques professionnels apportent des éléments pour analyser les risques, informer et soutenir l'entreprise dans l'élaboration et la mise en place de moyens de prévention.

ANNEXES

Annexe 1 : Inventaire des produits soumis à étiquetage utilisés dans l'entreprise

Acétone
Acétonitrile
Acide acétique
Acide trifluoroacétique
Acide perchlorique
Acide nitrique
Acrylamide
Anhydride acétique
Ammoniaque
Ammonium persulfate
Bisacrylamide
Bromophénol blue
Butanol
1,2 dichloroéthane
Dichlorométhane
EDTA
Ethanol
Lithium perchlorate
Lutidine
NN-diméthylformamide
Méthylamine
Méthylimidazole
Pyridine
Hydroxyde de sodium
Tétrahydrofurane
Triéthylamine
TEMED
Urée
Xylène cyanol
Sels de borate

Annexe 2 : Photos

Photo 1 : Les cuves d'ammoniac sont placées dans une sorbonne fermée.



Photo 2 : Changement de réactifs



Photo 3 : Cobra utilisé pour le rassemblement des réactifs.



Photo 4 : Coulée des gels.



Photo 5 : Dispositif d'aspiration à la source installé auprès du synthétiseur



Annexe 3 : Réglementation tirée du Code du travail

Art. R. 231-56 Sans préjudice des mesures particulières prises en application des articles L. 231-2 et L. 231-7 pour certains agents ou procédés cancérigènes (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «mutagènes ou toxiques pour la reproduction», les prescriptions de la présente sous-section sont applicables aux activités dans lesquelles les travailleurs sont exposés ou susceptibles d'être exposés au cours de leur travail à des agents cancérigènes.

Pour l'application de la présente sous-section, est considérée comme agent cancérigène (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «mutagène ou toxique pour la reproduction» toute substance ou toute préparation visée au 1 de l'article R. 231-51 pour laquelle l'étiquetage, prévu par l'article L. 231-6, comporte une mention indiquant explicitement son caractère cancérigène ainsi que toute substance, toute préparation ou tout procédé défini comme tel par arrêté des ministres chargés du travail et de l'agriculture. — *V. Arr. 5 janv. 1993 (JO 19 févr.), mod. par Arr. 18 sept. 2000 (JO 28 sept.)*.

(*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «Pour l'application de la présente sous-section, est considérée comme valeur limite d'exposition professionnelle, sauf indication contraire, la limite de la moyenne pondérée en fonction du temps de la concentration d'un agent cancérigène, mutagène ou toxique pour la reproduction dans l'air de la zone de respiration d'un travailleur au cours d'une période de référence déterminée.

«Les dispositions de la présente sous-section, à l'exception des articles R. 231-56-1, I, alinéa 3, R. 231-56-3, III, *b*, *g*, *h*, R. 231-56-4-1, R. 231-56-5, alinéas 4 et 5, à R. 231-56-12, s'appliquent aux travailleurs indépendants et aux employeurs, lorsqu'ils interviennent sur chantier, dans les conditions visées à l'article L. 235-18.»

Art. R. 231-56-1 I. — Sans préjudice des dispositions des articles R. 231-54 et R. 231-54-1, l'employeur est tenu, pour toute activité susceptible de présenter un risque d'exposition à des agents cancérigènes (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «mutagènes ou toxiques pour la reproduction», d'évaluer la nature, le degré et la durée de l'exposition des travailleurs afin de pouvoir apprécier tout risque concernant leur sécurité ou leur santé et de définir les mesures de prévention à prendre. Un arrêté des ministres chargés du travail et de l'agriculture pourra préciser les conditions de cette évaluation.

Cette appréciation doit être renouvelée régulièrement, notamment pour prendre en compte l'évolution des connaissances sur les produits utilisés et lors de tout changement des conditions pouvant affecter l'exposition des travailleurs aux agents cancérigènes (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «mutagène ou toxique pour la reproduction».

L'employeur doit tenir à la disposition des membres du comité d'hygiène, de sécurité et des conditions de travail ou, à défaut, des délégués du personnel, ainsi que du médecin du travail, de l'inspecteur du travail et des agents des services de prévention des organismes de sécurité sociale les éléments ayant servi à cette appréciation.

II. — (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «Lors de l'appréciation du risque, toutes les expositions susceptibles de mettre en danger la santé ou la sécurité des salariés doivent être prises en compte, y compris l'absorption percutanée ou transcutanée.»

Art. R. 231-56-2 I. — L'employeur est tenu de réduire l'utilisation d'un agent cancérigène (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «mutagène ou toxique pour la reproduction» sur le lieu de travail lorsqu'elle est susceptible de conduire à une exposition, notamment en le remplaçant, dans la mesure où cela est techniquement possible, par une substance, une préparation ou un procédé qui, dans ses conditions d'emploi, n'est pas ou est moins dangereux pour la santé ou la sécurité des travailleurs.

II. — L'employeur fournit, sur sa demande, à l'inspecteur du travail le résultat de ses investigations.

Art. R. 231-56-3 I. — Si les résultats de l'évaluation mentionnée au I de l'article R. 231-56-1 révèlent un risque concernant la sécurité ou la santé des travailleurs, l'exposition des travailleurs doit être évitée.

II. — Si le remplacement de l'agent cancérigène (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «mutagène ou toxique pour la reproduction» par une substance, une préparation ou un procédé sans danger ou moins dangereux pour la sécurité ou la santé n'est pas réalisable, l'employeur prend les dispositions nécessaires pour que la production et l'utilisation de l'agent cancérigène (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «mutagène ou toxique pour la reproduction» aient lieu dans un système clos.

Si l'application d'un système clos n'est pas réalisable, l'employeur fait en sorte que le niveau d'exposition des travailleurs soit réduit à un niveau aussi bas qu'il est techniquement possible.

III. — Dans tous les cas d'utilisation d'un agent cancérigène (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «mutagène ou toxique pour la reproduction», l'employeur applique les mesures suivantes:

a) Limitation des quantités d'un agent cancérigène (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «mutagène ou toxique pour la reproduction» sur le lieu de travail;

b) Limitation du nombre de travailleurs exposés ou susceptibles de l'être;

c) Mise au point de processus de travail et de mesures techniques permettant d'éviter ou de minimiser le dégagement d'agents cancérigènes (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «mutagènes ou toxiques pour la reproduction»;

d) Évacuation des agents cancérigènes (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «mutagènes ou toxiques pour la reproduction» conformément aux dispositions de l'article R. 232-5-7;

e) Utilisation de méthodes appropriées de mesure des agents cancérigènes (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «mutagènes ou toxiques pour la reproduction», en particulier pour la détection précoce des expositions anormales résultant d'un événement imprévisible ou d'un accident;

f) Application de procédures et de méthodes de travail appropriées;

g) Mesures de protection collectives ou, lorsque l'exposition ne peut être évitée par d'autres moyens, mesures de protection individuelles;

h) Mesures d'hygiène, notamment de nettoyage régulier des sols, murs et autres surfaces conformément aux prescriptions de (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «l'article R. 232-1-14»;

i) Information des travailleurs;

j) Délimitation des zones à risque et utilisation de signaux adéquats d'avertissement et de sécurité, y compris les signaux «défense de fumer» dans les zones où les travailleurs sont exposés ou susceptibles d'être exposés à des agents cancérigènes (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «mutagènes ou toxiques pour la reproduction»;

k) Mise en place de dispositifs pour les cas d'urgence susceptibles d'entraîner des expositions anormalement élevées, en particulier lors d'éventuelles ruptures du confinement des systèmes clos;

l) Utilisation de moyens permettant le stockage, la manipulation et le transport sans risque des produits cancérogènes (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «mutagènes ou toxiques pour la reproduction», notamment par l'emploi de récipients hermétiques étiquetés de manière claire, nette et visible;

m) Collecte, stockage et évacuation sûrs des déchets.

Art. R. 231-56-4 Si les résultats de l'évaluation prévue au I de l'article R. 231-56-1 révèlent un risque pour la sécurité ou la santé des travailleurs, l'employeur tient à la disposition de l'inspecteur du travail et des agents des services de prévention des organismes de sécurité sociale (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «des travailleurs exposés, des médecins du travail, du médecin inspecteur régional du travail et de la main-d'oeuvre et des membres du comité d'hygiène, de sécurité et des conditions de travail ou, à défaut, des délégués du personnel», des informations appropriées sur:

a) Les activités ou les procédés industriels mis en oeuvre, y compris les raisons pour lesquelles des agents cancérogènes (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «mutagènes ou toxiques pour la reproduction» sont utilisés;

b) Les quantités fabriquées ou utilisées de substances ou préparations qui contiennent des agents cancérogènes (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «mutagènes ou toxiques pour la reproduction»;

c) Le nombre de travailleurs exposés;

d) Les mesures de prévention prises;

e) Le type d'équipement de protection à utiliser;

f) La nature et le degré de l'exposition, notamment sa durée;

g) Les cas de substitution par un autre produit.

Art. R. 231-56-4-1 (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) I. — Les contrôles techniques destinés à vérifier le respect des valeurs limites doivent être effectués au moins une fois par an par un organisme agréé par arrêté des ministres chargés du travail et de l'agriculture dans les conditions prévues aux articles R. 231-55 et R. 231-55-1.

(*Décr. n° 2001-532 du 20 juin 2001*) «Le silence gardé pendant plus de quatre mois sur une demande d'agrément visée à l'alinéa précédent vaut décision de rejet.»

Les prélèvements sont faits sur des postes de travail en situation significative de l'exposition habituelle. La stratégie de prélèvement est établie par l'employeur, après avis de l'organisme agréé prévu ci-dessus, du médecin du travail, du comité d'hygiène, de sécurité et des conditions de travail ou, à défaut, des délégués du personnel.

II. — Le dépassement des valeurs limites fixées par décret en application du 2^o de l'article L. 231-2 et de l'article L. 231-7 doit sans délai entraîner un nouveau contrôle dans les mêmes conditions; si le dépassement est confirmé, le travail doit être arrêté aux postes de travail concernés jusqu'à la mise en oeuvre des mesures propres à remédier à la situation.

III. — Toute modification des installations ou des conditions de fabrication susceptible d'avoir un effet sur les émissions d'agents cancérogènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction doit être suivie d'un nouveau contrôle dans un délai de quinze jours.

IV. — Les résultats de l'ensemble de ces contrôles sont communiqués par le chef d'établissement au médecin du travail et au comité d'hygiène, de sécurité et des conditions de travail ou, à défaut, aux délégués du personnel. Ils sont tenus à la disposition de l'inspecteur du travail, du médecin inspecteur du travail ainsi que des agents des services de prévention des organismes de sécurité sociale.

Art. R. 231-56-5 Les travailleurs doivent être informés par l'employeur des incidents ou des accidents susceptibles d'entraîner une exposition anormale.

Jusqu'au rétablissement de la situation normale et tant que les causes de l'exposition anormale ne sont pas éliminées, seuls les travailleurs indispensables pour l'exécution des réparations et d'autres travaux nécessaires sont autorisés à travailler dans la zone affectée par l'incident ou l'accident.

L'employeur met en outre à la disposition des travailleurs concernés un vêtement de protection et un équipement individuel de protection respiratoire et doit veiller à ce qu'ils soient effectivement portés. En tout état de cause, l'exposition des travailleurs ne peut pas être permanente et doit être limitée pour chacun au strict nécessaire.

Les travailleurs non protégés ne sont pas autorisés à travailler dans la zone affectée.

(*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «Afin de maintenir ou restaurer les conditions de salubrité dans cette zone, l'élimination des agents cancérogènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction doit s'effectuer sans créer de nouveaux risques pour les travailleurs de l'établissement ou l'environnement de ce même établissement.»

Art. R. 231-56-6 I. — Pour certaines activités telles que l'entretien, pour lesquelles la possibilité d'une augmentation sensible de l'exposition est prévisible et à l'égard desquelles toutes les possibilités de prendre d'autres mesures techniques de prévention sont déjà épuisées, le chef d'établissement détermine, après avis (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «du médecin du travail», du comité d'hygiène, de sécurité et des conditions de travail ou, à défaut, des délégués du personnel, les mesures nécessaires pour réduire le plus possible la durée d'exposition des travailleurs et pour assurer leur protection durant ces activités.

Le chef d'établissement met à disposition des travailleurs concernés un vêtement de protection et un équipement individuel de protection respiratoire et veille à ce qu'ils soient effectivement portés aussi longtemps que l'exposition persiste; celle-ci ne peut pas être permanente et est limitée pour chaque travailleur au strict nécessaire.

II. — Les mesures appropriées sont prises pour que les zones où se déroulent les activités visées au I ci-dessus soient clairement délimitées et signalées et pour que leur accès soit interdit à toute personne non autorisée.

Art. R. 231-56-7 Au vu des résultats de l'appréciation faite conformément à l'article R. 231-56-1, les mesures appropriées sont prises par l'employeur pour que les zones où se déroulent les activités révélant un risque pour la sécurité ou la santé ne puissent être accessibles à d'autres travailleurs que ceux qui, en raison de leur travail ou de leur fonction, sont amenés à y pénétrer.

Art. R. 231-56-8 Sans préjudice des dispositions des articles R. 232-2 à R. 232-2-7, le chef d'établissement est tenu, pour toutes les activités pour lesquelles il existe un risque de contamination par des agents cancérogènes (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «mutagènes ou toxiques pour la reproduction», de prendre les mesures appropriées suivantes:

a) Veiller à ce que les travailleurs ne mangent pas, ne boivent pas et ne fument pas dans les zones de travail concernées;

b) Fournir des vêtements de protection ou tous autres vêtements appropriés, les placer dans un endroit déterminé, les vérifier et les nettoyer, si possible avant et, en tout cas, après chaque utilisation et les réparer ou remplacer s'ils sont défectueux (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «conformément aux dispositions de l'article R. 233-42».

(*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «c) Veiller à ce que les travailleurs ne sortent pas de l'établissement avec les équipements de protection individuelle ou les vêtements de travail.

«d) Lorsque l'entretien de ces équipements est assuré à l'extérieur de l'entreprise, le chef d'établissement chargé du transport et de l'entretien doit être informé de l'existence et de la nature de la contamination, conformément aux dispositions de l'article R. 237-2.»

Art. R. 231-56-9 I. — En application des articles L. 231-3-1 et L. 231-3-2, le chef d'établissement organise, en liaison avec le comité d'hygiène, de sécurité et des conditions de travail (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «ou, à défaut, les délégués du personnel» et le médecin du travail, la formation à la sécurité et l'information des travailleurs susceptibles d'être exposés à l'action d'agents cancérogènes (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «mutagènes ou toxiques pour la reproduction», notamment en ce qui concerne les risques potentiels pour la santé, y compris les risques additionnels dus à la consommation du tabac, les précautions à prendre pour prévenir l'exposition, les prescriptions en matière d'hygiène, le port et l'emploi des équipements et des vêtements de protection, les mesures à prendre par les travailleurs, notamment par le personnel d'intervention, en cas d'incident et pour la prévention d'incidents.

La formation à la sécurité et l'information doivent être adaptées à l'évolution des risques et à l'apparition de risques nouveaux. Elles sont répétées (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «régulièrement. En tout état de cause, elles doivent favoriser une application des règles de prévention adaptée à l'évolution des connaissances et des techniques.»

(*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «Cette information des travailleurs porte sur les effets potentiellement néfastes de l'exposition à ces substances chimiques sur la fertilité, sur l'embryon en particulier lors du début de la grossesse, sur le fœtus et pour l'enfant en cas d'allaitement. Elle doit sensibiliser les femmes quant à la nécessité de déclarer le plus précocement possible leur état de grossesse et les informer sur les mesures prévues aux articles L. 122-25-1 et R. 231-56-12.»

II. — En outre, le chef d'établissement est tenu d'informer les travailleurs de la présence d'agents cancérogènes (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «mutagènes ou toxiques pour la reproduction» dans les installations, et il doit veiller à ce que les récipients annexes qui contiennent de tels agents soient étiquetés de manière claire et lisible. Le danger est signalé par tout moyen approprié.

Art. R. 231-56-10 I. — Les travailleurs et les membres du comité d'hygiène, de sécurité et des conditions de travail ou, à défaut, les délégués du personnel doivent pouvoir vérifier que les dispositions de la présente sous-section sont appliquées notamment en ce qui concerne, d'une part, les conséquences sur la sécurité et la santé des choix et de l'utilisation des vêtements et des équipements de protection et, d'autre part, les mesures mentionnées au premier alinéa du I de l'article R. 231-56-6;

II. — Les travailleurs et les membres du comité d'hygiène, de sécurité et des conditions de travail ou, à défaut, les délégués du personnel, ainsi que le médecin du travail, sont informés le plus rapidement possible des expositions anormales, y compris celles qui sont mentionnées à l'article R. 231-56-6, de leurs causes et des mesures prises ou à prendre pour y remédier.

(*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) «III. — L'employeur tient une liste actualisée des travailleurs employés dans les activités pour lesquelles l'évaluation des risques prévue au I de l'article R. 231-56-1 met en évidence un risque concernant la sécurité ou la santé en précisant la nature de l'exposition et sa durée, ainsi que son degré tel qu'il est connu par les résultats des contrôles effectués.

L'employeur établit pour chacun de ces travailleurs une fiche d'exposition comprenant les informations suivantes:

«a) La nature du travail effectué, les caractéristiques des produits, les périodes d'exposition et les autres risques ou nuisances d'origine chimique, physique ou biologique du poste de travail;

«b) Les dates et les résultats des contrôles de l'exposition individuelle au poste de travail ainsi que la durée et l'importance des expositions accidentelles.

«IV. — Chaque travailleur concerné est informé de l'existence de la fiche d'exposition et a accès aux informations le concernant. Le double de cette fiche est transmis au médecin du travail.

«V. — Sans préjudice des dispositions prises en application de l'article L. 236-3, les informations mentionnées au présent article sont recensées par poste de travail et tenues à disposition des membres du comité d'hygiène, de sécurité et des conditions de travail ou, à défaut, des délégués du personnel.»

Art. R. 231-56-11 (*Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001*) I. — a) Un travailleur ne peut être affecté à des travaux l'exposant à un agent cancérigène, mutagène ou toxique pour la reproduction que s'il a fait l'objet d'un examen préalable par le médecin du travail et si la fiche d'aptitude, établie en application de l'article R. 241-57 du présent code ou du I de l'article 40 du décret n° 82-397 du 11 mai 1982 relatif à l'organisation et au fonctionnement des services médicaux du travail en agriculture, s'il s'agit d'un salarié agricole, atteste qu'il ne présente pas de contre-indication médicale à ces travaux.

Cette fiche indique la date de l'étude du poste de travail et celle de la dernière mise à jour de la fiche d'entreprise.

L'examen médical pratiqué en application des dispositions de l'alinéa précédent comprend un examen clinique général et, selon la nature de l'exposition, un ou plusieurs examens spécialisés complémentaires auxquels le médecin du travail procède ou fait procéder. Ces examens sont à la charge de l'employeur.

Cette fiche d'aptitude est renouvelée au moins une fois par an, après examen par le médecin du travail.

Chaque travailleur est informé par le médecin du travail des résultats et de l'interprétation des examens médicaux et complémentaires dont il a bénéficié.

Le travailleur ou l'employeur peut contester les mentions portées sur la fiche d'aptitude, dans les quinze jours qui suivent sa délivrance, auprès de l'inspecteur du travail. Ce dernier statue après avis conforme du médecin inspecteur régional du travail et de la main-d'oeuvre, qui peut faire pratiquer, aux frais de l'employeur, des examens complémentaires par les spécialistes de son choix.

Les instructions techniques précisant les modalités des examens des médecins du travail assurant la surveillance médicale des travailleurs exposés à des agents cancérigènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction sont définies, en tant que de besoin, par arrêté des ministres chargés du travail et de l'agriculture.

b) En dehors des visites périodiques, l'employeur est tenu de faire examiner par le médecin du travail tout travailleur qui se déclare incommodé par des travaux qu'il exécute. Cet examen peut être réalisé à l'initiative du travailleur.

c) Le médecin du travail est informé par l'employeur des absences pour cause de maladie d'une durée supérieure à dix jours des travailleurs exposés aux agents cancérigènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction.

II. — a) Si un travailleur est atteint soit d'une maladie professionnelle, soit d'une anomalie susceptible de résulter d'une exposition à des agents cancérigènes ou mutagènes, tout le personnel ayant subi une exposition comparable sur le même lieu de travail fait l'objet d'un examen médical, assorti éventuellement d'examens complémentaires.

b) Si un travailleur présente une maladie ou une anomalie susceptible de résulter d'une exposition à des agents toxiques pour la reproduction, le médecin du travail apprécie quels examens mettre en oeuvre pour le personnel ayant subi une exposition comparable.

Dans tous ces cas, conformément aux dispositions de l'article R. 231-56-1 ci-dessus, en vue d'assurer une meilleure protection de la santé et de la sécurité des travailleurs, une nouvelle évaluation des risques est effectuée.

III. — Le médecin du travail constitue et tient, pour chacun des travailleurs exposés, un dossier individuel contenant:

1° Le double de la fiche d'exposition prévue au III de l'article R. 231-56-10;

2° Les dates et les résultats des examens médicaux complémentaires pratiqués.

IV. — Ce dossier doit être conservé pendant au moins cinquante ans après la fin de la période d'exposition.

Ce dossier est communiqué, sur sa demande, au médecin inspecteur régional du travail et de la main-d'oeuvre et peut être adressé, avec l'accord du travailleur, au médecin choisi par celui-ci.

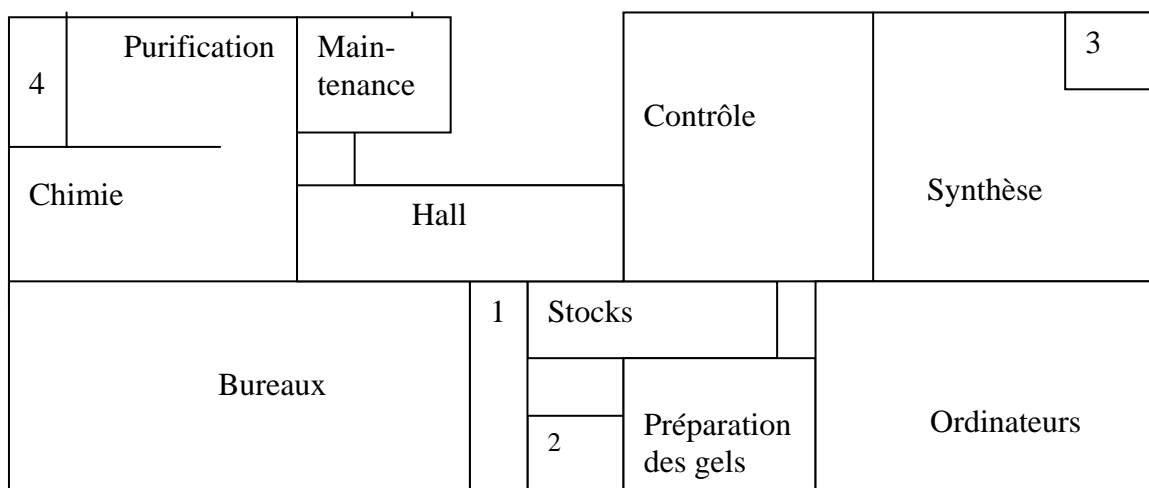
Si l'établissement vient à disparaître ou si le travailleur change d'établissement, l'ensemble du dossier est transmis au médecin inspecteur régional du travail et de la main-d'oeuvre, à charge pour celui-ci de l'adresser, à la demande du travailleur, au médecin du travail désormais compétent.

V. — Une attestation d'exposition aux agents cancérigènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction est remplie par l'employeur et le médecin du travail dans les conditions fixées par arrêté conjoint des ministres chargés du travail et de l'agriculture. Elle est remise au travailleur à son départ de l'établissement, quel qu'en soit le motif.

Art. R. 231-56-12 (Décr. n° 2001-97 du 1^{er} févr. 2001) Les femmes enceintes et les femmes allaitantes ne peuvent être affectées ou maintenues à des postes de travail les exposant à des agents avérés toxiques pour la reproduction.

Annexe 4 : plan de l'entreprise

- 1-vestiaire
 2-salle de repos
 3-local isolé dans la salle de synthèse
 4-salle d'électrophorèse



BIBLIOGRAPHIE

- [1]- Douzou P, Durand G, Siclet G, « Les applications industrielles des biotechnologies », in Les biotechnologies, Paris, PUF, Que sais-je ?, 2001, p.89-122
- [2]-Vincent R, Kaupinnen T, Toikkanen J, Pedersen D, Young R, Kogevinas M, « CAREX :système international d'information sur l'exposition professionnelle aux agents cancérigènes en Europe. Résultats des estimations pour la France pendant les années 1990-1993 », INRS,1999, ND 2113-176-99
- [3]-Mohammed-Brahim B, « Laboratoires de recherche », in : Pairon JC, Brochard P, Bourgeois JP, and al, Les cancers professionnels Tome 2, Paris, Margaux-Orange, 2001, p.487-510
- [4]-Brochard P, Deschamps F, Doutrelot C and al « Le risque cancérigène : du repérage à la surveillance médicale », Arch mal prof, 2001, 62(1S) :1S63-1S76
- [5]-Fiche Toxicologique n° 119, INRS, 1992
- [6]-Lauwerys R, « Acrylamide », in : Lauwerys R, Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles, Paris, Masson,2000, p729-730
- [7]-IARC, « Acrylamide »,Monograph Eval Carcinog Risks Hum, 1994, vol 60 p389
- [8]-Sobel W, Bond G, Parsons T, Brenner F, « Acrylamide cohort mortality study », Br J Ind Med, 1986, 43 :785-788
- [9]-Collins J and al, « Mortality patterns among workers exposed to acrylamide », J Occup Med, 1989, 31 :614-617
- [10]- Marsh G., Lucas L. ,Youk A., Schall L, « Mortality patterns among workers exposed to acrylamide :1994 follow-up », Occup Environ Med, 1999, 56 :181-190
- [11]- « Produits chimiques cancérigènes, mutagènes, toxiques pour la reproduction : classification réglementaire », INRS, 2002, ND 2168-187-02
- [12]- Fiche Toxicologique n° 34, INRS, 1997
- [13]-Lauwerys R, « Dichlorométhane », in : Lauwerys R, Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles, Paris, Masson,2000, p 381-382
- [14]-IARC, « Dichlorométhane », Monograph Eval Carcinog Risks Hum, 1999, vol 71 p251
- [15]-Dell L., Mundt K., McDonald M., Tritschler J., Mundt D, « Critical review of the epidemiology literature on the potential cancer risks of methylene chloride »,Int Arch of Occup Environ Health, 1999,72 :429-442

- [16]- Fiche Toxicologique n° 69, INRS, 2000
- [17]-Lauwerys R, « NN-diméthylformamide », in : Lauwerys R, Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles, Paris, Masson,2000, p 508-509
- [18]-Garnier R., Chataignier D., Efthymiou ML, « Toxicité du N,Ndiméthylformamide », Cahiers de Notes Documentaires, 1990, 140 :689-707
- [19]- IARC, « Diméthylformamide », Monograph Eval Carcinog Risks Hum 1999, vol 71 p545-574
- [20]-Calvert g, Fajen J, Hills B, Halperin W, « Testicular cancer, diméthylformamide, and leather tanneries », Lancet, 1990, 336 :1253-1254
- [21]-Ducatman A., Conwill D., Crawl J, « Germ cell tumors of the testicle among aircraft repairmen », J Urol 1986, 136(4) :834-836
- [22]-Chen J, Fayerweather W, Pell S, « Cancer incidence of workers exposed to diméthylformamide and/or acrylonitrile », J Occup Med, 1988, 30 (10) :813-818
- [23]-Walrath J., Fayerweather WE., Gilby P, « Etude cas-témoins de l'incidence des cancers chez les salariés de la société Du Pont de Nemours potentiellement exposés au diméthylformamide », Cahiers de Notes Documentaires, 1990, 140 :708-711
- [24]- Fiche Toxicologique n°54, INRS, 1997
- [25]-Lauwerys R, « 1,2-dichloroéthane », in : Lauwerys R, Toxicologie industrielle et intoxications professionnelles, Paris, Masson,2000, p 384-385
- [26]-IARC, « 1,2-dichloroéthane », Monograph Eval Carcinog Risks Hum, 1999, 71 :501-529
- [27]-Hogstedt c, Rohlen O, Berndtsson B, Alexson O, Ehrenberg L, « A cohort study of mortality and cancer incidence in ethylene oxide production workers », Br J Ind Med, 1979, 36 :276-280
- [28]-Sweeney M, Beaumont J, Waxweiler R, Halperin W, « An investigation of mortality from cancer and other causes of death among workers employed at an East Texas chemical plant », Arch Environ Health, 1986, 41(1) :23-28
- [29]-Benson L, Teta M, « Mortality due to pancreatic and lymphopoietic cancers in chlorhydrin production workers », Br J Ind Med, 1993, 50 :710-716
- [30]-Olsen G and al, « Mortality from pancreatic and lymphopoietic cancer among workers in ethylene and propylene chlorhydrin production », Occup Environ Med, 1997, 54 :592-598
- [31]-Forsberg K, Mansdorf S, in : « Quick selection guide to chemical protective closing », New-York, 1997, John Wiley and sons, p. 54

[32]-Forsberg K, Mansdorf S, in : « Quick selection guide to chemical protective clothing », New-York, 1997, John Wiley and sons, p. 69-70 et p. 90

[33]- Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG), « Acrylamide », in DFG : « Biological exposure values for occupational toxicants and carcinogens, Critical data evaluation for BAT and EKA values », Wiley-VCH, Weinheim, 1999, p.243-248

[34]- « Dichlorométhane » in : Conso F, Pillière F, « Biotox : guide biotoxicologique pour les médecins du travail, inventaire des laboratoires effectuant des dosages biologiques de toxiques industriels », INRS, 2002, ED 791, p.105

[35]- Schneider O, Brondeau MT, « Indices biologiques d'exposition », INRS, 2003, ND 2190-191-03

[36]- « NN-diméthylformamide » in : Conso F, Pillière F, « Biotox : guide biotoxicologique pour les médecins du travail, inventaire des laboratoires effectuant des dosages biologiques de toxiques industriels », INRS, 2002, ED 791, p.113

RESUME

Les entreprises de biotechnologie forment un secteur d'activité peu étudié où les salariés manipulent de nombreux produits, parmi lesquels des substances cancérigènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction (CMR).

Ce travail présente une démarche d'évaluation du risque CMR dans une entreprise de ce secteur produisant de l'ADN et de l'ARN : le repérage et l'analyse du danger, puis l'évaluation de l'exposition par des études de poste et des prélèvements atmosphériques, permettent d'évaluer le risque CMR et de proposer des moyens de prévention techniques collectifs et individuels. Le contexte réglementaire et la surveillance médicale, en particulier l'intérêt de la biométrie, sont également abordés.

MOTS-CLES :

Evaluation des risques, CMR, acrylamide, 1,2-dichloroéthane, dichlorométhane, NN-diméthylformamide