

ÉTUDES ET RECHERCHES

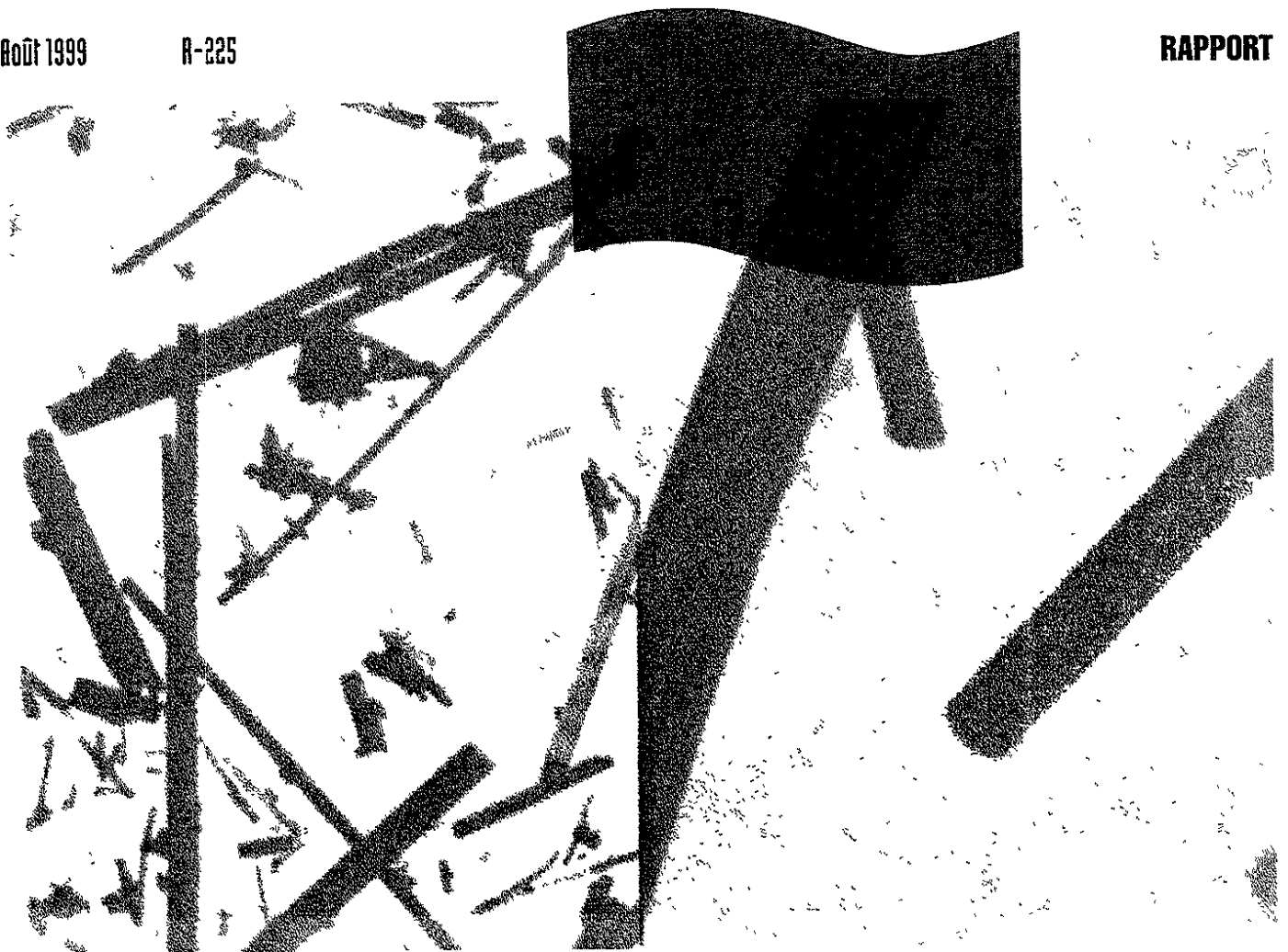
Persistance des fibres minérales de synthèse dans le poumon Pathologie et cinétique de rétention dans le lobe trachéal du poumon

André Dufresne
Raymond Bégin
Serge Massé
Hiroshi Yamato
Guy Perrault

Boût 1999

R-225

RAPPORT



IRSST
Institut de recherche
en santé et en sécurité
du travail du Québec

La recherche, pour mieux comprendre

L'Institut de recherche en santé et en sécurité du travail du Québec (IRSST) est un organisme de recherche scientifique voué à l'identification et à l'élimination à la source des dangers professionnels, et à la réadaptation des travailleurs qui en sont victimes. Financé par la CSST, l'Institut réalise et finance, par subvention ou contrats, des recherches qui visent à réduire les coûts humains et financiers occasionnés par les accidents de travail et les maladies professionnelles.

Pour tout connaître de l'actualité de la recherche menée ou financée par l'IRSST, abonnez-vous gratuitement au magazine *Prévention au travail*, publié conjointement par la CSST et l'Institut.

Les résultats des travaux de l'Institut sont présentes dans une série de publications, disponibles sur demande à la Direction des communications.

Il est possible de se procurer le catalogue des publications de l'Institut et de s'abonner à *Prévention au travail* en écrivant à l'adresse au bas de cette page.

ATTENTION

Cette version numérique vous est offerte à titre d'information seulement. Bien que tout ait été mis en œuvre pour préserver la qualité des documents lors du transfert numérique, il se peut que certains caractères aient été omis, altérés ou effacés. Les données contenues dans les tableaux et graphiques doivent être vérifiées à l'aide de la version papier avant utilisation.

Dépôt légal
Bibliothèque nationale du Québec

IRSST - Direction des communications
505, boul. de Maisonneuve Ouest
Montréal (Québec)
H3A 3C2
Téléphone: (514) 288-1551
Télécopieur: (514) 288-7636
Site internet : www.irsst.qc.ca
© Institut de recherche en santé
et en sécurité du travail du Québec,

**Persistance des fibres
minérales de synthèse
dans le poumon
Pathologie et cinétique
de rétention dans le lobe
trachéal du poumon**

André Dufresne,
Université McGill

Raymond Bégin et Serge Massé,
Centre hospitalier de l'Université de Sherbrooke

Hiroshi Yamato,
University of Occupational and Environmental Health, Japan

Guy Perrault,
Direction des opérations, IRSST

RAPPORT

TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES MATIÈRES.....	2
SOMMAIRE	3
OBJECTIFS	4
MÉTHODES	4
Produits	4
Modèle animal	6
Évaluation de la pathologie	6
Rétention.....	6
Tests de solubilité	7
Statistique	7
RÉSULTATS	7
Pathologie	7
Rétention.....	8
Tests de solubilité	13
DISCUSSION	15
CONCLUSION	17
RÉFÉRENCES.....	18

SOMMAIRE

Les fibres synthétiques minérales utilisées commercialement contiennent des fibres qui ont les mêmes caractéristiques géométriques que les fibres d'amiante. Leur activité pulmonaire dépend toutefois de leur persistance en milieu pulmonaire. Le premier objectif de cette étude consistait à comparer la persistance pulmonaire de la crocidolite et de trois échantillons de fibres synthétiques minérales (MMMF), une laine de verre (MMVF11), une laine de roche (MMVF21) et une fibre de céramique (RCF-1), avec le modèle d'injection dans le lobe trachéal du mouton. Un deuxième objectif visait à documenter si une injection ponctuelle provoquait des signes de pathologies pulmonaires. Finalement, des tests de solubilité ont été effectués pour supporter l'interprétation des résultats des études de persistance.

Dans le modèle du lobe trachéal du mouton, les particules fibreuses sont extraites du parenchyme pulmonaire par une méthode de combustion des composantes organiques au four à plasma d'oxygène, montées sur des grilles en cuivre par réplique au carbone et analysées en microscopie électronique à transmission (MET) et spectroscopie en énergie dispersive (SED).

La persistance des échantillons représentée en termes de demi-vie pour toutes les fibres $> 5 \mu\text{m}$ selon un traitement des résultats par une régression linéaire simple est respectivement de 203, 141, 192 et 301 jours pour les MMVF11, MMVF21, RCF-1 et crocidolite. En utilisant une régression linéaire double, représentative d'une clairance en deux étapes, les résultats mènent à des demi-vies pondérées de ≈ 31 , 46, 154 et 105 jours pour la première étape de la même séquence d'échantillons. Les dimensions géométriques des fibres de crocidolite sont restées stables en cours d'expérimentation, tandis que le diamètre des fibres de synthèse a diminué durant les deux années de l'étude. Les résultats de l'évaluation histopathologique n'indiquent qu'une inflammation légère des cellules épithéliales en début d'exposition pour les fibres de synthèse et des signes de lésions inflammatoires pérbronchiolaires avec la crocidolite. Les tests de solubilité statiques confirment les résultats de persistance à l'effet d'une grande stabilité des fibres de crocidolite mais n'expliquent pas le comportement pulmonaire des fibres synthétiques.

INTRODUCTION

Les fibres minérales de synthèse se regroupent sous l'acronyme MMMF qui signifie «man-made mineral fibres». ^{1,2} Les MMMF peuvent être classées en quatre groupes principaux, les laines fibreuses de verre, les laines minérales (roche/laitier), les filaments de verre continus et les fibres réfractaires de céramique. Ces fibres sont utilisées dans le cadre d'applications courantes telles l'isolation thermique et acoustique ou d'utilisations plus spécialisées telles que l'isolation de fours commerciaux pour le craquage du pétrole.

Des études épidémiologiques entreprises aux États-Unis et en Europe ont conclu à un risque de mortalité due au cancer du poumon chez les travailleurs fabriquant les fibres minérales de synthèse. ^{3,4,5} Il est évident depuis un certain temps que la dimension de la fibre est un paramètre important dans l'expression de la toxicité des fibres minérales. ^{6,7} Mais il semble aussi que leur capacité à induire des maladies pulmonaires dépend de leur persistance dans le poumon et de leur aptitude à s'accumuler dans le parenchyme pulmonaire. ⁸

OBJECTIFS

L'objectif premier de ce projet consiste à étudier la persistance de certaines MMMF dans un environnement pulmonaire, plus spécifiquement le lobe trachéal du mouton, suite à une exposition épisodique à une concentration aiguë. Le second objectif est d'évaluer si ces fibres produisent des pathologies dans le lobe trachéal du mouton suite à cette injection intratrachéale ponctuelle. À la demande de l'IRSST, des tests de solubilité ont aussi été effectués pour supporter l'interprétation des résultats des études de rétention dans le poumon du mouton.

MÉTHODES

Produits

Le tableau 1 résume les caractéristiques géométriques des trois échantillons de fibres minérales, deux fibres vitreuses, MMVF11 (laine de verre), MMVF21 (laine de roche) et un échantillon de fibre de céramique, RCF-1 (à base de Kaolin). Le tableau 2 nous donne la composition chimique de ces échantillons tels que décrits par le fournisseur, TIMA.

Tableau 1. Fibre de référence de TIMA – Caractérisation géométrique (μm) selon les données de TIMA ou selon la référence (en exposant)			
Identification	MMVF11	MMVF21	RCF1
Longueur*	19.0 \pm 18.7 15.6 \pm 13.3 ⁹	24.6 \pm 19.9 26.0 \pm 23.1 ⁹	22.4 \pm 19.0 21.3 \pm 17.4 ⁹
Diamètre*	0.9 \pm 0.7 1.1 \pm 0.9 ⁹	1.3 \pm 0.8 1.2 \pm 0.6 ⁹	1.1 \pm 0.8 1.3 \pm 0.7 ⁹
Longueur**	13.0 ¹⁰ , 12.0 ¹¹		16.5 ¹⁰
Diamètre**	0.69 ¹¹		

*moyenne arithmétique \pm écart type **moyenne géométrique

Tableau 2. Fibre de référence de TIMA – Composition chimique (%)			
Identification	MMVF11	MMVF21	RCF-1
SiO ₂	63.4	46.2	47.7
Al ₂ O ₃	3.88	13.0	48.0
Fe ₂ O ₃	0.25	7.00	0.97
TiO ₂	0.06	2.95	2.05
CaO	7.45	16.9	0.07
MgO	2.82	9.25	0.08
Na ₂ O	15.45	2.64	0.54
K ₂ O	1.32	1.25	0.16
MnO	0.01	0.16	
ZrO ₂	0.03	0.03	0.11
B ₂ O ₃	4.45		
ZrO ₂	0.03		
SrO		0.07	
BaO	0.04	0.04	
P ₂ O ₅		0.24	
SO ₃	0.33	0.23	
Cr ₂ O ₃			0.03
LOI*	0.58	+0.03	

*Perte à la flamme

L'échantillon de crocidolite a été préparé au début des années 60 par l'UICC (Union Internationale Contre le Cancer).

Modèle animal

Le modèle expérimental du lobe trachéal du mouton a été décrit à maintes reprises dans le passé pour reproduire les processus biologiques de silicose, d'amiantose et de pneumoconiose du carbure de silicium.^{12,13} Pour répondre aux objectifs de l'étude, les animaux ont été soumis à une instillation intratrachéale de 100 mg d'une des substances fibreuses dans 100 mL d'une solution saline à 0.9%. L'étude a enrôlé 240 moutons de 25 à 45 kg, en bonne santé, tel que vérifié par examen physique, tests de brucellose, de fièvre Q et par contact Maedi Visna.¹⁴ Le cheptel a été divisé en quatre groupes d'animaux choisis au hasard selon la répartition de nature de l'échantillon et de durée indiquée au tableau 3.

Durée (jours)	MMVF11	MMVF21	RCF-1	Crocidolite*
6	10	10	10	10
40	10	10	10	10
60	10	10	10	10
180	10	10	10	10
360	10	10	10	10
720	10	10	10	10

* Échantillon UICC

Après 6, 40, 60, 180, 360 et 720 jours respectivement, 10 moutons de chaque groupe ont été sacrifiés. Les poumons ont été enlevés de la cage thoracique, et fixés immédiatement à la formaline par une technique d'infusion intra-bronchique. Le lobe trachéal a été repéré et neuf fragments ont été préparés chez chaque mouton pour évaluation de la pathologie. Quatre fragments de 2 - 3 cm³ ont été envoyés au laboratoire de microscopie électronique pour l'évaluation de la rétention.

Évaluation de la pathologie

L'histopathologie de chaque échantillon a été évaluée sur la base d'une évaluation qualitative de la profusion des lésions. L'évaluation pathologique générée chez chaque mouton a été supporté par le recours à des lésions de références. Les observations descriptives ont été colligées par un pathologiste, le Dr Serge Massé qui a effectué l'évaluation à l'aveugle.

Rétention

Les procédures analytiques de la microscopie électronique à transmission (MET) ont été décrites en détail dans une publication précédente.¹⁵ En résumé, un fragment pulmonaire est digéré dans un four à plasma d'oxygène. Les cendres sont déposées sur un filtre Nucleopore de polycarbonate ayant un diamètre de 25 mm et une porosité de 0.2 µm. Quatre grilles microscopiques sont préparées pour chaque échantillon, par réplique au carbone.

Les grilles sont examinées, en mode de transmission, à l'aide d'un MET JEOL 100 CX muni d'un spectromètre à énergie dispersive (EDS, PGT, système IV) à un voltage d'accélération de 80 kV et un grossissement de 10 000 X. Jusqu'à 60 ouvertures de grilles couvrant une surface de 6400 μm^2 ont été choisies au hasard pour le décompte des particules fibreuses $> 5 \mu\text{m}$ et $> 0.1 \mu\text{m}$ et ayant un rapport longueur/diamètre supérieur à 3/1. Le décompte se terminait à la trentième ouverture ou à la soixantième fibre comptée. L'identification des particules fibreuses (f) a été réalisée par SED (spectre dispersif en énergie des rayon - X) de la composition élémentaire et de la morphologie.¹⁶ Dans le contexte de l'étude, la limite de détection de la concentration en nombre de fibre par mg de poumon sec est de 18 f/mg.

Tests de solubilité

La solubilité des échantillons de fibres a été mesurée dans l'eau distillée, dans un tampon au phosphate (KCl, 0.2 g/L ; KH_2PO_4 , 0.2 g/L ; NaCl, 8.0 g/L et $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 2.3 g/L ; ajusté au pH 7.4 avec du HCl) ou dans la solution de Gamble modifiée à pH 7.6 (Tableau 4)¹⁷.

Tableau 4 – Composition de la solution de Gamble modifiée	
Composante	Concentration (mg/mL)
$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	212
NaCl	6415
$\text{CaCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	318
$\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	179
Na_2HPO_4	148
NaHCO_3	2703
$(\text{Na}_2 \text{ tartrate}) \cdot \text{H}_2\text{O}$	180
$(\text{Na}_3 \text{ citrate}) \cdot 5.5 \text{ H}_2\text{O}$	186
Na lactate	175
Glycine	118
Na pyruvate	172

Environ 1.5 mg de l'échantillon a été placé dans un flacon de polyéthylène avec un volume suffisant de solution pour obtenir une concentration de 10 $\mu\text{g/mL}$. La suspension a été agitée par ultrason durant 30 minutes puis à une vitesse de 150 fois/min à 37°C. Après 2, 4, 8 et 16 semaines, un aliquot de la suspension a été filtré sur une membrane ayant une porosité de 0.2 μm . L'aliquot initial était calculé pour obtenir à la surface de la membrane, 50 μg de MMMVF11, MMMVF21 et de RCF-1 ou, 10 μg de crocidolite. La microscopie électronique à transmission couplée à un spectromètre à énergie dispersive a permis de caractériser les changements de morphologie et de composition des échantillons de fibres.

Statistique

Lors des calculs statistiques, les valeurs nulles ont été évaluées à la demie de la limite de détection. Les données de rétention pulmonaire ont été traitées sous forme logarithmique pour stabiliser la variance et obtenir une distribution symétrique.

RÉSULTATS

Pathologie

Les résultats de l'évaluation histopathologique (Tableau 5) sont relativement simples et traduisent bien la méthodologie d'instillation d'une dose aiguë plutôt faible en nombre de fibres de synthèse (5 000 – 10

600 f/μg) et plus forte en nombre de fibres de crocidolite (1-1.5 x 10⁶ f/μg). Pour les fibres de synthèse, MMVF11, MMVF21 et RCF-1, l'histopathologie a décelé une inflammation légère des cellules épithéliales en début d'exposition suivie par une réparation progressive du parenchyme pulmonaire.

Tableau 5 – Évaluation histopathologique				
Durée (jours)	MMVF11	MMVF21	RCF-1	Crocidolite*
6	Alvéolite, aucune lésion, pas ou peu de fibres,	Alvéolite, aucune lésion, peu de fibres	Alvéolite légère, peu de fibres	Lésions inflammatoires péribronchiolaires, peu de fibres
40	Alvéolite, aucune lésion, pas ou peu de fibres	Alvéolite, aucune lésion, présence de fibres	Alvéolite, présence de fibres	Lésions inflammatoires péribronchiolaires, peu de fibres
60	Aucune lésion, pas ou peu de fibres	Alvéolite, aucune lésion, peu de fibres	Alvéolite, peu de fibres	Lésions inflammatoires péribronchiolaires, peu de fibres
180	Aucune lésion, pas ou peu de fibres	Alvéolite, aucune lésion, peu de fibres	Alvéolite, peu de fibres	Lésions inflammatoires péribronchiolaires ou sans lésions, peu de fibres
360	Aucune lésion, pas ou peu de fibres	Alvéolite, aucune lésion, présence de fibres	Alvéolite légère, aucune lésion, peu de fibres	Lésions péribronchiolaires, début de fibrose, présence modérée de fibres
720	Aucune lésion, pas ou peu de fibres	Alvéolite, aucune lésion, peu de fibres	Aucune lésion, très peu de fibres	Aucune lésion significative, pneumonite interstitielle, peu de fibres
Général	Aucune lésion	Alvéolite	Alvéolite légère	Lésions inflammatoires

* Échantillon UICC

Rétention

Les tableaux 6 et 7 résument les moyennes géométriques des concentrations de fibres par mg de poumon sec avec les intervalles de confiance entre parenthèses après 6, 40, 60, 180, 360 et 720 jours de résidence en milieu pulmonaire. Le tableau 6 réfère aux fibres dont l'analyse élémentaire par EDS correspond à l'analyse élémentaire de la fibre qui a été instillée dans le poumon. Ces résultats sont traités dans ce rapport final pour répondre à l'objectif sur la persistance des fibres. Le tableau 7 rapporte les résultats des autres fibres ayant les paramètres géométriques d'une fibre mais dont l'analyse ne correspond pas à l'analyse élémentaire du produit initial. Ces résultats sont rapportés pour information sur l'ensemble des données.

Durée (jour)	MMMVF11	MMMVF21	RCF-1	CROCIDOLITE
6	1924 (612 - 6051)	6588 (2563 - 16933)	2101 (557 - 7927)	206282 (25514 – 1735837)
40	2472(820 - 7555)	4787(1176 - 19536)	6864 (2296 - 20517)	46648(13905 – 156373)
60	535 (99 - 2913)	1672 (234 - 11956)	5585 (2173 - 14357)	163081 (42617 – 624059)
180	55 (44 - 69)*	450 (151 - 1344)	1625 (281 - 9396)	38832 (4514 – 334035)
365	278 (73 - 1066)	254 (57 - 1123)	1137 (418 - 3090)	3174 (17154 – 108012)
760	213 (83 - 542)	177 (41 - 770)	780 (401 - 1518)	12519 (3763 – 41647)

Moyenne géométrique (MG) et intervalle de confiance à 95 % entre parenthèses, * : résultat isolé (« outlier »)

Durée (jour)	Autres MMMVF11	Autres MMMVF21	Autres RCF-1	Autres crocidolite
6	1644 (617 - 4385)	571 (129 - 2525)	247 (99 - 617)	626 (55 - 7187)
40	2150 (592 - 7809)	464 (144 - 1494)	680 (331 - 1397)	4483 (1214 - 16548)
60	5519 (3338 - 9198)	5855 (1139 - 30092)	974 (399 - 2373)	4239 (1194 - 15048)
180	2500 (1217 - 5136)	987 (569 - 1712)	647 (330 - 1270)	1279 (233 - 7023)
365	1258 (688 - 2301)	948 (508 - 1767)	659 (285 - 1522)	597 (152 - 2338)
760	4474 (1988 - 10077)	1445 (798 - 2618)	684 (433 - 1080)	1093 (431 - 2777)

Moyenne géométrique (MG) et intervalle de confiance à 95 % entre parenthèses

Les données de rétention sont traitées selon la procédure proposée par Bernstein *et al.*¹⁰ en calculant les résultats selon une régression linéaire simple pour faciliter la comparaison avec les études précédentes et selon une régression linéaire double avec calcul d'une demi-vie pondérée ($W-t_{1/2}$).

La figure 1 donne les résultats des régressions linéaires simples pour chacune des fibres de référence. Les demi-vie calculées ($t_{1/2}$) à partir de ces courbes sont respectivement de 247, 154, 280 et 231 jours pour la MMMVF11, MMMVF21, RCF-1 et crocidolite. Les résultats de l'échantillon de MMMVF11 après 180 jours ont été rejetés dans ce calcul. En incluant cette valeur, le R^2 passe de 0.6793 à 0.2507. En conservant cette valeur une demi-vie de 277 jours au lieu de 247 aurait été calculée pour la MMMVF11.

Le tableau 8 reprend les résultats du tableau 6 mais en ne présentant que les résultats de concentrations en fibres > 5 μ , définies légalement à titre de fibre respirable. La figure 2 donne alors les courbes de $f > 5\mu$ par mg de poumon sec. En termes de demi-vie en milieu pulmonaire, les résultats seraient alors respectivement de 203, 141, 192 et 301 jours pour la MMMVF11, MMMVF21, RCF-1 et crocidolite.

Figure 1.-Persistance des fibres en milieu pulmonaire

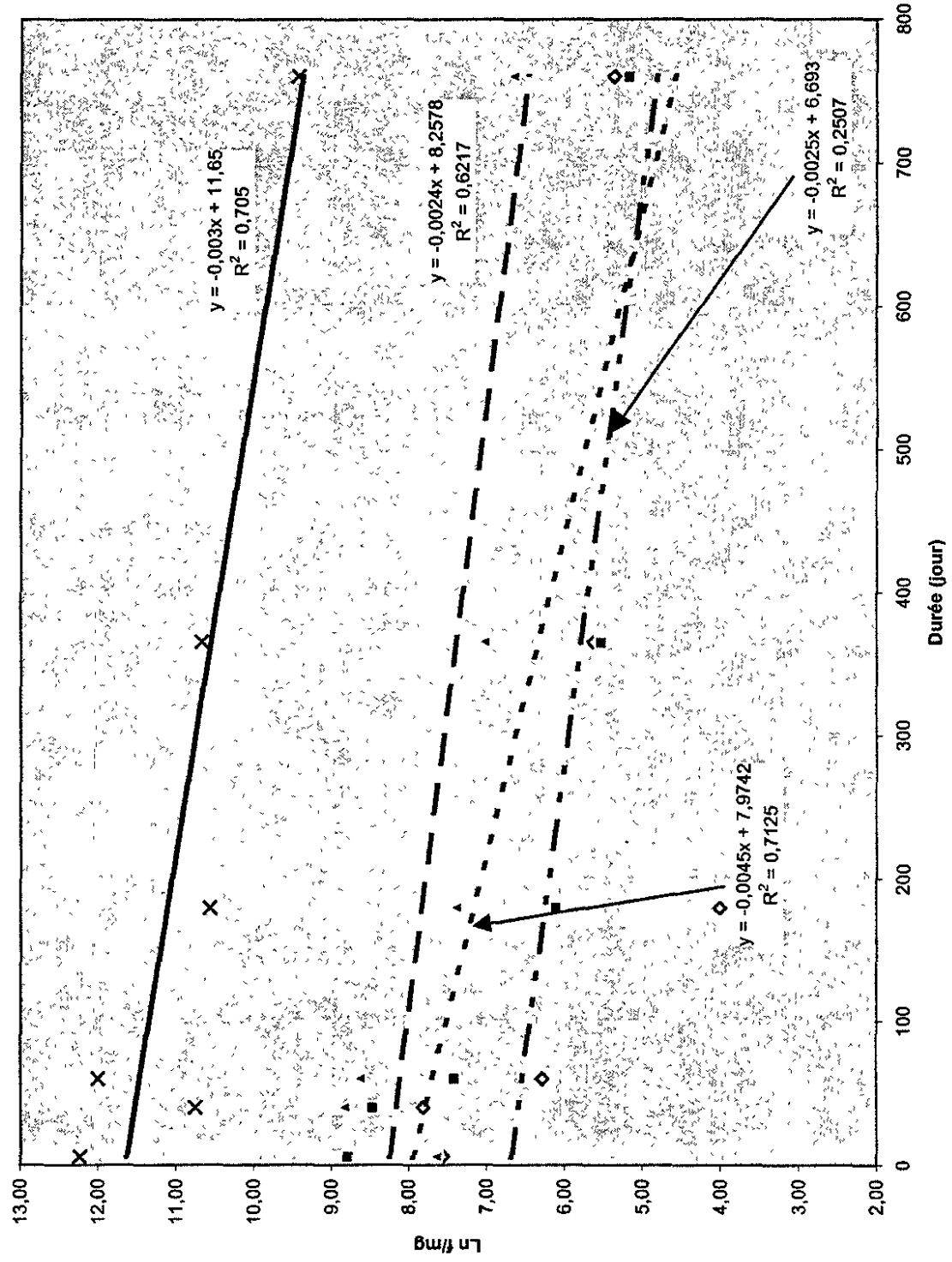


Tableau 8 – Concentration des fibres > 5 µm (fibres / mg de poumon sec)				
Durée (jour)	MMMVF11	MMMVF21	RCF-1	CROCIDOLITE
6	1048	4871	693	11220
40	1231	3304	3848	3440
60	162	1232	2208	13728
180	27*	287	619	2826
365	62	139	304	6786
760	69	98	130	1180

Moyenne géométrique (MG, * : résultat isolé (« outlier »))

Le traitement des données selon une régression linéaire double donne pour chacune des deux étapes de rétention, les demi-vies des tableaux 9 et 10 qui résument les résultats du traitement par simple et par double respectivement pour toutes les fibres et pour les fibres > 5 µm.

En général, les demi-vies provenant du traitement par régression linéaire simple sont du même ordre de grandeur pour l'ensemble des fibres et pour les fibres > 5 µm, soit entre 150 et 300 jours. Le traitement par régression double met en évidence une première portion de la courbe qui donne des demi-vies plus faibles pour les fibres de verre (MMMVF11 et MMMVF21) que pour la fibre de céramique et la crocidolite, et ceci, encore une fois, tant pour l'ensemble des fibres que pour les fibres > 5 µm. La deuxième section de la courbe indique des résultats du même ordre de grandeur pour toutes les fibres pour lesquelles il a été possible de calculer la demi-vie, mais dans ce cas, l'ensemble de toutes les fibres donne des résultats de demi-vies qui sont plus faibles que les résultats des fibres > 5 µm. Ces résultats mènent à des demi-vie pondéré ($W-t_{1/2}$) qui sont plus courtes pour les fibres > 5 µm que pour toutes les fibres. Les fibres > 20 µm n'ont pas été systématiquement déterminées au cours de l'étude ce qui aurait permis de confirmer l'élimination rapide des longues fibres.

Figure 2.- Persistance des fibres >5µm en milieu pulmonaire

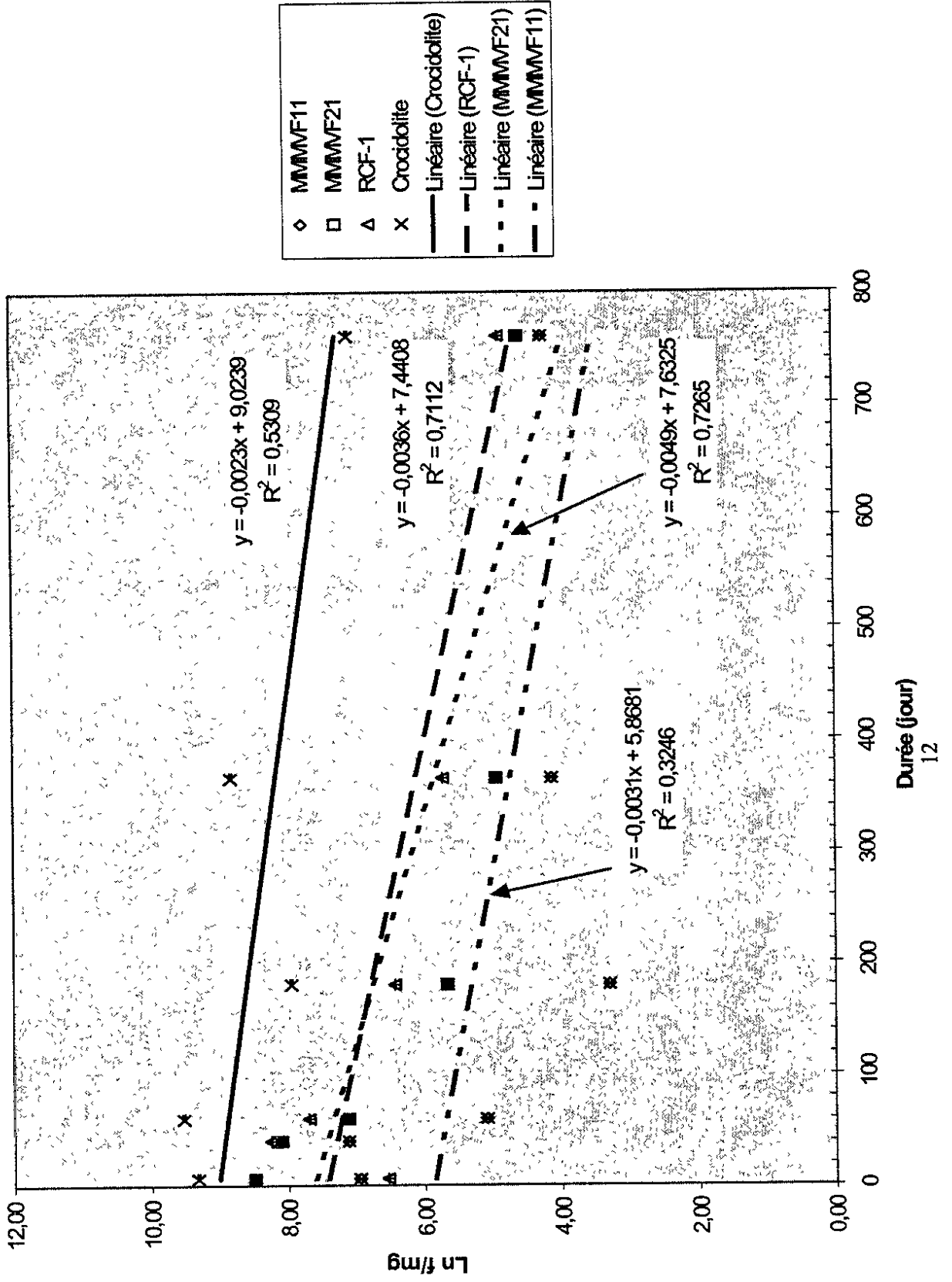


Tableau 9- Demi-vies (jour) des fibres en milieu pulmonaire				
	MMMVF11	MMMVF21	RCF-1	Crocidolite
Simple	247*	154	280	231
Double – étape 1	31	45	157	90
Double – étape 2	..**	460	577	330
W-t _{1/2}		175	280	165

* En excluant la valeur à 180 jours

**Le faible quantité de fibres ne permet pas un traitement par linéaire

Tableau 10 – Demi-vies (jour) des fibres > 5 µm en milieu pulmonaire				
Régression	MMMVF11	MMMVF21	RCF-1	Crocidolite
Simple	203	141	192	301
Double – étape 1	31	43	150	103
Double – étape 2	..*	2300	1380	2300
W-t _{1/2}	≈31	46	154	105

*Le faible quantité de fibres ne permet pas un traitement par linéaire

En plus de la cinétique des concentrations de fibres en milieu pulmonaire, il est important de connaître la morphologie de ces fibres afin de vérifier si les fibres retenues ont les mêmes caractéristiques que les fibres initiales. Le tableau 11 donne les moyennes géométriques du diamètre (d), de la longueur (l) et du rapport longueur sur diamètre pour les fibres analysées aux différentes durées de l'expérimentation. Les intervalles de confiance à 95% sont données entre parenthèses.

Ces résultats mettent en évidence une diminution systématique de diamètre des fibres (analyse de covariance, $p < 0.037$) sauf pour l'échantillon de crocidolite qui reste constant.

Tests de solubilité

Les variations de la dimension des fibres avec la durée d'immersion dans l'eau, un tampon de phosphate et la solution de Gamble modifiée sont détaillées au tableaux 10, 11 et 12 respectivement. Les résultats de ces tests de solubilité dans trois solutions à pH 7-7.6 sur la morphologie des fibres visaient à mettre en évidence une solubilisation qui se produirait dans le milieu pulmonaire avant phagocytose par les macrophages où le pH est d'environ 4. Dans ce contexte, les résultats de la crocidolite indique, de façon générale, une très grande stabilité, tel que prévu. L'échantillon de fibres de céramique, RCF-1 donne une tendance générale à une augmentation progressive de la longueur et du diamètre des fibres, respectivement de 6 à ≈ 14 µm et de 0.5 à ≈ 1 µm avec quelques résultats divergents. Les échantillons de fibres, MMVF11 et 21, indiquent une tendance de l'augmentation de la longueur et du diamètre des fibres durant les quatre premiers jours de l'expérimentation suivie par une diminution jusqu'aux derniers résultats à 16 jours.

Tableau 11- Morphologie des fibres extraites du poumon				
Durée (jour)	MMVF11	MMVF21	RCF-1	Crocidolite
6	d = 0.53 (0.43-0.65) l = 7.16 (5.72-8.96) l/d = 13.7 (11.9-15.8)	d = 0.57 (0.48-0.67) l = 8.72 (7.30-10.5) l/d = 15.1 (13.1-17.4)	d = 0.38 (0.25-0.58) l = 4.54 (2.56-8.05) l/d = 11.9 (9.40-15.0)	d = 0.17 (0.15-0.19) l = 1.90 (1.58-2.28) l/d = 11.4 (10.1-12.8)
40	d = 0.60 (0.43-0.84) l = 8.10 (6.87-9.56) l/d = 13.5 (10.4-17.5)	d = 0.53 (0.34-0.83) l = 6.78 (4.13-11.1) l/d = 12.7 (10.2-15.9)	d = 0.40 (0.31-0.50) l = 6.12 (4.46-8.40) l/d = 15.5 (13.7-17.5)	d = 0.18 (0.14-0.23) l = 1.90 (1.29-2.79) l/d = 10.7 (9.00-12.6)
60	d = 0.35 (0.17-0.73) l = 3.39 (1.1-10.6) l/d = 10.5 (7.5-14.7)	d = 0.54 (0.31-0.94) l = 8.20 (6.73-10.0) l/d = 15.2 (9.24-25.0)	d = 0.39 (0.27-0.57) l = 4.97 (2.70-9.13) l/d = 12.6 (9.85-16.1)	d = 0.17 (0.15-0.19) l = 2.06 (1.68-2.52) l/d = 12.1 (10.4-14.0)
180	-*	d = 0.41 (0.26-0.65) l = 8.57 (5.70-12.9) l/d = 20.8 (13.8-31.4)	d = 0.36 (0.25-0.51) l = 4.37 (2.31-8.26) l/d = 12.2 (7.79-19.1)	d = 0.15 (0.13-0.16) l = 1.71 (1.51-1.93) l/d = 11.6 (9.88-13.6)
365	d = 0.29 (0.19-0.42) l = 4.50 (2.0-10.2) l/d = 15.2 (9.24-25)	d = 0.39 (0.28-0.56) l = 8.70 (4.02-18.8) l/d = 16.7 (6.47-43)	d = 0.31 (0.20-0.47) l = 3.62 (1.86-7.06) l/d = 13.2 (11.2-20.2)	d = 0.17 (0.15-0.18) l = 2.00 (1.35-2.98) l/d = 12.0 (8.22-17.4)
760	d = 0.37 (0.26-0.51) l = 3.70 (2.14-6.40) l/d = 10.1 (7.11-14.4)	d = 0.33 (0.19-0.60) l = 4.95 (2.09-11.8) l/d = 14.8 (7.26-30)	d = 0.21 (0.14-0.29) l = 2.36 (1.26-4.47) l/d = 11.5 (8.10-16.3)	d = 0.14 (0.12-0.16) l = 1.76 (1.36-2.28) l/d = 12.8 (10.6-15.3)

Moyenne géométrique (MG) et intervalle de confiance à 95 % entre parenthèses

* : un seul échantillon au-dessus de la limite de détection, d : diamètre μm , l : longueur μm ,

Tableau 12 – Moyenne géométrique (Mg) du diamètre (d) et de la longueur (l) en μm des fibres dans l'eau distillée.								
Durée (semaines)	MMVF11		MMVF21		RCF-1		Crocidolite	
	Mgd	Mgl	Mgd	Mgl	Mgd	Mgl	Mgd	Mgl
0	0.53(3.0)	10.45(2.5)	0.83(1.7)	10.33(2.4)	0.52(2.5)	5.93(2.7)	0.14(2.0)	1.20(2.0)
2	0.66(2.7)	11.78(2.7)	1.06(1.9)	13.67(2.4)	0.80(2.1)	8.96(2.3)	0.17(1.7)	1.29(2.0)
4	1.06(2.6)	16.22(2.3)	1.20(2.7)	20.71(2.4)	1.24(1.9)	17.09(2.2)	0.13(2.1)	1.06(2.2)
8	0.70(3.0)	11.29(2.6)	0.99(1.8)	18.09(2.3)	0.93(1.9)	10.92(2.4)	0.17(1.9)	1.64(2.5)
16	0.63(2.8)	11.07(3.0)	0.56(2.1)	5.32(2.6)	1.11(1.8)	14.28(2.6)	0.24(2.1)	3.01(3.1)

Tableau 13 – Moyenne géométrique (Mg) du diamètre (d) et de la longueur (l) en µm des fibres dans un tampon au phosphate

Durée (semaines)	MMVF11		MMVF21		RCF-1		Crocidolite	
	Mgd	Mgl	Mgd	Mgl	Mgd	Mgl	Mgd	Mgl
0	0.53(3.0)	10.45(2.5)	0.83(1.7)	10.33(2.4)	0.52(2.5)	5.93(2.7)	0.14(2.0)	1.20(2.0)
2	0.65(2.6)	12.66(2.6)	0.82(2.9)	13.67(2.4)	0.60(2.4)	8.16(2.8)	0.14(1.7)	1.21(1.9)
4	0.84(2.3)	16.23(2.1)	0.92(1.8)	14.59(2.4)	0.73(2.2)	9.50(2.6)	0.13(2.1)	1.03(2.0)
8	0.46(2.4)	7.34(3.1)	0.76(2.1)	12.56(2.7)	0.67(2.6)	9.01(2.9)	0.14(2.0)	1.09(2.0)
16	0.59(2.0)	5.51(2.6)	0.90(1.9)	17.13(2.6)	0.85(2.0)	11.60(2.3)	0.15(1.7)	1.45(2.0)

Tableau 14 – Moyenne géométrique (Mg) du diamètre (d) et de la longueur (l) en µm des fibres dans la solution de Gamble modifiée

Durée (semaines)	MMVF11		MMVF21		RCF-1		Crocidolite	
	Mgd	Mgl	Mgd	Mgl	Mgd	Mgl	Mgd	Mgl
0	0.53(3.0)	10.45(2.5)	0.83(1.7)	10.33(2.4)	0.52(2.5)	5.93(2.7)	0.14(2.0)	1.20(2.0)
2	0.74(2.5)	15.69(2.6)	0.78(2.1)	13.46(2.5)	0.57(3.0)	7.31(2.7)	0.14(1.7)	1.28(2.1)
4	0.90(2.4)	16.77(2.2)	0.81(2.2)	15.97(2.4)	0.82(2.1)	1.82(2.7)	0.22(1.9)	2.29(2.3)
8	0.60(2.3)	7.81(3.6)	0.64(2.7)	14.75(2.8)	0.65(2.5)	10.75(2.9)	0.14(1.9)	1.34(2.0)
16	Nd	Nd	0.67(2.4)	13.50(3.3)	0.89(1.9)	14.98(2.5)	0.16(1.9)	1.95(2.4)

Nd. pas de fibre décelée

DISCUSSION

L'étude histopathologique met en évidence une réaction inflammatoire au début de l'exposition moins intense pour les trois groupes MMVF11, MMVF21 et RCF-1 que pour le groupe « crocidolite », suivie par une réparation du parenchyme pulmonaire dans les trois premiers groupes et des signes de progression dans le groupe « crocidolite ». Les lésions produites par la crocidolite reproduisent les résultats d'une étude précédente¹⁸

Toutefois, il n'est pas possible de conclure si ce comportement provient de la nature des fibres ou de la concentrations en nombre de fibres, laquelle concentration est beaucoup plus élevée pour la crocidolite que pour les trois autres échantillons dans le devis de notre étude. En effet, par calcul, il est possible d'évaluer que 100 mg de l'échantillon RCF-1 correspond à 10^4 fibres comparativement à 1.5×10^{11} fibres de crocidolite. Sébastien *et al.*¹³ ont mesuré et publié le nombre de fibres de crocidolite correspondant à une dose de 100 mg de crocidolite, soit 2.3×10^{11} .

Du point de vue de la rétention pulmonaire, les résultats de concentrations en nombre de fibres de crocidolite par mg de tissu sec sont environ six fois plus faibles pour l'ensemble des fibres et deux fois plus faibles pour les fibres > 5 µm que lors de l'étude antérieure sur la crocidolite¹⁹. La méthodologie de l'étude antérieure prévoyait quatre lavages bronchoalvéolaires, aux deux mois, avant la collecte du poumon à 8 mois ce qui complique la comparaison entre les deux études.

Les études précédentes de Bégin *et al.*¹⁹ indiquent qu'avec le modèle du mouton, des concentrations en nombre de fibres de crocidolite 100 fois plus faibles lors de l'instillation initiale, soit 1 mg au lieu des 100 mg, n'auraient pas donné des modifications histopathologie observables. La comparaison des fibres de synthèse à la crocidolite à des doses équivalentes en nombre de fibres, requerrait à toutes fins pratiques de procéder par inhalation.

La comparaison des demi-vies entre le modèle du mouton et du rat (Tableau 15) indique, par injection intratrachéale, une demi-vie de quelques centaines de jours pour toutes les fibres en utilisant une

régression linéaire simple. Les demi-vies plus longue de 695 et 976 jours observées pour le crocidolite avec les rats, n'ont pas été reproduites chez le mouton.

Il est particulièrement évident, en traitant les résultats par régression linéaire double que la première étape de clairance est plus rapide avec les échantillons MMMVF11 et 21 qu'avec la fibre de céramique ou le crocidolite. Les demi-vies pondérées sur les deux étapes de clairance ont donné des résultats très près des études par inhalation chez le rat pour les fibres plus grandes que 5 µm. Le traitement des données de rétention par régression linéaire double confirme l'observation chez le rat¹¹ d'une clairance plus rapide des longues fibres. Il serait intéressant de déterminer la concentration des fibres >20 µm pour compléter la comparaison avec les résultats par injection et par inhalation du modèle-rat¹¹.

Tableau 15. Demi-vie (jour) des fibres vitreuses de synthèse en milieu pulmonaire par expérimentation animale

Échantillon	Étude de cet article				Autres études (rats)			
	$t_{1/2}^*$		$W-t_{1/2}^{**}$		Inhalation		Injection intratrachéale	
	Toutes les fibres	$f > 5 \mu\text{m}$	toutes les fibres	$f > 5 \mu\text{m}$	Toutes les fibres	$f > 5 \mu\text{m}$ ($W-t_{1/2}^{**}$)	toutes les fibres	$f > 5 \mu\text{m}$
MMMVF11	247	203	31***	31***	182 ¹⁹	28 ¹¹	199 ²⁰ , 237 ¹⁹	272 ¹⁹
MMMVF21	154	141	75	46	203 ¹⁹	54 ¹¹	291 ¹⁸ , 258 ²¹	283 ¹⁹
RCF-1	280	192	280	154	200 ²² (hamsters)		343 ¹⁹ , 190 ¹⁸	304 ¹⁹
Crocidolite	231	301	175	105	301 ¹⁹		695 ¹⁸ , 185 ¹⁹	976 ¹⁹

* : régression simple

** : pondération d'une régression double, tel que décrit par Bernstein *et al*¹⁰

*** : seule la première étape de la courbe a donné des concentrations traitables par régression linéaire

Les données en italique sont identifiées en tant que laine de verre, laine de roche et fibres céramiques respectivement

Toutefois, cette clairance plus rapide des longues fibres aurait dû logiquement mener à une diminution de la longueur moyenne des fibres en cours d'expérimentation, ce qui apparaît clairement puisque les longueurs moyennes de fibre retenues dans le poumon sont toujours inférieures aux caractéristiques du produit initial. La morphologie des fibres de l'échantillon MMMVF11 et MMVF21, 6 jours après l'instillation, soit des moyennes géométriques respectivement de 0.53 et 0.57 µm de diamètre et 7.16 µm et 8.72 de longueur se compare très bien aux résultats de Bernstein *et al.*¹⁰, chez le rat en début d'inhalation, soit 0.54 et 0.47 µm de diamètre et 8.7 et 7.3 µm de longueur. Malgré les différences méthodologiques, cette comparaison fournit des éléments de validation de la qualité des résultats. Il serait envisageable que cette élimination des longues fibres se soit produite dès les débuts de l'expérimentation avant le prélèvement du sixième jour.

Finalement, les résultats des tests de solubilité semblent supporter, de façon qualitative, les indications des résultats de rétention, ce qui permet de poser l'hypothèse d'une explication des données par l'existence d'un mécanisme de clairance en une étape pour le crocidolite et le RCF-1 et à deux étapes apparentes pour les fibres vitreuses, de style laine de verre et laine de roche. On ne peut pas ignorer non plus la possibilité d'un artefact expérimental qui se manifeste par une diminution de la solubilité suite à la lixiviation du calcium ou d'autres cations en milieu aqueux. L'utilisation de tests de solubilité dynamique avec remplacement continu de la solution originale permettrait d'éviter cet effet.

Les tests de solubilité ont une portée très limitée pour fournir des indications sur la durabilité des fibres en milieu pulmonaire.²³ Ils peuvent toutefois fournir des informations pour supporter l'interprétation des données de rétention pulmonaire.

CONCLUSION

Cette étude de persistance d'échantillons de MMMF, suite à une exposition ponctuelle à une concentration aiguë en masse de fibres, indique une clairance plus rapide des fibres vitreuses (MMMF11 et MMMF21) comparativement aux fibres de céramique et de crocidolite. Cette clairance rapide est apparente en début de résidence pulmonaire. Les trois échantillons de MMMF, dans les conditions de l'étude, n'ont pas manifesté les lésions inflammatoires observées avec le crocidolite. Soulignons que les concentration en nombre de fibres de crocidolite étaient plusieurs ordres de grandeur plus élevées que les échantillons de MMMF.

RÉFÉRENCES

- ¹ Young, J Properties, Applications, and Manufacture of Man-Made Mineral Fibres. In :Mineral Fibres and Health, Liddell, D. and Miller, K. editors, CRC Press, pp.37-53, 1991.
- ² World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Man-Made Mineral Fibres and Radon, vol. 43, 300 pages, 1988.
- ³ Enterline, P E , Marsh, G M., Hendersen, A. and Callahan, C Mortality Update of a Cohort of U.S. Man-Made Mineral Fibre Workers. *Ann. Occup Hyg* 31 :625-656, 1987.
- ⁴ Simonato, L , Fletcher, A C., Cherrie, J W , Andersen, A., Bertazzi, P., Charnay, N., Claude J., Dodgson, J., Esteve, J., Frentzel-Beyme, R., Gardner, M.J., Jensen, O., Olsen, J., Teppo, L , Winkelmann, R., Westerholm, P., Winter, P D , Zocchetti, C and Saracci, R The International Agency for Research on Cancer. Historical Cohort Study of MMMF Production Workers in Seven European Countries Extension of the Follow-up. *Ann Occup Hyg* 31 :603-623, 1987.
- ⁵ Infante, P.F , Schuman, L D., Dement, J. and Huff, J Fibrous Glass and Cancer *Am. J Indus. Med.* 26 :559-584, 1994.
- ⁶ Stanton, M F., Layard, M., Tegeris, A , Miller, E., May, M. and Kent, E. Carcinogenicity of Fibrous Glass · Pleural Response in the Rat in Relation to Fiber Dimension *J Natl. Cancer Inst* 58 :587-603, 1977
- ⁷ Walton, W.H. The Nature Hazards and Assessment of Occupational Exposure to Airborne Asbestos Dust . A Review. *Ann Occup. Hyg.* 2 ·117-247, 1982
- ⁸ Muhle, H. and Bellmann, B Biopersistence of Man-Made Vitreous Fibres *Ann. Occup Hyg.* 39:655-660, 1995.
- ⁹ Luoto, K., Holopainen, M , Sarataho, M and Savolainen, K. Comparison of Cytotoxicity of Man-Made Vitreous Fibres. *Ann Occup Hyg.* 41 .37-50, 1997.
- ¹⁰ Brown, R.C , Hoskins, J.A. and Glass, L.R The *in vivo* biological activity of ceramic fibres. *Ann. Occup Hyg.* 39 :705-713, 1995
- ¹¹ Bernstein, D M., Morscheidt, C., Grimm, H -G., Thévenaz, P and Teichert, U. Evaluation of Soluble Fibers Using the Inhalation Biopersistence Model, A Nine-Fiber Comparison *Inhalation Toxicology*, 8 .345-385(1996).
- ¹² Bégin, R., Dufresne, A , Cantin, A , Massé, P , Sébastien, P and Perrault, G Carborundum Pneumocomosis. *Chest* 95· 842-849, 1989.
- ¹³ Sébastien, P. Bégin, R and Massé, S. Mass, Number and Size of Lung Fibres in a Sheep Model *Brit J. Exp Path* 71 .1-10, 1990
- ¹⁴ Bégin, R , *et al* Sequential Analysis of the Bronchoalveolar Lavage Milieu in Conscious Sheep. *Brit. J. Appl Physiol.* 50 ·665-671, 1981
- ¹⁵ Dufresne, A., Case, B., Fraser, R. and Perrault, G Protocol of Lung Particulate Analysis by Electron Transmission Microscopy for Decoding Occupational History from Lung Retention. *Ann. Occup Hyg Inhaled Particles VII*, 38(Supp.1).503-517, 1994.
- ¹⁶ Dufresne, A. Décodage de l'exposition professionnelle par l'analyse de particules extraites du parenchyme pulmonaire Thèse de doctorat. École de santé au travail, Université McGill, 216 p (1990)
- ¹⁷ Scholze, H and Conradt, R An *In Vitro* Study of the Chemical Durability of Siliceous Fibres *Ann Occup Hyg* 31.683-692, 1987.
- ¹⁸ Sébastien, P., Bégin, R and Massé, S Mass, Number and Size of Lung Fibres in the Pathogenesis of Asbestosis in Sheep. *J Exp Path* 71 .1-10, 1990.
- ¹⁹ Bégin, R , Massé, S., Rola-Pleszczynski, M , Drapeau, G and Dalle, D. Selective Exposure and Analysis of the Sheep Tracheal Lobe as a Model for Toxicological Studies of Respirable Particles. *Environ Res.* 36 :389-404, 1985.
- ²⁰ Muhle, H and Bellmann, B. Biopersistence of Man-Made Vitreous Fibres. *Ann Occup. Hyg.* 39·655-660, 1995
- ²¹ Muhle, H., Bellmann, B and Pott, F Comparative Investigations of the Biodurability of Mineral Fibers in the Rat Lung. *Environ Health Perspect* 102 ·163-168(1994)
- ²² Mast, R.W., Hesterberger, T.W., Glass, L.R., McConnel, E.E , Anderson, R. and Bernstein, D.M. Chronic Inhalation and Biopersistence of Refractory Ceramic Fiber in Rats and Hamsters *Environ Health Perspect.* 102 :207-209, 1994
- ²³ Searl, A. A Review of the Durability of Inhaled Fibres and Options for the Design of Safer Fibres. *Ann. Occup. Hyg.* 38 .839-855, 1994