

LA BIOACCESSIBILITÉ ORALE DES ÉLÉMENTS MÉTALLIQUES

MÉTHODE UBM POUR L'ESTIMATION DE LA BIOACCESSIBILITÉ DE L'AS, DU CD ET DU PB DANS LES SOLS

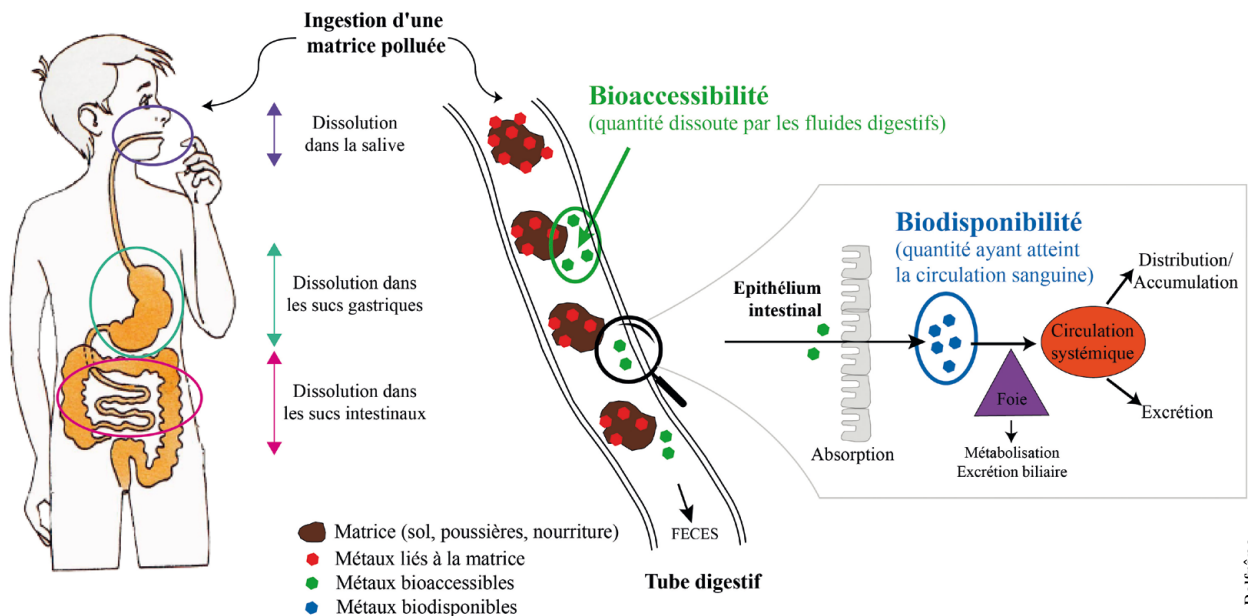
DESCRIPTION THÉORIQUE DU PRINCIPE DE LA TECHNIQUE

L'estimation de la **bioaccessibilité** est une méthode d'essai en laboratoire, pour évaluer l'exposition humaine liée à l'ingestion de particules de terre. Elle permet de quantifier la fraction de polluant métallique capable d'être assimilée par l'organisme suite à la digestion par solubilisation dans le tractus gastro-intestinal. L'évaluation de l'exposition est ainsi plus proche des processus chimiques, biologiques et physiques réels.

La détermination de la bioaccessibilité orale est réalisée avec le test normalisé UBM (Unified Bioaccessibility Method, norme ISO 17924 [1]). Cette méthode d'essai a été validée par rapport à un modèle *in vivo* et est considérée comme la

méthode de référence pour l'arsenic, le cadmium et le plomb [2]. Le test UBM simule la libération d'éléments métalliques contenus dans un sol lors du passage par la bouche, l'estomac et l'intestin grêle. Il correspond à une série d'extraction chimiques utilisant des sucs salivaires et gastro-intestinaux synthétiques.

L'utilisation de la bioaccessibilité permet d'estimer la **biodisponibilité** c'est-à-dire la fraction du polluant étudié ayant atteint la circulation sanguine et susceptible de générer un effet toxique. Elle permet ainsi d'affiner l'estimation des expositions.



© A. Pelfrène

Schématisme des notions de bioaccessibilité et biodisponibilité en cas d'ingestion d'une matrice contaminée.

CONTEXTE D'UTILISATION

La mesure de la bioaccessibilité est applicable sur des terres provenant de sites et contextes environnementaux très différents c'est-à-dire avec des origines de pollution, des caractéristiques physico-chimiques et des gammes de concentrations en éléments métalliques et/ou organiques variées.

La mesure de la bioaccessibilité est complémentaire aux méthodes chimiques classiques pour un calcul plus réaliste des doses d'exposition lors de l'évaluation quantitative des risques sanitaires. La méthode usuelle consiste à prendre la concentration totale de l'élément dans le sol et pas la fraction biodisponible qui peut induire un effet toxique. Cette démarche

LA BIOACCESSIBILITÉ ORALE DES ÉLÉMENTS MÉTALLIQUES

conduit à une surestimation potentielle de l'exposition et des risques sanitaires.

La décision d'opter ou non pour la réalisation de mesures de bioaccessibilité à l'issue des diagnostics nécessite de tenir compte de différents éléments :

- Le site présente-t-il un risque sanitaire au regard des teneurs totales ?
- L'ingestion de sol est-elle considérée comme une voie d'exposition prépondérante ?
- L'évaluation des expositions et des risques serait-elle suffisamment sensible à une variation de la biodisponibilité ?
- La réalisation de mesures de bioaccessibilité est-elle pertinente tant en termes de coût des opérations de réhabilitation qu'en termes d'opérationnalités vis-à-vis des mesures de réhabilitation ?

Des études exploratoires permettent également de guider le choix des échantillons destinés aux mesures de bioaccessibilités avec le test UBM, comme :

- La mesure de la spéciation, de certains paramètres physico-chimiques de sols comme la granulométrie des sols, le pH, les teneurs en matière organique, CaCO₃ total, Fe libre, Al libre, Al total, Fe total, P₂O₅ total, chlorures ([6] et [8]) ;

- La méthode d'analyse de la bioaccessibilité simplifiée par HCl, comme étape de screening pour l'estimation de la bioaccessibilité de l'As, du Cd et du Pb dans les sols (voir fiche associée et [5]).

À quelle étape ?

La mesure de la bioaccessibilité est une technique mise en œuvre lors du **diagnostic approfondi** de site. Elle fournit des résultats qui permettent d'ajuster l'évaluation des expositions humaines suite à l'ingestion de particules de terres polluées. Prendre en compte la bioaccessibilité au lieu des concentrations totales des polluants permet de mieux évaluer les expositions et les risques sanitaires, et donc d'optimiser les mesures de gestion des sites associés.

Dans la démarche d'**Interprétation de l'État de Milieux (IEM)**, son recours permet d'affiner les évaluations quantitatives des risques sanitaires avant de s'engager, si nécessaire, ou le cas échéant dans une démarche de plan de gestion.

Dans la démarche de **plan de gestion (PG)**, la prise en compte de la bioaccessibilité est réservée à des situations singulières ou recommandée pour décider de l'intérêt éventuel d'un dépistage dans le cas du plomb et de l'arsenic ([3] et [4]).

POLLUANTS CONCERNÉS

La méthode de mesure de la bioaccessibilité orale par le test UBM est utilisable pour l'As, le Cd et le Pb. Le test UBM a été validé par rapport à un modèle *in vivo* pour ces trois éléments métalliques du fait de leur toxicité et de leur occurrence.

Le protocole peut être utilisé pour d'autres éléments métalliques, cependant l'interprétation des résultats est à réaliser avec précaution. Les données obtenues sont indicatives et ne peuvent pas être intégrées à l'heure actuelle dans des calculs d'expositions et de risques sanitaires.

MATÉRIEL NÉCESSAIRE

Le conditionnement des échantillons de sol sur le terrain est fait dans un simple flacon car les polluants inorganiques étudiés ne sont pas volatils.

Le matériel nécessaire au laboratoire est composé :

- D'une étuve inférieure à 40 °C pour le séchage des terres ;
- D'une tamiseuse ou d'un broyeur pour la réalisation du tri granulométrique et l'obtention de la fraction fine inférieure à 250 µm ;
- D'une balance de précision d'au moins 1 mg ;
- D'une étuve, bain-marie ou incubateur pouvant maintenir une température de 37 ± 2 °C ;
- D'agitateurs dont agitateurs magnétiques ;
- D'une centrifugeuse pouvant atteindre 4500 g ;

- D'un pH-mètre de précision d'au moins 0,05 unité de pH ;
- De tubes à centrifuger en polycarbonate munis de bouchon à vis en polypropylène ;
- De petits matériels courants (flacons à bouchon filetés en PEHD, pipettes automatiques, fioles jaugées de qualités appropriées).

Les techniques d'analyse des concentrations en polluants sont spécifiques au polluant mais comprennent généralement une analyse par émission couplée à un plasma inductif (ICP-MS ou ICP-OES) ou par spectrométrie d'absorption atomique (SAA).

MÉTHODOLOGIE

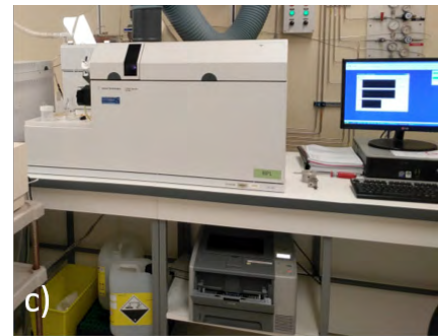
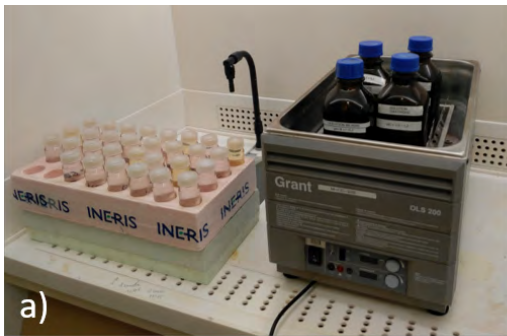
Échantillonnage des sols

L'échantillonnage des sols tient compte du schéma conceptuel d'exposition. Il consiste à prélever le sol qui sera au contact avec l'individu, principalement l'enfant. Cela correspond à la couche 0-3 ou 0-5 cm du sol de surface non remanié pour une pelouse, un parc, ou une aire de jeux ou à la couche 0-30 cm de l'horizon superficiel de sol remanié pour un jardin potager. L'échantillonnage des sols respectera les pratiques usuelles recommandées.

Préparation des échantillons

Les échantillons collectés sont préparés en laboratoire.

Cette étape correspond à un séchage à l'étuve (< 40 °C), puis à un tamisage à 250 µm. Pour l'évaluation de l'exposition humaine par ingestion de particules de terre, il convient de travailler sur la fraction inférieure à 250 µm obtenue par tamisage sans avoir recours à un broyage mécanique. Le plus souvent, le broyage peut entraîner une sous-estimation des concentrations par rapport à celles mesurées sur les échantillons obtenus par tamisage, la fraction fine étant plus représentative de la fraction adhérent aux mains des enfants et donc susceptibles d'être ingérée du fait des comportements main-bouche.



© Ineris

Etapes de traitement des échantillons : a) Extraction avec des solutions digestives à 37°C, b) centrifugation, c) analyse par ICP-MS.

Protocole analytique de digestion

Le protocole analytique de dilution réalisé sur les échantillons séchés, tamisés et homogénéisés est schématisé sur la figure. Ce protocole nécessite une attention particulière sur le strict respect des pH et des températures car les résultats y sont très sensibles.

Les fluides utilisés comme solution digestive de synthèse dans le cadre de ce protocole sont composés de réactifs organiques et inorganiques de composition proche de celle du fluide digestif humain et sont préparés un jour avant la réalisation des extractions pour permettre la bonne dissolution des composés. Ils sont conservés à température ambiante avant la réalisation des extractions et chauffés à 37 °C au moins 2 h avant la mise en œuvre du protocole de digestion. Chaque échantillon est réalisé en 3 réplicats dans les deux phases d'extraction. Afin de vérifier la validité du processus d'extraction, un sol de référence est analysé simultanément pour chaque série, (sol de référence du British Geological Survey (BGS) ou du National Institute of Standards and Technology (NIST)). Pour vérifier l'absence de contamination des réactifs utilisés, un échantillon à blanc doit également être inclus à chaque série par le laboratoire.

Traitement et interprétation des données

En premier lieu, il convient de vérifier la cohérence des résultats avec ceux des réplicats et de s'assurer que les résultats sur les échantillons blancs et de référence sont corrects.

Les résultats pour la phase gastrique et la phase gastro-intestinale sont exprimés en milligrammes de contaminant bioaccessible par kilogramme de matrice solide ou en pourcentage de concentration en contaminant bioaccessible.

$$\text{bioaccessibilité (\%)} = \frac{\text{concentration en métal bioaccessible (mg/kg)}}{\text{concentration en métal total dans l'échantillon (mg/kg)}} \times 100$$

Calcul de la bioaccessibilité

Les résultats de bioaccessibilité exprimés en pourcentage peuvent ensuite être utilisés pour l'évaluation quantitative des risques sanitaires en suivant les modalités ci-dessous. Le recours à des hypothèses et des simplifications, sur la base des travaux conduits en 2009 [2] et 2012 [7] et des données disponibles en termes toxicologiques, ont conduit à la proposition de formulations pour le calcul des doses journalières ajustées pour l'As, le Cd, et le Pb, tenant compte des résultats de bioaccessibilité mesurés avec le test UBM, et validé par un modèle *in vivo*.

$$DJE_{\text{ajustée}} = DJE \times BA_{\text{Terre}} \times \text{coefficient}$$

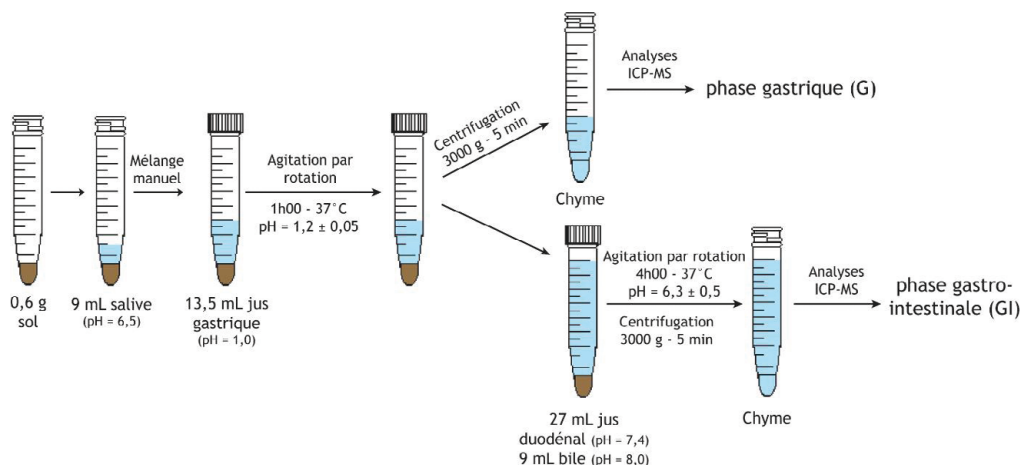
Calcul des doses journalières d'exposition

avec DJE : dose journalière d'exposition, BA_{TERRE} : bioaccessibilité absolue de substance avec la matrice terre obtenue avec le test UBM (sans unité).

Le coefficient prend notamment en compte les bioaccessibilités absolues de l'élément dans le sol et dans la matrice de référence utilisée dans l'étude toxicologique de définition de la VTR (valeur toxicologique de référence) et les taux d'absorption. Ce coefficient est égal à 1 pour l'As et le Cd et 2 pour le Pb. Il est recommandé de prendre en compte la valeur de bioaccessibilité la plus élevée des deux phases [7].

Points de vigilance :

- Respect des modalités de la norme ISO 17924 ;
- Importance de la stabilité des fluides digestifs ;
- Importance du respect des pH.



Schématisation du protocole de digestion *in vitro* UBM.



AVANTAGES – INCONVÉNIENTS – MATURITÉ DE LA TECHNIQUE

AVANTAGES

Échantillonnage

- Facile.

Laboratoires, matériel d'analyse

- Méthode proche des conditions physiologiques humaines,
- Méthode normée.

Résultats d'analyse :

- Robustes,
- Reproductibles.

INCONVÉNIENTS

Laboratoire

- Peu de laboratoires réalisant ce test en France.

Méthode

- Phases d'extraction longues et complexes,
- Nombreux réactifs nécessaires,
- Coûteuse,
- Réalisable par du personnel expérimenté.

Polluants

- Méthode utilisable pour l'ajustement des doses d'exposition dans les calculs de risques uniquement pour l'As, le Cd et le Pb.

MATURITÉ DE LA TECHNIQUE



R&D aboutie, indicateurs développés ou en cours de développement, technique peu utilisée sur le terrain

DÉLAIS DE MISE EN ŒUVRE

La phase d'échantillonnage sur site est rapide. Le temps de préparation des échantillons dépend du taux d'humidité et de la méthode d'obtention de la fraction inférieure à 250 µm. Les **phases d'expérimentation** (préparation et analyse) sont longues et permettent de faire 25 à 30 échantillons

par semaine. Le temps nécessaire au traitement des résultats analytiques pour l'obtention du pourcentage de bioaccessibilités gastrique et gastro-intestinale n'excède pas une journée (un jour de traitement pour une centaine d'échantillons).

PHASE

ÉCHANTILLONNAGE

EXPÉRIMENTATION

TRAITEMENT

Délai associé



⌚ : jour / ⌚⌚ : semaine / ⌚⌚⌚ : mois

ÉLÉMENTS DE COÛTS

Les coûts d'investigations sur le terrain sont faibles : ils sont comparables aux coûts des prélèvements pour analyses chimiques classiques.

Les coûts d'expérimentation sont principalement fonction du temps passé et dépendent directement de la capacité du laboratoire à optimiser la méthode, ce test n'étant

actuellement pas parmi les analyses réalisées en routine.

Le prix de plusieurs centaines d'euros pour la préparation, l'analyse et le traitement d'un échantillon évolue en fonction du nombre d'échantillons et de substances étudiées. Ce prix varie également en fonction des laboratoire mais également selon le contexte.

PHASE

ECHANTILLONNAGE

EXPÉRIMENTATION

TRAITEMENT

Coût associé



€ < 100 € / €€ < 1000 € / €€€ > 1000 €

POUR EN SAVOIR PLUS – RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Norme ISO 17924 - Qualité du sol - Evaluation de l'exposition humaine par ingestion de sol et de matériaux du sol - Mode opératoire pour l'estimation de la bioaccessibilité/biodisponibilité pour l'homme de métaux dans le sol - Octobre 2018
- [2] Caboche J. Validation d'un test de mesure de bioaccessibilité - Application à 4 éléments traces métalliques dans les sols : As, Cd, Pb et Sb. Thèse de doctorat de l'Institut National Polytechnique de Lorraine - INPL, Spécialité : Sciences Agronomiques - 28 septembre 2009
- [3] HCSP - Expositions au plomb : détermination de nouveaux objectifs de gestion - Juin 2014
- [4] HAS - Dépistage, prise en charge et suivi des personnes potentiellement surexposées à l'arsenic inorganique du fait de leur lieu de résidence - Février 2020
- [5] Rapport ADEME - Optimisation de la gestion des sites et sols pollués par une mesure simple de bioaccessibilité - Projet ODESSA - Février 2020
- [6] INERIS - Facteurs d'influence de la bioaccessibilité orale de métaux et métalloïdes dans les sols - Etat de l'art - Caractérisation des propriétés physico-chimiques des sols. Ineris-19-180783-08802-v1.0 - Février 2020
- [7] INVS-INERIS - Quantités de terre et poussières ingérées par un enfant de moins de 6 ans et bioaccessibilité des polluants : état des connaissances et propositions - 2012
- [8] PELFRÈNE A. (2016). Bioaccessibilité des polluants métalliques : Apport à l'évaluation de l'exposition des populations vivant sur des sites contaminés. Mémoire d'Habilitation à Diriger des Recherches de l'Université de Lille - Sciences et Technologie, 154 pp.