

Place des analyses biométriologiques dans l'évaluation rétrospective des expositions à l'amiante

J.-C. PAIRON (1, 2), P. DUMORTIER (3)

(1) Service de pneumologie et pathologie professionnelle, Centre Hospitalier Intercommunal, 40, avenue de Verdun, 94010 Créteil

(2) Laboratoire d'étude des particules inhalées, 11-13, rue G. Eastman, 75013 Paris

(3) Laboratoire de minéralogie, Hôpital Erasme, 808, route de Lennik, 1070-Bruxelles.

SUMMARY

Mineral fiber analysis and assessment of past exposure to asbestos.

Despite intrinsic limitations due to differences in the biopersistence of the various asbestos types, in the definition of control populations and in analytical techniques used by the laboratories, mineralogical analysis of biological samples is useful in the assessment of past exposure to asbestos. It provides additional information to occupational and environmental questionnaires, particularly when exposure to asbestos is doubtful, unknown or forgotten by a subject. Results should be interpreted taking into account clinical information. A positive result does not mean existence of asbestos-related disease. A negative result does not

exclude previous significant asbestos exposure, clearly identified by an occupational questionnaire (particularly for exposure to chrysotile). Threshold values indicative of a high probability of previous asbestos exposure have been established for bronchoalveolar lavage fluid (BALF) samples and lung tissue samples. Quantification of asbestos bodies by light microscopy is easy to perform. Sensitivity and specificity of this analysis towards the total pulmonary asbestos fiber burden is good. Therefore this analysis should be performed first. Mineralogical analysis in BALF or lung tissue should be considered only when sampling is supported by diagnostic or therapeutic implications.

Key-words : Asbestos bodies. Asbestos fibres. Lung tissue.

RÉSUMÉ

En dépit de limitations intrinsèques liées aux différences de biopersistence des différents types d'amiante, dans la définition des populations de référence et dans les techniques analytiques mises en œuvre par les laboratoires, la biométriologie constitue un outil performant pour l'évaluation rétrospective des expositions à l'amiante. Les analyses biométriologiques complètent ou pallient les insuffisances du questionnaire ou de l'enquête professionnelle, surtout lorsque l'exposition est douteuse, ignorée ou oubliée. Les résultats doivent être interprétés dans le cadre du contexte clinique et professionnel, un résultat positif n'étant pas automatiquement le signe de l'existence d'une pathologie liée à l'amiante et un résultat négatif ne permettant pas d'exclure une exposition clairement définie par le curriculum laboris du patient

(surtout dans le cas d'expositions au chrysotile). Des seuils validés signant une forte présomption d'exposition existent pour les prélèvements de LBA et de parenchyme pulmonaire. De par la simplicité de sa réalisation et ses performances (sensibilité, spécificité) vis-à-vis de l'histoire professionnelle et de la charge pulmonaire en fibres d'amiante, le comptage de corps asbestosiques en microscopie optique doit être utilisé en première intention. Le recours à une procédure invasive pour collecter des échantillons destinés à l'analyse biométriologique doit être évité en dehors d'indications cliniques diagnostiques et/ou thérapeutiques justifiant cette procédure.

Mots-clés : Corps asbestosiques. Fibres d'amiante. Poumon.

L'exploration d'un sujet ayant eu une exposition à l'amiante ou d'un patient porteur d'une pathologie présumée asbestosique peut faire appel à divers outils, en particulier pour préciser le niveau d'exposition cumulée à l'amiante et la rétention pulmonaire en fibres d'amiante.

L'objectif de ce travail est de rappeler les techniques analytiques disponibles pour la quantification de l'amiante dans les échantillons biologiques chez l'homme, de préciser les limites des analyses minéralogiques des échantillons biologiques, et d'évaluer les performances de cet outil biométriologique par rapport à d'autres méthodes d'évaluation de l'exposition à l'amiante. Les utilisations possibles des analyses biométriologiques au cours de la pratique clinique pneumologique, en médecine du travail, ou dans le cadre d'études épidémiologiques seront discutées.

Aspects techniques de la quantification de l'amiante dans les échantillons biologiques (échantillonnage, préparation, techniques analytiques)

Il s'agit d'étapes essentielles, conditionnant la fiabilité du résultat de l'analyse et qui ont fait l'objet d'un consensus au niveau des laboratoires européens spécialisés dans l'analyse des fibres d'amiante dans des échantillons biologiques [1].

L'analyse minéralogique d'échantillons d'origine pulmonaire (tissu pulmonaire, liquide de lavage broncho-alvéolaire (LBA), expectoration) a pour objectif d'évaluer le niveau de rétention pulmonaire de fibres au moment du prélèvement de l'échantillon. Ce niveau de rétention intègre à la fois les phénomènes de dépôt des fibres dans le tractus respiratoire et de clairance (épuration, translocation vers un autre site). La pertinence d'une analyse minéralogique visant à quantifier les fibres d'amiante nécessite l'utilisation d'échantillons représentatifs du tissu pulmonaire, l'emploi de techniques de préparation et de lecture adéquates (imposant des contrôles de qualité, des techniciens-analystes entraînés, des outils analytiques et un mode d'expression des résultats appropriés).

Ces différents aspects ont été détaillés dans les recommandations élaborées par le groupe de travail de l'*European Respiratory Society* et sont résumés dans le *tableau I* [1].

En résumé, les seuls échantillons utilisables dans une optique d'évaluation qualitative et quantitative des expositions à l'amiante sont les pièces de parenchyme pulmonaire prélevées à l'occasion de thoracotomie (incluant les autopsies, et dans certains cas les prélèvements effectués au cours de thoracoscopie lorsqu'ils sont de taille suffisante) et les échantillons de liquide de lavage broncho-

alvéolaire. L'utilisation d'échantillons d'expectorations nécessite d'être validée avant d'être envisagée en routine ou à des fins médico-légales même si plusieurs auteurs ont utilisé l'analyse minéralogique en microscopie optique (MO) dans ce type d'échantillons pour caractériser des expositions antérieures [2, 6]. Les prélèvements pleuraux effectués au cours de thoracoscopie peuvent être utilisés à des fins de caractérisation qualitative des expositions ou quantitative de rétention au niveau pleural, mais doivent être réservés actuellement à des protocoles de recherche. D'autres échantillons biologiques (en particulier épanchements pleuraux, épanchements péritonéaux, tumeurs de siège variable, adénopathies, plaques pleurales ou épaississements pleuraux diffus...) ne doivent pas être utilisés en vue d'une évaluation quantitative de l'exposition à l'amiante.

Le prélèvement de tissu pulmonaire peut être réalisé à n'importe quel moment par rapport à l'exposition. L'analyse en microscopie optique d'un lavage broncho-alvéolaire peut également être réalisée à un temps indifférent par rapport à la fin de l'exposition. La caractérisation des fibres en microscopie électronique dans un échantillon de LBA aura essentiellement un intérêt qualitatif (typage des fibres) si l'on ne peut être assuré qu'un délai suffisant (en pratique, environ 1 mois) a été observé entre la fin de l'exposition et la réalisation du lavage (afin de s'affranchir d'une éventuelle exposition récente avec dépôt bronchique sujet à une épuration rapide) [7].

Compte-tenu de la spécificité de ce type d'analyses, il paraît important qu'elles soient réalisées par des laboratoires spécialisés, disposant de personnels ayant reçu une formation spécifique et de résultats analytiques sur des populations de référence (*tableau I*).

Les résultats des analyses sont exprimés en nombre de corps asbestosiques par ml de LBA ou par gramme de tissu sec, et au cours des analyses en microscopie électronique à transmission, en nombre de fibres par ml de LBA ou par gramme de tissu sec (avec typage de ces fibres : chrysotile ou variété d'amphiboles, et quantification des fibres de longueur supérieure à 5 mm).

Ainsi qu'il a été souligné par le groupe de travail de l'*European Respiratory Society*, l'analyse minéralogique d'un échantillon biologique permet de préciser le *niveau de rétention de fibres au moment du prélèvement de l'échantillon*, mais *ne fournit pas d'informations sur les fibres qui ont été épurées au fil du temps*. L'importance de ces phénomènes d'épuration ne doit pas être négligée dans le cas des expositions très anciennes et/ou des expositions exclusives au chrysotile, qui présente une biopersistance plus faible que les amphiboles. Il convient donc d'être prudent lors de l'interprétation d'un résultat biométriologique, surtout si celui-ci est voisin des valeurs observées dans des populations de référence (cf. *infra*).

TABLEAU I. — *Aspects techniques des analyses minéralogiques d'échantillons biologiques.*

Échantillon		
	Idéal	Acceptable
Tissu pulmonaire (congelé ou fixé par immersion dans du formol dépolvérisé à 10 %)	Tissu sain prélevé au cours de pneumonectomie ou autopsie, pool de 3 pièces de 1-2 cm ³ (apex du lobe supérieur, apex du lobe inférieur, base du lobe inférieur)	Tissu pulmonaire sain prélevé au cours de lobectomie voire thoracoscopie, minimum 1 cm ³ . Bloc de tissu sain inclus en paraffine
LBA (recueilli sur 10 ml de formol dépolvérisé à 10%)	Lobe moyen ou lingula (site opposé à la tumeur le cas échéant) 3 × 50 ml ou 5 × 20 ml, recueil minimum de 30 % Analyse cytologique confirmant l'origine alvéolaire Analyse sur environ 20 ml (prélevés sur 2 ^e ou 3 ^e fraction recueillies), non filtrés sur gaze	Prise en compte d'un résultat positif de l'analyse minéralogique si l'ensemble de ces critères ne sont pas respectés (par contre un résultat négatif peut faire évoquer un artefact technique)
Préparation		
	Avantages	Inconvénients
Digestion chimique et/ou incinération à basse température	Concentration et homogénéisation des particules et fibres Quantification du niveau de rétention (par ml de LBA ou par g de poumon sec)	Disparition des structures anatomiques et pathologiques (fibrose...) Absence d'information sur l'hétérogénéité pulmonaire de la rétention
Méthodes		
	Avantages	Inconvénients
Microscopie optique	Facilité, rapidité Faible coût Bonne sensibilité analytique (0,1 CA/ml LBA, 30 CA/g poumon sec)	Faible résolution, limitée aux CA ou fibres de diamètre > 0,2 µm Absence d'identification du type de fibres
Microscopie électronique à transmission couplée à une analyse chimique élémentaire (spectrométrie de rayons X en dispersion d'énergie)	Résolution élevée (identification de toutes les fibres) Identification du type de fibre Analyse granulométrique possible	Coût élevé Lourdeur analytique (durée, matériel, qualification du personnel) Sensibilité analytique médiocre (en général 50 F/ml LBA, 50 000 F/g de poumon sec)

CA : corps asbestosique ; LBA : liquide de lavage broncho-alvéolaire.

Il importe que la technique employée soit toujours la même au niveau d'un laboratoire donné, et fournisse des résultats reproductibles. Les analyses par les techniques complexes de microscopie électronique sont sujettes à une plus grande variabilité inter-laboratoires que les analyses en microscopie optique, ce qui souligne l'importance de l'établissement de valeurs de références propres à chaque laboratoire pour ce type d'analyse (cf. *infra*). Les techniques de ME sont les seules techniques qui permettent d'affirmer avec certitude la nature asbestosique de la fibre observée, et de préciser le type de fibre d'amianté en cause.

Evaluation des différents outils biométriologiques dans le contexte de la caractérisation des expositions à l'amianté

La démarche adoptée consiste à évaluer les performances de l'outil biométriologique en fonction du milieu analysé (LBA *versus* tissu pulmonaire), puis en fonction de la technique utilisée (comptage des corps asbestosiques en microscopie optique versus quantification de toutes les fibres d'amianté en microscopie électronique à transmission), enfin à évaluer le résultat de l'analyse minéralogique en fonction d'autres éléments de caractérisation de l'expo-

TABLEAU II. — Comparaison des résultats des analyses minéralogiques en microscopie optique dans le LBA et le parenchyme pulmonaire.

	n	Résultats originaux			Performance LBA versus poumon				
		LBA (CA/ml)	Poumon (CA/g)		Se	Sp	VPP**	VPN**	
			< 1 000	1 000					
De Vuyst <i>et coll.</i> 1988 [9]	100		< 1 1	47 5	21 27	56,2 %	90,4 %	84,4 %	69,1 %
Sébastien <i>et coll.</i> 1988 [8]	69*	LBA	< 1 1	23 6	14 26	65 %	79,3 %	81,2 %	62,2 %
Karjalainen <i>et coll.</i> 1996 [10]	65	LBA	< 1 1	14 3	12 36	75 %	82,3 %	92,3 %	53,8 %
Méta-analyse	234	LBA	< 1 1	84 14	47 89	65,4 %	85,7 %	86,4 %	64,1 %

* Données extrapolées à partir de la population originale.

** VPP et VPN dépendent de la prévalence des niveaux de rétention pulmonaire élevés en corps asbestosiques (CA) dans la population étudiée (valeurs non extrapolables à d'autres populations).

Se : sensibilité ; Sp : spécificité ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative. LBA : liquide de lavage bronchoalvéolaire.

sition (questionnaire professionnel). Pour chacune de ces comparaisons, des paramètres de sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive (VPP), valeur prédictive négative (VPN) ont été calculés à partir des publications originales, lorsque les informations fournies le permettaient. Il importe de rappeler que la sensibilité et la spécificité représentent des paramètres de performance du test (analyse minéralogique) qui dépendent du seuil de positivité choisi, mais pas de la prévalence de l'exposition à l'amiante dans la population étudiée. Par contre, VPP et VPN dépendent à la fois des propriétés du test (sensibilité, spécificité), mais aussi de la prévalence de l'exposition dans la population étudiée (à sensibilité et spécificité données, la VPP augmente et la VPN diminue lorsque la prévalence de l'exposition à l'amiante augmente dans la population étudiée). Certaines publications utilisant un mode d'expression des résultats différent de celui adopté par le groupe de travail de l'*European Respiratory Society* (par exemple, nombre de fibres/cm³ de tissu pulmonaire ou par unité de poids de poumon humide) n'ont pas été prises en compte, car elles ne permettent pas d'intercomparaisons fiables avec les études utilisant les techniques recommandées.

COMPARAISON DES PERFORMANCES DE L'OUTIL BIOMÉTROLOGIQUE EN FONCTION DU MILIEU ANALYSÉ (LBA-TISSU PULMONAIRE)

Plusieurs publications permettent d'évaluer les performances de l'outil biométhrologique pour la quantification des corps asbestosiques dans le LBA et le poumon alors

qu'un nombre limité de publications permet une telle évaluation pour les analyses en microscopie électronique à transmission [8, 10, 11].

L'évaluation des paramètres de sensibilité et spécificité dépend des seuils de positivité retenus pour chacun des deux milieux analysés. En ce qui concerne les *analyses en microscopie optique*, la situation est relativement simple dans la mesure où toutes les équipes ont adopté des seuils de positivité de 1 CA/ml pour le LBA et de 1 000 CA/g de poumon sec pour les échantillons de parenchyme pulmonaire. Ces valeurs-seuils témoignent d'un niveau de rétention correspondant à une exposition considérée inhabituelle pour la population générale dans les années 70 à 80. Le problème de l'interprétation des valeurs des niveaux de rétention à l'échelon individuel est discuté ultérieurement.

Compte-tenu de ces seuils, le *tableau II* résume les performances de l'analyse du LBA par rapport à l'analyse du poumon. Dans une publication récente, il a été souligné que les équations de régression obtenues lors de la corrélation des concentrations de CA dans le LBA et dans le parenchyme pulmonaire étaient très voisines [10]. D'autres études ont également procédé à des quantifications de corps asbestosiques dans le LBA et le poumon mais sont d'interprétation plus difficile, car elles n'ont pas employé les techniques recommandées par le groupe de travail européen (par exemple, expression de résultats dans le tissu pulmonaire par cm³ de poumon [5]).

Il a été rapporté une corrélation significative entre les résultats du comptage de corps asbestosiques en microscopie optique dans le LBA et les résultats du comptage dans

le parenchyme pulmonaire : $r = 0,74$, $p < 0,0001$ pour Sébastien *et coll.* ; $r = 0,72$, $p < 0,01$ pour Karjalainen *et coll.* [8, 10].

Il apparaît globalement que si la spécificité et la VPP sont satisfaisantes, la sensibilité et la VPN sont moyennes dans les populations ayant fait l'objet des publications étudiées. En d'autres termes, l'existence d'une rétention significative de corps asbestosiques dans le lavage bronchoalvéolaire traduit la plupart du temps une rétention significative de corps asbestosiques dans le parenchyme pulmonaire ; par contre, un résultat inférieur à 1 CA/ml dans le LBA ne permet pas d'exclure avec certitude une rétention de corps asbestosiques supérieure aux niveaux de référence dans le poumon (erreur dans un tiers des cas). En ce qui concerne les analyses en microscopie optique, il apparaît donc légitime d'utiliser en première approche indifféremment l'analyse minéralogique du parenchyme pulmonaire ou du LBA pour quantifier le niveau de rétention pulmonaire.

La conclusion est beaucoup plus hypothétique pour les *analyses en microscopie électronique à transmission* (MET) : en effet, outre les précautions d'interprétation d'un résultat de lavage en fonction de temps de latence écoulé depuis la fin de l'exposition, il existe très peu d'études permettant d'évaluer les mêmes paramètres (sensibilité, spécificité) de l'analyse dans le LBA par rapport au parenchyme pulmonaire. En outre, il est difficile de les évaluer, dans la mesure où les seuils de positivité dans ces deux milieux sont beaucoup plus discutés que pour les analyses en microscopie optique, en particulier dans le LBA.

A partir de l'analyse de 23 patients, une équipe a rapporté que l'analyse du LBA permettait une bonne évaluation du niveau de rétention dans le parenchyme pulmonaire pour les CA et les fibres d'amphiboles, mais ne reflétait pas le niveau de rétention parenchymateux de fibres de chrysotile [11].

COMPARAISON DES PERFORMANCES DE L'OUTIL BIOMÉTROLOGIQUE EN FONCTION DE LA TECHNIQUE ANALYTIQUE (MO VERSUS MET)

Plusieurs arguments militent en faveur d'une fiabilité plus grande de l'outil biométrologique en MET plutôt qu'en MO :

— il est connu que seule une fraction des fibres d'amiante inhalées va conduire à la formation de CA, dénombrables par les techniques de MO. Le rapport « nombre de fibres non gainées/nombre de CA » varie considérablement en fonction du type de fibre, de leur granulométrie, de la charge pulmonaire en fibres et autres particules (en particulier fer), et des caractéristiques de l'individu [12, 13]. Ainsi, la fibre centrale de la majorité

des CA est une amphibole [14, 15]. Les dimensions des fibres sont un paramètre important qui conditionne la probabilité de développement de CA, les fibres longues (longueur supérieure à 20 μm , rendant la phagocytose difficile) et de diamètre élevé donnant plus volontiers naissance à des CA que les fibres courtes et/ou fines [13]. Il a également été rapporté que la formation de CA augmentait avec la charge pulmonaire en fibres de longueur supérieure à 5 μm , et pourrait varier en fonction des expositions à d'autres particules minérales notamment les particules de fer [12, 13]. Enfin, il semble exister une variation interindividuelle dans le taux de formation de CA. Roggli a rapporté que le taux de CA par rapport à l'ensemble des fibres de longueur $> 5 \mu\text{m}$ variait dans son laboratoire de 0,002 à 72 % (médiane = 11,8 %) [13]. Une telle variation ne peut probablement pas être expliquée uniquement par les facteurs mentionnés plus haut.

— s'il est connu que la majorité des CA de morphologie typique sont formés sur des fibres d'amiante, la MO ne permet pas d'établir avec certitude la nature de la fibre centrale. D'autres particules fibreuses peuvent donner naissance à des formations analogues comme les fibres céramiques réfractaires ou l'ériónite [16, 17].

Compte tenu de ces éléments, il est attendu une variabilité des résultats entre les différentes études qui ont évalué les performances de l'outil biométrologique en MO par rapport à une quantification du niveau de rétention pulmonaire en MET, cette dernière technique constituant la *méthode de référence* lors de cette comparaison. Les populations vont en effet varier d'une étude à l'autre, notamment pour le type de fibres auxquelles les sujets ont été exposés (chrysotile ou amphiboles), la granulométrie de ces fibres, et surtout le niveau d'exposition.

De plus, contrairement aux analyses en MO, il n'existe pas de valeur-seuil commune aux différents laboratoires effectuant des analyses minéralogiques, permettant de distinguer les sujets ayant un niveau de rétention témoignant du *bruit de fond* d'exposition à l'amiante de la population générale d'une part, et les sujets ayant eu une exposition inhabituelle (par leur fréquence et/ou intensité et/ou durée) d'autre part. Des valeurs-seuils différentes ont en effet été établies par chaque laboratoire, les différences pouvant au moins partiellement s'expliquer par des modalités techniques différentes selon les laboratoires qui sont à l'origine d'une plus grande variabilité interlaboratoire des résultats des comptages que pour la MO [1]. Ce phénomène rend hasardeux les comparaisons interlaboratoires pour les techniques de MET dans les conditions actuelles de réalisation.

Dans ces conditions, il ne paraît pas possible de comparer les résultats d'une étude à une autre en utilisant une valeur seuil unique. Il importe de souligner qu'en dépit de techniques analytiques, de patients et de types d'exposition

TABLEAU III. — Comparaison des résultats des analyses minéralogiques en MO et en ME dans les échantillons biologiques.

Référence	n, type de pathologie	Type échantillon	CA en MO	Fibres en ME*	Se	Sp	VPP**	VPN**	Remarques	
Dumortier <i>et coll.</i> 1998 [18]	75, variables	LBA	< 1	<300/ml 26	300/ml 6	79,1 %	81,2 %	85 %	74,3 %	Origine : Turquie
			1	9	34					Type d'amiante : essentiellement trémolite MET
Martinon <i>et coll.</i> 1993 [19]	52, variables (42 méso-théliomes)	Tissu pulmonaire	< 1 000	< 10 ⁶ 11	10 ⁶ 10	73,7 %	8,6 %	90,3 %	52,4 %	Exposition non connue — types d'amiante variables
			1 000	3	28					MET
Karjalainen <i>et coll.</i> 1996 [10]	65, variables	Tissu pulmonaire	log (CA/g) = 3,40 + 0,784 log (fibres amfiboles/g)			Non évaluable à partir de la publication				Type d'amiante : surtout anthophyllite MEB
			r = 0,73		p < 0,001					
Roggli, 1992 [13]	223, variables	Tissu pulmonaire	log (CA/g) = -3,17 + 1,35 log (fibres > 5 µm/g)			Non évaluable à partir de la publication				Comptages des CA et fibres par g de tissu humide
				r = 0,79		p < 0,0001				MEB
Warnock et Isenberg, 1986 [20]	75, CBP	Tissu pulmonaire	log (CA/g) = -2,3 + 1,06 log (fibres amosite-crocidolite/g)			77,6 %	73,3 %	91,8 %	45,8 %	Type d'amiante pris en compte : amosite-crocidolite
				r = 0,77						Type de ME non précisé
				< 10 ⁵	10 ⁵					
			< 1 000	11	13					
			1 000	4	45					

* MET ou MEB : microscopie électronique à transmission ou à balayage.

** VPP et VPN dépendent de la prévalence des niveaux de rétention pulmonaire élevés en fibres d'amiante dans la population étudiée (valeurs non extrapolables à d'autres populations).

MO : microscopie optique ; ME : microscopie électronique. CA : corps asbestosiques. Les résultats dans le tissu pulmonaire sont exprimés par g de poumon sec (sauf pour Roggli, 1992). Se : sensibilité ; Sp : spécificité ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative ; CBP : cancer bronchopulmonaire.

probablement différents, les auteurs ont en règle rapporté des corrélations significatives entre les résultats des comptages des CA en MO et les résultats des comptages des fibres en ME (MEB ou MET) [10, 13].

Le tableau III résume les résultats d'études permettant d'évaluer les performances des analyses en MO par rapport aux techniques de ME (MEB ou MET). Seules les études dont les effectifs étudiés dépassaient 30 sujets ont été retenues. Les valeurs-seuils retenues pour la ME dans le tableau correspondent à celles mentionnées par les auteurs comme témoignant dans leur expérience d'une rétention pulmonaire significative.

Ces résultats suggèrent qu'il est vraisemblable que dans la majorité des situations, l'utilisation des techniques de MO (comptage des CA) est suffisante pour évaluer le niveau de rétention pulmonaire en fibres d'amiante dans les échantillons de tissu pulmonaire. Un taux élevé de CA en MO dans le parenchyme pulmonaire témoigne dans la quasi totalité des cas de niveaux de rétention élevés de fibres en ME. Par contre, la faible VPN du comptage des CA, rapportées par deux équipes, souligne qu'il est nécessaire dans ces cas de recourir à des techniques de ME, sinon le risque d'erreur sur la charge pulmonaire en fibres est importante. Cette conclusion est à notre avis surtout

TABLEAU IV. — Résultats de l'analyse minéralogique du LBA en MO en fonction de l'exposition professionnelle (questionnaire).

Référence	Types de pathologies	LBA (CA/ml)		Performance LBA versus questionnaire				Commentaires
		< 1	1	Se	Sp	VPP**	VPN**	
De Vuyst <i>et coll.</i> 1987 [21]	Variables			84,2 %	93 %	95,8 %	75,9 %	
	115 E- 215 E+	107 34	8 181					
Orlowski <i>et coll.</i> 1994 [22]	Plaques pleurales, mésothéliomes			39,2 %	85,3 %	85,3 %	39,2 %	Le groupe E- inclut des sujets non exposés ou avec exposition possible
Pairon <i>et coll.</i> , 1994 [23]*	34 E- 74 E+	29 45	5 29					
	Variables			73 %	93,3 %	96,7 %	57,1 %	Exposition à l'anthophyllite +++
Karjalainen <i>et coll.</i> 1994 [24]	30 E- 79 E+	28 21	2 58					
	Variables			64,1 %	92,9 %	93,2 %	62,9 %	Origine : Turquie
Dumortier <i>et coll.</i> 1998 [18]	42 E- 64 E+	39 23	3 41					
	Variables			71,5 %	91,8 %	94,5 %	62,3 %	
Méta analyse	221 E- 432 E+	203 123	18 309					

* Études regroupées car provenant de la même équipe et ayant utilisé les mêmes modalités d'évaluation de l'exposition.

** VPP et VPN dépendent de la prévalence de l'exposition dans la population étudiée (valeurs non extrapolables à d'autres populations).

E+ : exposition certaine à l'amiante ; E- : absence d'exposition à l'amiante ; CBP : cancer bronchopulmonaire ; Se : sensibilité ; Sp : spécificité ; VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative ; LBA : liquide de lavage broncho alvéolaire.

valable dans les situations où l'exposition professionnelle est très imprécise à partir du questionnaire professionnel.

COMPARAISON DES PERFORMANCES DE L'OUTIL BIOMÉTROLOGIQUE PAR RAPPORT À D'AUTRES OUTILS D'ÉVALUATION DE L'EXPOSITION (QUESTIONNAIRE PROFESSIONNEL)

Compte-tenu de l'existence de valeurs-seuils admises par l'ensemble des équipes et de la possibilité d'appliquer ces techniques en routine en 1998 (sous réserve des précautions mentionnées au chapitre I), l'accent sera mis sur les techniques de microscopie optique.

Le nombre de publications comportant des informations suffisamment détaillées sur l'exposition des patients est relativement restreint, ces patients pouvant être porteurs de pathologies diverses. L'exposition est le plus souvent évaluée en classes de probabilité d'exposition (non exposé, possible, probable, certain), avec parfois des informations plus détaillées sur l'intensité et la fréquence de l'exposition.

L'objectif est d'évaluer les performances de l'outil biométrologique dans des séries de patients bien caractérisés sur le plan de l'exposition à l'amiante à partir d'un questionnaire professionnel. Pour cette raison, seuls les sous-groupes les plus contrastés en terme d'exposition professionnelle à l'amiante (non exposés et exposés certains) ont été retenus dans l'analyse de la sensibilité, spécificité, VPP et VPN de l'analyse minéralogique, à partir des publications décrivant des groupes d'effectifs suffisants (de l'ordre de 20 par groupe).

Microscopie optique

Le tableau IV résume les résultats obtenus pour les études portant sur l'analyse minéralogique du LBA en MO.

Il apparaît, à partir de ces séries, que la spécificité et la VPP sont dans l'ensemble très satisfaisantes. Ceci permet de conclure qu'un niveau de rétention supérieur à 1 CA/ml est très informatif. Dans la majorité des cas, il permet de conclure avec confiance à l'existence d'une exposition antérieure significative à l'amiante (sans pouvoir affirmer

TABLEAU V. — Niveaux de rétention pulmonaire en fibres d'amiante dans des population de référence (analyses en MET ; valeurs par g de tissu pulmonaire sec).

Référence	Population de référence, pays (nombre de sujets)	Moyenne ($\times 10^6$)	Médiane ($\times 10^6$)	Valeurs extrêmes ($\times 10^6$)	Seuil *	Remarque
Wagner <i>et coll.</i> 1986 [35]	Individus indemnes de fibrose pulmonaire, GB (n = 19)***	12,9****				
Churg et Wiggs, 1986 [34]	Individus sans exposition à l'amiante connue, Canada (n = 20)	Chr : 0,3 Tre : 0,4 A + C : 0,01	0,2 0,2	nd-1,3 nd-1,2		
Case et Sébastien, 1987 [36]	Individus sans exposition connue à l'amiante, Canada (n = 19)	0,26 (GM) Chr : 0,08 (GM) Tre : 0,06 (GM) A : 0,03 (GM) C : 0,03 (GM)	0,22 0,06 0,05 0,03 0,3			Fibres de L > 5 μ m L/D > 3
Gaudichet <i>et coll.</i> 1988 [37]	Maladies cardiovasculaires, France (n = 20)	4 Amp : 0,8			Amp 10 ⁶	
Case <i>et coll.</i> 1988 [38]	Population générale, Canada (n = 65)	0,09** Chr : 0,05** Tre : 0,03** A + C : 0,008**				Fibres de L > 5 μ m L/D > 3
Wagner <i>et coll.</i> 1988 [39]	CBP sans exposition connue à l'amiante, GB (n = 56)	A : 0,93** C : 1** Chr : 9,27** 11,2**				
Warnock, 1989 [40]	Individus sans exposition connue à l'amiante indemnes de fibrose pleurale, USA (n = 19)			Amp : 0,16 Chr : 0,69 A + C : 0,035	0,5 $\times 10^6$	
Chiappino <i>et coll.</i> 1989 [41]	Population sans exposition professionnelle à l'amiante, Italie (n = 27)	3,97		nd-16,6		
Gibbs <i>et coll.</i> 1989 [42]	Mésothéliome sans exposition à l'amiante connue, GB (n = 21)	Chr : 19,6 C : 5,5 A : 0,7			10 ⁶	
Albin <i>et coll.</i> 1990 [43]	Population générale, Suède (n = 96)		29			

qu'elle est d'origine professionnelle). Un résultat inférieur à 1 CA/ml ne permet par contre pas de conclusion définitive sur l'exposition et nécessite de recourir à d'autres outils d'évaluation si l'on ne dispose pas d'information fiable à partir d'un questionnaire.

Plusieurs raisons peuvent être avancées pour expliquer les valeurs moins élevées (et plus variables d'une étude à l'autre) de la sensibilité et de la VPN. Les principales sont probablement les suivantes :

— des niveaux d'exposition différents dans le groupe des exposés. L'inclusion de sujets ayant eu des niveaux d'exposition cumulée modérée peut avoir contribué à diminuer la sensibilité et VPN dans certaines séries [22, 23] ;

— des types d'exposition différents avec des proportions variables de sujets ayant eu une exposition aux fibres amphiboles. Il est connu que ces fibres donnent plus volontiers naissance à des corps asbestosiques que les fibres de chrysotile [14, 15].

Il n'existe à notre connaissance pas d'étude publiée comportant des effectifs suffisants, bien caractérisés sur le plan de l'exposition, et utilisant les techniques conventionnelles d'analyse minéralogique pour évaluer les performances de l'analyse minéralogique du parenchyme pulmonaire en MO par rapport au questionnaire professionnel. Une série personnelle (De Vuyst, communication personnelle) portant sur 33 sujets exposés et 74 non exposés a

TABLEAU V (suite).

Référence	Population de référence, pays (nombre de sujets)	Moyenne ($\times 10^6$)	Médiane ($\times 10^6$)	Valeurs extrêmes ($\times 10^6$)	Seuil *	Remarque
Friedrichs <i>et coll.</i> 1992 [44]	Population générale, Allemagne (n = 22)	Chr : 4,5 (GM) Amp : 1,9 (GM)	< 3**			Fibres de L > 1 μm L/D > 5
Dawson <i>et coll.</i> , 1993 [45]	Autopsies en population générale, Grande Bretagne + Irlande (n = 31 femmes)	Amp : 0,04 (GM) C : 0,02 (GM) A : 0,02 (GM) T : 0,02 (GM) Chr : 4,4 (GM)		nd-1 nd-0,5 nd-0,5 nd-0,8 nd-20,1	Amp : 2×10^6	
Takahashi <i>et coll.</i> 1994 [32]	Individus non exposés, Canada (n = 30)	0,09 (GM) Chr : 0,03 (GM) Tre : 0,04 (GM) C : 0,02 (GM) A : 0,03 (GM) Amp : 0,03 (GM)	0,08		$0,5 \times 10^6$	Fibres de L > 3 μm
Dufresne <i>et coll.</i> 1996 [46]	Autopsies en population générale, Canada (n = 49)	0,507 (GM)		0,317-0,808		*****
Green <i>et coll.</i> 1997 [31]	Autopsies en population générale, USA (n = 31)	Chr : 6,71 (GM) A-C : 0,21 (GM) An : 0,13 (GM) Tre : 0,26 (GM)				

* Valeur-seuil indicative d'une rétention pulmonaire en fibres d'amiante significativement élevée pour la méthode analytique utilisée, d'après les auteurs de la publication.

** Valeur calculée à partir des données présentées dans la publication originale.

*** Le protocole de l'étude suggère une surreprésentation des individus exposés à l'amiante.

**** Résultat calculé pour les fibres d'amosite + crocidolite + chrysotile à partir des données originales publiées.

***** Une publication complémentaire de la même équipe a détaillé les niveaux de rétention de fibres en fonction de classes de longueur (< 5 m, 5 à 10 mm, 10 mm), du type de fibres, et de la date de naissance (avant ou après 1940) de cette population de référence [47].

CA : corps asbestosiques ; CBP : cancer bronchopulmonaire ; GM : moyenne géométrique ; MET : microscopie électronique à transmission ; L : longueur des fibres d'amiante. Moyenne, médiane et valeurs extrêmes sont indiquées lorsqu'elles étaient mentionnées dans la publication originale. n indique le nombre d'individus. Seules les publications indiquant un résultat par unité de poids de poumon sec sont prises en compte. nd : non détecté. Chr : chrysotile ; C : crocidolite ; A : amosite ; Tre : trémolite ; An : anthophyllite ; Amp : amphiboles.

permis d'établir des valeurs de 78,7 82, 66,6 et 89,7 % respectivement pour la sensibilité, spécificité, VPP et VPN de l'analyse minéralogique en MO du parenchyme par rapport au questionnaire.

Microscopie électronique

Il n'existe à notre connaissance pas de publication portant sur des effectifs suffisants et permettant d'évaluer les performances de l'analyse minéralogique du LBA en ME par rapport au questionnaire professionnel. Une publication récente a rapporté les résultats d'analyse minéralogique en MET sur le LBA de sujets ayant eu une exposition environnementale à l'amiante en Turquie [18]. Parmi

les sujets non exposés, 3 sur 16 avaient plus de 300 fibres/ml de LBA, tandis que 37 des 59 sujets exposés étaient au dessus de ce seuil de rétention. Ces résultats correspondent à une sensibilité de 62,7 %, spécificité de 82,2 %, VPP de 92,5 % et VPN de 37,1 %, lorsqu'on compare les performances de l'analyse du LBA aux performances du questionnaire. Il importe de souligner le caractère très particulier de cette série limitée (exposition environnementale à de l'amiante de type trémolite), qui ne permet pas aujourd'hui de généraliser ces performances à tout type d'exposition (exposition professionnelle, exposition à des fibres de chrysotile). Des auteurs ont rapporté une corrélation entre les comptages des fibres d'amiante

TABLEAU VI. — Valeurs de référence proposées pour les comptages des fibres d'amiante en MET dans le parenchyme pulmonaire (adapté de De Vuyst et coll. [1] ; résultat exprimé par g de tissu pulmonaire sec).

Laboratoire	Fibres de toutes longueurs	Fibres de longueur $\geq 5 \mu\text{m}$
Allemagne Lab 1	—	$1,5 \times 10^6$ toutes amiantes
Allemagne Lab 2	2×10^6 amphiboles 3×10^6 chrysotile 4×10^6 tous amiantes	$0,18 \times 10^6$ amphiboles $0,14 \times 10^6$ chrysotile $0,3 \times 10^6$ toutes amiantes
France	1×10^6 amphiboles 10×10^6 tous amiantes	—
Belgique	1×10^6 amphiboles	—
Grande-Bretagne	1×10^6 amosite 1×10^6 crocidolite 15×10^6 chrysotile	—
Finlande	1×10^6 amphiboles (MEB)	—

MEB : microscopie électronique à balayage.

en MEB et en MET dans ce type d'échantillon, mais souligné qu'une évaluation correcte de la rétention nécessitait le recours à la MET pour ne pas méconnaître les fibres de diamètre inférieur à $0,2 \mu\text{m}$ [25]. La même équipe a suggéré que l'évaluation de la longueur moyenne des fibres d'amiante (en particulier de chrysotile) pourrait apporter des arguments en faveur de l'origine de l'exposition, les longueurs des fibres étant plus importantes en cas d'exposition d'origine professionnelle que pour les expositions environnementales dans leur série.

Dans le domaine des *analyses minéralogiques du parenchyme pulmonaire* en ME, quelques publications permettent d'évaluer les paramètres de sensibilité, spécificité, VPP et VPN par rapport au questionnaire professionnel, mais elles concernent exclusivement des analyses effectuées en MEB par des équipes scandinaves, dans des pays où le type d'amiante prédominant est l'anthophyllite [26, 30]. Une telle situation et l'utilisation de la technique en MEB ne sont donc *a priori* pas extrapolables à d'autres pays où l'amiante chrysotile a été la plus largement utilisée.

Des équipes ayant utilisé la MET ont montré une corrélation entre l'index d'exposition cumulée à l'amiante calculé à partir de la carrière professionnelle et le niveau de rétention pulmonaire [31] ($r = 0,67$, $p < 0,0001$), ou un lien entre divers indices d'exposition (concentration, fréquence, durée) et le niveau de rétention [32]. Les données présentées dans ces publications ne permettent pas de calculer les paramètres de sensibilité et spécificité.

Il est important de souligner qu'un paramètre-clé est le niveau-seuil choisi par les auteurs, témoignant d'une rétention pulmonaire de fibres d'amiante considérée supérieure

à la population de référence. Ce niveau est différent selon que les auteurs ont employé la MEB ou la MET. Nous concentrerons l'attention sur les études effectuées en utilisant la MET, même s'il a été rapporté une bonne corrélation entre les résultats obtenus en MEB et ceux obtenus en MET pour des sujets ayant été exposés de façon prédominante à des fibres d'anthophyllite [33]. De façon analogue à ce qui a été dit pour le LBA, le pouvoir de résolution de la MEB va faire méconnaître des fibres de chrysotile fines, qui seront par contre repérables et comptées en MET. La longueur moyenne des fibres identifiées, plus élevée chez les sujets exposés professionnellement que chez des témoins ayant eu une exposition environnementale, peut orienter sur l'origine de l'exposition. La probabilité d'origine professionnelle de cette exposition sera plus élevée si l'on observe des fibres dont la longueur moyenne est importante [34].

Le *tableau V* résume les niveaux de rétention pulmonaire en fibres d'amiante en MET rapportés par divers auteurs dans des populations de référence d'origines diverses. Le groupe de travail de l'*European Respiratory Society* a souligné les difficultés posées par des définitions différentes des populations de référence [1]. Plusieurs paramètres rendent probablement compte des valeurs différentes proposées par les laboratoires spécialisés de ce groupe de travail pour la définition des valeurs de référence (*tableau VI*) : différences de techniques mises en oeuvre (type de ME, grandissement, longueur des fibres prises en compte lors de l'analyse minéralogique, etc...), définition différente des populations de référence, etc.

La conséquence de cette observation est la nécessité d'établir dans chaque laboratoire effectuant des analyses

minéralogiques en ME, des valeurs de référence tenant compte des modalités analytiques, sur des populations de référence bien caractérisées sur le plan de l'exposition. Il a toutefois été conclu que les valeurs de référence en MET étaient dans l'ensemble de l'ordre de 1 à 2×10^6 fibres/g pour les fibres d'amphiboles, et d'environ $0,1 \times 10^6$ fibres/g pour les fibres d'amphiboles de longueur supérieure à $5 \mu\text{m}$ [1]. Il serait certainement intéressant de développer des programmes de recherche à l'échelon européen permettant d'évaluer les niveaux de rétention pulmonaire des différents types de fibres d'amiante dans des populations de référence, définies selon des critères communs dans les différents pays, et en utilisant les techniques recommandées par le groupe de travail de l'*European Respiratory Society*.

Caractérisation du profil de rétention de fibres d'amiante en fonction des principales pathologies asbestosiques

De nombreuses publications ont décrit les niveaux de rétention pulmonaire de CA ou de fibres d'amiante dans des séries de patients atteints de diverses pathologies asbestosiques ou non asbestosiques (revues par De Vuyst *et coll.*, Pairon *et coll.*, Roggli *et coll.*, Beclake et Case [1, 7, 48, 49]).

Les niveaux de rétention pulmonaire les plus élevés en fibres d'amiante sont rapportés au cours de l'asbestose (et pour certains auteurs lors de la fibrose des petites voies aériennes, assimilable à une asbestose de faible grade) [49]. Par contre, des niveaux de rétention plus faibles ont été identifiés au cours des plaques pleurales. Le niveau de rétention pulmonaire en fibres d'amiante est variable au cours du mésothéliome, cette observation ayant été rapportée à un potentiel tumorigène variable en fonction du type de fibre, voire à l'existence d'autres facteurs étiologiques à l'origine du mésothéliome [49]. Les niveaux de rétention décrits dans des séries de cancer bronchopulmonaire sont très variables. Le caractère multifactoriel de cette pathologie justifie une réflexion spécifique en terme de description des niveaux de rétention rendant plausible l'existence d'une exposition à l'amiante plus importante que celle d'une *population de référence*, et dont le rôle contributif dans la survenue de la maladie peut être considéré significatif (cf. chapitre IV).

Compte tenu des importants facteurs de variabilité (technique analytique, mode de recrutement des patients ayant eu des expositions très différentes, etc.), les études individuelles ne seront pas détaillées ici.

L'évaluation des profils de rétention des CA ou des fibres d'amiante dans le tractus respiratoire en fonction des pathologies a surtout eu pour intérêt de mieux comprendre les relations dose-réponse existant pour les différentes

pathologies asbestosiques. En particulier, elles ont permis d'établir que les pathologies de type fibrose pleurale ou mésothéliome pouvaient être observées pour des niveaux de rétention très faibles correspondant à des expositions cumulées peu élevées.

Ces observations ont à notre avis au moins deux conséquences pratiques importantes, lors de l'approche individuelle d'un patient porteur d'une pathologie d'origine présumée asbestosique :

— en dehors de situations spécifiques décrites plus loin, il paraît inutile de recourir à une analyse minéralogique d'échantillon biologique à visée de diagnostic étiologique en présence d'une fibrose pleurale bilatérale ou d'un mésothéliome. En effet, un résultat négatif ne permet en aucune façon d'exclure l'origine asbestosique de ces pathologies relativement spécifiques.

— l'analyse minéralogique d'échantillons biologiques est par contre utile pour aider à la caractérisation, par la mise en évidence de niveaux de rétention pulmonaire anormalement élevés, des expositions à l'amiante lors de maladies multifactorielles comme les fibroses interstitielles diffuses ou les cancers bronchopulmonaires. L'observation d'un niveau de rétention élevé de CA ou de fibres d'amiante dans le poumon ou le LBA est un argument en faveur de la plausibilité du lien étiologique avec une exposition antérieure à l'amiante. Au cours d'une réunion d'experts récente (Helsinki, 1997), il a été souligné qu'un risque relatif de CBP de 2 était associé à des niveaux de rétention pulmonaire de 2×10^6 fibres d'amphiboles ($L > 5 \mu\text{m/g}$ tissu pulmonaire sec) ou 5×10^6 fibres d'amphiboles ($L > 1 \mu\text{m/g}$ tissu pulmonaire sec) [50, 51].

Utilisation pratique de l'outil biométhrologique

Le problème de l'utilisation et de l'interprétation des résultats de l'analyse minéralogique d'un échantillon biologique a fait l'objet d'une mise au point par les différents laboratoires spécialisés dans ce domaine en Europe [1]. Plusieurs éléments importants méritent d'être rappelés.

L'observation de CA ou de fibres d'amiante dans un échantillon biologique (LBA ou parenchyme pulmonaire) est un phénomène banal. L'élément important est la comparaison du niveau de rétention par rapport aux valeurs de référence utilisées par ce même laboratoire (en particulier lors du recours aux techniques de ME), permettant de conclure éventuellement à un niveau de rétention anormalement élevé. Il convient de souligner que les analyses effectuées permettent d'évaluer la rétention au niveau du parenchyme pulmonaire, paramètre éventuellement non pertinent lorsqu'on explore une pathologie pleurale [52]. En outre, l'évaluation du niveau de rétention à l'instant de l'analyse intègre les résultats de phénomènes complexes, non quantifiables individuellement : type d'exposition (type de fibres,

paramètres granulométriques de ces fibres, débit de dose), dépôt et épuration des fibres au fil du temps. Il est connu que les fibres de chrysotile sont épurées du tractus respiratoire plus rapidement que les fibres d'amphiboles, et donnent plus rarement naissance à des CA.

En dépit des différences liées à des conditions techniques variables, les valeurs suivantes sont en règle générale considérées comme des niveaux indiquant une exposition inhabituelle à l'amiante (à interpréter comme : différente de l'exposition d'employés de type *cols blancs* non exposés professionnellement) : en MO, 1 CA/ml dans le LBA, 1 000 CA/g tissu pulmonaire sec ; en MET, 1×10^6 fibres d'amphiboles (longueur $> 1 \mu\text{m/g}$ tissu sec, ou $0,1 \times 10^6$ fibres d'amphiboles (longueur $> 5 \mu\text{m/g}$ tissu sec [1]. Il n'a pas pu être établi de seuil consensuel (commun aux différents laboratoires) concernant les fibres de chrysotile. Un élément essentiel de l'interprétation d'un résultat élevé d'analyse minéralogique doit être rappelé : une concentration élevée de CA dans le LBA ou le tissu pulmonaire indique une rétention pulmonaire (alvéolaire) de fibres d'amiante supérieure à celle observée dans une population de référence non exposée. Il s'agit d'un argument indirect en faveur d'une exposition significative, souvent d'origine professionnelle, mais il ne s'agit pas d'un témoin de maladie.

Dans la suite de cette synthèse, l'intérêt des analyses minéralogiques est abordé en fonction des acteurs de santé intéressés.

UTILISATION EN PRATIQUE PNEUMOLOGIQUE

L'analyse minéralogique d'un échantillon biologique fournit au clinicien un estimateur objectif de l'exposition cumulée à l'amiante, complémentaire d'autres outils d'évaluation de l'exposition (questionnaire professionnel et environnemental, éventuellement complété par une expertise ou une matrice emploi-exposition spécifique ; données d'hygiène industrielle sur les niveaux d'exposition à l'amiante rencontrés antérieurement en milieu de travail, ces dernières étant en fait rarement disponibles). Il s'agit parfois du seul estimateur fiable dont dispose le clinicien : par exemple en cas de description vague des emplois antérieurs par le patient, méconnaissance par le patient de la présence d'amiante dans certains emplois, oubli des périodes d'exposition les plus anciennes ou correspondant à des expositions indirectes parfois importantes (collègues de travail), etc.

Un résultat positif d'analyse minéralogique (supérieur aux valeurs seuils évoquées et/ou propres au laboratoire effectuant l'analyse) témoigne d'une exposition significative.

Par contre, un résultat négatif ne permet pas d'exclure avec certitude une exposition antérieure significative,

notamment dans les cas où l'amiante chrysotile était prédominant. Compte tenu de ces éléments, des contraintes liées à chaque technique et du profil de rétention de CA ou de fibres qui a été rapporté au cours des diverses pathologies asbestosiques, une proposition de stratégie d'utilisation de l'analyse minéralogique est proposée dans le *tableau VII* en fonction de chaque maladie. La stratégie initiale d'analyse minéralogique correspond à l'analyse à demander en première intention face à une pathologie donnée. Les analyses discutées en seconde intention en fonction du contexte clinique et/ou du résultat de l'analyse demandée en première intention sont désignées sous le terme de stratégie secondaire d'analyse minéralogique. Il apparaît clairement que la stratégie est différente en fonction de la pathologie en cause (maladie *spécifique* ou *non spécifique*) mais que l'analyse initiale fait quasi systématiquement appel aux techniques d'analyse en MO. Il est important de signaler qu'il n'est à notre avis justifié de proposer l'analyse sur LBA ou tissu pulmonaire que si les examens nécessaires pour la réaliser (fibroscopie bronchique ou thoracotomie) sont effectués par ailleurs dans le cadre du bilan diagnostique. En effet, il n'y a pas de thérapeutique spécifique entreprise du fait du résultat (une exception peut être discutée concernant la fibrose interstitielle diffuse, un niveau de rétention très élevé étant en faveur d'une asbestose et rendant inutile un traitement corticoïde). Lorsque les deux types d'échantillons sont disponibles, l'analyse sur parenchyme pulmonaire doit être privilégiée. En dehors des cas où des problèmes techniques ou d'échantillonnage ont été rencontrés, il n'y a pas lieu de répéter pour un même sujet les analyses biométriologiques pour l'évaluation des expositions à l'amiante.

UTILISATION EN PRATIQUE DE MÉDECINE DU TRAVAIL

En l'absence de pathologie asbestosique, il n'apparaît pas opportun de recourir à l'analyse minéralogique des échantillons biologiques présentés (LBA, tissu pulmonaire) du fait du caractère plus ou moins invasif des investigations et de l'absence de conséquences du résultat en terme d'aptitude ou sur le plan thérapeutique.

Le recours à des techniques moins invasives (CA en MO sur expectoration) mérite d'être discuté. En effet, il est admis que le marqueur CA dans l'expectoration a une bonne spécificité, mais une sensibilité médiocre [5]. Diverses équipes ont antérieurement utilisé le marqueur CA en MO dans l'expectoration chez des populations ayant eu des expositions variables à l'amiante. Un écueil de l'interprétation et de l'intercomparaison de ces études tient à des modalités de réalisation technique et/ou de comptage différentes suivant les équipes (nombre d'échantillons collectés par individu ; administration préalable ou non d'aérosol de sérum physiologique ; expression du

TABLEAU VII. — *Stratégie d'utilisation des analyses minéralogiques d'échantillon biologiques (LBA, tissu pulmonaire) en pratique pneumologique.*

	<i>Maladies</i>	<i>Stratégie INITIALE d'analyse minéralogique – objectif</i>	<i>Interprétation</i>	<i>Stratégie SECONDAIRE d'analyse minéralogique – objectif</i>
Spécifiques	Plaques pleurales bilatérales +/- calcifiées	Analyse inutile		CA en MO ? (*) MET ? (si suspicion d'exposition environnementale, type trémolite ou ériomite)
	Mésothéliome	Analyse inutile		MET ? (si suspicion d'exposition environnementale, type trémolite ou ériomite)
Non spécifiques	Fibrose pleurale diffuse		> valeur de référence : exposition antérieure à l'amiante plus élevée que la population de référence	MET sur tissu pulmonaire possible si résultat MO négatif (LBA et/ou tissu pulmonaire), pour diagnostic étiologique
	Pleurésie bénigne	CA en MO, pour diagnostic étiologique si l'interrogatoire ne permet pas de conclure à une exposition élevée		
	Atélectasie ronde			
	Plaque(s) pleurale(s) unilatérale(s)		< valeur de référence : une exposition à l'amiante ne peut être exclue	MET sur tissu pulmonaire recommandée si résultat MO négatif (LBA et/ou tissu pulmonaire)
	Cancer bronchopulmonaire			
	Fibrose interstitielle diffuse			
Absence de pathologie		Analyse inutile		CA en MO ? (*) MET ? (si suspicion d'exposition environnementale d'origine diverse, pour typage des fibres)

* Pour quantifier le niveau de rétention, en vue de programme de surveillance spécifique si rétention élevée : population à risque augmenté de cancer bronchopulmonaire (CBP).

CA : corps asbestosiques ; MO : microscopie optique ; MET : microscopie électronique à transmission.

résultat en nombre de CA par ml d'expectoration, ou par échantillon). Les résultats obtenus au cours des études les plus récentes sont résumés dans le *tableau VIII*. A l'exception d'une étude, la sensibilité du marqueur est faible (inférieure à 50 %), même dans des séries où les expositions cumulées sont probablement relativement élevées [53]. Par contre, toutes les publications soulignent la spécificité du marqueur.

Au total, il ne nous paraît pas établi, sur la base des données publiées actuellement, que le marqueur CA en MO dans l'expectoration apporte une aide au clinicien pour le repérage des expositions incertaines à partir du questionnaire, alors qu'il s'agit des circonstances où le médecin du travail en aurait le plus besoin. Les conclusions de travaux en cours dans des groupes professionnels ayant eu des expositions contrastées à l'amiante (incluant des groupes à exposition incertaine) devraient prochaine-

ment apporter des éléments de réponse sur les situations où ce marqueur CA en MO dans l'expectoration peut être proposé. Le marqueur CA en MO dans l'expectoration n'apporte de toute façon pas d'élément décisionnel particulier (surveillance clinique, modification de l'attitude thérapeutique) justifiant de le proposer lorsque l'exposition est évidente à l'interrogatoire.

UTILISATION MÉDICO-LÉGALE

(RECONNAISSANCE EN MALADIE PROFESSIONNELLE)

Les aspects spécifiques d'indemnisation des maladies liées à l'amiante sont différents suivant les pays. Actuellement, en France, l'analyse minéralogique n'est pas mentionnée dans les critères requis des tableaux 30 ou 30 bis du régime général de la Sécurité sociale. Il importe de souligner que l'analyse minéralogique devrait uniquement

TABLEAU VIII. — Performances du marqueur CA dans l'expectoration.

Référence	Exposés (type d'exposition)	Non exposés	Se	Sp	Remarques
Sébastien <i>et coll.</i> , 1988 [53]	170 (mine de vermiculite)		75,3 %		Coexposition à la trémolite 2 expectorations/sujet
Pelosi <i>et coll.</i> , 1990 [54]	700 (variable, mal précisée)		1,6 %		Chemins de fer en Italie 1 à 3 expectorations/sujet
McDonald <i>et coll.</i> , 1992 [3]	486		21,6 %		10 cohortes recrutées dans des usines ou mines exposant à différents types d'amiante 1 expectoration/sujet
Scansetti <i>et coll.</i> , 1993 [55]	521 (« faible »)		3,1 %		Centrale thermique en Italie 3 expectorations/sujet
Alderisio <i>et coll.</i> , 1996 [4]	382 (très faible, mal précisée)	119	1,0 %	100 %	3 expectorations/sujet
Teschler <i>et coll.</i> , 1996 [5]	93 (29 : forte, 31 : modérée, 33 : occasionnelle)		36,5 %		Nombre d'expectorations variable selon les sujets Concentration pulmonaire >1000 CA/cm ³ pour tous les sujets analysés ayant des CA dans l'expectoration
Sulotto <i>et coll.</i> , 1997 [6]	142 (faible, mal précisée)		44,4 %		2 à 5 expectorations/sujet Amélioration de la sensibilité avec le nombre d'échantillons recueillis par sujet Expositions cumulées à l'amiante probablement élevées : le groupe « faible » correspond à des intensités de 2 à 3 f/ml ; 51 % des sujets ont une asbestose

Se : sensibilité ; Sp : spécificité.

aider à résoudre les cas où l'exposition à l'amiante est inconnue ou difficile à quantifier à partir des informations du questionnaire professionnel.

Dans le cadre des maladies *spécifiques* (plaques pleurales fibrohyalines bilatérales éventuellement calcifiées, mésothéliome), l'analyse minéralogique nous paraît inutile si une exposition professionnelle, même brève (durée de quelques semaines), est identifiée. En l'absence d'exposition identifiée, une analyse minéralogique peut aider à établir l'existence d'une exposition antérieure (cf. *infra*), et probablement pallier les carences d'information d'ordre administratif. Un cas particulier mais rare est représenté par les expositions liées à l'environnement géologique, où l'identification du type de fibre en MET peut permettre d'aider à déterminer l'origine de l'exposition, même en cas de rétention faible (cas de la trémolite, notamment).

Dans le cadre des maladies *non spécifiques*, en particulier le cancer bronchopulmonaire ou la fibrose interstitielle diffuse, l'analyse minéralogique nous semble très informative. Ces maladies multifactorielles sont toutes deux dose-

dépendantes. Il paraît de ce fait important de préconiser une analyse minéralogique *systématique* en cas de résection pulmonaire pour l'une de ces pathologies.

Le *tableau IX* résume les probabilités d'exposition à l'amiante (cette exposition étant en règle d'origine professionnelle, sauf dans deux circonstances principales : a) en cas de séjour prolongé à proximité d'un gisement géologique spécifique exposant à la trémolite ou l'érionite, et imposant de recourir systématiquement à la technique de MET ; b) en cas d'activités extraprofessionnelles « intensives » exposant à l'amiante) en fonction des niveaux de rétention pour deux laboratoires (Laboratoire d'étude des particules inhalées, Paris ; Laboratoire de minéralogie, Hôpital Erasme, Bruxelles), en l'absence d'artefact technique. Entre les seuils proposés pour définir une exposition *probable* ou *certaine* à l'amiante, on peut considérer que la probabilité d'exposition est croissante.

Bien que l'utilisation du marqueur CA en MO dans l'expectoration ne nous paraisse pas à recommander en première intention, il convient de souligner que sa positi-

TABLEAU IX. — Probabilité d'exposition à l'amiante, en général d'origine professionnelle, en fonction des niveaux de rétention dans les échantillons biologiques chez l'homme.

Exposition	MO		MET	
	Probable	Certaine	Probable	Certaine
LBA	1 CA/ml	5 CA/ml	300/ml*	1 000/ml*
Tissu pulmonaire	1 000 CA/g	5 000 CA/g	Amphiboles** : 1 × 10 ⁶ /g (L > 1 µm) 1 × 10 ⁵ /g (L > 5 µm) Chrysotile : nd	2 × 10 ⁶ /g (L > 1 µm) 2 × 10 ⁵ /g (L > 5 µm) 15 × 10 ⁶ /g (L > 1 µm)***

* Valeurs en cours de validation [18].

** Adapté de Henderson et al. [50].

*** Au-delà de ce seuil, l'exposition est considérée certaine, mais un seuil précis est difficile à établir à partir des séries publiées à ce jour, en particulier du fait de la biopersistance limitée des fibres de chrysotile.

nd : absence de données suffisantes. MO : microscopie optique ; MET : microscopie électronique à transmission ; LBA : liquide de lavage bronchoalvéolaire.

tivité témoigne en règle d'une rétention pulmonaire élevée de CA [5]. Il importe de s'assurer de l'origine sous-glottique du prélèvement. Un résultat négatif ne permet pas contre pas d'éliminer une authentique exposition.

Conclusion

L'analyse minéralogique d'échantillons biologiques peut apporter une contribution importante au cours de l'évaluation rétrospective de l'exposition à l'amiante d'un sujet donné. Elle ne doit pas se substituer aux données de l'interrogatoire professionnel, qui reste l'élément majeur de cette évaluation. Cependant, lorsque les informations sur l'exposition à l'amiante sont inexistantes ou de fiabilité douteuse à partir du questionnaire, l'analyse minéralogique du LBA ou du tissu pulmonaire aide à évaluer le niveau de rétention pulmonaire d'amiante. Les séries publiées suggèrent que le LBA constitue une alternative acceptable au tissu pulmonaire dans la majorité des cas lorsqu'une analyse en MO (comptage des CA) est demandée. L'avantage de cette dernière technique tient surtout à sa facilité de mise en œuvre, et à l'existence de valeurs de référence relativement consensuelles entre les différents laboratoires permet tant de définir avec une bonne approximation des probabilités d'exposition, en règle générale d'origine professionnelle. Le recours aux techniques de ME (en privilégiant la MET) se heurte à des difficultés liées à la rareté des équipes pouvant effectuer ce type d'analyse, au coût de l'analyse et à l'hétérogénéité des valeurs de référence proposées par les laboratoires, probablement partiellement expliquée par des différences méthodologiques. L'intérêt de la technique de MET est indiscutable (permettant le comptage de l'ensemble des fibres d'amiante, et le typage de ces fibres), mais le recours à cette technique est rarement

indispensable en pratique clinique pneumologique. Il nécessite de toute façon que le laboratoire ait établi ses propres valeurs de référence. Il est important de garder en mémoire qu'un résultat négatif ne permet pas d'exclure une exposition clairement définie par le curriculum laboris du patient (surtout en cas d'exposition au chrysotile).

Au cours d'une démarche de diagnostic étiologique, l'analyse minéralogique d'un échantillon de LBA ou de parenchyme pulmonaire est recommandée en cas de pathologie multifactorielle ou non spécifique comme le cancer bronchopulmonaire ou la fibrose interstitielle pulmonaire. L'interprétation du résultat par rapport aux valeurs observées dans des populations de référence aide le clinicien ou l'expert dans l'imputabilité étiologique de ces pathologies, en particulier lorsque les données d'interrogatoire sont insuffisantes.

Références

1. DE VUYST P, KARJALAINEN A, DUMORTIER P *et al.* : Guidelines for mineral fibre analyses in biological samples : report of the ERS working group. *Eur Respir J* 1998;11:1416-26.
2. BIGNON J, DEPIERRE A, BONNAUD G, GONI J, BROUET G : Mise en évidence des corps ferrugineux par microfiltration de l'expectoration. Corrélation avec le risque asbestosique. *Nouv Presse Méd* 1973;2:1697-700.
3. MCDONALD JC, SEBASTIEN P, CASE B, MCDONALD AD, DUFRESNE A : Ferruginous body counts in sputum as an index of past exposure to mineral fibres. *Ann Occup Hyg* 1992;36:271-82.
4. ALDERISIO M, GIOVAGNOLI MR, CENCI M, VECCHIONE A : Asbestos bodies in the sputum of workers exposed to environmental pollution. *Anticancer Res* 1996;16:2965-8.
5. TESCHLER H, THOMPSON AB, DOLLENKAMP R, KONIETZKO N, COSTABEL U : Relevant of asbestos bodies in sputum. *Eur Respir J* 1996;9:680-6.

6. SULOTTO F, CAPELLARO E, CHIESA A, VILLARI S, BONTEMPI S, SCANSETTI G : Relationship between asbestos bodies in sputum and the number of specimens. *Scand J Work Environ Health* 1997;23:48-53.
7. PAIRON JC, MARTINON L, BROCHARD P : Analyses minéralogiques et exploration des pathologies asbestosiques. *Rev Mal Respir* 1998;15:141-9.
8. Sebastien P, Armstrong B, Monchaux G, Bignon J : Asbestos bodies in broncho-alveolar lavage fluid and in lung parenchyma. *Am Rev Respir Dis* 1988;137:75-8.
9. DE VUYST P, DUMORTIER P, MOULIN E *et al.* : Asbestos bodies in bronchoalveolar lavage reflect lung asbestos body concentration. *Eur Respir J* 1988;1:362-7.
10. KARJALAINEN A, PLIPARI R, MÄNTYLÄ T *et al.* : Asbestos bodies in bronchoalveolar lavage in relation to asbestos bodies and asbestos fibres in lung parenchyma. *Eur Respir J* 1996;9:1000-5.
11. TESCHLER H, FRIEDRICHS KH, HOHEISEL GB *et al.* : Asbestos fibers in bronchoalveolar lavage and lung tissue of former asbestos workers. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;149:641-5.
12. GIBBS AR, POOLEY FD : Analysis and interpretation of inorganic mineral particles in lung tissues. *Thorax* 1996;51:327-34.
13. ROGGLI VL : Asbestos and nonasbestos ferruginous bodies. In : Roggli VL, Greenberg SD, Pratt PC (eds). *Pathology of asbestos associated diseases*. Boston : Little, Brown & Company. 1992:39-75.
14. CHURG A, WARNOCK ML : Analysis of the cores of ferruginous (asbestos) bodies from the general population : I. Patients with and without lung cancer. *Lab Invest* 1977;37:280-6.
15. CHURG A, WARNOCK ML : Asbestos and other ferruginous bodies : their formation and clinical significance. *Am J Pathol* 1981;102:447-56.
16. SEBASTIEN P, GAUDICHET A, BIGNON J, BARIS Y : Zeolite bodies in human lungs from Turkey. *Lab Invest* 1981;44:80-5.
17. BROUCKE I, DE VUYST P, DUMORTIER P : Asbestiform bodies on nonasbestos fibres. *Eur Respir J* 1995;8 (Suppl 19) : 29S
18. DUMORTIER P, COPLÜ L, DE MAERTELAER V, EMERI S, BARIS I, DE VUYST P : Assessment of environmental asbestos exposure in Turkey by bronchoalveolar lavage. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:1815-24.
19. MARTINON L, BILLON-GALLAND MA, JANSON X, PAIRON JC, IWATSUBO Y, BROCHARD P : Assessment of asbestos pulmonary retention : relationship between asbestos bodies by optical microscopy and asbestos fibres by analytical transmission electron microscopy. *VIIIth International Conference on Occupational Lung Diseases*, Prague, Czechoslovakia, 14-17 sept 1992. Proceedings of the VIIIth International Conference on Occupational Lung Diseases. Hurych J, Lesage M, David A (eds) 1993;1:197-202.
20. WARNOCK ML, ISENBERG W : Asbestos burden and the pathology of lung cancer. *Chest* 1986;89:20-6.
21. DE VUYST P, DUMORTIER P, MOULIN E, YOURASSOWSKY N, YERNAULT JC : Diagnostic value of asbestos bodies in bronchoalveolar lavage fluid. *Am Rev Respir Dis* 1987;136:1219-24.
22. ORLOWSKI E, PAIRON JC, AMEILLE J *et al.* : Pleural plaques, asbestos exposure and asbestos bodies in bronchoalveolar lavage fluid. *Am J Ind Med* 1994;26:349-58.
23. PAIRON JC, ORLOWSKI E, IWATSUBO Y *et al.* : Pleural mesothelioma and exposure to asbestos : evaluation from work histories and analysis of asbestos bodies in bronchoalveolar lavage fluid or lung tissue in 131 patients. *Occup Environ Med* 1994;51:244-9.
24. KARJALAINEN A, ANTTILA S, MÄNTYLÄ T, TASKINEN E, KYRÖNEN P, TUKIAINEN P : Asbestos bodies in bronchoalveolar lavage fluid in relation to occupational history. *Am J Ind Med* 1994;26:645-54.
25. CHIAPPINO G, FRIEDRICHS KH, RIVOLTA G, FORNI A : Alveolar fiber load in asbestos workers and in subjects with no occupational asbestos exposure : an electron microscopy study. *Am J Ind Med* 1988;14:37-46.
26. KARJALAINEN A, NURMINEN M, VANHALA E, VAINIO H : Pulmonary asbestos bodies and asbestos fibers as indicators of exposure. *Scand J Work Environ Health* 1996;22:34-8.
27. KARJALAINEN A, ANTTILA S, VANHALA E, VAINIO H : Asbestos exposure and the risk of lung cancer in a general urban population. *Scand J Work Environ Health* 1994;20:243-50.
28. KARJALAINEN A, VANHALA E, KARHUNEN PJ, LALU K, PENTTILÄ A, TOSSAVAINEN A : Asbestos exposure and pulmonary fiber concentrations of 300 Finnish urban men. *Scand J Work Environ Health* 1994;20:34-41.
29. KARJALAINEN A, ANTTILA S, HEIKKILÄ L, KARHUNEN P, VAINIO H : Asbestos exposure among Finnish lung cancer patients : occupational history and fiber concentration in lung tissue. *Am J Ind Med* 1993;23:461-71.
30. KARJALAINEN A, KARHUNEN PJ, LALU K *et al.* : Pleural plaques and exposure to mineral fibres in a male urban necropsy population. *Occup Environ Med* 1994;51:456-60.
31. GREEN FHY, HARLEY R, VALLYATHAN V *et al.* : Exposure and mineralogical correlates of pulmonary fibrosis in chrysotile asbestos workers. *Occup Environ Med* 1997;54:549-59.
32. TAKAHASHI K, CASE BW, DUFRESNE A, FRASER R, HIGASHI T, SIEMIATYCKI J : Relation between lung asbestos fibre burden and exposure indices based on job history. *Occup Environ Med* 1994;51:461-9.
33. KARJALAINEN A, TAIKINA-AHO O, ANTTILA S, HEIKKILÄ L, TOSSAVAINEN A, VAINIO H : Asbestos exposure among Finnish lung cancer patients. Comparison of scanning and transmission electron microscopy in the analysis of lung. Inhaled Particles VII. *Ann Occup Hyg* 1994 ;38 (Suppl 1) : 657-63.
34. CHURG A, WIGGS B : Fiber size and number in workers exposed to processed chrysotile asbestos, chrysotile miners, and the general population. *Am J Ind Med* 1986;9:143-52.
35. WAGNER JC, MONCRIEFF CB, COLES R, GRIFFITHS DM, MUNDAY DE : Correlation between fibre content of the lungs and disease in naval dockyard workers. *Br J Ind Med* 1986;43:391-5.
36. CASE BW, SEBASTIEN P : Environmental and occupational exposures to chrysotile asbestos : a comparative microanalytic study. *Arch Environ Health* 1987;42:185-91.
37. GAUDICHET A, JANSON X, MONCHAUX G *et al.* : Assessment by analytical microscopy of the total lung fibre burden in mesothelioma patients matched with four other pathological series. *Ann Occup Hyg* 1988;32:213-23.
38. CASE BW, SEBASTIEN P, MCDONALD JC : Analysis in accident victims : a biological assessment of general environmental exposures. *Arch Environ Health* 1988;43:178-9.
39. WAGNER JC, NEWHOUSE ML, CORRIN B, ROSSITER CER, GRIFFITHS DM : Correlation between fibre content of the

- lung and disease in east London asbestos factory workers. *Br J Ind Med* 1988;45:305-8.
40. WARNOCK ML : Lung asbestos burden in shipyard and construction workers with mesothelioma : comparison with burdens in subjects with asbestosis or lung cancer. *Environ Res* 1989;50:68-85.
41. CHIAPPINO G, FRIEDRICH KH, FORNI A, RIVOLTA G, TODARO A : Alveolar and lung fibre levels in non-occupationally exposed subjects. In : Bignon J, Peto J, Saracci R (eds) : *Non-occupational exposure to mineral fibres*. Lyon. IARC scientific Publ, n°90, 1989:310-3.
42. GIBBS AR, JONES JSP, POOLEY FD, GRIFFITHS DM, WAGNER JC : Non-occupational malignant mesotheliomas. In : Bignon J, Peto J, Saracci R (eds). *Non-occupational exposure to mineral fibres*. Lyon : IARC Scientific Publ n° 90, 1989, 219-28.
43. ALBIN M, JOHANSSON L, POOLEY FD, JAKOBSSON K, ATTEWELL R, MITHA R : Mineral fibres, fibrosis, and asbestos bodies in lung tissue from deceased asbestos cement workers. *Br J Ind Med* 1990;47:767-74.
44. FRIEDRICH KH, BROCKMANN M, FISCHER M, WICK G : Electron microscopy analysis of mineral fibers in human lung tissue. *Am J Ind Med* 1992;22:49-58.
45. DAWSON A, GIBBS AR, POOLEY FD, GRIFFITHS DM, HOY J : Malignant mesothelioma in women. *Thorax* 1993;48:269-74.
46. DUFRESNE A, BEGIN R, CHURG A, MASSE S : Mineral fiber content of lungs in patients with mesothelioma seeking compensation in Quebec. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:711-8.
47. DUFRESNE A, BEGIN R, MASSE S, DUFRESNE CM, LOOSEREWANICH P, PERRAULT G : Retention of asbestos fibres in lungs of workers with asbestosis, asbestosis and lung cancer, and mesothelioma in Asbestos township. *Occup Environ Med* 1996;53:801-7.
48. ROGGLI VL, PRATT PC, BRODY AR : Analysis of tissue mineral fiber content. In : Roggli VL, Greenberg SD, Pratt PC (eds). *Pathology of asbestos-associated diseases*. Boston : Little, Brown & Company. 1992:299-325.
49. BECKLAKE MR, CASE BW : Fiber burden and asbestos-related lung disease : determinants of dose-response relationships. *Am J Respir Crit Care Med* 1994;150:1488-92.
50. HENDERSON DW, RANTANEN J, BARNHART S *et al.* : Asbestos, asbestosis, and cancer : the Helsinki criteria for diagnosis and attribution. Consensus report. *Scand J Work Environ Health* 1997;23:311-6.
51. TOSSAVAINEN A : Asbestos, asbestosis and cancer. Exposure criteria for clinical diagnosis. In : *Asbestos, asbestosis and cancer*. Proceedings of an International Expert Meeting. Finish Institute of Occupational Health. 20-22 January 1997. Helsinki, Finland. Research reports 14:8-27.
52. BOUTIN C, DUMORTIER P, REY F, VIALLAT JR, DE VUYST P : Black spots concentrate oncogenic asbestos fibers in the parietal pleura. Thoracoscopic and mineralogic study. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:444-9.
53. SEBASTIEN P, ARMSTRONG B, CASE B, BARWICK H, KESKULA H, MCDONALD JC : Estimation of amphibole exposure from asbestos body and macrophage counts in sputum : a survey in vermiculite miners. *Ann Occup Hyg* 1988;32 (Suppl 1) : 195-201.
54. PELOSI G, COLTRO N, IANNUCCI A : The use of cellulose membrane filters for detecting asbestos in sputum specimens. *Acta Cytol* 1990;34:588-90.
55. SCANSETTI G, PIRA E, BOTTA GC, TURBIGLIO M, PIOLATTO G : Asbestos exposure in a steam-electric generating plant. *Ann Occup Hyg* 1993;37:645-53.