

Étude de la toxicité pulmonaire de fragments de clivage d'actinolite comparativement à celle de l'actinolite-amiante

Octobre 2025

Cette note synthétise les principaux résultats obtenus lors d'une étude comparative de la toxicité pulmonaire des fragments de clivage et leur équivalent amiante. Ce travail a été réalisé dans le cadre des missions d'appui de l'Ineris au ministère chargé de l'environnement et a également fait l'objet d'un soutien financier de l'ANSES.

Contexte

Compte tenu de ses propriétés physicochimiques, l'amiante a été largement utilisée dans différents secteurs industriels, notamment du bâtiment et des travaux publics. Parce que son exposition, en particulier respiratoire, induit des cancers pulmonaires et des mésothéliomes, l'amiante a été classée cancérogène dès 1977 par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC). Son usage en France a ensuite été interdit en 1997.

Le terme amiante correspond, dans la réglementation européenne, à 6 minéraux silicatés présents naturellement dans plusieurs types de roche : une serpentine (le chrysotile), et cinq amphiboles (l'actinolite-amiante, l'anthophyllite-amiante, la trémolite-amiante, l'amosite et la crocidolite). Dans le milieu naturel, l'actinolite (mais également les autres amphiboles) peut se présenter sous différentes morphologies, asbestiformes (amiante) ou non asbestiformes (non-amiante). Les minéraux silicatés asbestiformes se différencient des non-asbestiformes par leur mode de croissance. Ainsi, les asbestiformes sont des fibres ayant l'apparence de cheveux, de largeur relativement constante, alors que les non-asbestiformes sont généralement plus courtes et plus épaisses. La morphologie et la dimension des fibres d'amiante sont deux critères déterminants du pouvoir pathogène de l'amiante. D'autres facteurs interviennent également dans les propriétés toxiques des fibres d'amiante, notamment leur composition chimique et leur réactivité de surface.

Lorsqu'une contrainte mécanique est appliquée aux roches non-asbestiformes, la fracturation engendre des particules plus ou moins allongées appelées fragments de

clivage. Au sein de ces fragments de clivage, il a été identifié des particules minérales allongées (PMA), définies par un rapport d'allongement supérieur à 3 (Longueur/diamètre > 3). Ces PMA pourraient être préoccupantes pour la santé en raison de leurs similarités physico-chimiques avec l'amiante (morphologie, dimensions, composition chimique et réactivité de surface).

Des fragments de clivage d'actinolite ont été identifiés dans des granulats d'enrobés routiers et dans les matériaux de construction. La présence de ces fragments de clivage, formés lors de l'exploitation des roches, conduit à s'interroger sur une potentielle exposition par inhalation des poussières des travailleurs et des populations riveraines des carrières et/ou de chantiers routiers. L'absence de données épidémiologiques et toxicologiques sur les fragments de clivage seuls a conduit l'Anses (ANSES 2025) à recommander de « conduire des études de toxicologie, en utilisant des échantillons de particules allongées rigoureusement caractérisées ». La présente étude répond à cette demande de l'Anses et également du ministère en charge de l'environnement, de conduire des études afin d'identifier la toxicité, en utilisant des échantillons de fragments de clivage, rigoureusement caractérisés, sur le plan de la longueur, du diamètre, de la composition, de la structure, de la biopersistance. Elle a porté sur un type d'amphiboles peu étudié, l'actinolite, sous forme amiante et de fragments de clivage. Ces particules ont un intérêt sanitaire en raison de l'exposition possible des populations.

Ce projet avait pour objectif d'évaluer la toxicité pulmonaire de fragments de clivage d'actinolite en comparaison avec les fibres d'actinolite-amiante chez le rat, afin de déterminer si les fragments de clivage ont des effets biologiques distincts de leurs homologues asbestiformes.

Cette étude s'est appuyée sur des connaissances antérieures des effets de l'amiante, des AOP (Adverse Outcome Pathway) décrits pour le cancer pulmonaire et la fibrose, ainsi que des études préliminaires pour définir le protocole d'exposition et valider les marqueurs choisis. L'étude principale s'est attachée à analyser la biopersistance de particules dans les poumons, les effets pulmonaires précoces et leur persistance à moyen terme, afin d'évaluer le potentiel fibrosant et cancéreux, ainsi que les dérégulations cellulaires à travers des études moléculaires d'expression de gènes.

Pour mener ce projet, deux partenaires complémentaires étaient impliqués l'équipe de Toxicologie expérimentale de l'Ineris et l'équipe « Génomique Fonctionnelle des Tumeurs Solides » (FunGeST) du Centre de Recherche des Cordeliers.

Les détails de l'étude expérimentale et ses résultats sont disponibles dans le rapport Anses (PNR EST-2021-137). Les résultats principaux sont synthétisés ci-dessous.

Caractérisation des échantillons

La première étape du projet a consisté en une caractérisation de la taille et longueur des particules présentes dans les 2 échantillons. Les échantillons utilisés dans ce projet ont été fournis et caractérisés par le BRGM (Bureau de Recherches Géologiques et Minières) pour les fragments de clivage d'actinolite extraits en Corse, et par la société AD-LAB pour l'actinolite-amiante, issue de la mine de Salau dans les Pyrénées. Ces 2 échantillons ont été caractérisés au microscope électronique à transmission (MET), afin de définir les proportions relatives de fibres OMS (définies par l'OMS : Longueur > 5µm, diamètre < 3µm, et L/d ≥ 3), fibres courtes (Longueur ≤ 5µm, diamètre < 3µm, et L/d < 3), et particules non fibreuses (diamètre > 3 µm et L/d < 3). Les échantillons de fragments de clivage et d'actinolite amiante présentent une majorité de fibres (OMS et courtes), respectivement 62 % et 74 % (Figure 1).

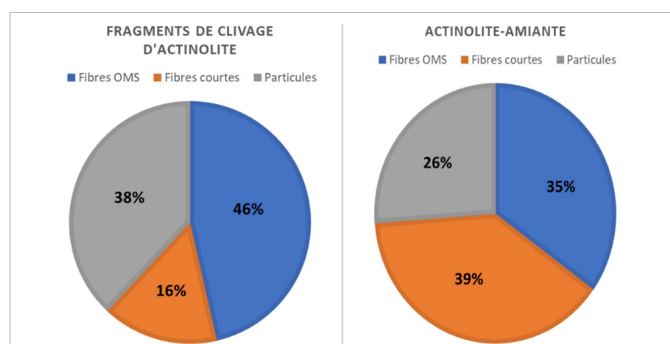


Figure 1 / Répartition statistique du nombre de particules par catégories : fibres OMS (Longueur > 5µm, diamètre < 3µm, et L/d ≥ 3), fibres courtes (Longueur ≤ 5µm, diamètre < 3µm, et L/d < 3) et particules non fibreuses

Les 2 échantillons présentés ici, ont été utilisés pour exposer des animaux à raison de 5 instillations intra-trachéales réparties sur 10 jours. La biopersistance et les effets de ces particules dans le poumon ont été étudiés 24h et 3 mois après la dernière exposition. Différents paramètres biologiques ont été évalués, regroupés en 3 catégories :

- / le potentiel fibrosant,
- / le potentiel cancéreux,
- / les modifications de voies de signalisation.

Résultats

La Biopersistance :

La dangerosité des fibres d'amiante étant, en particulier, liée à leur longue persistance dans les poumons, l'analyse du pourcentage d'élimination des fragments de clivage a été réalisée en comparaison avec celui des fibres d'amiante des poumons. Ainsi, le nombre de particules fibreuses ou non dans les poumons a été mesuré 24h et 3 mois après exposition. Comme il a été montré dans la littérature que le nombre de fibres présentes dans les poumons était plus important que leur masse totale. Ainsi, les animaux ont été exposés à 2 doses de fragments, l'une équivalente en masse à celle de l'échantillon d'amiante, et l'autre équivalente en nombre total de particules.

L'analyse des fibres et particules dans les poumons 24h après exposition, révèle que la proportion de fibres totales (OMS et courtes) est deux fois plus importante dans l'échantillon d'amiante que dans celui des fragments de clivage (55% vs ≈25%), le reste étant des particules non fibreuses (Figure 2).

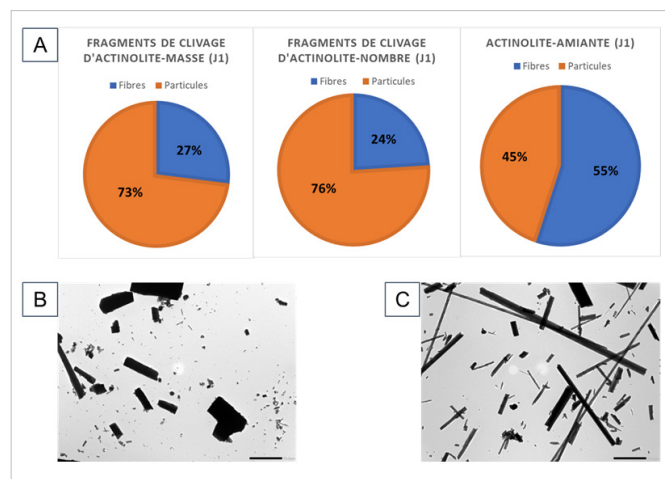


Figure 2 / (A) 24h après exposition répartition statistique de particules par catégories : fibres (fibres OMS + fibres courtes) et particules non fibreuses, (B) photographie au MET de l'échantillon fragments de clivage et de celui d'actinolite-amiante (C), échelle = 10µm.

Après 90 jours après exposition, l'analyse des particules dans les poumons des animaux exposés révèle une biopersistance variable entre 25% et 40% pour les fragments de clivage, et d'environ 20% pour l'amiante pour toutes les catégories de particules (fibres OMS ou non, et particule non fibreuses) (Figure 3), sans différence statistiquement significative. Ainsi, ces résultats montrent que les fragments de clivage semblent globalement être moins bien éliminés des poumons.

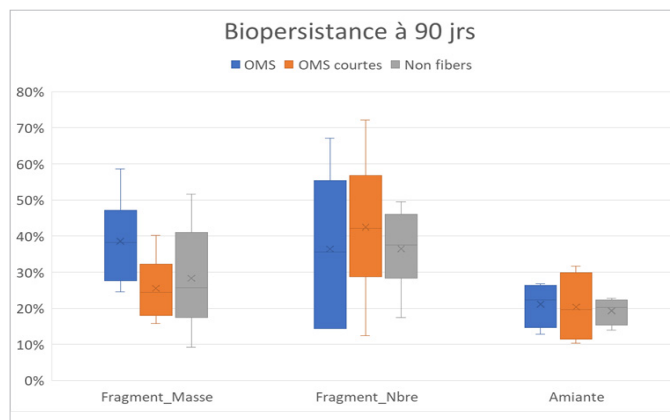


Figure 3 / Biopersistance des fibres et particules dans les poumons de rats à 90 jours, exprimée en pourcentage des particules comptées 24h après exposition. La dose administrée de fragments de clivage est soit similaire à la masse (fragment_masse), soit égale en nombre aux particules et fibres (fragment_nombre) de l'amiante instillée.

Il est aujourd'hui reconnu que la biopersistance des fibres dans les poumons peut induire des effets délétères comme la fibrose pulmonaire et des cancers pulmonaires en particulier, le mésothéliome qui est spécifique d'une exposition à l'amiante. Ainsi, sélectionnés sur la base des AOP fibrose et cancer, des marqueurs d'effets précoces et moyens termes ont été évalués pour estimer les potentiels effets délétères des fragments de clivage dans les poumons.

Le potentiel fibrosant :

Afin d'évaluer la capacité des fragments de clivage à induire de la fibrose pulmonaire, plusieurs marqueurs ont été évalués 24h et 3 mois après exposition. Les marqueurs choisis comprennent, la cytotoxicité, les mesures de collagène, de la protéine TGF- β impliquée dans la transformation des cellules épithéliales en cellules mésenchymateuses, et les analyses histopathologiques du parenchyme pulmonaire.

Notre étude a montré que les fragments de clivage induisent une cytotoxicité pulmonaire qui persiste au moins 3 mois après exposition, ce qui n'est pas retrouvé avec une exposition à l'amiante. Cependant, les analyses histopathologiques du tissu pulmonaire, associées au dosage de TGF- β , montrent que les fragments de clivage semblent induire moins de fibrose que les fibres d'amiante, notamment 3 mois après exposition.

Le potentiel cancéreux :

En parallèle, des analyses de marqueurs précancéreux, permettant d'évaluer le potentiel carcinogène à plus long-terme, telles que les analyses de l'inflammation, de l'apoptose et les analyses histologiques des lésions des voies respiratoires et du système vasculaire, ont également été réalisées (1 et 90 jours) après exposition. Ces analyses montrent un nombre accru de cellules apoptotiques après exposition à l'amiante ou aux fragments de clivage à court et long terme après exposition. Les analyses histopathologiques montrent des lésions des voies respiratoires et des vaisseaux sanguins à court et moyen terme après exposition.

Les analyses des lavages broncho-alvéolaires ont montré que les fragments de clivage induisaient une inflammation pulmonaire temporaire contrairement aux fibres d'amiante qui induisaient une inflammation persistante (au moins 3 mois). Dans l'ensemble ces résultats montrent que l'actinolite-amiante semble avoir un potentiel cancéreux plus important que les fragments de clivage, notamment 3 mois après exposition.

Les altérations de voies de signalisation :

L'impact de l'exposition à l'amiante ou aux fragments de clivage sur le niveau d'expression génique a été étudié par des analyses transcriptomiques (RNAseq), afin de déterminer des gènes d'intérêt et des voies de signalisation potentiellement impactés. L'analyse montre que plus de la moitié des gènes différentiellement exprimés avec l'amiante sont aussi retrouvés avec la dose élevée de fragments de clivage, indiquant des réponses communes à ces deux expositions. Une analyse plus poussée a permis de mettre en évidence des dérégulations notables pour les animaux exposés dans des processus tels que l'adhésion cellulaire, la matrice extracellulaire, la voie conduisant à la fibrose, la vascularisation et le système immunitaire. Ces différentes voies sont dérégulées de manière similaire juste après exposition aux fragments et à l'amiante, mais de façon plus marquée 90 jours après exposition à l'amiante.

Conclusions

En conclusion, cette étude s'est attachée à évaluer la toxicité comparée des fragments de clivage d'actinolite et de l'actinolite-amiante afin d'évaluer si ces fragments pourraient présenter les mêmes signes précoces de danger que la forme amiante. Elle montre que les fragments de clivage d'actinolite sont au moins autant biopersistants que l'amiante, bien qu'en composition ils contiennent moins de fibres OMS qui sont les fibres réactives de l'amiante. Les fragments de clivage, comme l'amiante, induisent des lésions du parenchyme pulmonaire, des voies respiratoires et des vaisseaux sanguins. Les analyses transcriptomiques ont révélé la dérégulation de plusieurs voies de signalisation, telles que l'ad-

hésion cellulaire, la matrice extracellulaire, la transformation de cellules épithéliales, la vascularisation et le système immunitaire, avec des différences notables entre l'amiante et les fragments de clivage, surtout à 90 jours exposition. Bien que certaines analyses soient encore en cours (marqueurs précancéreux ainsi que le méthylome), les résultats indiquent que les fragments de clivage ont des effets qualitativement comparables à l'amiante (tableau 1), offrant une avancée significative dans la compréhension de la toxicité des fragments de clivage, jusqu'alors peu documentée en raison d'un manque de caractérisation des échantillons.

Tableau 1 /
Résumé des effets comparatifs entre les fragments de clivage et l'actinolite
amiante

Comparaisons fragments de clivage et amiante	J1	J90
Echantillons dans les poumons	Particules non fibreuses : fragments > amiante Fibres : amiante > frag- ments	La biopersistance des fragments de clivage est supérieure à celle de l'amiante
Potentiel fibrosant	Fragments ≥ Amiante	Amiante ≥ Fragments
Potentiel cancéreux	Fragments ≥ Amiante	Amiante ≥ Fragments
Voies de signalisation	Fragments = Amiante	Amiante ≥ Fragments

Ce projet a fourni des informations sur les effets des deux types de particules minérales allongées dans le cadre des AOP fibrose et cancer : lésions du tissu pulmonaire, effets inflammatoires, biopersistance, expression génique, activité des voies de signalisation comblant le manque d'informations dans la littérature et aidant à évaluer la dangerosité de ces agents. Les résultats obtenus soulèvent des questions sur le potentiel cancérigène des fragments de clivage et ouvrent la voie à des recherches futures pour préciser leurs caractéristiques morphologiques, physiques et physico-chimiques, ainsi qu'à des études de cancérogenèse et biomoléculaires pour confirmer ou infirmer l'impact sanitaire de ces expositions, notamment à plus long terme.

Références

/ Anses, 2025, « Effets sanitaires et identification des fragments de clivage d'amphiboles issus des matériaux de carrière »