



Dosage simultané de la nicotine et des fumées noires émises par des cigarettes consommées dans un local : Application aux cas de tabagisme passif dans une entreprise

Simultaneous titration of nicotine and black smoke, produced by consumed cigarettes in a confined room : Application to passive nicotine in a firm

par R. ANANE (*), K. BENLAHCEN (*), M. BONINI (*), A. M. BETBEDER (*), J. DUFOIR (**), J. G. FAUGÈRE (**), E. E. CREPPY (*)

RÉSUMÉ

Cette étude concerne la mise au point d'une méthode de piégeage et de dosage de la nicotine dans une ambiance confinée dans laquelle se trouvent des personnes non-fumeurs, soumises à des émissions mécaniques de fumées de tabac.

Une relation a été établie entre la teneur en nicotine et en fumées noires présentes dans la salle d'expérimentation et le nombre de cigarettes consommées.

Le dosage de la nicotine a été simultanément effectué dans les urines des fumeurs passifs. La méthode de dosage consiste à piéger la nicotine sur des filtres imprégnés de bisulfite de sodium, suivie d'une extraction organique après libération en milieu eau-alcool-soude. Le dosage est réalisé par chromatographie gazeuse, équipée d'une colonne semi-capillaire et d'un détecteur à ionisation de flamme.

La nicotine urinaire, mesurée chez les non-fumeurs exposés à la fumée de cigarette, fait apparaître des teneurs significatives dans les conditions de l'essai à des distances comprises entre 0,7 m et 1,40 m de l'émission de fumée.

ABSTRACT

This study consists to trap and analyse nicotine in a closed atmosphere, where some no-smokers persons are submitted to mechanic tobacco smoke emissions. A relation has been established between the levels of nicotine and black-smoke present in the experimental room and the number of consumed cigarettes.

In the same time, the analysis of cotinine has been realized in passive smokers'urines. The analysis method consists in trapping the nicotine on impregnated filters, followed by an organic extraction after liberation of the molecule by a mixture of water-ethanol and sodium hydroxide. The analysis is completed by CPG, with a semi-capillar column and a FID detector.

The urinary cotinine, measured in exposed no-smokers, shows significant levels during the essays at distances between 0.70 m and 1.40 m from the smoke emission.

(*) Laboratoire de Toxicologie, UFR Sciences Pharmaceutiques, Université Bordeaux 2, 3^{er}, Place de la Victoire, 33076 Bordeaux Cedex.

(**) Institut Européen de l'Environnement de Bordeaux, rue du Professeur Vézès, 33300 Bordeaux.

La fumée de tabac fait partie des polluants atmosphériques. Ses effets nocifs chez les fumeurs ne sont plus à démontrer. Depuis quelques années, le tabagisme passif devient préoccupant et ses répercussions sur la santé des non-fumeurs sont recherchées [1]. Pour

quantifier l'exposition tabagique, qu'elle soit active ou passive, la détermination de la concentration de nicotine dans l'air constitue une méthode spécifique. Mais un autre indice du tabagisme et du tabagisme passif, est la détermination du taux d'un métabolite de la nicotine (la cotinine) dans les urines, surtout lorsque celle-ci est couplée à la détermination de la nicotine dans l'air ambiant.

La nicotine est un alcaloïde liquide toujours présent dans la feuille de tabac. Elle est constituée par deux noyaux hétérocycliques mono-azotés, très volatile, elle se retrouvera donc dans la fumée de cigarettes. Très toxique (DL 50 par i.v. chez le chien : 5 mg/kg) elle a des propriétés excitoganglionnaires au niveau des récepteurs nicotiniques dont l'un des médiateurs est l'acétylcholine. Après inhalation avec la fumée, l'absorption au niveau pulmonaire est importante et rapide. Sa rapidité est comparable à celle d'une injection i.v. La nicotine est distribuée dans tous les tissus mais surtout vers le cerveau qu'elle atteint en 8 secondes. Le métabolisme est hépatique et 4 métabolites au moins ont été identifiés, tous sont inactifs. La cotinine est le métabolite principal [2-3-4]. Une tolérance de l'organisme se crée suite à des phénomènes d'induction enzymatique, le fumeur métabolise plus facilement la nicotine que le non-fumeur, mais il y a aussi des différences individuelles chez le non-fumeur. La nicotine non métabolisée ainsi que la cotinine sont éliminées par voie urinaire. L'excrétion urinaire de la nicotine est dépendante du pH urinaire. Dans les conditions normales de fluctuation nyctémérale de pH urinaire, les fumeurs excrètent des quantités égales de nicotine et de cotinine.

Ce travail a permis de mettre au point une méthode de dosage de la nicotine dans l'atmosphère d'un micro-environnement (salle de cours) et d'établir une relation entre le taux de nicotine et le nombre de cigarettes fumées. Simultanément, la détermination des fumées noires a été effectuée et corrélée au nombre de cigarettes. Parallèlement, la mise en évidence du tabagisme passif par dosage de la cotinine dans les urines de personnes exposées à la fumée de tabac a été entreprise.

Matériel et méthode

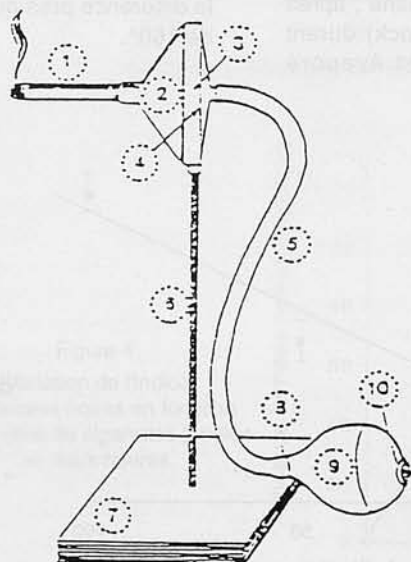
1. Lieu

Salle de cours d'un volume total de 278 m³ munie de 3 fenêtres qui ont été maintenues fermées pendant la durée de chaque expérimentation. Après chaque expérimentation, la salle a été aérée. La température au début et pendant chaque expérimentation a été notée et maintenue constante.

2. Appareil à fumer « Fumeur mécanique »

Il nous a été généreusement prêté par le Centre médico-social Ferdinand PIÉCHAUD, il est fabriqué par la société Vie et Santé, 77190 Dammarie-les-Lys. Cet appareil permet à une cigarette de se consumer entièrement, mais il ne mime pas un individu qui fume. Il n'y a donc pas absorption d'une partie des composants par le fumeur mais libération de tous les composés dans l'atmosphère environnante (figure 1).

Figure 1.
Appareil à fumer.



1. La cigarette.
2. Le cône.
3. Le couvercle du cône.
4. Ligne d'emplacement du filtre à l'intérieur.
5. Tuyau d'aspiration.
6. Tige-support de l'appareil.
7. Socle
8. Poire en caoutchouc.
9. Valve aspirante.
10. Valve refulante.

3. Tabac

Cigarettes françaises Gauloises Caporal SEITA sans filtre dont la composition annoncée est la suivante : tabac 90,5 %, papier à cigarettes 4,5 %, agent de texture 5 %, nicotine 1,31 mg, goudrons 16,9 mg par cigarette.

4. Prélèvements atmosphériques de nicotine

4.1. Le porte-filtre est relié à une pompe aspirante dont le débit a été fixé à 1 l/min. L'air a été prélevé à 1,10 m au-dessus du sol, à la hauteur des voies respiratoires d'une personne assise. La distance entre le porte-filtre et les appareils à fumer a été de 0,7 m et/ou de 1,4 m. Les filtres utilisés sont de type Whatman GF/c (2,5 cm). Ils ont été utilisés soit vierges sans traitement, soit après imprégnation avec du bisulfite de sodium selon la technique de HAMMOND et coll. [5] : avant chaque expérimentation, les filtres sont plongés pendant une minute dans une solution de bisulfite de sodium. Après égouttage, ils sont mis à sécher dans une étuve à 100 °C pendant 20 minutes. Après refroidissement, ils sont immédiatement utilisés. Pour chaque expérimentation, 2 filtres vierges et 2 filtres imprégnés ont été montés en série. Chaque expérimentation s'est déroulée de la manière suivante : temps zéro, installation des filtres et mise en place des appareils à fumer ; toutes les 15 minutes est mise en place une nouvelle cigarette. Au temps 2 heures, fin de la consommation des dernières cigarettes et au temps 4 heures, arrêt du prélèvement d'air. Les expérimentations ont été effectuées six fois dans les mêmes conditions et la moyenne des résultats a été calculée.

4.2. Désorption de la nicotine des filtres

Pour les filtres non imprégnés : chaque filtre est plongé dans 4 ml de dichlorométhane ; après sonication (70 mV, Sonicateur Bioblock) durant 5 minutes, le dichlorométhane est évaporé

jusqu'à réduction du volume à 1 ml. 300 µl d'hexane sont alors ajoutés, après agitation et centrifugation, la phase hexanique sera analysée.

Pour les filtres imprégnés de bisulfate : chaque filtre est plongé dans 2 ml d'eau distillée contenant 100 µl d'éthanol. Après agitation, 2 ml de NaOH sont ajoutés ; le mélange est agité et 300 µl d'hexane sont additionnés. Après agitation et centrifugation, la phase hexanique est analysée.

4.3. Dosage de la nicotine par CPG

Un chromatographe HEWLETT PACKARD 5890 avec un détecteur à ionisation de flamme équipé d'une colonne semi-capillaire HP1 (méthylsilicone) et d'un intégrateur HEWLETT PACKARD 3390 A a été utilisé. Les conditions chromatographiques suivantes ont été adoptées : gaz vecteur, azote pression 7 kPa ; température du four : 110 °C ; température du détecteur : 300 °C ; température d'injection : 250 °C ; quantité injectée : 1 µl.

Une gamme étalon de 25 à 100 µg/ml a été établie (figure 2). La sensibilité de la méthode est de 1×10^{-3} µg nicotine/µl injecté soit 0,3 µg nicotine/300 µl hexane ou par filtre. Il est à noter qu'à partir de 100 µg de nicotine/ml des dilutions des solutions à doser ont été faites.

5. Dosage de la cotinine urinaire par CPG

Il a été réalisé chez 12 ouvriers fumeurs passifs, travaillant dans un atelier d'une entreprise, entourés de fumeurs. Après prélèvement des urines, l'analyse de la cotinine urinaire a été réalisée par CPG après extraction chloroformique selon la méthode de GODIN et coll. [6]. Les conditions chromatographiques sont identiques à celles du dosage de la nicotine à la différence près que la température du four était de 160°.

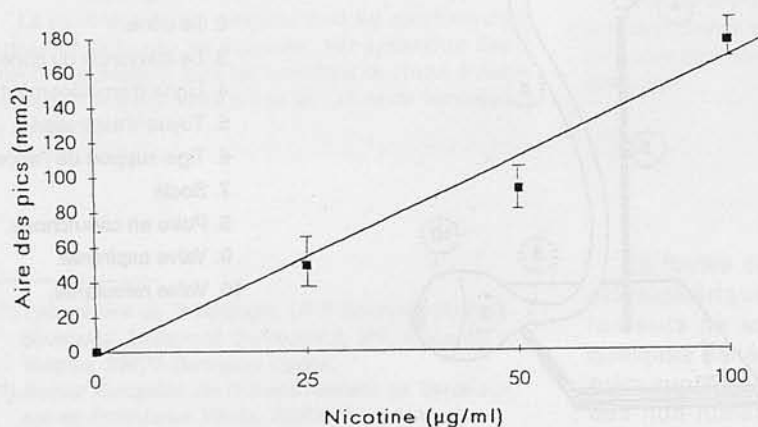


Figure 2.
Courbe d'étalonnage
de la nicotine solubilisée
dans l'eau et dosée par CPG.

6. Prélèvements atmosphériques et dosage des fumées noires

Ces déterminations ont été réalisées selon les directives de la norme AFNOR X 43005 de décembre 1977. Les prélèvements d'air ont été réalisés à l'aide d'un appareil Filtromat commercialisé par Environnement SA dont le débit d'aspiration est de 100 l/h et la surface de filtration de 5,6 cm² avec des filtres Schneider Poelman CA 32. Chaque prélèvement d'atmosphère pour le dosage des fumées noires s'est déroulé parallèlement au prélèvement pour doser la nicotine. A la fin de la période de consommation des cigarettes, le filtre est retiré et un deuxième est mis en place tout de suite pour 4 heures. Le dosage des fumées noires a été effectué par réflectométrie à l'aide d'un réflectomètre PHOTOVOLT 670.

Résultats

Nicotine

L'analyse des filtres imprégnés placés à une distance de 0,7 m de la source de fumées indique la présence de nicotine à partir de 16 cigarettes fumées en 1 heure. Le taux moyen de nicotine retrouvé est alors de 144,1 ±

17,3 µg/m³ air prélevé. Pour 32 cigarettes consommées en 1 heure, le taux moyen de nicotine est de 465,8 ± 13,3 µg/m³ air prélevé.

Quand les filtres sont placés à une distance de 1,4 m pour 16 cigarettes fumées en 1 heure, l'analyse des filtres imprégnés indique une concentration en nicotine de 43,6 µg ± 18,37 µg/m³ air prélevé. Pour 32 cigarettes fumées en 1 heure, le taux moyen de nicotine est de 60,9 ± 9,9 µg/m³ air prélevé dans les mêmes conditions que précédemment (figure 3).

Cotinine urinaire

Chez les non-fumeurs non entourés de fumeurs sur leur lieu de travail, ni à leur domicile, la concentration en cotinine urinaire est nulle.

Chez les non-fumeurs entourés de plus de 3 fumeurs au travail, la concentration moyenne en cotinine retrouvée est de 0,79 ± 0,15 µg/ml urine. L'exposition de ces non-fumeurs a été estimée à environ 20 cigarettes pendant les 8 heures de travail.

Fumées noires

La figure 4 montre la variation de l'indice de fumées noires en fonction du nombre de cigarettes fumées en 2 heures.

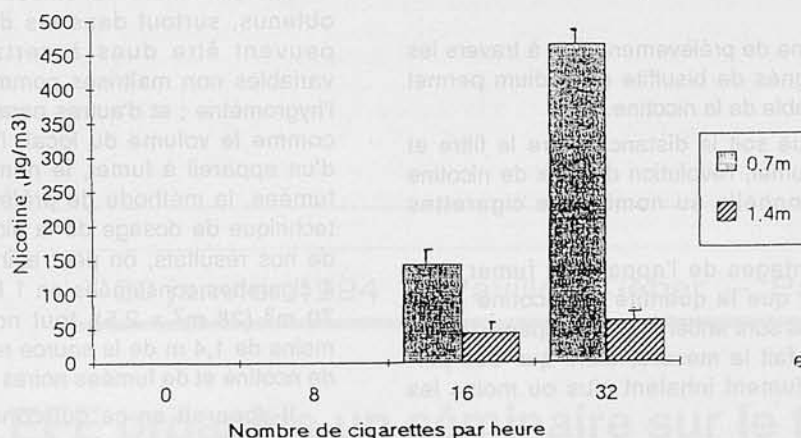
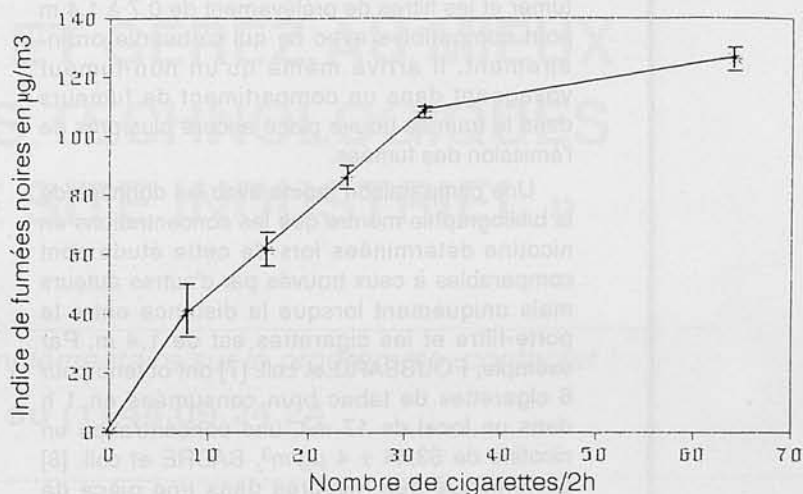


Figure 3.
Variation de la teneur en nicotine en fonction du nombre de cigarettes fumées et de la distance entre le porte-filtre et les cigarettes.

Figure 4.
Variation de l'indice de fumées noires en fonction du nombre de cigarettes fumées en deux heures.



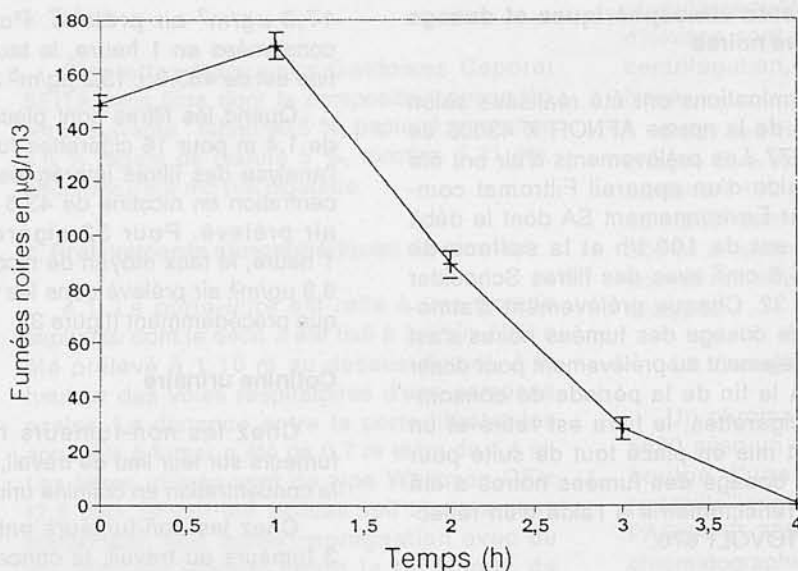


Figure 5.
Évolution de l'indice
de fumées noires
en fonction du temps
après des émissions de fumées.

Après arrêt de la consommation des cigarettes (temps 0), l'indice de fumées noires évolue suivant la courbe de la figure 5. Elle augmente dans la première heure puis diminue progressivement et devient nul 4 heures après.

Discussion

Le système de prélèvement d'air à travers les filtres imprégnés de bisulfite de sodium permet un dosage fiable de la nicotine.

Quelle que soit la distance entre le filtre et l'appareil à fumer, l'évolution du taux de nicotine est proportionnelle au nombre de cigarettes fumées.

Les avantages de l'appareil à fumer sont entre autres que la quantité de nicotine et de fumées noires sont entièrement dissipées dans la pièce où se fait la mesure, alors que des personnes qui fument inhalent plus ou moins les fumées.

Les distances mises entre les appareils à fumer et les filtres de prélèvement de 0,7 à 1,4 m sont compatibles avec ce qui s'observe ordinairement. Il arrive même qu'un non-fumeur voyageant dans un compartiment de fumeurs dans le train se trouve placé encore plus près de l'émission des fumées.

Une comparaison rapide avec les données de la bibliographie montre que les concentrations en nicotine déterminées lors de cette étude sont comparables à ceux trouvés par d'autres auteurs mais uniquement lorsque la distance entre le porte-filtre et les cigarettes est de 1,4 m. Par exemple, FOUSSARD et coll. [7] ont obtenu pour 6 cigarettes de tabac brun consommées en 1 h dans un local de 17 m³, une concentration en nicotine de $53,44 \pm 4 \mu\text{g}/\text{m}^3$. BADRE et coll. [8] ont effectué des mesures dans une pièce de

40 m³ fermée et non ventilée, après 18 cigarettes consommées par h, ils ont trouvé une concentration en nicotine de $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$. HAMMOND et coll. [1] ont retrouvé 3 à 48 μg de nicotine par m³ dans un local de 43 m³ après avoir fait fumer 4 fois 8 cigarettes par heure par des fumeurs.

Les différences observées entre les résultats obtenus, surtout dans les deux derniers cas peuvent être dues à certains paramètres variables non maîtrisés comme la température, l'hygrométrie ; et d'autres paramètres techniques comme le volume du local, l'utilisation ou non d'un appareil à fumer, le nombre de cigarettes fumées, la méthode de prélèvement d'air et la technique de dosage de la nicotine. Sur la base de nos résultats, on peut affirmer qu'à partir de 4 cigarettes consommées en 1 h dans un local de 70 m³ (28 m² x 2,5), tout non-fumeur situé à moins de 1,4 m de la source reçoit des quantités de nicotine et de fumées noires décelables.

Il apparaît en ce qui concerne les fumées noires qu'il y ait un seuil de saturation des locaux ou des filtres. Cela peut aussi être le cas au-delà de 32 cigarettes pour le taux de nicotine dans l'air, dans nos conditions expérimentales.

Il faut remarquer que ce qui est le plus dangereux pour le non-fumeur, c'est de se trouver en même temps que le fumeur dans le local, car peu de temps (3 h) après l'arrêt d'émission des fumées, le taux de fumées noires sur les filtres est pratiquement nul.

En ce qui concerne la corrélation entre la cotinine urinaire et l'exposition au tabac, on peut dire que, passé le seuil de quelques cigarettes, le non-fumeur inhale de la nicotine qui génère plus ou moins rapidement la cotinine. La corrélation est bonne bien qu'il y ait une variation individuelle d'environ 20 % liée sans doute aux différences du métabolisme.

Conclusion

Au cours des expérimentations, la présence de nicotine dans l'atmosphère à partir de 16 cigarettes fumées en 1 heure (soit 4 cigarettes pour une salle de 70 m³) laisse supposer l'agression subie par un fumeur passif. Cette agression est confirmée par le dosage de la cotinine dans les urines.

La procédure est au point pour toute application dans un lieu choisi et sur une population à risque.

Ce travail a été réalisé dans le cadre du stage de DU de Toxicologie et Hygiène industrielle.

Remerciements : Les auteurs tiennent à remercier l'Université de Bordeaux 2, les Chambres de Commerce de Bordeaux, Laval, Rouen et Paris, pour leur soutien.

Bibliographie

- [1] WILLERS S., SVENONINS E., SKARPIN G. Passive smoking and childhood asthma – urinary cotinine levels in children with asthma and in referents. *Allergy*, 1991, 46 (5), 330-334.
- [2] NONCKEN P., RUSTEMEIER K., SCHEPERS G. Identification of cis-3'-hydroxycotinine as a urinary

nicotine metabolite. *Xenobiotica*, 1990, 20 (12), 1353-1356.

- [3] HAMMOND S. K., BJERCKE R. J., LANGONE J. J., STROBEL H. W. Metabolism of nicotine by rat liver cytochrome P450. Assesment utilizing monoclonal antibodies to nicotine and cotinine. *Drug. Metab. Dispos.*, 1991, 19 (4), 804-806.
- [4] DUAN M. J., YU L., SAVANNAPRIDI C., JACOB P., BENOWITZ N. L. Disposition kinetics and metabolism of nicotine-1'-N-oxide in rabbits. *Drug. Metab. Dispos.*, 1991 19 (3), 667-672.
- [5] HAMMOND S. K., LEADERER B. P., ROCHE A. C., SCHENKER M. Collection and analysis of nicotine as a marker for environmental tobacco smoke. *Atmospheric Environmental*, 1987, 21 (2), 457-462.
- [6] GODIN J., GIRARD F., HELLIER G. Méthode rapide de mesure de la nicotine et de la cotinine dans l'urine par chromatographie en phase gazeuse. *Journal of Chromatography, Bio-medical Applications*, 1985, 343, 424-426.
- [7] FOUSSARD T., GARRAULT C., THIAULT B. Détermination quantitative de la nicotine dans une atmosphère enfumée par polarographie. *Analysis*, 1990, 118, 588-590.
- [8] BADRE R., GUILLERM R., ABRAN N., BOURDIN N., DUMAS. Pollution atmosphérique par la fumée de tabac. *Annales pharmaceutiques françaises*, 1978, 36, n° 9-10, 443-452.

20 janvier 1994 – Pavillon Kléber – Paris

EFE organise un séminaire sur le thème : « PREVENEZ ET GEREZ AU MIEUX LES RISQUES TECHNOLOGIQUES SUR VOTRE SITE INDUSTRIEL »

Pour toute information complémentaire sur le programme, contacter :

EFE au (1) 44.09.24.24