

## Contrôle chimique et biologique des condensats résultant du fumage de tabacs traités selon les procédés sous brevet Neukomm-Bonnet

Par *J. L. Cuzin*<sup>1</sup>, *A.* et *S. Testa*, *G. Anguera*

### Résumé

Les résultats des analyses chimiques, exécutées avec un soin particulier et selon un schéma d'engagement structuré de façon à permettre une analyse statistique critique, sont formels :

Le traitement NB, tel qu'il a été appliqué sur le tabac de type GO par les inventeurs eux-mêmes n'entraîne pas les effets revendiqués par les brevets : en effet alors que ces derniers supposaient acquis un abaissement du taux des hydrocarbures polyaromatiques (3,4-benzopyrène, pyrène et anthracène) de l'ordre de 50 %, on n'a pu constater aucun abaissement significatif (au seuil de 10 %), des taux de ces hydrocarbures.

Par contre, le traitement NB influence d'une façon significative le poids de tabac par cigarette et le rendement en condensats par cigarette. Ces deux effets, non revendiqués par les auteurs, sont réels mais cependant très faibles. Ces résultats ont été obtenus par la machine à piège capillaire SEITA (efficacité du piègeage environ 50 %) et confirmés sur machine à piège à air liquide dite « absolue ». Sur le plan biologique, le test cutané court terme sur souris selon Guérin a permis d'établir, soit par la disparition des glandes sébacées soit par le degré de l'hyperplasie, qu'aucune différence significative ne peut être mise en évidence entre les condensats provenant de cigarettes traitées NB ou de cigarettes de contrôle.

### Zusammenfassung

Die Resultate der mit besonderer Sorgfalt nach einem statistischen Versuchsplan durchgeführten chemischen Analysen führen zu dem eindeutigen Schluß, daß die Tabakbehandlung nach dem Verfahren Neukomm-Bonnet – ausgeführt durch die Erfinder selber – nicht den im Patent stipulierten Erfolg zeitigt. Während die Erfinder angeben, eine 50prozentige Erniedrigung des Gehaltes an polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (3,4-Benzpyren, Pyren und Anthrazen) im Rauch festgestellt zu haben, konnte keine signifikante Abnahme in der Ausbeute an diesen Kohlenwasserstoffen festgestellt werden (statistische Vertrauensgrenze von 10 %).

Hingegen verursacht die Tabakbehandlung nach NB eine zwar schwache, aber signifikante Veränderung des Tabakgewichtes und der Ausbeute an Rauchkondensat pro Zigarette, Effekte, die von den Erfindern nicht beansprucht werden. Diese Resultate ergaben sich mit der « Kapillarfallen »-Rauchmaschine der SEITA (Auffangwirksamkeit etwa 50 %) und wurden bei Verwendung einer Rauchmaschine mit einer mit flüssiger Luft gekühlten Rauchfalle bestätigt.

Was die biologische Seite betrifft, so konnte der Mäusehauttest nach Guérin weder durch den Talgdrüsenchwund noch durch das Ausmaß der Hyperplasie einen signifikanten Unterschied zwischen den Rauchkondensaten aufzeigen, die aus NB-behandelten bzw. unbehandelten Zigaretten gewonnen wurden.

<sup>1</sup> Adresse: *J. L. Cuzin*, Président de la Commission scientifique du CORESTA, 53, Quai d'Orsay, Paris VIIe.

## Première série d'essais

### Définition des tabacs soumis à l'expérimentation

Le mélange de tabac haché soumis au traitement selon les procédés Neukomm et Bonnet correspond au type dit « noir »: il s'agit d'un mélange de coupe dit G.O composé de tabacs séchés à l'air (dark air cured) ayant subi une fermentation naturelle complète.

Un grand lot initial (80 kg) a été divisé (par appariage binaire à la poignée, précédé et suivi de réhomogénéisation par brassage) en deux lots identiques: l'un des lots, dit lot A pour toute la suite des opérations, a été soumis au traitement NB, l'autre lot, dit B, a été utilisé comme témoin non traité.

### Traitement d'extraction

Pour assurer à la fois l'objectivité des opérations de traitement et sa conformité avec les clauses descriptives des procédés sous brevet Neukomm-Bonnet, les opérations d'extraction ont été réalisées par les auteurs eux-mêmes. Ce traitement a consisté en une extraction par le chlorure de méthylène (solvant chloré désigné par les auteurs dans le cadre des brevets). L'extraction a été pratiquée par aspersion dans une machine continue dite « prototype NB » réalisée pour le compte de l'Association Suisse des fabricants de cigarettes. La machine était installée dans un hall non chauffé, où a régné pendant la durée de l'essai la température de saison (8 novembre 1960, t voisine de +10°C).

L'analyse chimique rapportée au tableau 1 donne les profils caractéristiques des lots A et B.

Lot	Alcaloïdes Nicoti- niques Totaux %	Nor- nicotine %	NH <sub>3</sub> g/ 100 g tabac sec	N soluble g/100 g tabac sec <sup>1</sup>	N proté- ique g/100 g tabac sec <sup>2</sup>	pH (extrait aqueux)	Sucres Réduc- teurs	Cires et résines <sup>3</sup> g/100 g tabac sec
A	1,35	0,27	0,43	0,32	1,45	5,9	nég.	3,45
B	1,65	0,34	0,46	0,31	1,44	6,1	nég.	5,04

<sup>1</sup> N de l'extrait aqueux du tabac considéré  
<sup>2</sup> N coagulable par l'acide trichloracétique dans l'extrait aqueux de tabac  
<sup>3</sup> Résidu sec de l'extraction totale par le trichloréthylène

Tableau 1 Résultats de différentes analyses exécutées sur deux lots de tabac A (après traitement par extraction selon NB) et B (contrôle)

Le lot A (traité) a conservé « à dire d'expert » un aspect normal. Il semble cependant « à la poignée » moins souple que le lot B (témoin).

## Fabrication des cigarettes

Deux lots de cigarettes de 20 000 unités ont été fabriqués, à partir des tabacs A et B, sur une même machine et avec une même bobine de papier à cigarettes. Les cigarettes ont été confectionnées au diamètre de 8,7 mm et à la longueur de 70 mm. Elles ne portaient aucune désignation, mais les paquets ont été marqués A et B respectivement.

Certaines indications de pouvoir de remplissage accru du tabac traité devront être vérifiées ultérieurement particulièrement en rapport avec la perte de poids à la suite du traitement même.

## Le fumage des cigarettes

Les cigarettes ont été fumées sur la machine B du SEITA [1] équipée avec le piège capillaire; les constantes de fumage suivantes ont été observées:

volume d'une bouffée	35 ml
durée d'une bouffée	3 sec
intervalle entre 2 bouffées	27 sec <sup>1</sup>
longueur du mégot	25 mm <sup>1</sup>

L'humidité des cigarettes a été déterminée par la méthode de distillation azéotropique avec le benzène, standard CORESTA [2].

## La méthode d'analyse

La méthode de dosage de l'anthracène, du pyrène et du 3-4 benzopyrène a été celle qui avait été établie et mise au point par le Service des Recherches du SEITA-Cuzin et al. [3].

Les condensats provenant de chaque lot fumé ont été utilisés parallèlement pour les dosages chimiques et le test biologique. Il a été procédé à titre de contrôle à la mesure de l'humidité relative des cigarettes après conditionnement (en grande cellule contrôlée 20°C et 65 H<sub>R</sub> atm) et des poids moyen/cigarette: les masses de condensat (poids anhydre sec, sous déduction de l'eau selon K. Fischer) ont été mesurées comme base d'estimation de l'influence brute du traitement extractif pratiqué, ainsi que comme référence masse pour l'expression des Hydrocarbures polyaromatiques dosés (anthracène, pyrène, 3-4 benzopyrène).

Le tableau synoptique suivant (tableau 2) reproduit les moyennes mesurées par lot avec 4 répétitions 1, 2, 3, 4 pour ces différents items. On observera que les taux rapportés pour les Hydrocarbures polyaromatiques sont référés soit

<sup>1</sup> Les Standards Coresta, introduits en 1960, n'ont pas été respectés dans cette série de travaux car le laboratoire manquait de points de comparaison avec les nouvelles constantes, alors qu'il disposait d'éléments de référence avec les constantes adoptées

	Humidité cigarette %				Poids moyen d'une cigarette (g)				Poids de condensat (mg)/g tabac cig. p. anh.							
	1		2		3		4		1		2		3		4	
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Cigarettes	A	11,1	11,2	11,7	11,3	1,039	1,038	1,035	1,038							
	B	10,9	10,9	11,7	11,3	1,057	1,054	1,050	1,052							
Poids de condensat (g lot) p. anh. <sup>1</sup>																
Poids de condensat (mg) cig. p. anh.																
	1	2	3	4	$\bar{m}$	1	2	3	4	$\bar{m}$	1	2	3	4	$\bar{m}$	
Condensat	A	11,77	13,02	12,55	13,56	12,72	16,8	18,2	17,9	18,7	16,2	17,9	17,3	18,8	17,5	
	B	12,23	13,54	13,87	14,67	13,57	17,5	19,3	19,8	21,0	19,4	16,5	18,5	18,8	19,9	18,4
$\gamma$ /g condensat p. anh.																
$\gamma$ /100 cigarettes p. anh.																
$\gamma$ /100 g tabac cigarette p. anh.																
	1	2	3	4	$\bar{m}$	1	2	3	4	$\bar{m}$	1	2	3	4	$\bar{m}$	
Anthracène	A	10,0	10,5	9,8	10,2	10,1	16,8	19,6	17,5	18,4	16,2	18,8	16,9	19,2	17,8	
	B	9,2	9,4	10,1	10,6	9,8	16,1	18,2	20,0	22,3	19,1	15,3	17,4	19,0	21,2	18,2
Pyrène	A	9,7	9,0	/	9,5	9,4	16,4	16,7	/	18,5	17,2	16,1	/	17,9	16,6	
	B	8,5	8,3	/	9,2	8,7	14,9	16,0	/	19,3	16,7	14,1	15,3	18,4	15,9	
3,4 benzopyrene	A	0,85	0,95	0,9	1,1	0,95	1,43	1,8	1,66	2,1	1,75	1,37	1,7	1,6	2,0	
	B	0,80	0,95	0,9	1,0	0,91	1,36	1,8	1,66	2,1	1,73	1,28	1,7	1,6	2,0	

<sup>1</sup> p. anh. = poids anhydre (par déduction de l'eau dosée selon K. Fischer  
pour condensats ou par distillation azéotropique-benzène pour tabac).

<sup>2</sup> mégot inclus

<sup>3</sup> données accidentellement manquantes

Tableau 2 Tableau synoptique des données analytiques chimiques

3-4 benzopyrène, pyrène et anthracène dans le condensat provenant de cigarettes traitées (A) et témoin (B) (en  $\gamma$ /g condensat,  $\gamma$ /cigarette et  $\gamma$ /100 g tabac cigarette). Chaque lot (1, 2, 3, 4) correspond au fumage de 700 cigarettes (à l'exception du sous-lot A 4 qui ne comporte que 696 cigarettes)

à la masse de condensat, soit à l'unité cigarette, soit à la masse de tabac contenu dans 100 cigarettes. Ce dernier mode de référence est apparu comme utile, du fait que le poids unitaire des cigarettes traitées diffèrait de celui des témoins.

### Conclusions et discussion

La structure imposée aux opérations d'échantillonnage initial (lots constituant les groupements A et B), ainsi qu'à l'opération de fumage, ayant permis de vérifier a posteriori que ni les structures des groupements A et B, ni les processus de fumage et d'obtention des condensats n'introduisaient de biais repérable dans les résultats, il est possible de procéder aux comparaisons internes des valeurs rapportées (selon les trois unités de référence adoptées) entre les moyennes relatives aux 4 lots (répétitions 1, 2, 3, 4) pour les groupements A et B.

Ceci posé, on observe que :

a) Les *poids moyens des cigarettes traitées* (A) sont significativement (au seuil 2%) inférieurs à ceux des cigarettes non traitées (B). Ce premier résultat n'est pas contredit par l'analyse chimique avant fumage des tabacs traités (tableau 1) qui, pour deux postes au moins (alcaloïdes, cires et résines) met en évidence une diminution liée au traitement. Il témoigne en tout cas de la réalité de l'effet « extraction » dans le traitement pratiqué.

b) *Humidité relative* des cigarettes : différences non significative entre A et B.

c) *Poids de condensat* : quelle que soit l'unité de référence adoptée le *rendement en condensat est diminué* par le traitement.

d) *Rendement en Hydrocarbures polyaromatiques* (anthracène, pyrène, 3-4 benzopyrène).

Les revendications des auteurs portant sur ce poste particulier des dosages, nous lui avons attaché une importance toute spéciale.

L'appariement des lots de travail appartenant aux catégories A et B, ayant été réalisé au laboratoire pour chaque répétition, il est loisible de rechercher l'existence d'une différence significative entre A et B en utilisant une méthode de comparaison simple, soit la méthode des couples. Son principe consiste à estimer en termes de test t de Student-Fisher la signification des différences constatées entre A et B, dans les 9 séries constituées par les 3 items dosés, selon trois unités de référence.

*Nous concluons de l'examen de ce tableau que, quel que soit le mode de référence adopté, les taux des hydrocarbures polyaromatiques dosés ne peuvent pas être considérés comme significativement différents entre condensats provenant de cigarettes traitées (A) et témoin non traité (B).*

	$\gamma/g$ condensat	$\gamma/100 g$ tabac cig.	$\gamma/100$ cigarettes	Degrés liberté
Bp	0,93 NS 10	0,93 NS 10	0,90 NS 10	3
An	1,11 NS 10	2,05 NS 10	0,93 NS 10	3
Py	2,52 NS 10	1,56 NS 10	1,04 NS 10	2
NS 10 = non significatif au seuil de 10%				

Tableau 3 Valeurs t (Student-Fisher) pour les appariements A/B, pour 3-4 benzopyrène (Bp) anthracène (An) et pyrène (Py). Les mesures sont exprimées en  $\gamma/g$  condensat,  $\gamma/100 g$  tabac-cigarette et  $\gamma/100$  cigarettes

### Deuxième série d'essais

La première série d'essais ci-dessus rapportée a conduit à conclure à l'absence d'efficacité du traitement appliqué *dans les conditions d'engagement de l'opération* pour ce qui concerne la voie d'examen chimique.

Pour interpréter correctement ces résultats négatifs, il importe évidemment de prendre en considération les risques d'erreur relatifs au temps «analyse chimique et fumage».

Or, s'il est ressorti de discussions au sein du GROUPE FUMÉE du CO-RESTA concernant la méthode analytique mise en œuvre, et de la critique statistique interne des résultats présentés par le SEITA que, d'une part, la méthode analytique semble satisfaisante et que, d'autre part, les résultats sont groupés de façon cohérente, il reste que le Service des Recherches du SEITA a lui-même mis en évidence que certaines incertitudes subsistent, relatives au temps *fumage*, et en particulier à l'efficacité du *piège à fumée* caractéristique de la machine B des services du SEITA (machine à piège capillaire).

En effet, la comparaison des rendements en condensats de la machine B avec les résultats de piégeage dit «absolu» (piégeage sous froid air liquide pratiqué pour divers types de cigarettes fumées) a montré que le piège capillaire de la machine B ne retenait en général qu'environ 50% de la phase condensable totale (phase particulière + phase gaz-vapeur) de la fumée.

La signification générale des résultats obtenus dans l'opération réalisée est donc liée dans ces conditions a priori à une condition de proportionnalité que nous exprimerons comme suit: soit p le coefficient d'efficacité de piégeage

d'une machine à fumer «non absolue». Nous devons vérifier, pour satisfaire à la condition de proportionnalité, que toute quantité d'une substance donnée *i* dosée sur les condensats issus de cette machine «non absolue» satisfait (dans les limites de signification des méthodes analytiques) à la condition

$$\frac{A}{a} = \frac{I}{i} = p \text{ (à nombre de cigarettes fumées égal)}$$

où *A* = condensat total récolté sur machine «absolue»

*a* = condensat total récolté sur machine «non absolue»

*I* = quantité d'une substance donnée *i* dosée dans l'unité de *A*

*i* = quantité d'une substance *i* dosée dans l'unité de *a*

toute autre valeur de la relation  $\frac{I}{i}$  mettra en évidence un caractère de non-proportionnalité, caractéristique d'un *mode donné de piégeage et d'une substance i*.

Dans le cas de non-proportionnalité, on pourra inférer, entre autres possibilités, que la totalité de la substance dosée *i* (par exemple Hydrocarbures polyaromatiques) se trouve entièrement contenue dans les *premières fractions de fumée* retenues sur les systèmes de piégeage.

La situation peut se compliquer si on fume sur deux machines à efficacité de piégeage différente non pas un produit unique, mais deux produits pouvant différer, entre autres caractères, par leur teneur en substances chimiques susceptibles d'exercer une influence sur les propriétés de *piégeabilité* de la fumée. Dans ce cas la valeur du rapport  $\frac{I}{i}$  observé exprimerait également une propriété de la fumée du produit et non pas seulement une propriété de la machine à fumer et de son piège. Or, il n'est pas exclu, dans le cas particulier de l'opération NB, que le traitement spécifique NB ait éliminé du lot traité une série de substances immédiatement transférables par distillation dans la fumée (cires et résines) donc susceptibles de modifier sa qualité structurale, et notamment sa piégeabilité.

Nous serions donc amenés dans ce cas à envisager la possibilité théorique où l'expérimentation NB 1 aurait été impuissante à saisir une différence de teneur en Hydrocarbures polyaromatiques entre deux fumées piégées à 50% seulement.

Ces hypothèses critiques paraissant a priori fondées, il parut donc souhaitable au Laboratoire du SEITA d'engager une nouvelle série NB, dite NB 2 comportant la comparaison des teneurs en HpC (rapportées à la masse de condensats et au nombre de cigarettes) pour

- deux produits (traité NB et témoin)
- deux machines à fumer, différant par leur mode et leur efficacité de piégeage.

D'où le schéma général suivant :

Origines cigarettes 2	{	A traité NB
		B témoin non traité
Machines à fumer 2	{	- machine de référence à piège «absolu» air liquide
		- machine B capillaire (comme NB 1)

Toutes les autres méthodes – analyse des hydrocarbures polyaromatiques, etc. – sont identiques à celles décrites aux paragraphes précédents. Les cigarettes sont prélevées des mêmes lots A et B décrits plus haut par la technique habituelle de tirage randomisé.

## Méthodes

### Fumage

La machine capillaire est réglée à une efficacité de 50% (par rapport à la machine dite «absolue»), soit à un volume de 20 ml, un intervalle de 26,7 sec entre les bouffées et une durée des bouffées de 3,3 secondes.

La machine avec piège à froid est réglée d'après les paramètres CORESTA, soit à un volume de 35 ml, un intervalle de 58 sec entre les bouffées et un temps d'aspiration de 2 sec.

### Piégeage

Le piégeage de la machine capillaire est identique à celui mis en œuvre au chapitre précédent (NB 1).

Le piège à air liquide utilisé comme référence absolue retient la quasi totalité des composants de la fumée. Après condensation, le piège est ramené aux conditions de température ambiante et pression atmosphérique et le condensat est dégazé au moyen d'un balayage final par l'azote.

## Résultats et conclusions

Les résultats bruts sont donnés dans le tableau 4.

Le tableau 5 donne la comparaison des résultats obtenus avec le piège capillaire dans les essais NB 1 et NB 2. On peut constater que les résultats NB 2, piège capillaire, sont toujours soit contenus dans le domaine de variabilité des 4 répétitions de NB 1, soit à son voisinage immédiat.

Il ressort du tableau 4 que la méthode avec piège à froid a donné, dans le cas des trois hydrocarbures polycycliques, des concentrations plus élevées pour les cigarettes traitées que pour les témoins et également des taux plus élevés

	An		Py		Bp	
	$\mu\text{g}/100 \text{ Ci}$	$\mu\text{g}/\text{g mc}$	$\mu\text{g}/100 \text{ Ci}$	$\text{g}/\text{g mc}$	$\mu\text{g}/100 \text{ Ci}$	$\mu\text{g}/\text{g mc}$
A (traité) Cap	15,8	9,2	14,5	8,7	1,5	0,87
B (témoin) Cap	19,7	10,1	18,7	9,6	1,7	0,90
A (traité) Al	23,3	4,9	24,6	5,2	2,6	0,55
B (témoin) Al	22,1	4,5	22,6	4,7	2,5	0,52

Tableau 4 Résultats bruts (1 répétition) pour hydrocarbures polyaromatiques (An, Py, Bp) dans condensats machine capillaire (Cap) et piège froid profond (Al), teneurs hydrocarbures polyaromatiques rapportées à l'unité cigarette (Ci) et la masse de condensat (mc)

item BN	Opér.	An		Py		Bp	
		$\mu\text{g}/100 \text{ Ci}$	$\mu\text{g}/\text{g mc}$	$\mu\text{g}/100 \text{ Ci}$	$\mu\text{g}/\text{g mc}$	$\mu\text{g}/100 \text{ Ci}$	$\mu\text{g}/\text{g mc}$
A (traité)	NB 1	$\overline{18,4}$ (16,8-19,9)	$\overline{10,1}$ (9,8-10,5)	$\overline{17,2}$ (16,4-18,5)	$\overline{9,4}$ (9,0-9,7)	$\overline{1,75}$ (1,4-2,1)	$\overline{0,95}$ (0,85-1,10)
	NB 2	15,8	9,2	14,5	8,7	1,5	0,87
B (témoin)	NB 1	$\overline{19,1}$ (16,1-22,3)	$\overline{9,8}$ (9,2-10,1)	$\overline{16,7}$ (14,9-19,3)	$\overline{8,7}$ (8,3-9,2)	$\overline{1,73}$ (1,4-2,1)	$\overline{0,91}$ (0,8-1,00)
	NB 2	19,7	10,1	18,7	9,6	1,7	0,90

Tableau 5 Eléments de comparaison NB 1/NB 2 pour condensat machine capillaire. Teneurs en hydrocarbures polyaromatiques (An, Py, Bp) rapportées à l'unité cigarette (Ci) et à la masse de condensat (mc)

par rapport à l'unité cigarette<sup>1</sup>. Malgré les différences numériques dans les résultats des deux méthodes employées, et bien qu'il ne s'agisse que d'une

<sup>1</sup> Il ne saurait évidemment être conclu de cette observation que le traitement NB aurait pour effet d'augmenter la teneur en H. polyaromatiques des fumées, les différences observables étant certainement très éloignées du seuil de signification. Il s'agit ici très probablement d'une manifestation du caractère «non-proportionnel» des structures chimiques dans les condensats d'origine A et B.

seule expérience, on peut admettre que la conclusion à laquelle on était arrivé d'après les résultats NB 1 était fondée et que les craintes formulées par le Service du SEITA au sujet de la machine capillaire étaient injustifiées quant à l'interprétation générale des comparaisons A/B.

#### *Conclusion générale tirée de la comparaison des données analytiques chimiques*

Quel que soit le mode de fumage adopté, et compte tenu de l'homogénéité des échantillonnages initiaux réalisés, il peut être considéré comme acquis que, dans l'état présent des techniques analytiques, il n'a pas été possible de confirmer l'existence d'une différence significative des teneurs en Hydrocarbures polycycliques (anthracène, pyrène, 3-4 benzopyrène) entre cigarettes traitées (A) et non traitées (B) selon les procédés NB.

Cette constatation n'exclut évidemment pas l'existence d'une différence de potentiel biologique qui pourrait être liée par exemple à l'effet du traitement NB sur des substances différentes des items dosés (et d'ailleurs non revendiqués par les Brevets proposés). C'est pourquoi il a été parallèlement procédé à une série de tests biologiques avec les mêmes condensats.

#### **Partie biologique**

La partie biologique des essais a été réalisée à l'Institut de Recherche Scientifique sur le Cancer, sous l'autorité du Dr Guérin.

Les résultats en ont été présentés devant le GROUPE FUMÉE du CORESTA à titre informatif, la Compétence statutaire du CORESTA ne couvrant pas le traitement expérimental des problèmes d'ordre pathologique.

#### **Rappel de la méthode**

Le test a été exécuté d'après la méthode de Smith adaptée et complétée par L. Guérin [4, 5]. Les critères d'activité retenus reposent d'une part sur la sensibilité des glandes sébacées qui tendent à disparaître sous l'action du produit appliqué par badigeonnage et, d'autre part, sur la réponse hyperplasique du même épithélium cutané. Ces phénomènes sont considérés comme corrélationnellement liés à l'apparition d'un cancer cutané, ce qui fonde la signification du test en tant que test rapide de potentiel carcinogène.

#### **Premier test**

Il a été procédé à la vérification préalable du parallélisme des droites de régression dose/effet, dans la zone des concentrations considérées, pour les deux inoculats originaires des condensats A et B (ils auraient en effet pu, du fait du traitement, se trouver devenus fondamentalement hétérogènes, et par conséquent rendre illégitime la comparaison): cette vérification a été opérée sur une population auxiliaire de 2 lots de 30 souris.

Des concentrations de 0,11 g et 0,18 g de condensat par cm<sup>3</sup> ont été utili-

sées. Les résultats (fig. 1 et 2) démontrent une régression significative, au seuil de 5%, et un parallélisme acceptable. Il est donc admissible de comparer les origines A et B.

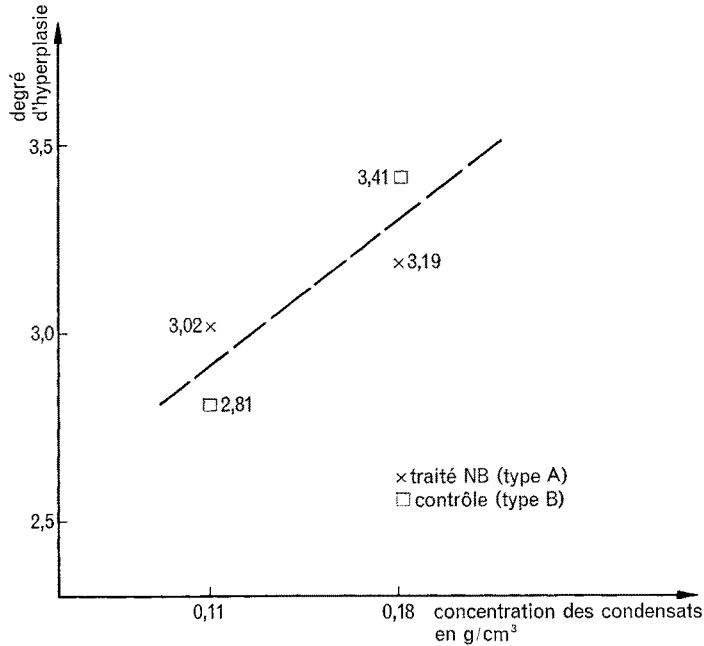


Figure 1 Degré d'hyperplasie sur 30 souris par concentration et traitement après badigeonnage avec des concentrations de 0,11 et 0,18 g/cm<sup>3</sup> de condensat de fumée

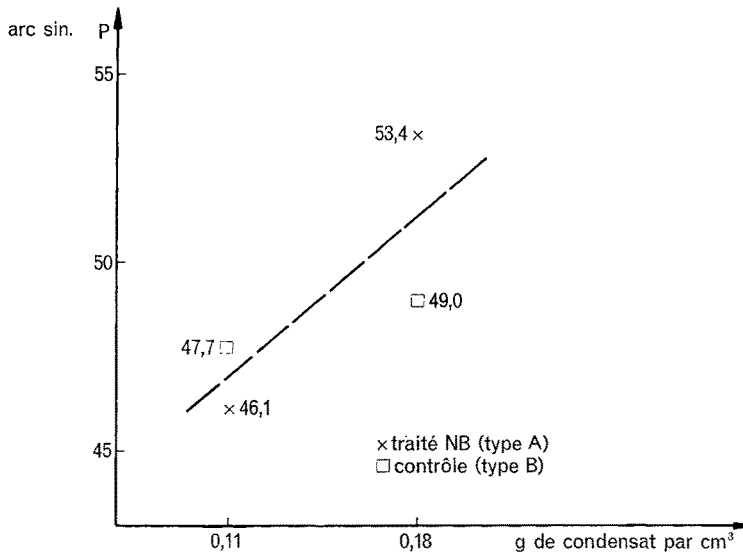


Figure 2 Proportion des glandes sébacées disparues (p) après badigeonnage de 30 souris par traitement et concentrations avec des concentrations de condensats de 0,11 et 0,18 g/cm<sup>3</sup>

## Deuxième test

Pour le second test, les mêmes concentrations de 0,11 g et 0,18 g de condensat par cm<sup>3</sup> par origine ont été utilisées. 120 souris ont été badigeonnées par concentration et par origine, ce qui donne un total de 480 souris.

Le choix du traitement attribué aux différents lots ainsi que l'emplacement des cages de souris dans le laboratoire pendant le temps d'expérimentation a été fait à l'aide d'une table de nombres au hasard.

Le personnel d'exécution ignorait le traitement appliqué, notamment au moment de la lecture des résultats. En raison d'une épidémie, un nombre relativement important d'animaux a dû être éliminé. Cette élimination a porté sur des souris même légèrement malades, suivant des critères appliqués par des opérateurs qui ignoraient le traitement. Le nombre de souris éliminées étant sensiblement le même (vérifié par un test de X<sup>2</sup>) pour chaque traitement, on peut raisonnablement écarter l'hypothèse d'une action du traitement sur la maladie. Ce nombre éliminé est indiqué dans le tableau de résultats ci-dessous (tableau 6).

	Condensat de cigarettes traitées (A)		Condensat de cigarettes non traitées (B)	
Concentration g par cm <sup>3</sup>	0,11	0,18	0,11	0,18
Nombre initial de souris	120	120	120	120
Nombre de souris éliminées	42	55	52	53
Valeur moyenne test sébacé	46,76	51,32	46,57	51,51
Valeur moyenne test hyperplasie	2,61	3,03	2,57	3,15

Tableau 6 Test Smith-Guérin sur condensats d'origines A et B

## Résultats

Ainsi qu'on peut le voir dans le tableau 6 et la figure 3 il n'y a pas de différence entre condensats provenant de cigarettes traitées et non traitées.

Par ailleurs, pour chacun des deux tests, on constate avec une très forte signification un effet important de la concentration; cet effet est du même ordre de grandeur pour les deux condensats. Ceci constitue la garantie qu'une diminution d'activité assimilable à la dilution du condensat serait décelée par les tests, tout au moins dans les limites minima qu'on s'était fixées au cours de cette expérimentation.

## Conclusions

Le traitement par le procédé Neukomm-Bonnet n'a pas entraîné pour les condensats, tels qu'ils ont été préparés, une diminution d'activité sur les glandes sébacées et sur l'épithélium cutané des souris.

Sans qu'on puisse prouver l'absence totale de différence, on peut exclure la possibilité d'une différence importante. La portée de cette conclusion est évidemment limitée à la signification biologique intrinsèque des systèmes de tests appliqués.

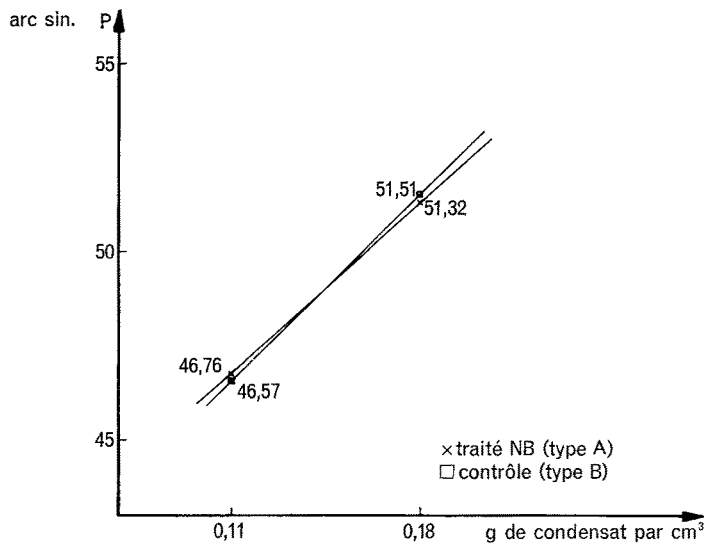


Figure 3 Proportions des glandes sébacées disparues (p) après badigeonnage de 120 souris par traitement et concentrations avec des concentrations de condensats de 0,11 et 0,18 g/cm<sup>3</sup>

## Bibliographie

- [1] *Cuzin J. L.*: Actes du deuxième congrès scientifique international du tabac, juin 1958, Bruxelles 1958, p. 513.
- [2] Compte-rendu du Groupe Technologie du CORESTA, Hambourg, mai 1962.
- [3] *Cuzin J. L., Testa A. et Testa P.*: Bulletin Coresta 1 (1963).
- [4] *Smith W. E.*: Sebaceous glands activity as a measure of the relative carcinogenicity of certain Oils and Tars. Bull. N. Y. Acad. Med. 32, 77-78 (1956).
- [5] *Guérin L. et Cuzin J. L.*: Tests cutanés chez la souris pour déterminer l'activité carcinogène des goudrons de fumée de cigarette. Bull. du Cancer 48 (1), 111-121 (1961).