

# Le test rapide de cancérisation du Triton appliqué à l'étude des poussières causées par les pneus à clous sur l'autoroute du Léman<sup>1</sup>

S. Neukomm, S. Fritschi, C. Barblan, T. Vu Duc et M. Guillemin<sup>2</sup>

Institut universitaire de médecine sociale et préventive, Lausanne (Directeur: Prof. A. Delachaux), Laboratoires de recherches expérimentales, Le Mont-sur-Lausanne (Médecin-chef: Dr S. Neukomm)

## Résumé

*Le test rapide de cancérisation du triton a été utilisé avec succès pour l'étude détaillée de la composition chimique de la fumée du tabac. Avec le même test, on a commencé l'étude des poussières causées par les pneus à clous sur les autoroutes de notre pays. Les poussières en question ont été prélevées en trois points bien déterminés:*

*a) à l'air libre, sur un secteur à revêtement bitumineux (entre Lausanne et Roile),*

*b) à l'air libre, sur un secteur à revêtement cimenté (entre Gland et Genève),*

*c) dans l'air confiné d'un tunnel routier à revêtement bitumineux (au milieu du tunnel de Glion).*

*Plusieurs recherches chimiques ont été entreprises simultanément et parallèlement à des recherches biologiques. Les résultats obtenus jusqu'ici démontrent un effet de poussières fortement néoplasiant.*

Durant l'hiver dernier, la production d'une grande quantité de poussières par les pneus à clous, sur les routes à grande circulation, a provoqué de nombreuses réactions dans notre population. C'est pourquoi, en collaboration avec le Département de médecine du travail et d'hygiène industrielle de notre Institut, notre laboratoire a entrepris une première série de recherches à la fois chimiques et biologiques le long de l'autoroute du Léman.

Dans ce domaine, l'une des questions les plus souvent évoquées est celle de savoir si les poussières provoquées par des revêtements routiers sont cancérigènes ou non. Pour y répondre de façon certaine, il importe donc de tester aussi largement que possible leur pouvoir cancérigène, en particulier celui des poussières qui sont arrachées aux revêtements bitumineux des chaussées.

Les tests classiques de cancérisation utilisent très généralement la souris comme animal d'expérience. Mais ces tests sont

longs et exigent à la fois un grand nombre d'animaux et de grandes quantités de produits à tester. C'est la raison pour laquelle il nous est apparu particulièrement opportun d'utiliser dans une recherche préliminaire le test rapide du Triton que nous avons pratiqué avec succès dans la recherche des cancérigènes de la fumée du tabac [1] et qu'Arffmann a utilisé pour détecter le pouvoir cancérigène des graisses chauffées [2].

## Organisation de l'expérience préliminaire

Avec l'accord et sous l'aimable protection de la Gendarmerie vaudoise, notre équipe a pu avant le 15 mars 1972 (date limite d'interdiction des pneus à clous) recueillir et mesurer la concentration des poussières en trois points bien déterminés de l'autoroute du Léman:

1. à l'air libre, sur un secteur à revêtement cimenté (près de Gland au km 35,7 — 3 mars 1972);

2. à l'air libre, sur un secteur à revêtement bitumineux (à Morges au km 58,6 — 3 mars 1972);

3. dans l'air confiné d'un tunnel routier à revêtement bitumineux (au milieu du tunnel aval de Glion — 8 mars 1972).

## Matériel et méthodes

Les échantillons de poussières rapportés au laboratoire ont été tamisés à 0,315 mm puis extraits durant 8 heures au Soxhlet avec 100 ml de cyclohexane sans benzène de Fluka. On réduit ensuite chaque échantillon à 50 ml. On observe une nette différence de coloration entre les extraits bruts noirs provenant des revêtements bitumeux et l'extrait brut brun clair des revêtements cimentés.

1 ml de chaque extrait brut concentré est dissout dans 9 ml d'huile d'arachide pour

<sup>1</sup> Basé sur une présentation lors de la journée d'exposés scientifique de la Société suisse de médecine préventive, Genève, 22 juin 1972.

<sup>2</sup> Département de médecine du travail et d'hygiène industrielle, Rue César Roux 18, 1005 Lausanne.

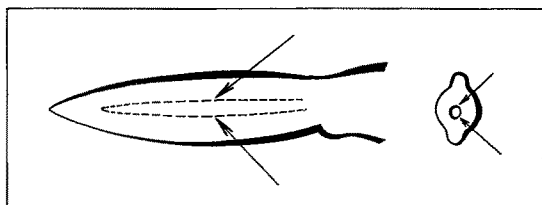


Fig. 1 Injections d'extraits de poussières en solution huileuse dans la queue du Triton

être injecté à une *première série de 30 tritons*, c'est-à-dire à 10 animaux pour chacun des 3 extraits.

En vue d'éliminer autant que possible les produits bruns du bitume, on procède encore à partir de 30 ml d'extrait brut concentré à deux purifications successives par passage

1. sur colonne de 350×30 mm de silicagel Merck (70–230 mesh); élution avec 500 ml de cyclohexane p. a. Merck. Evaporation puis,

2. nouvelle séparation sur colonne de 10×30 mm de silicagel Merck (70×230 mesh); élution avec 500 ml de cyclohexane p. a. Merck. Après évaporation, on dilue le résidu dans 9 ml d'huile d'arachide pour les injections à une *deuxième série de 30 tritons*, c'est-à-dire aussi à 10 animaux pour chaque éluat.

Les injections se font par voie sous-cutanée dans la queue à raison de 2×0,1 ml de chaque solution huileuse en dessus et en dessous de l'axe vertébral du même côté (figure 1).

Chaque animal de la *1ère série* a donc reçu  $1/5000$  de l'extrait brut concentré au point d'injection et chaque animal de la *2e série* a reçu, en extrait purifié,  $1/150$  de l'extrait brut au point d'injection.

Pour les examens histologiques, on prélève la zone injectée chez 5 animaux de chaque lot au 7e jour, et chez les animaux restant au 14e jour. On fixe, on décalcifie, on coupe

à congélation à 5  $\mu$  et on monte 1 coupe sur 10. Coloration à l'hémalun-éosine.

L'appréciation de la réaction est faite selon la méthode déjà décrite antérieurement [2] et qui consiste à estimer l'étendue des lésions néoplasiques en les répartissant en 3 catégories: *larges* par + (fig. 2), *moyennes* par  $\pm$  (fig. 3) et *limitées* par  $\pm$  (fig. 4).

Sur cette base, on peut quantifier la réaction en donnant au signe + la valeur 1, au signe  $\pm$  la valeur 0,5 et au signe ( $\pm$ ) la valeur 0,25. On peut dès lors calculer un indice néoplasique en divisant la somme des valeurs individuelles par le nombre d'animaux observés. L'indice varie de 0 à 1; il reflète dans une certaine mesure la probabilité de produire une néoplasie sur un seul individu.

L'expérimentation antérieure a montré qu'un indice de 0,10 à 0,15 pouvait être atteint par la seule injection d'huile d'arachide et ceci d'autant plus fréquemment que l'huile n'est pas absolument fraîche ou qu'elle est restée en contact avec des polluants atmosphériques [4].

Concernant la sensibilité du test, nous avons établi [1] qu'il reste encore certainement positif pour des concentrations de  
10–9 g/l de méthylcholanthrène  
10–7 g/l de dibenzanthracène  
10–5 g/l de benzopyrène

#### Résultats

Les résultats de cette recherche prélimi-

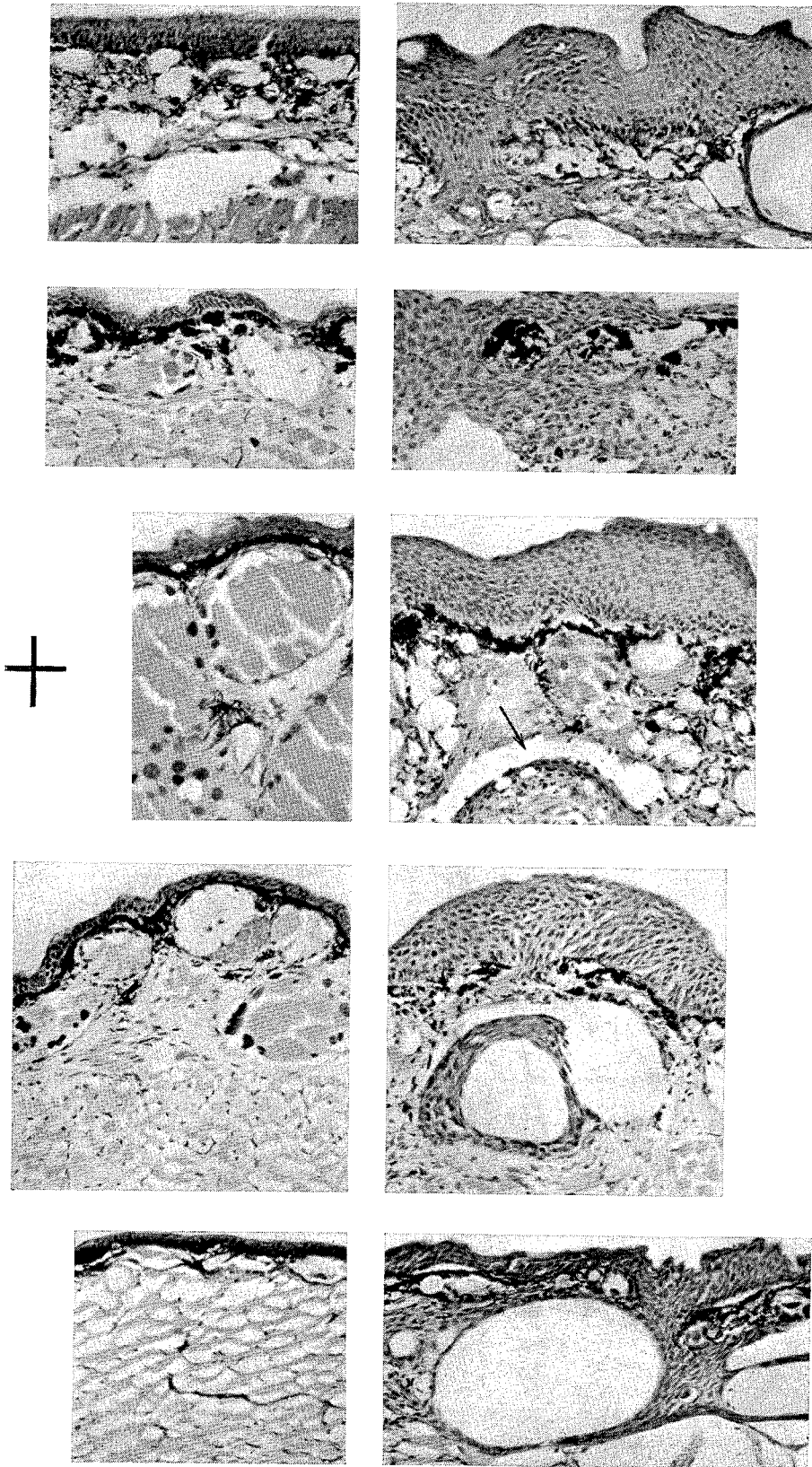


Fig. 2 Test Triton fortement positif (les images de gauche représentent la région controlatérale témoin sans hydrocarbure cancérigène)

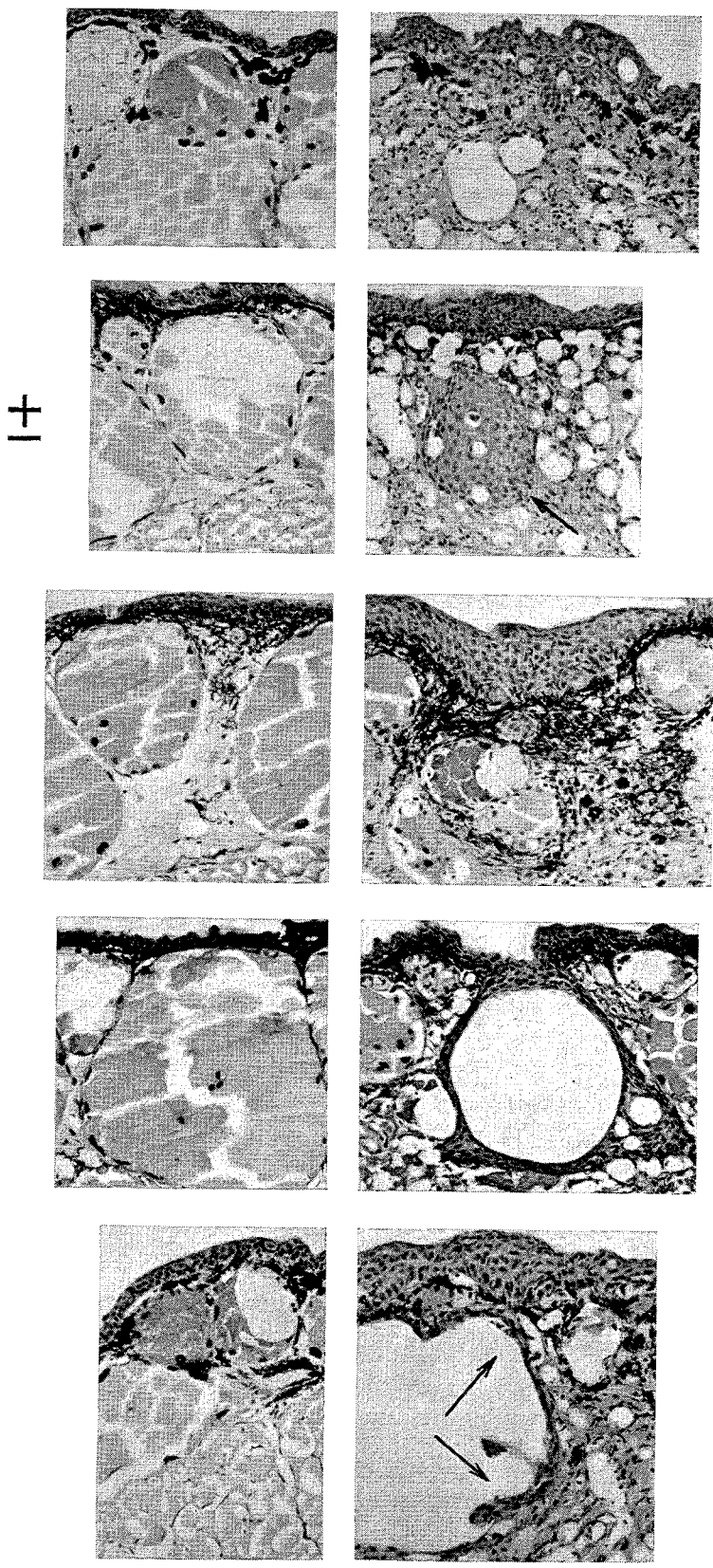
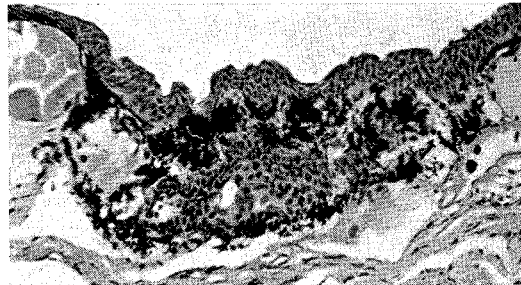
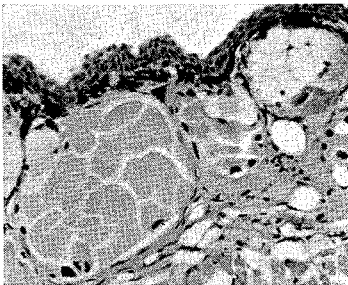
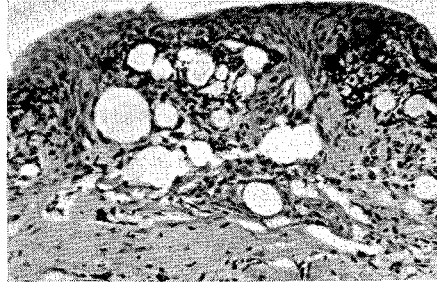
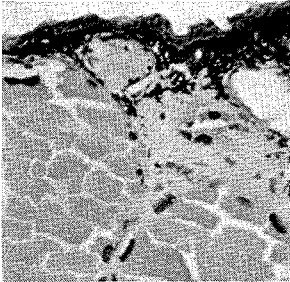
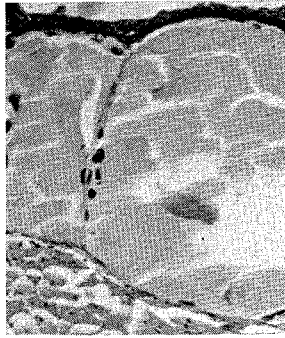


Fig. 3 (voir fig. 2 et texte)



(±)

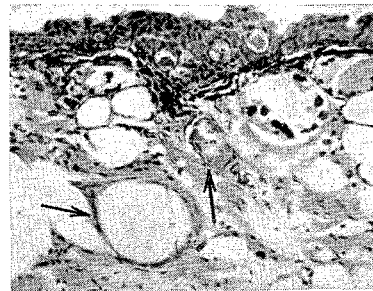
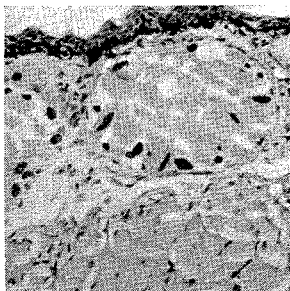
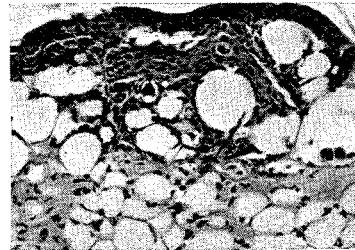


Fig. 4 (voir fig. 2 et texte)

naire du pouvoir cancérigène des poussières au moyen du test Triton sont rassemblés dans le tableau I suivant.

Ce tableau nous permet de constater que

1. tous les extraits et tous les éluats sont actifs;
2. les extraits bruts sont plus actifs que les éluats;
3. les extraits bruts des revêtements bitumineux sont plus actifs que l'extrait brut provenant d'un revêtement cimenté.

En calculant l'indice moyen global comprenant aussi bien l'extrait brut que l'éluat, on obtient les valeurs suivantes: 0,62 pour le tunnel de Glion; 0,63 pour Morges et 0,46 pour Gland.

Extrait	7 jours	14 jours	Indice
Brut 33,9 g (Tunnel)	+++--	++++(+)	0,72
Éluat	+(+)(+)(+)-	++++-	0,42
Brut 29,6 g (Morges)	+++++	+++++	1,00
Éluat	(+)(+)(+)(+)	(+)(+)--	0,18
Brut 26,2 g (Gland)	++++(+)	++++(+)(+)	0,57
Éluat	++++(+)(+)	+(+)(+)--	0,35

Tableau 1 Résultats individuels et indice néoplasique moyens des extraits bruts et des éluats de poussières de l'autoroute du Léman (2 animaux sont morts avant le 7e jour dans le lot «éluat Morges»)

### Discussion

D'un point de vue général, on peut dire que les résultats obtenus s'accordent avec les connaissances actuelles de la composition chimique des poussières de l'air, en particulier avec les travaux de *Schaad* et *Gilgen* à Zurich [5] et de *Grimmer* à Hambourg [6], c'est-à-dire avec le fait que les poussières de l'air, en particulier au voisinage des routes à grande circulation, contiennent de

nombreux hydrocarbures cancérigènes.

Le fait très probable de la moindre teneur en substances cancérigènes des poussières recueillies au voisinage des routes cimentées indique que dans ce cas les cancérigènes proviennent essentiellement des gaz d'échappement des voitures et éventuellement de l'usure des pneus et/ou des huiles de graissage des moteurs. Inversement, il est très probable que le bitume utilisé pour le revêtement des routes contient des substances cancérigènes.

Dès lors, une étude plus approfondie de la pollution le long des routes à grande circulation doit s'efforcer de déterminer l'importance relative du revêtement routier par rapport aux autres sources de polluants. A cet égard, l'analyse de la teneur en plomb et en silice, telle qu'elle a été entreprise par *Guillemin* dans notre Institut peut contribuer grandement à la solution de cette question.

Concernant le problème des risques de cancer pour l'homme, il est évident que seules des recherches tenant compte de la proportion des poussières respirables et non respirables et de leur teneur spécifique en substances cancérigènes permettra d'obtenir une réponse sûre et précise, comme le souhaite *Grandjean* [7].

### Conclusions

Une étude préliminaire du pouvoir cancérigène des poussières recueillies en 3 points bien déterminés de l'autoroute du Léman, au moyen du test Triton, révèle que ces poussières sont fortement néoplasiantes; les poussières provenant de revêtements bitumineux sont plus actives que celles provenant des revêtements cimentés. Cette observation permet de poser en principe que le pouvoir cancérigène global des poussières provient en partie des revêtements et en partie des gaz d'échappement et/ou de l'usure des pneus, voire des huiles de graissage des

moteurs, et que les polluants principaux sont des hydrocarbures polycycliques. Il semble donc bien justifié de poursuivre l'étude du pouvoir cancérigène des poussières produites par la circulation automobile par les tests classiques de cancérisation, à moyen et à long terme, sur souris nouvelles-nées [8] ou sur souris jeunes adultes [9].

#### Bibliographie

- [1] *Neukomm S.*: Un test sensible et ultra-rapide du pouvoir cancérigène de certaines substances chimiques, *Oncologia* 10, 107 (1957).
- [2] *Arffmann E.*: Heated fats and allied compounds as carcinogens, studied by the newt test. *Acta path. microbiol. scand.* 61, 161 (1964) et Thèse Université Aarhus (juillet 1964) "Om salamander testen for carcinogenicitet" (contient un résumé en anglais des travaux de l'auteur et une abondante bibliographie sur le test Triton).
- [3] *Neukomm S.* et *Mme Luder-Huguenin*: Investigations on the neoplastic power of chemical compounds in Newt. I. Derivatives of fluorene, fluore-nacene and fluorenaphène, *Oncologia* 13, 294 (1960).
- [4] *Neukomm S.*, *Bonnet J.*, *Baer T.* et *de Trey M.*: Investigations on the intermediate metabolism of steroid hormones and carcinogenic compounds. I. Studies of the neoplastic power in Newt of some derivatives of cholesterol, steroid hormones and allied substances. *Oncologia* 13, 279 (1960).
- [5] *Schaad R.* et *Gilgen A.*: 3,4-Benzopyren im Staubsediment von Zürich. *Zeitschr. Präventivmed.* 15, 87 (1970).
- [6] *Grimmer G.*: Cancerogene Kohlenwasserstoffe in der Umgebung des Menschen. *Deutsche Apotheker-Zeitung* 16, 529 (1968).
- [7] *Grandjean E.*: La pollution atmosphérique. *Revue polytechnique (Zurich)* no 1293 et 1294 du 24 septembre et 25 octobre 1971.
- [8] *Della Porta G.*: Some aspects of medical drug testing for carcinogenic activity in Potential carcinogenic hazards from drugs. *UICC Monograph Series. Vol. 7* édité par R. Truhaut, Springer Verlag Berlin 1967, p. 33.
- [9] *Neukomm S.*: Evaluation of the potential carcinogenic and co-carcinogenic action of drugs. *Oncologia* 19, 239 (1965).

Le test rapide de cancérisation du Triton appliqué à l'étude des poussières causées par les pneus à clous sur l'autoroute du Léman (Dr S. Neukomm et al., Lausanne).

Adresse de l'auteur principal:

Dr S. Neukomm, Institut universitaire de médecine sociale et préventive, Laboratoires de recherches expérimentales, 1052 Le Mont-sur-Lausanne.