Place du 1 hydroxy-pyrène urinaire dans la surveillance biologique des cokiers

Guy Auburtin, Lucienne Mayer

▶ **To cite this version:**

Guy Auburtin, Lucienne Mayer. Place du 1 hydroxy-pyrène urinaire dans la surveillance biologique des cokiers. 34. Journées Médicales de Charbonnages de France, Mar 1994, Saint-Etienne, France. pp.146-154. ineris-00971906

HAL Id: ineris-00971906

https://ineris.hal.science/ineris-00971906

Submitted on 3 Apr 2014

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

XXXIVe Journées Médicales de Charbonnages de France, 24-25/03/94 146

94-47

Place du 1 hydroxy-pyrène urinaire dans la surveillance biologique des cokiers

G. AUBURTIN (1) *et L. MAYER* (2)

(1) INERIS - (2) Services médicaux du Travail - HBL

Le travail sur les fours à coke ou à proximité immédiate de ceux-ci expose les travailleurs à des substances diverses, en particulier des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) dont plusieurs génotoxiques. Ces travaux ont fait l'objet, depuis plusieurs années, de recherches dans le domaine de la mesure des expositions et dans le domaine épidémiologique.

L'utilisation de marqueurs biologiques tente de quantifier les différentes étapes entre exposition et maladie. D'une façon générale et schématique, on distingue des marqueurs biologiques d'exposition, des marqueurs d'effet biologique et des marqueurs de susceptibilité.

Actuellement l'exposition des travailleurs de cokeries aux HAP est mesurée à l'aide de mesures externes individuelles pendant le poste de travail. Ces mesures ont permis de définir des zones d'exposition sur les fours ou à proximité de ceux-ci. Ces mesures d'exposition externes varient en fonction de paramètres divers, climatiques (vent, pression atmosphérique), le type de charbons ...

La détermination, dans les urines, des métabolites hydroxylés des hydrocarbures aromatiques polycycliques a été étudiée depuis plusieurs années, comme marqueur de "dose interne" dans plusieurs environnements de travail, dont des cokeries. Parmi ces métabolites hydroxylés, le 1 hydroxy-pyrène, métabolite du pyrène, apparaît comme le plus représentatif du mélange de HAP. Sa durée de demi-vie (une vingtaine) d'heures en fait un marqueur de l'exposition récente.

Nous avons étudié ce métabolite dans deux projets portant sur des ouvriers de la cokerie de Carling. Dans le premier projet, le 1 hydroxy-pyrène urinaire a été dosé chez 49 sujets "exposés" au fumées de cokerie (parmi les plus exposés de la cokerie) et 41 témoins "non exposés". Il était apparu qu'il existait une différence significative entre fumeurs et non fumeurs. A la date des travaux, cette différence n'était pas relatée dans les publications sur le sujet ; elle est actuellement reconnue. Entre le premier jour et le cinquième jour d'un cycle de travail, le 1 hydroxy-pyrène urinaire augmentait significativement dans le sous-groupe des exposés non fumeurs (multiplié par 3). Dans le même temps il augmentait également (multiplié par 2) pour les exposés fumeurs mais de façon non significative. Il n'augmentait plus significativement entre les jours 5 et 21 pour les exposés non fumeurs, évoquant un phénomène de saturation du métabolisme.

Le deuxième projet est une étude de la cinétique d'élimination du 1 hydroxy-pyrène urinaire en situation de travail. Les principaux éléments de ce projet sont l'objet de ce texte.

Méthodes.

Population d'étude.

Deux groupes de travailleurs ont été sélectionnés :

- Dix ouvriers cokiers, appartenant à deux équipes travaillant sur les fours ou à proximité immédiate de ceux-ci. Ces postes de travail sont les plus exposés de la cokerie. Les deux équipes travaillaient sur les deux batteries de fours existantes dans cette cokerie, aux même horaires (donc mêmes conditions climatiques). Ces ouvriers ont été sélectionnés parmi la vingtaine d'ouvriers de ces deux équipes de façon à obtenir la moitié de fumeurs et de non-fumeurs (en fait respectivement 4 et 6).

- Dix ouvriers de la Centrale de Carling (Houillères du Bassin de Lorraine), proche de la cokerie, non exposés professionnellement aux HAP. Une exposition environnementale est possible mais négligeable par rapport aux niveaux d'exposition des ouvriers cokiers. Les dosages portant sur ces ouvriers de centrale ne font pas l'objet de ce rapport.

Les sujets ont été sélectionnés à l'issue d'une séance de re-sensibilisation sur les risques liés aux HAP et d'information sur les résultats de la première étude. Au cours de cette séance un auto-questionnaire portant leur exposition extra professionnelle aux HAP (mode de chauffage, habitudes tabagiques, quelques questions portant sur l'alimentation, loisirs) a été recueilli ainsi que leur consentement écrit à participer au projet.

Les ouvriers des deux groupes avaient des horaires de travail alternants selon le rythme : 1 semaine de matin (6 h-14 h), 1 semaine d'après-midi (14 h-22 h), une semaine de nuit (22 h-6 h), 10 jours de repos. Le samedi et le dimanche la durée de travail était de 12 heures (6 h-18 h ou 18 h-6 h). Le cycle de travail commençait un dimanche matin.

Stratégie d'échantillonnage.

Les prélèvements d'urines ont eu lieu pendant un cycle complet de travail, incluant les jours de repos hebdomadaire et les 10 jours de repos de fin de cycle soit 35 jours, en octobre-novembre 1992. Ces prélèvements d'urine ont été effectués 4 fois par jour pendant les jours de travail de semaine (début de poste, milieu de poste, fin de poste, milieu du temps de repos quotidien), 5 fois par jour les samedis et dimanches travaillés (2 prélèvements en cours de poste) et 3 fois par jour les jours de repos (matin, midi et soir).

Des prélèvements individuels de particules dans l'air ont été effectués lors de chacun des 20 postes de travail. Au total 199 prélèvements ont été réalisés parmi les 10 ouvriers cokiers (un ouvrier a été absent un jour pendant cette période). Ces prélèvements ont été réalisés en filtrant l'air, pompé à l'aide de pompes individuelles "Gillian", sur des membranes en fibre de verre. Les membranes étaient montées sur un porte-filtre ouvert (sans sélection granulométrique) porté à proximité des voies aériennes. Les salariés avaient été informés des conditions de port. On s'est aperçu au cours du cycle d'une tendance à porter les pompes et les porte-filtres dans les conditions les moins gênantes et parfois l'ouverture vers le haut. Un technicien de laboratoire avait été formé à la maintenance des équipements de prélèvements. Il était également chargé de noter les remarques concernant le détail des travaux de la journée et les caractéristiques de chaque prélèvement (durée, volume d'air prélevé, anomalies).

A l'examen oculaire certaines membranes présentaient, en plus du dépôt grisâtre de poussières, une "pollution" par des particules plus grosses, d'allure goudronneuse.

Pour des raisons de coût (temps de travail), il n'était pas question d'effectuer des dosages sur chaque prélèvement d'urines, et donc sur les prélèvement d'air correspondants, mais d'appliquer une stratégie par étapes.

Dans un premier temps les dosages ont été effectués sur la totalité des échantillons d'urines prélevées pendant les 10 premiers jours du cycle auprès de trois sujets (deux fumeurs, un non fumeur) et sur la totalité des membranes correspondantes. Dans un second temps, des dosages ont été effectués sur les urines des 7 ouvriers cokiers restant, prélevées le lundi et le mardi de la deuxième semaine et sur les membranes correspondantes. La distribution des valeurs de BaP et de pyrène sur ces 71 membranes montrait de grandes variations et notamment des valeurs très éloignées des concentrations attendues. Il semblait donc que la "pollution" par des grosses particules pouvait avoir entraîné une majoration des concentrations de BaP et de pyrène pour certaines membranes. Dans un troisième temps, toutes les membranes restantes (n = 128) ont été examinées à la loupe binoculaire. Lorsque des dépôts goudronneux étaient visibles à la surface des membranes leur diamètre était le plus souvent supérieur à 50 µ, contrastant nettement avec les fines particules. Il a été décidé de doser le BaP et le pyrène sur toutes celles qui ne présentaient pas de dépôt de particules d'un diamètre supérieur à 50 µ (n = 66) et d'effectuer un dosage du 1 hydroxy-pyrène urinaire pour les prélèvements correspondants. Les membranes présentant des dépôts particulaires d'un diamètre supérieur à 50 µ (n = 62) n'ont pas fait l'objet d'analyse. Le tableau I résume la répartition des membranes selon ce schéma d'échantillonnage. De ce fait les membranes examinées ne procédaient pas d'une sélection aléatoire. Cette constatation n'interdit pas d'étudier des relations entre dose interne et dose externe, mais doit rendre prudent quant à l'utilisation de ces mesures pour caractériser les pollutions moyennes des différents postes de travail.

Tableau I : Répartition des membranes selon leur "pollution" par des grosses particules.

Caractéristiques des membranes	Nombre
Total des membranes ayant fait l'objet d'un dosage du BaP et du Pyrène dont :	**137**
membranes n'ayant pas fait l'objet d'un examen à la loupe	71
membranes sans dépôt apparent de particules de diamètre > 50 µ	66
Membranes avec dépôt apparent de particules de diamètre > 50 µ	**62**
Total des membranes prélevées	**199**

Méthode de dosage et expressions des résultats.

Le dosage du pyrène et du benzo(a)pyrène (BaP) a été réalisé par chromatographie liquide haute pression (HPLC) après extraction dans le toluène.

Les concentrations en benzo-a-pyrène (CBaP) et en pyrène (CPyr) dans les particules ont été rapportées à une durée théorique de 8 h et sont exprimées en µg/m^3 d'air.

Les membranes pour lesquelles la concentration en BaP était supérieure à 5 µg/m^3 ont été considérées comme potentiellement contaminées par des grosses particules et n'ont pas été prises en compte dans les calculs suivants, la relation entre dose externe et dose interne étant estimée à partir des 129 membranes restantes.

Le dosage du 1 hydroxy-pyrène urinaire a été réalisé en deux phases : une phase de préparation des échantillons et le dosage proprement dit. La préparation des échantillons comprend une hydrolyse enzymatique à température contrôlée (37°C) pendant 12 h puis une purification de l'extrait hydrolysé sur cartouche de silice greffée C18 et récupération de l'extrait méthanolique pour analyse. Le 1 hydroxy-pyrène a été dosé par chromatographie en phase liquide (HPLC) avec détection fluorimétrique (242/388 nm).

Les concentrations en 1 hydroxy-pyrène urinaire sont exprimées en moles/litre d'urine (mmol/l) et rapportées à la millimole de créatinine (dosée par méthode colorimétrique) pour tenir compte de la dilution (mmol/mol).

La reproductibilité des dosages a été mesurée en aveugle sur 19 échantillons choisis au hasard : la corrélation entre deux dosages effectuée à des dates différentes est excellente ($r = 0.96$, $p < 0,001$) (figure 1).

Résultats.

Comme attendu les valeurs représentant la dose externe sont bien corrélées entre elles : ($r = 0,72$, $p < 0,000$).

Des concentrations en 1 hydroxy-pyrène urinaire sont disponibles en plusieurs moments, au début du poste, au milieu du poste, en fin de poste et au coucher. Il est également possible de calculer des différence de concentration entre le début et la fin du poste.

Description des concentrations en 1 hydroxy-pyrène urinaire.

L'examen graphique des concentrations en 1 hydroxy-pyrène urinaire met en évidence les faits suivants :

- Les concentrations en 1 hydroxy-pyrène urinaire présentent une évolution au cours du temps tout à fait caractéristique. La figure 2 présente cette évolution pour 1 sujet au cours de la première semaine. L'augmentation est rapide au cours du poste et il existe une diminution pendant le temps de repos entre deux jours successifs. Il apparaît cependant que la concentration au début du poste augmente au cours de la semaine et qu'elle retourne à son niveau de base après le week-end.

- Ce profil évolutif varie en fonction des personnes. En particulier il a été mis en évidence qu'un des 10 sujets présentait un profil évolutif de type caractéristique mais à des niveaux nettement supérieurs. Cette différence est exprimée sur la figure 3. Cette variabilité individuelle doit être prise en compte dans l'utilisation du marqueur.

Le tableau II présente les valeurs moyennes et la distribution des concentrations en 1 hydroxy-pyrène urinaire au différents temps chez les fumeurs et les non-fumeurs. Il s'agit de données brutes qui ne tiennent pas compte du jour de la semaine. Le sujet qui présente des niveaux très élevés est un non-fumeur et n'a pas été pris en compte dans ces calculs. Elles ont pour but d'illustrer l'évolution globale entre les différents temps. Ces résultats ne prennent pas en compte le fait de se protéger ou non contre les particules.

Tableau II : Distribution des concentrations en 1 hydroxy-pyrène urinaire (mmol/mol) aux différents temps.

Temps	n	moy. géom.	é-t-g	min	max
Début de poste					
Non fumeurs	30	0,98	2,36	0,14	5,28
Fumeurs	23	1,73	1,84	0,35	4,71
Milieu de poste					
Non fumeurs	29	1,27	1,93	0,37	5,21
Fumeurs	18	1,97	2,08	0,24	5,45
Fin de poste					
Non fumeurs	26	1,67	1,82	0,64	4,55
Fumeurs	18	2,97	1,70	1,17	8,41
Coucher					
Non fumeurs	20	1,30	2,41	0,21	8,21
Fumeurs	12	3,42	1,82	0,21	7,05

moy. géom. : moyenne géométrique; é-t-g : écart type géométrique : représentation des valeurs moyennes en raison du caractère log-normal de la distribution

Les moyennes de concentrations entre la fin du poste et le début du poste sont significativement différentes (écart moyen: 0,58; I.C. 95 %: 0,47-0,71 ; n=58 ; t-test pour paire sur log). Ceci est vrai qu'il s'agisse de sujets fumeurs ou non fumeurs et parmi les non fumeurs.

Corrélation entre dose externe et dose interne.

Des études de corrélations ont été effectuées entre les indicateurs de la dose externe (concentrations en benzo-a-pyrène (CBaP) et en pyrène (CPyr)) et les concentrations de 1 hydroxy-pyrène urinaire aux différents temps. Le tableau III présente ces corrélations. Parmi les sujets non fumeurs, le sujet aux valeurs élevées n'a pas été pris en compte.

Tableau III : Corrélations entre concentration de 1 hydroxy-pyrène urinaire et dose externe.

	Fumeurs			Non fumeurs		
	n	r	sig.	n	r	sig.
1 hydroxy-pyrène urinaire au début du poste et dose externe						
CBaP	23	0,23	n.s.	41	0,09	n.s.
CPyr	23	-0,10	n.s.	41	-0,04	n.s.
1 hydroxy-pyrène urinaire au milieu du poste et dose externe						
CBaP	18	0,37	n.s.	40	-0,02	n.s.
CPyr	18	0,03	n.s.	40	-0,14	n.s.
1 hydroxy-pyrène urinaire en fin de poste et dose externe						
CBaP	18	0,53	0,02	35	0,00	n.s.
CPyr	18	0,04	n.s.	35	0,16	n.s.
1 hydroxy-pyrène urinaire au réveil et dose externe						
CBaP	13	0,22	n.s.	26	0,24	n.s.
CPyr	13	0,22	n.s.	26	-0,05	n.s.
1 hydroxy-pyrène urinaire au coucher et dose externe						
CBaP	13	0,26	n.s.	7	-0,30	n.s.
CPyr	13	-0,12	n.s.	7	-0,36	n.s.
Différence de concentration entre début et fin de poste et dose externe						
CBaP	18	0,39	0,11	35	-0,08	n.s.
CPyr	18	0,11	n.s.	35	0,19	n.s.

L'étude de ces tests de corrélation met en évidence que :

- chez les fumeurs la concentration en 1 hydroxy-pyrène des urines en fin de poste est corrélée significativement avec la dose externe mesurée par la concentration en BaP dans les particules de l'air ($r = 0,53$; $p = 0,02$). La différence de concentration en 1 hydroxy-pyrène urinaire entre fin de poste et début de poste est plus faible et non significative ($r = 0,39$; $p = 0,11$). Le faible nombre d'échantillons testé est peut être la cause de cette non significativité. Aucune corrélation n'est significative avec le pyrène.

- chez les non fumeurs, si l'on exclut le sujet aux valeurs très élevées, aucune estimation de la concentration en 1 hydroxy-pyrène urinaire n'est corrélée avec la dose externe. Ceci est vrai pour le BaP et le pyrène. Trois des sujets non fumeurs se protègent en permanence contre les particules (masques jetable ou à cartouche) et deux ne se protègent pas ou inconstamment. Il n'a pas été possible de mettre en évidence de différence dans la relation dose externe-dose interne selon la protection.

Discussion et conclusion.

Les résultats de ce projet ont permis de mettre en évidence certains aspects. Le 1 hydroxy-pyrène urinaire est bien un marqueur de l'exposition aux HAP. Son profil évolutif suit bien les moments d'exposition. Comme nous l'avions vu dans le précédant projet il existe un certain degré d'accumulation au long de la semaine de travail. Mais, du fait qu'il s'agit d'un marqueur de l'exposition récente, les niveaux redescendent après quelques jours de repos.

Il existe d'importantes variations interindividuelles qu'il sera nécessaire de prendre en compte.

L'influence du tabac a été retrouvée sur les concentrations en 1 hydroxy-pyrène urinaire. Ceci n'est pas étonnant puisque la consommation de tabac expose à l'inhalation de pyrène.

En moyenne la concentration entre la fin du poste est significativement supérieure à celle du début du poste, qu'il s'agisse de fumeurs ou de non fumeurs. Cependant, à un niveau individuel, c'est chez les fumeurs et eux seuls que nous avons retrouvé une relation entre dose interne et dose externe. Nous n'avons pas retrouvé une telle relation chez les sujets non fumeurs chez lesquels on attendait pourtant une relation plus importante que chez les fumeurs. Cette constatation mériterait d'être confirmée et, le cas échéant, expliquée.

L'utilisation du 1 hydroxy-pyrène urinaire dans la surveillance des cokiers en médecine du travail est intéressante en particulier chez les fumeurs qui sont, par ailleurs, plus exposés au risque de cancer du poumon (co-cancérogénèse). Elle demeure un élément complémentaire des mesures externes et nécessitent la prise en compte des paramètres individuels.

Figure 1.

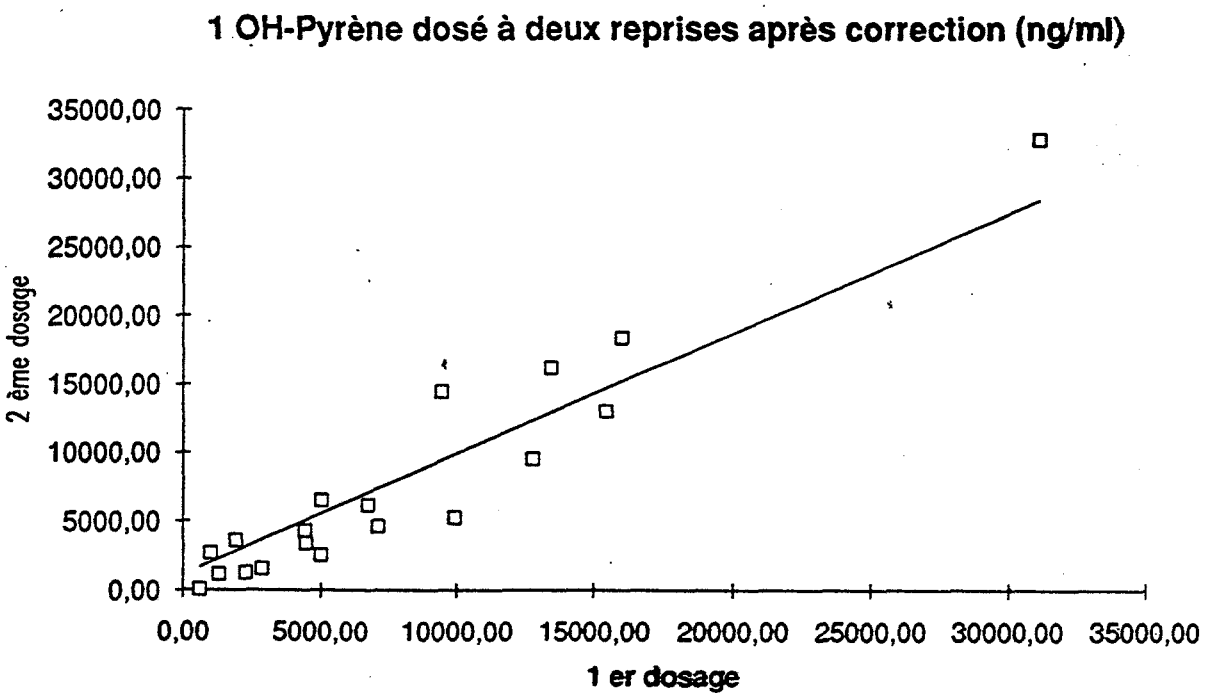

1 OH-Pyrène dosé à deux reprises après correction (ng/ml)
2 ème dosage
35000,00
30000,00
25000,00
20000,00
15000,00
10000,00
5000,00
0,00
0,00
5000,00
10000,00
15000,00
20000,00
25000,00
30000,00
35000,00
1 er dosage

Figure 2

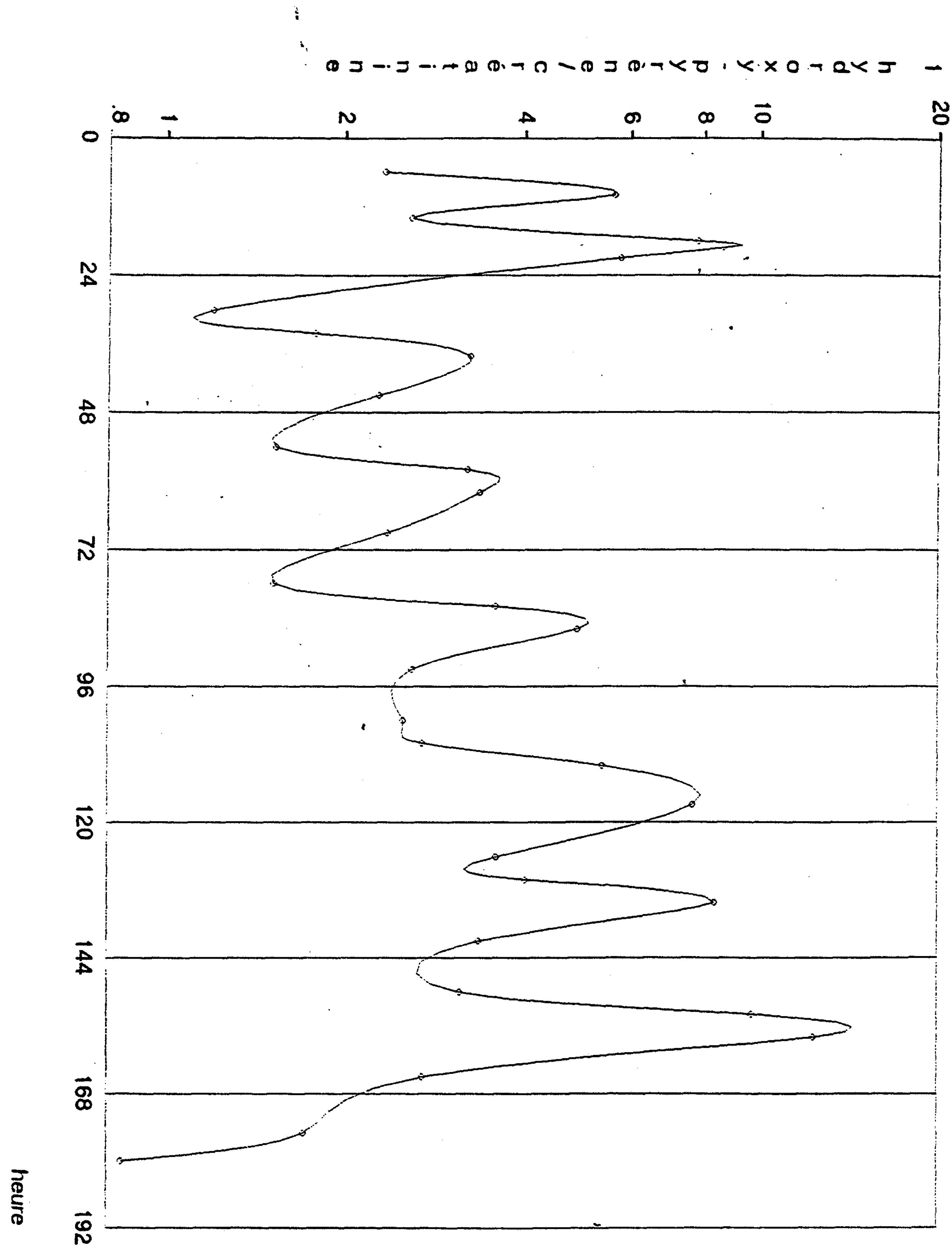
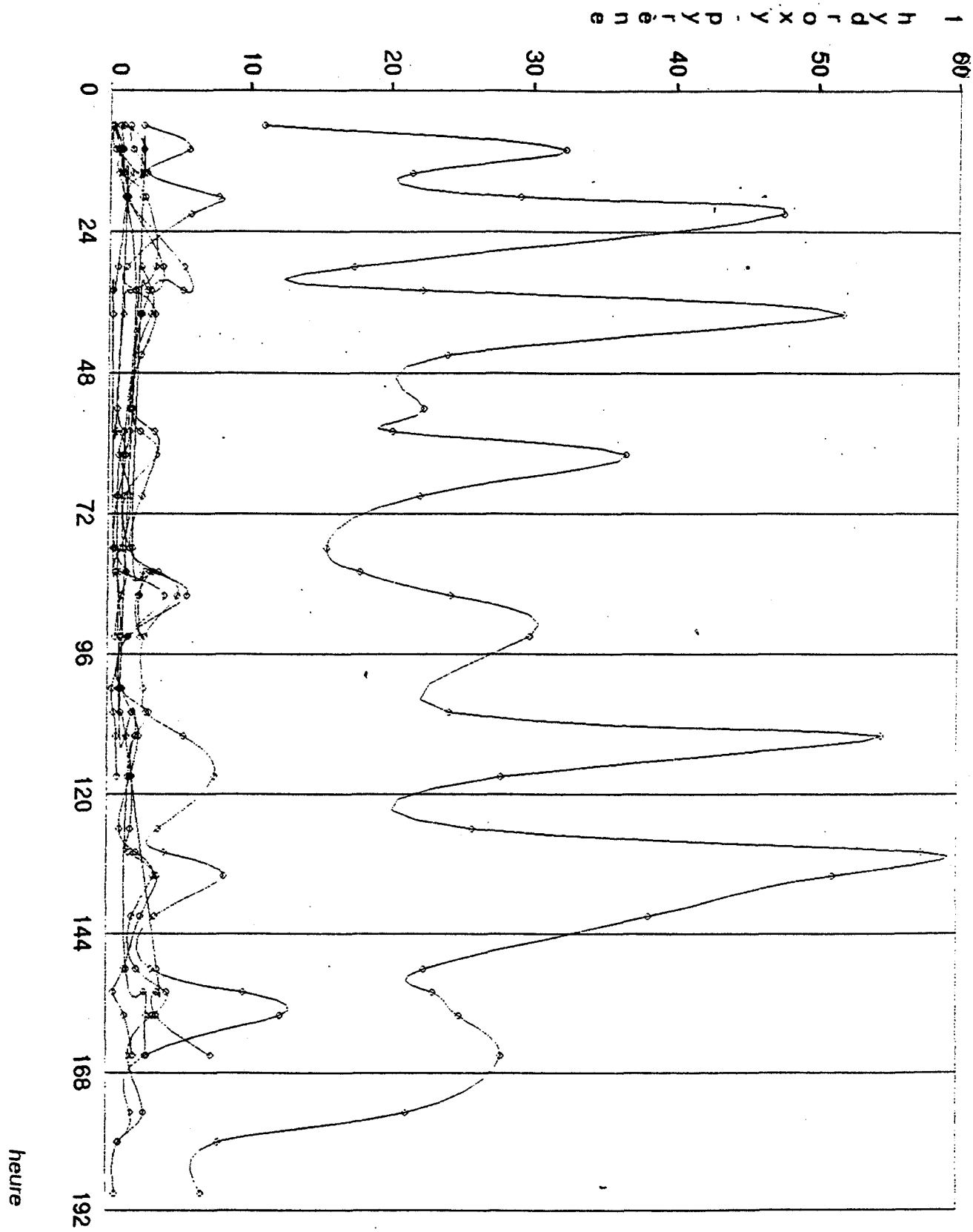

1 hydroxy-pyrene/creatinine
.8
1
2
4
6
8
10
20
0
24
48
72
96
120
144
168
192
heure

Figure 3


1 hydroxy-pyrène
0
10
20
30
40
50
60
0
24
48
72
96
120
144
168
192
heure