



Essais de bioaccessibilité : un moyen d'approcher la biodisponibilité en vue d'affiner la dose d'exposition par voie orale dans les EQRS

26 mars 2013

Emilie Gardeur-Algros

Eurofins Expertises Environnementales

- Contexte, objectif
- Définitions
- Utilisations actuelles des notions
- Analyses disponibles
- Tests de bioaccessibilité orale
- Test UBM ; mise en œuvre chez Eurofins
- Utilisation des résultats
- Perspectives de développement

Retour d'expérience relatif aux évaluations de risque sanitaire (EQRS) sur les sites et sols pollués :

- **Ingestion de sol** : voie d'exposition prépondérante chez l'enfant
- Hypothèse sécuritaire : la **totalité** de la substance ingérée atteint les organes cibles et génère un effet toxique
- Or **seule une fraction** des substances présentes dans un sol parvient dans le sang (=> organes cibles => effet toxique)



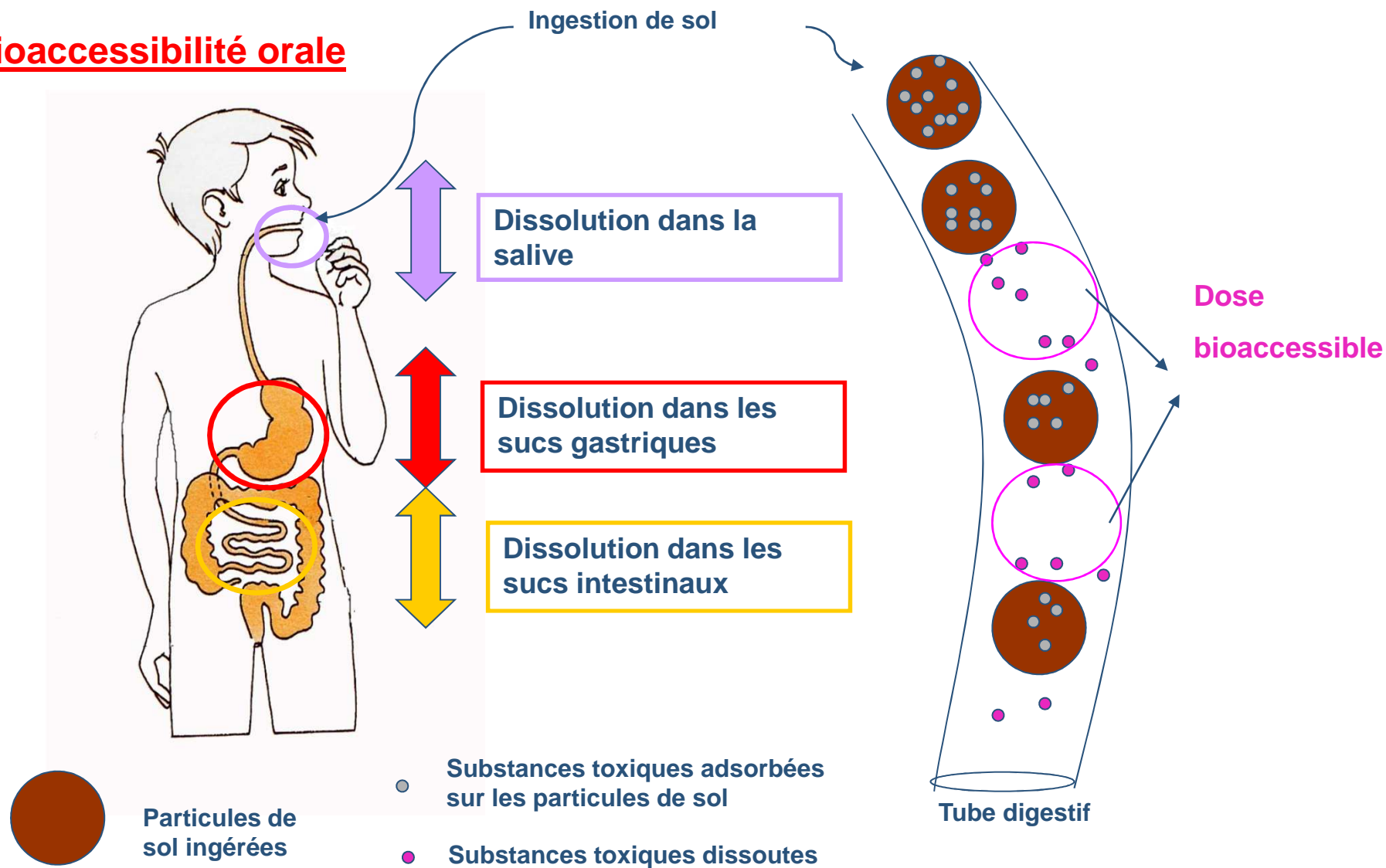
= fraction biodisponible

Réaliser des évaluations de risques plus pertinentes

= Étudier le **facteur correctif** de la dose d'exposition à mettre en œuvre dans le calcul de risque

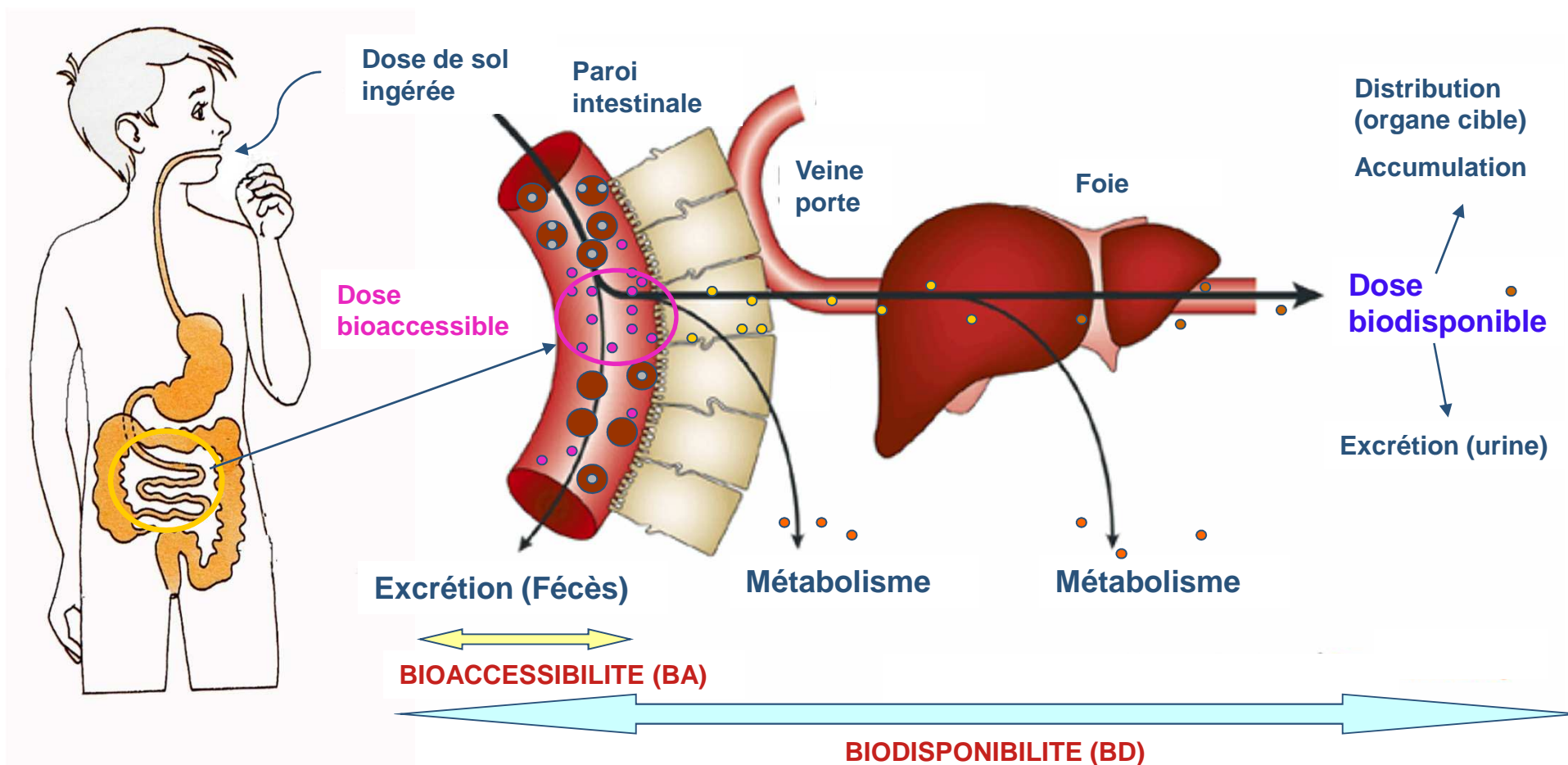
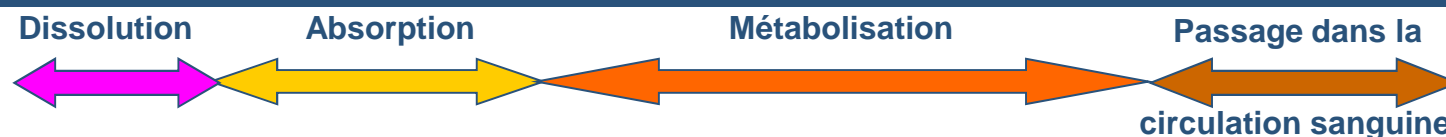
*Prise en compte des variations de la relation dose-effet entre la **matrice étudiée (sol)** et la **matrice de référence** dont sont issues les valeurs toxicologiques de référence (**VTR**) => FAR (Fraction d'Absorption Relative)*

Bioaccessibilité orale



Définitions

Processus global



● Particule de sol ingérée ○ Substance toxique ingérée ● Substance toxique dissoute (bioaccessible)

● Substance toxique absorbée ● Substance toxique métabolisée ● Substance toxique biodisponible

Relation entre bioaccessibilité (BA) et biodisponibilité (BD)

$$BD_i = BA_i \times AB_i \times M_i$$

- BD_i : Fraction biodisponible de la substance i
- BA_i : Fraction bioaccessible (pour une substance i)
- AB_i : Fraction de la substance i absorbée à travers la paroi intestinale
- M_i : Fraction de la substance i non métabolisée

Notion de relativité

- Biodisponibilité / bioaccessibilité **absolue** : fraction biodisponible / bioaccessible dans une matrice
- Biodisponibilité / bioaccessibilité **relative** : fraction biodisponible / bioaccessible dans une matrice par rapport à une autre (matrice de référence) :
 - ❑ **objectif** : comparer l'extraction d'une même substance dans deux matrices
 - ❑ notion importante pour déterminer le **facteur correctif** dans EQRS: comparaison entre le matrice sol et la matrice de référence de l'étude toxicologique utilisée pour élaborer la VTR

US-EPA : seule agence gouvernementale ayant officiellement validé un test *in vitro* en vue d'intégrer notions de bioaccessibilité dans évaluations risque sanitaire (pour le Pb uniquement).

Autres pays (Australie, Canada, Pays-Bas, RU) : notions abordées mais pas encore complètement acceptées / recommandées (par manque de protocole standard validé en général)

France : non inclus dans méthodologie nationale ministérielle d'évaluation des risques sanitaires

- utilisé ponctuellement cependant par INVS, INERIS, DRASS
- sujet *a priori* de plus en plus évoqué

Des tests *in vivo* de biodisponibilité :

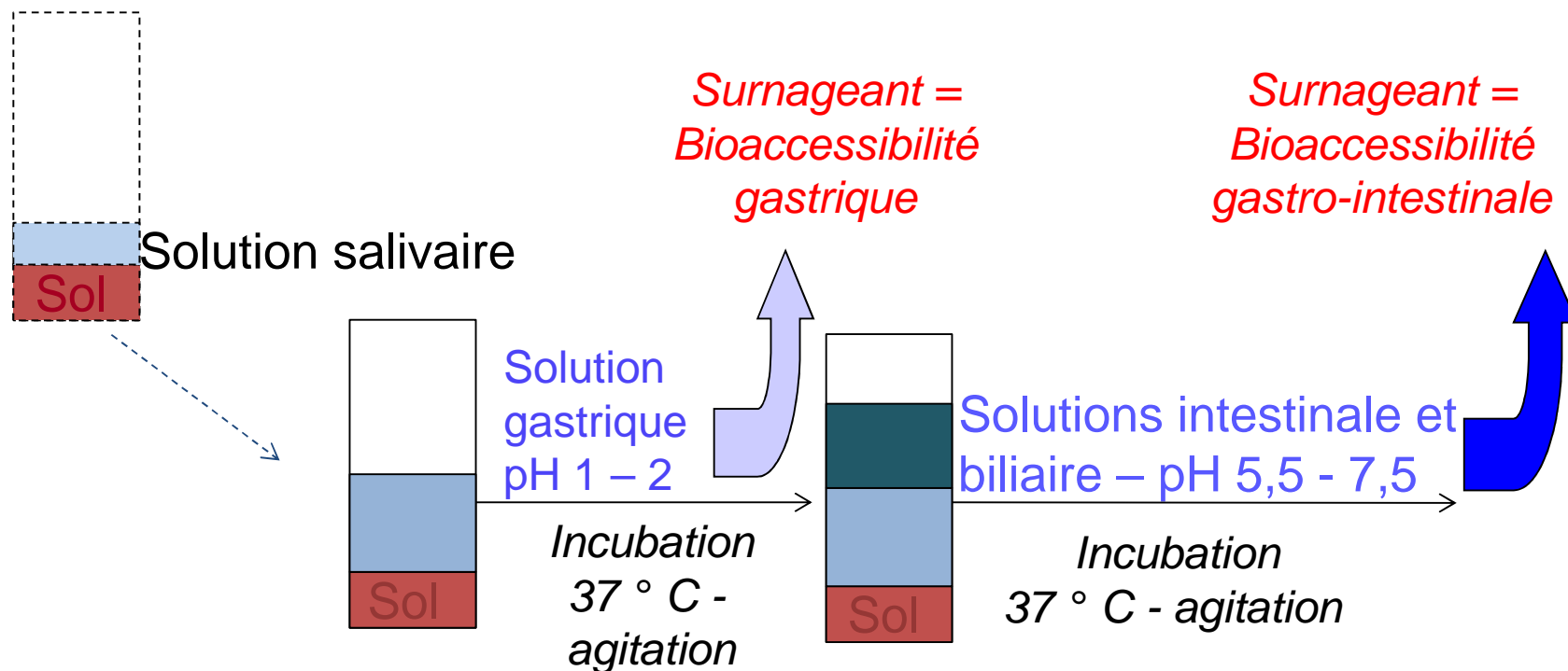
- Modèles animaux « proches » de l'Homme (ex : porcs, rats).

Des tests *in vitro* de bioaccessibilité :

- Des tests simples avec mise ou non en conditions physiologiques
- Des tests avec analogues gastro-intestinaux



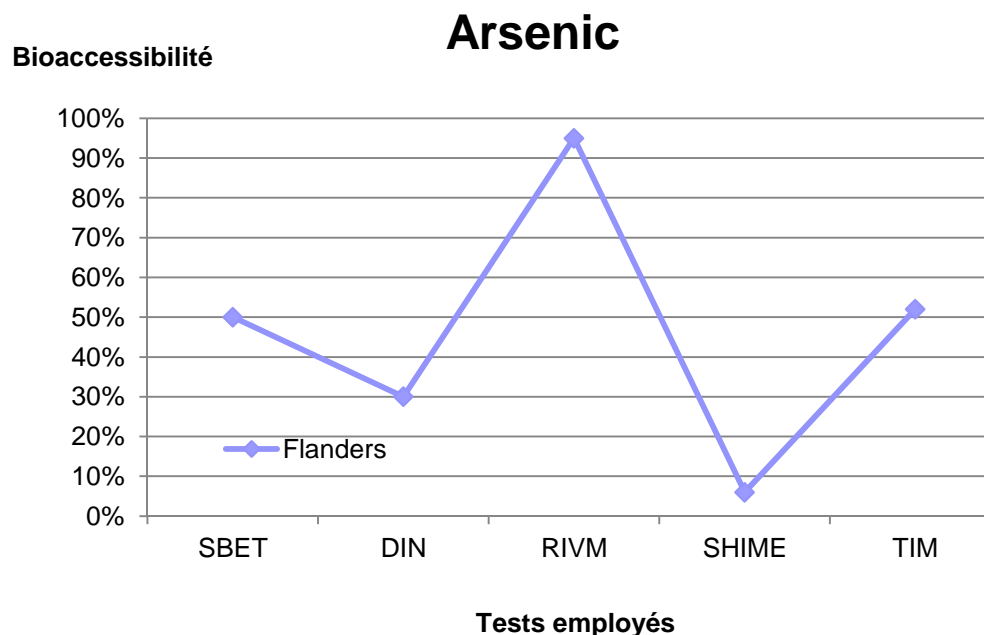
→ Principes généraux des tests de mesure *in vitro*



→ Différentes procédures

Principaux protocoles
RBALP ou SBET (USA)
PBET (USA)
IVG (USA)
RIVM (Pays-Bas)
UBM Protocole harmonisé du groupe européen BARGE (BioAvailability Research Group Europe)
FOREhST (Fed ORganic Estimation human Simulation Test) (UK)

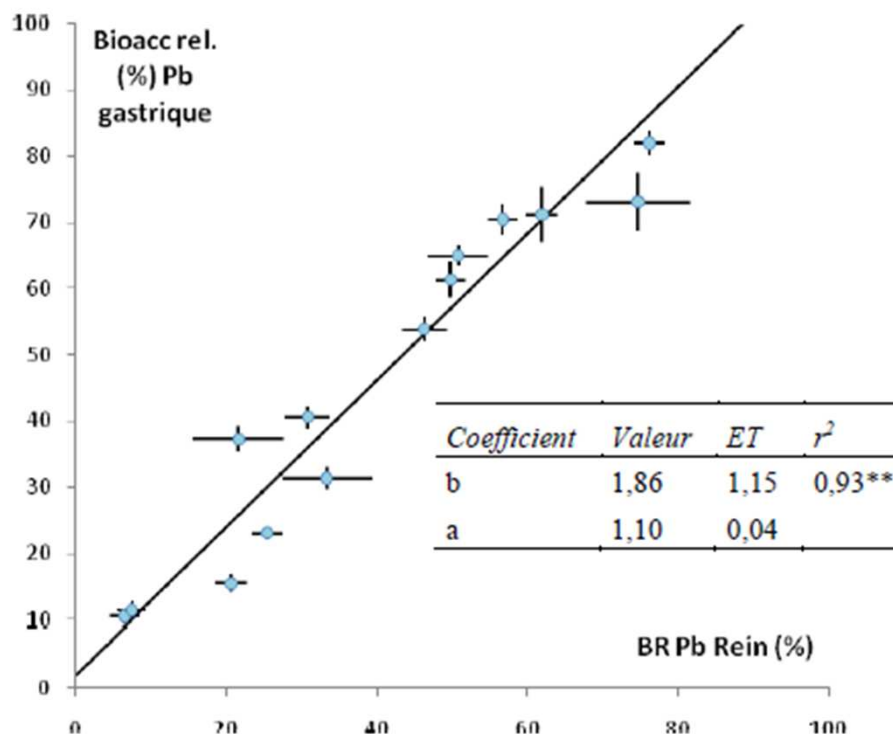
→ Des résultats variables



→ Quel test, quelle représentativité physiologique des résultats ?

Etude RECORD - 2011

→ Corrélation des résultats *in vivo* / *in vitro* ?



Recensement des études : **identification des tests** pour lesquels **critères de « validation »** du test *in vitro* remplis :

- un coefficient de corrélation *in vivo* / *in vitro* significatif ($r^2 > 0,6$)
- gamme de valeurs étendue ; bonne répartition sur la courbe
- plusieurs sols / types

→ Différentes procédures

Principaux protocoles	Polluants concernés	Segments digestifs intégrés	Aliments
RBALP ou SBET (USA)	Pb*, As*	Estomac uniquement	Sans nourriture
PBET (USA)	Cd*, As*	Estomac et intestin	Initialement sans nourriture (testé avec)
IVG (USA)	Pb*, Cd*	Estomac et intestin	Initialement sans nourriture (testé avec)
RIVM (Pays-Bas)	Pb*, Cd*, Benzo(a)pyrène	Salive, estomac et intestin	Versions avec ou sans nourriture
UBM Protocole harmonisé du groupe européen BARGE (BioAvailability Research Group Europe)	Cd*, Pb*, As*, Sn	Salive, estomac et intestin	Testé jusqu'alors sans nourriture
FOREhST (Fed ORganic Estimation human Simulation Test) (UK)	Molécules organiques : HAP	Salive, estomac et intestin	Avec nourriture

* Polluants pour lesquels des corrélations robustes entre les résultats de bioaccessibilité *in vitro* et des résultats de biodisponibilité obtenus *in vivo* (sur animaux) ont été observées.

→ Différentes procédures

Principaux protocoles	Polluants concernés	Segments digestifs intégrés	Aliments
RBALP ou SBET (USA)	Pb*, As*	Estomac uniquement	Sans nourriture
PBET (USA)	Cd*, As*	Estomac et intestin	Initialement sans nourriture (testé avec)
IVG (USA)	Pb*, Cd*	Estomac et intestin	Initialement sans nourriture (testé avec)
RIVM (Pays-Bas)	Pb*, Cd*, Benzo(a)pyrène	Salive, estomac et intestin	Versions avec ou sans nourriture
UBM Protocole harmonisé du groupe européen BARGE (BioAvailability Research Group Europe)	Cd*, Pb*, As*, Sn	Salive, estomac et intestin	Testé jusqu'alors sans nourriture
FOREhST (Fed ORganic Estimation human Simulation Test) (UK)	Molécules organiques : HAP	Salive, estomac et intestin	Avec nourriture

* Polluants pour lesquels des corrélations robustes entre les résultats de bioaccessibilité *in vitro* et des résultats de biodisponibilité obtenus *in vivo* (sur animaux) ont été observées.

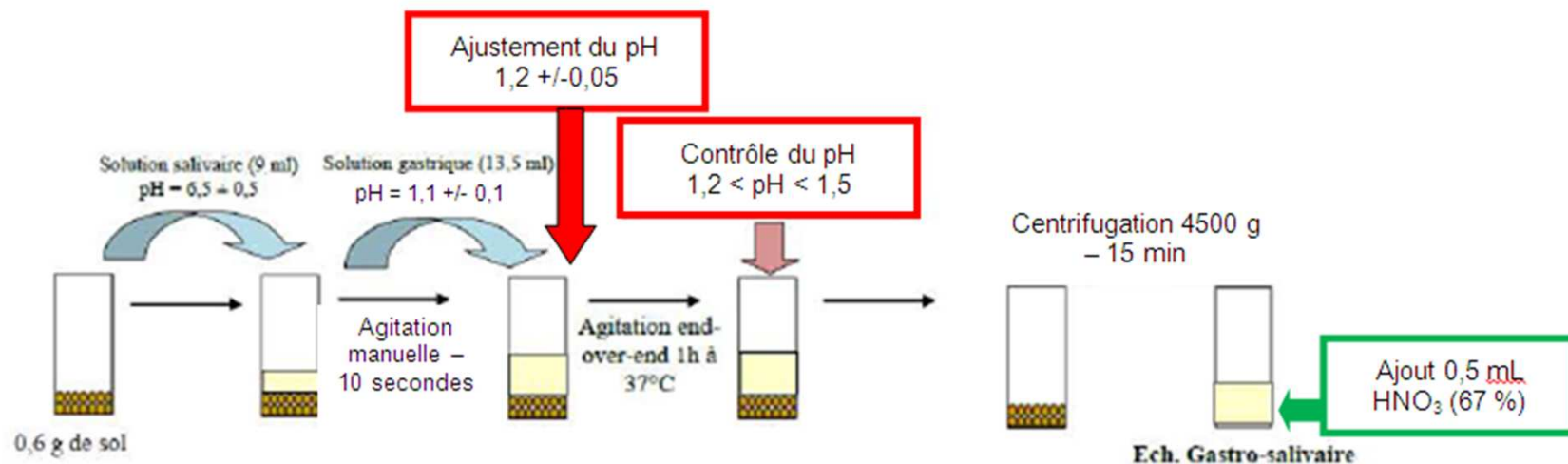
→ Différentes procédures

Principaux protocoles	Polluants concernés	Segments digestifs intégrés	Aliments
RBALP ou SBET (USA)	Pb*, As*	Estomac uniquement	Sans nourriture
PBET (USA)	Cd*, As*	Estomac et intestin	Initialement sans nourriture (testé avec)
IVG (USA)	Pb*, Cd*	Estomac et intestin	Initialement sans nourriture (testé avec)
RIVM (Pays-Bas)	Pb*, Cd*, Benzo(a)pyrène	Salive, estomac et intestin	Versions avec ou sans nourriture
UBM Protocole harmonisé du groupe européen BARGE (BioAvailability Research Group Europe)	Cd*, Pb*, As*, Sn	Salive, estomac et intestin	Testé jusqu'alors sans nourriture
FOREhST (Fed ORganic Estimation human Simulation Test) (UK)	Molécules organiques : HAP	Salive, estomac et intestin	Avec nourriture

* Polluants pour lesquels des corrélations robustes entre les résultats de bioaccessibilité *in vitro* et des résultats de biodisponibilité obtenus *in vivo* (sur animaux) ont été observées.

Test UBM : protocole

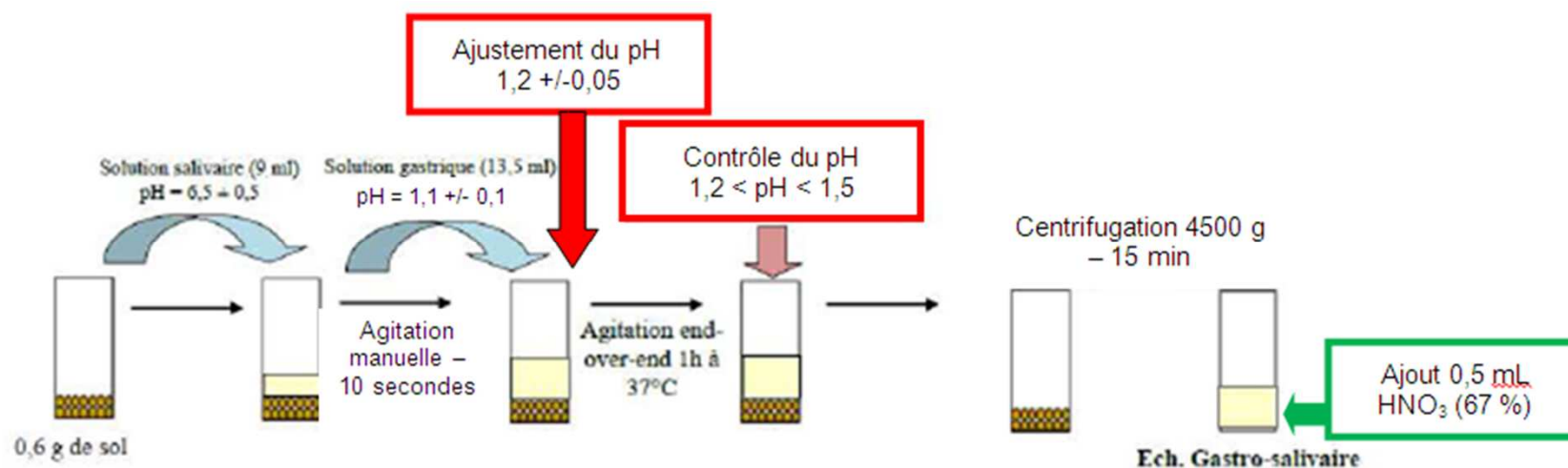
→ Phase gastrique



Schématisation du protocole UBM (d'après Caboche, 2009 et INERIS et BARGE, 2010).

Test UBM : protocole

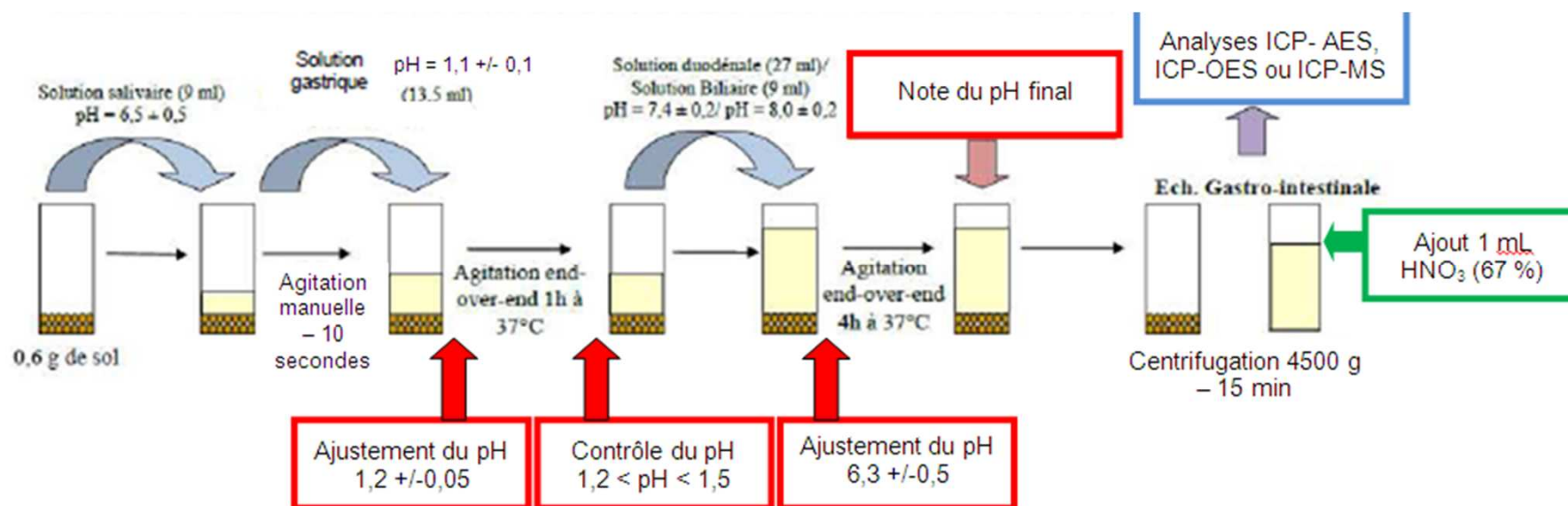
→ Phase gastrique



Schématisation du protocole UBM (d'après Caboche, 2009 et INERIS et BARGE, 2010).

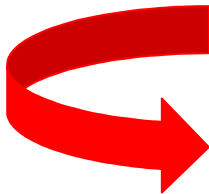
Test UBM : protocole

→ Phase gastro-intestinale



Schématisation du protocole UBM (d'après Caboche, 2009 et INERIS et BARGE, 2010).

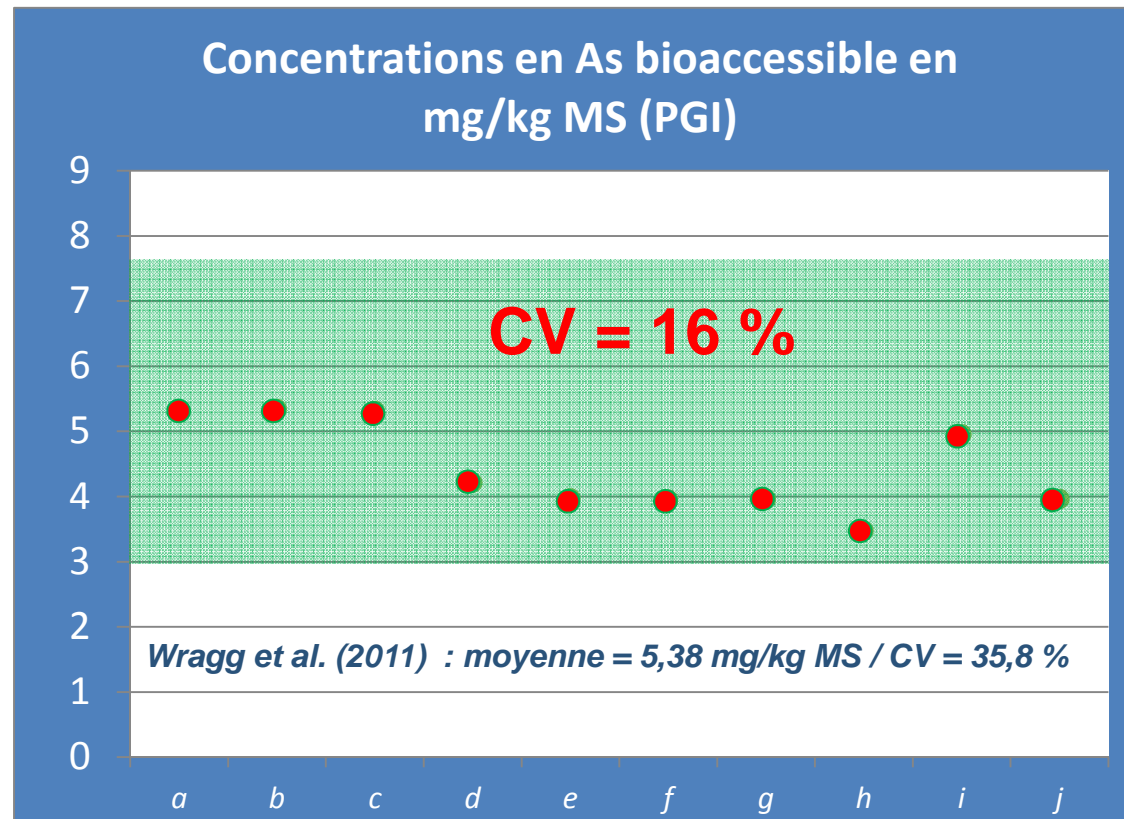
- Analyses en duplicats
- Blancs
- Sols de référence (3 à notre disposition pour les métaux)
- Matrices de référence (BAc maximale)



Validation des séries analytiques

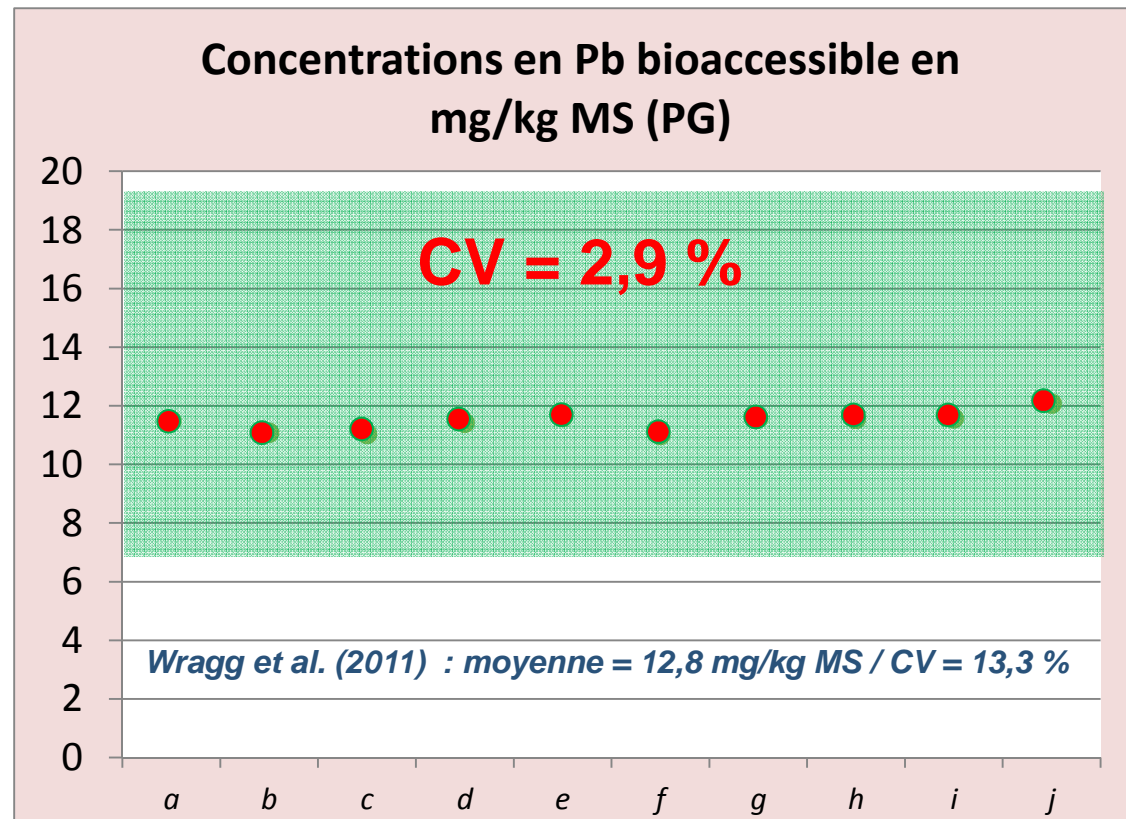
Validation des séries analytiques

Sol de référence BGS : existence de **valeurs certifiées** en As (PGI) et Pb bioaccessible (PG)



Validation des séries analytiques

Sol de référence BGS : existence de **valeurs certifiées** en As (PGI) et Pb bioaccessible (PG)



Validation des séries analytiques

Répétabilité des mesures obtenues sur sol de référence NIST
(5 à 7 séries)

	Phase gastrique	Phase gastro- intestinale
Arsenic	5,9 %	3,8 %
Plomb	4,8 %	8,3 %
Cadmium	4,8 %	5,6 %

Test UBM : mise en œuvre

- Travail sur fraction $< 250 \mu\text{m}$ (portage main-bouche enfants)
- Échantillons prélevés en surface (0 – 10 cm) (500 – 1 kg)
- Échantillons non composites

Test UBM : mise en œuvre

La **bioaccessibilité** d'une substance selon un test est fonction :

- du **type de sol** (nature /granulométrie) et de ses caractéristiques physico-chimiques (MO, pH, ...),
- **forme, spéciation** de la substance (origine anthropique, naturelle),
- **historique des activités** (âge de la contamination).

Type de sols (nombre)	Teneurs totale en As En mg/kg MS	Bioaccessibilité As - Phase gastrique En %	Bioaccessibilité As - Phase gastro- intestinale En %	Sources
Sols miniers (9)	43 à 25 000	3 à 12 % (valeurs des deux phases proches)		Caboche, 2009
Sols de fonderies (6)	18 à 190	11 à 74 % (valeurs des deux phases proches)		Caboche, 2009
Sol calcine scories sédiments	11300 à 17500 405 à 5020 313 à 676	1,2 à 5,0 17,7 à 27,3 10,7 à 25,8	1,3 à 5,1 5,3 à 8,3 6,7 à 19,2	Wragg et al., 2011



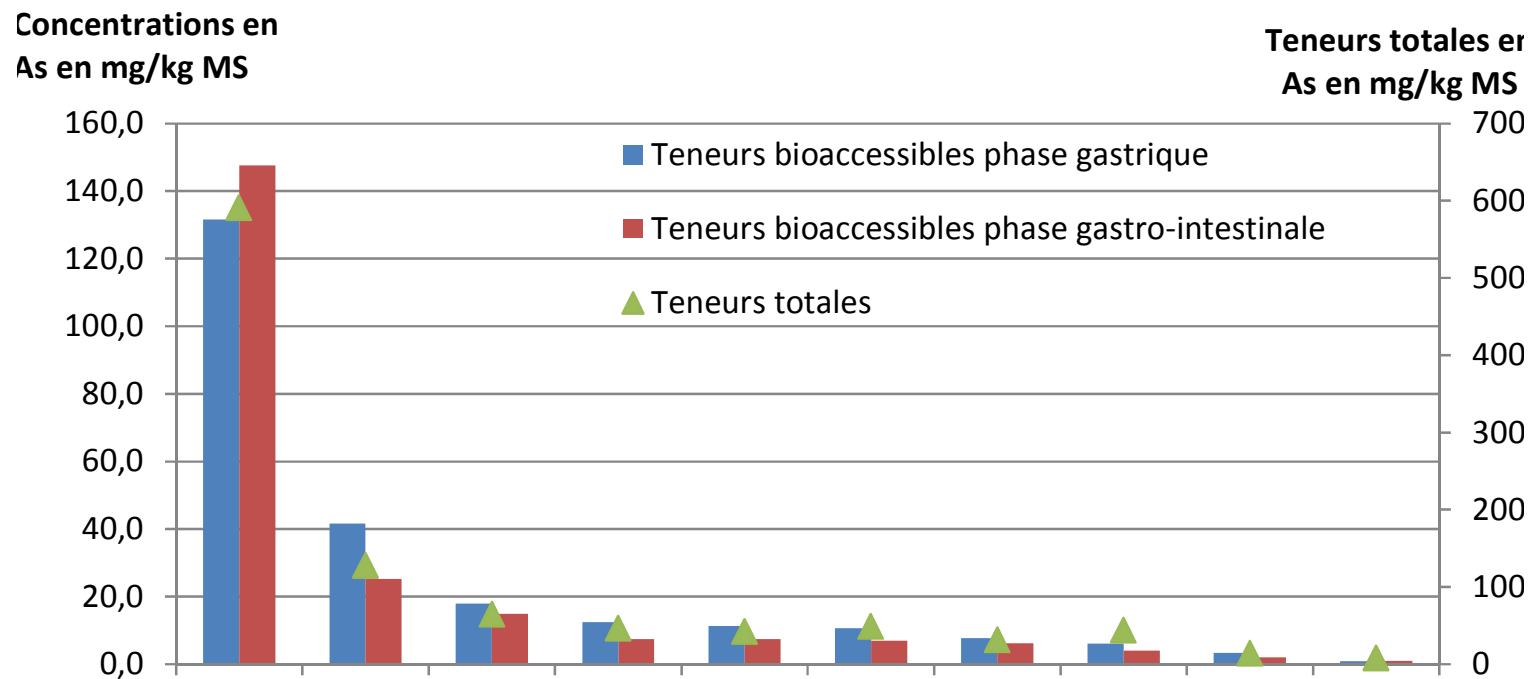
Nécessité de mesures sur site

Test UBM : mise en œuvre

→ Rapports de résultats :

i) teneurs bioaccessibles

Teneurs en Arsenic bioaccessibles en mg/kg MS

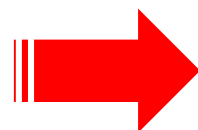
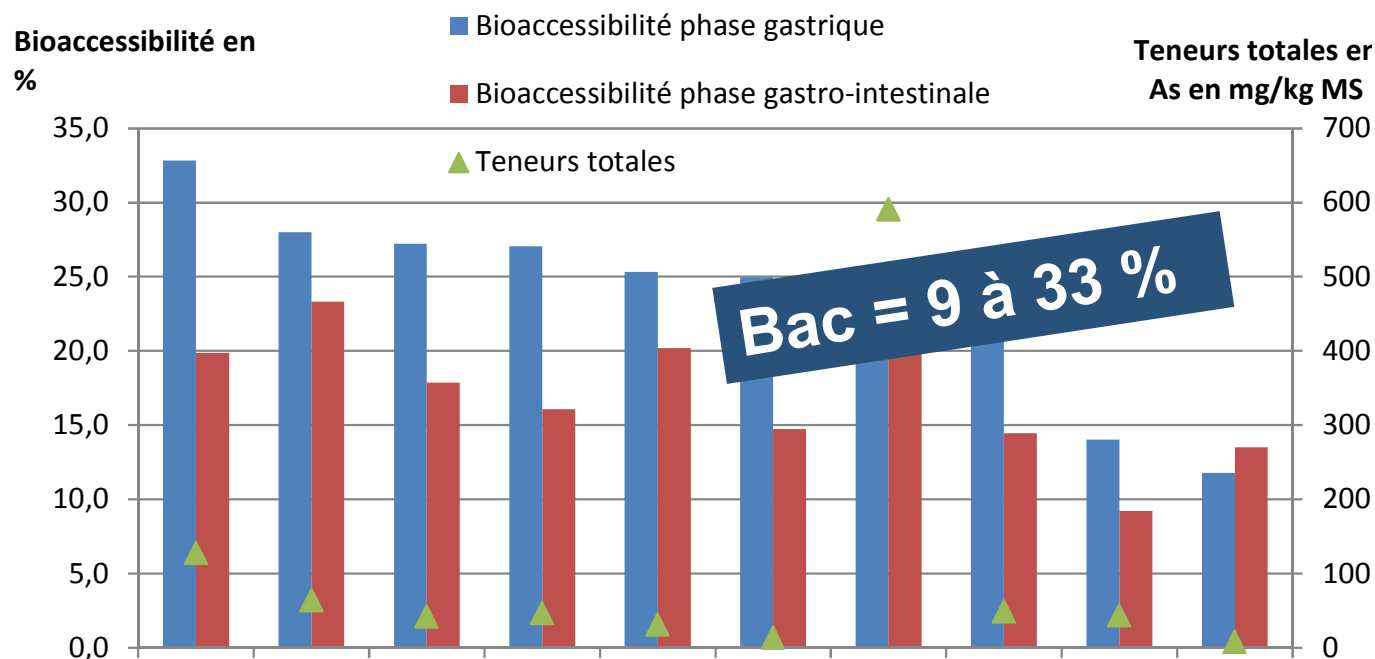


Test UBM : mise en œuvre

Rapports de résultats :

ii) *bioaccessibilité en % au regard teneurs totales*

Bioaccessibilités de l'Arsenic en %



Mesures de gestion ajustées
Dossier en cours instruction DREAL

Test UBM : utilisation des résultats

Le BE utilise les résultats de bioaccessibilité fournis par le laboratoire : *(selon recommandations étude RECORD)*

- ❖ En étude principale (détermination du facteur correctif : FAR) possible à ce jour pour **As et Cd** car :

Résultats Bac validés par une étude de corrélation in vivo / in vitro

Matrices de réf. et modèles animaux similaires pour étude de corrélation et étude toxicologique pour élaboration de la VTR

- ❖ En analyses d'incertitudes : **Pb**

Matrice de réf ≠ dans les deux types d'études

- ❖ Autres : hiérarchisation des zones où agir ?

Adaptation du protocole :

- à d'autres molécules :

Protocole **FOREhST** pour molécules organiques, en présence de bol alimentaire :

- ☐ en cours de développement, pas d'étude de corrélation à ce jour, analyses des solutions digestives à adapter
- ☐ Travaux en cours chez Eurofins Expertises Environnementales

- à d'autres matrices : végétaux

MERCI DE VOTRE ATTENTION

Emilie Gardeur – Algros

emiliegardeur-algros@eurofins.com

Pour en savoir plus : cf. rapport RECORD

[http://www.record-net.org/record/etudes
download/record10-0671_1A.pdf](http://www.record-net.org/record/etudes/download/record10-0671_1A.pdf)

[http://www.record-net.org/record/etudes
download/record10-E671_1A.pdf](http://www.record-net.org/record/etudes/download/record10-E671_1A.pdf)





Présentation des activités Eurofins Expertises Environnementales

Une gamme complète d'analyses



Matériaux


- matériaux BTP - granulats, pierres, betons
- autres matériaux - polymères, Attestation de Conformité Sanitaire

 [En Savoir +](#)



Combustibles déchets, lubrifiants

- combustibles minéraux et csr
- biocombustibles et biomasse
- résidus de combustion
- critère H14
- lubrifiants et fluides de coupe
- contrôle d'usure de pièces mécaniques

 [En Savoir +](#)



Impact environnemental


- Impact Santé Environnement des Produits (ISEP)
- écotoxicologie, biodégradabilité
- suivi hydrobiologique
- effet perturbateur endocrinien
- bioaccessibilité des polluants

 [En Savoir +](#)



Radioactivité


- analyses de radionucléides naturels ou artificiels - alpha, beta, Gamma
- analyses sur matrices TFA/FA - échantillons faiblement radioactifs
- contrôle des effluents hospitaliers

 [En Savoir +](#)



Microbiologie spécialisée

- suivi microbiologique des fluides de coupe
- validation d'efficacité des biocides

 [En Savoir +](#)



Nos solutions dans le domaine de l'Environnement

Tests en Ecotoxicologie dont critère H14

Tests de biodégradabilité

Essais de bioaccessibilité des polluants

Mesures de la perturbation endocrinienne

Suivis hydrobiologiques (IBD, IBGN,...)

Mesures de radioactivité et analyses de
TFA

Expertise Microbiologique à la carte

Matériaux



- matériaux BTP - granulats, pierres, bétons
- autres matériaux - polymères, attestation de conformité sanitaire (ACS)

[En savoir +](#)

Combustibles, déchets, lubrifiants



- combustibles minéraux et csr
- biocombustibles et biomasse
- résidus de combustion
- critère H14
- lubrifiants et fluides de coupe
- contrôle d'usure de pièces mécaniques

[En savoir +](#)

Radioactivité



- analyses de radionucléides naturels ou artificiels - alpha, beta, Gamma
- analyses sur matrices TFA/FA -
- échantillons faiblement radioactifs
- contrôle des effluents hospitaliers

[En savoir +](#)

Impact environnemental



- Impact Santé Environnement des Produits (ISEP)
- écotoxicologie, biodégradabilité
- suivi hydrobiologique
- effet perturbateur endocrinien
- bioaccessibilité des polluants

[En savoir +](#)

Microbiologie spécialisée



- suivi microbiologique des fluides de coupe
- validation d'efficacité des blocs

[En savoir +](#)

