

La biodisponibilité relative, un outil pour l'éco(toxico)logie trophique ?

Un biote entretient une relation trophique avec son milieu. Dans le cas d'un animal hétérotrophe, cette relation passe par l'ingestion de divers substrats aptes à délivrer des éléments nécessaires à ses besoins physiologiques. Lorsque le milieu est contaminé, cette ingestion conduit à celle du ou des contaminants présents. La quantité d'un contaminant ingérée est alors proportionnelle à la quantité de matrice vecteur ingérée (Q_{mi}) multipliée par la concentration du contaminant dans cette même matrice (C_{mi}). Si plusieurs matrices sont ingérées, l'exposition totale est égale à : $\sum(Q_{mi} \cdot C_{mi})$. Cette exposition externe peut être utilisée pour évaluer un risque toxicologique (comparaison à une valeur de référence écotoxicologique) ou pour évaluer un transfert de contaminant, par exemple d'un maillon à un autre d'un réseau trophique. Il y a un postulat caché à l'utilisation directe de la quantité ingérée c'est l'absence (ou l'aspect négligeable) d'un effet de rétention par la matrice. Autrement dit un polluant véhiculé par une proie, du sol, de l'eau en phase dissoute ou encore associé à la matière en suspension présente, une fois ingéré, a-t-il une capacité équivalente à atteindre la cible?

1- Processus physiologiques de l'absorption et impact de la matrice vecteur

La question précédente renvoie à la notion de biodisponibilité et d'exposition interne. La terminologie utilisée ci-dessous est celle de la toxicologie humaine (et des modèles animaux afférents) ; entre parenthèses figurent les termes équivalents proposés par la norme NF ISO 17402 :2008 (ISO, 2008).

Dans une représentation logique par étapes successives sont distinguées les fractions bioaccessible (disponibilité environnementale), puis absorbée (biodisponibilité environnementale) et enfin biodisponible (biodisponibilité toxicologique), soit la fraction absorbée diminuée de la part métabolisée lors du premier passage hépatique.

L'effet matrice affecte la part bioaccessible. La bioaccessibilité est un concept formalisant la condition nécessaire mais non suffisante pour que l'absorption ait lieu. Le postulat à la base de cette représentation est que le contaminant ne peut être absorbé que s'il est désorbé de toute matrice non absorbable par l'organisme cible (le terme solubilisé est souvent employé en lieu et place de désorbé). Dans le cas contraire, le contaminant sera évacué par voie fécale.

2- Qu'est-ce que la biodisponibilité relative (BR) et comment l'évaluer ?

Cette notion est née en pharmacologie pour comparer l'efficacité de deux formes galéniques. Elle est définie initialement comme le rapport des biodisponibilités absolues d'un principe actif délivré sous deux formes différentes, l'une servant de référence (U.S. EPA, 2007a, 2007b). L'évaluation de la biodisponibilité absolue requière des méthodologies lourdes. Afin d'alléger les protocoles mis en œuvre dans le domaine de l'alimentation animale comme dans celui de l'environnement, le principe de biodisponibilité relative a été adapté et se base sur le rapport des réponses biologiques engendrées par la distribution de deux formes différentes de l'élément testé. Cette réponse biologique peut être de différente nature, comme une concentration tissulaire ou un biomarqueur enzymatique.

L'hypothèse sous-jacente est que la réponse mesurée, varie proportionnellement avec la fraction biodisponible, elle-même proportionnelle à la fraction désorbée de la matrice (cf désorption = condition nécessaire à l'absorption).

Le protocole s'appuie donc sur une matrice de référence, dont le choix judicieux repose à la fois sur une biodisponibilité élevée et la connexion à des études toxicologiques ou d'accumulation.

L'hypothèse de proportionnalité doit être validée avec trois conditions à vérifier :

- la courbe dose-réponse doit suivre un modèle linéaire
- les ordonnées à l'origine des courbes dose-réponse fournies par le modèle ne doivent pas être significativement différentes les unes des autres
- les ordonnées à l'origine des courbes dose-réponse fournies par le modèle ne doivent pas être significativement différentes de la réponse obtenue chez les organismes non exposés.

Lorsque ces conditions sont remplies, la biodisponibilité relative (BR) exprimée en pourcentage, s'écrit alors :

BR = (pente de la réponse de l'organisme exposé à la forme testée) / (pente de la réponse de l'organisme exposé à la forme de référence).

La figure 1 présente les résultats obtenus dans le tissu adipeux de poules exposées à la chlordécone via trois matrices, deux sols testés (andosol et nitisol) et une matrice de référence (huile alimentaire), à quatre doses d'exposition différentes, ainsi que le modèle linéaire ajusté sur ces points et la réponse du témoin négatif (i.e. les poules n'ayant pas reçu de chlordécone).

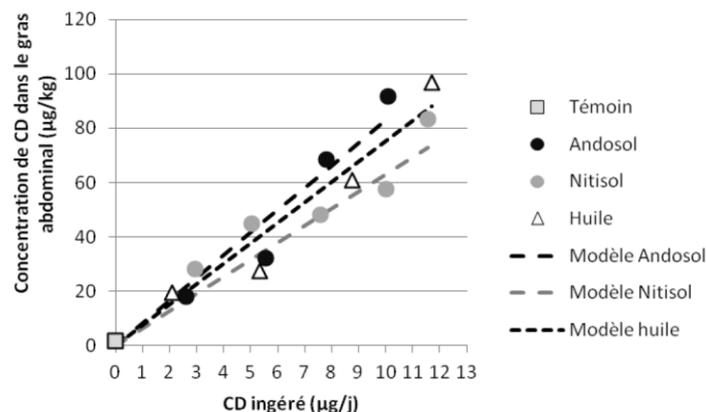


Figure 1 : Réponses obtenues dans le gras abdominal de poules pondeuses exposées à la chlordécone (CD) via trois matrices, une de référence (huile) et deux sols testés (andosol et nitisol) d'après Jondreville et al. (2013).

Dans cet exemple les trois modèles linéaires sont significatifs ($p < 0,001$) avec des pentes de 8,3, 6,3 et 7,5 (ETR = 14,1) et les ordonnées à l'origine ne sont pas significativement différentes de 0 ($p > 0,05$).

La BR peut alors être estimée avec un intervalle de confiance à 95%. Elle est de 1,10 [0,89 - 1,32] pour l'andosol et de 0,84 [0,67 - 1,00] pour le nitisol. La conclusion de l'étude est que l'ingestion de chlordécone liée à un sol ne modifie pas sa biodisponibilité pour l'organisme cible, les deux BR estimées n'étant pas significativement différentes de 1.

Lorsque le domaine de linéarité de la réponse est bien établi, il est possible de simplifier le protocole expérimental en travaillant à une seule dose d'exposition (Figure 2). Ceci permet de diminuer le nombre d'organismes mis en expérimentation, conformément à la stratégie des 3R (éthique), avec également une réduction des coûts expérimentaux.

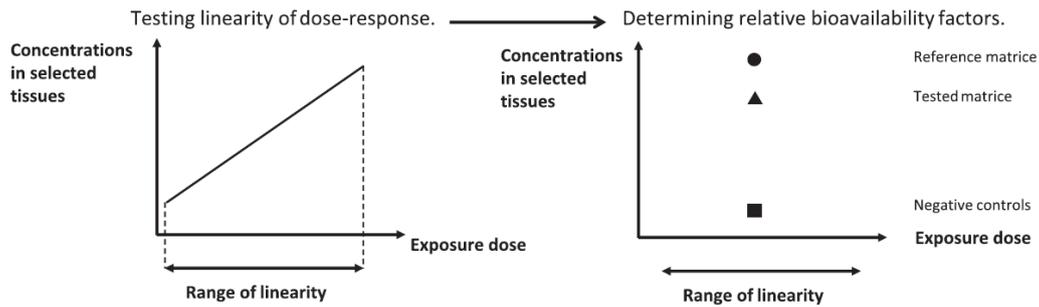


Figure 2 : Passage d'un protocole basé sur un ratio de pente à une seule dose d'exposition (Delannoy et al., 2014).

La BR est alors estimée par le rapport suivant : (réponse de l'organisme exposé à la forme testée - réponse du témoin) / (réponse de l'organisme exposé à la forme de référence - réponse du témoin). Dans le cas de contaminants pour lesquels le bruit de fond est bas ou maîtrisable, la réponse du témoin n'est pas différente de 0, les termes de l'équation peuvent alors être simplifiés et la BR peut être estimée par le simple ratio des réponses.

3- Avantages et limites de la méthode

La principale limite de la méthode est qu'elle est *in vivo*, ce qui induit à la fois des enjeux éthiques et des coûts expérimentaux élevés en comparaison d'une approche *in vitro*. En effet plusieurs tests *in vitro* permettant d'estimer la désorption existent (tests de bioaccessibilité UBM, ISO/DIS basés sur la cyclodextrine ou le Tenax (AFNOR, 2015)).

Mais paradoxalement, la limite de ces tests est qu'ils doivent avoir été validés par des tests *in vivo* ; et s'ils sont utilisés dans le cadre officiel d'une évaluation de risque, ils doivent être reconnus par les organismes ad hoc. Dans l'évaluation de risque liée à l'ingestion de sol par les humains, aujourd'hui seuls quelques tests *in vitro* sont validés comme le test UBM (Denys et al., 2012) et reconnus par certaines agences (US-EPA, BfR) et pour quelques éléments traces seulement (As, Cd, Pb). Il y a donc une carence de méthodes validées et reconnues pour les autres ETM ou les contaminants organiques en général.

L'estimation de la BR pour ces éléments orphelins permet d'obtenir des données qui ne souffrent pas du questionnement de la représentativité *in vitro/in vivo*. En effet, la capacité du polluant à être désorbé est testée dans les conditions réelles d'interaction du triptyque polluant-matrice-biote, que le test *in vitro* ne fait qu'imiter. De plus, lorsque la matrice de référence utilisée pour l'estimation de la BR est celle qui a permis d'établir une valeur (éco)toxicologique de référence, il est possible d'appliquer directement une correction à l'exposition externe. Ainsi dans le cas où la BR est significativement différente de 1, l'exposition externe peut être corrigée par un facteur qui représente la part du contaminant non désorbée de la matrice, affinant par le fait l'évaluation quantitative du risque.

Dans une logique de transfert trophique elle a pour intérêt de permettre de hiérarchiser des matrices en termes de contribution à l'exposition d'un biote. Le protocole mis en œuvre ne nécessite pas d'arriver à l'équilibre pour mesurer un facteur de bioconcentration ou de bioaccumulation, mais lorsque ces facteurs sont connus pour une condition d'exposition donnée il suffit d'appliquer le facteur de correction estimé par la BR.

L'utilisation de cette méthode nécessite une forte rigueur expérimentale, avec notamment une maîtrise parfaite de la dose d'exposition, car la capacité à démontrer un effet repose sur un faible écart-type résiduel du modèle. Le choix du nombre de doses testées et du nombre de répétitions par dose est un compromis à établir en fonction des capacités expérimentales. De même, le principe d'une désorption comme étant l'étape limitante de la biodisponibilité repose sur un postulat caché. La

comparaison des matrices pour les ETM correspond souvent à des phases porteuses différentes voire à des espèces chimiques différentes. Tant que la désorption (ou solubilisation) conduit à une forme commune (ex pour le plomb à partir de formes sulfures, sulfates, carbonates ou oxydes présentes dans le sol, solubilisation sous forme Pb^{2+}), la biodisponibilité n'est pas affectée. Par contre si dans la matrice se trouve une forme différente comme le tétra-éthyl de plomb, celui-ci sera libéré de la matrice séquestrante sous cette forme organique qui a une capacité à franchir les barrières épithéliales bien supérieure à la forme ionique (idem pour $MeHg$ versus Hg). Dans ce cas le test n'est pas valable car les formes désorbées doivent avoir la même biodisponibilité que la forme de référence. Pour le plomb les études toxicologiques utilisent souvent l'acétate de plomb, soit la forme ionique en solution.

Conclusion

La réalité est trop complexe pour être assimilée à des modèles simples mais ceux-ci ont l'avantage de la rendre partiellement intelligible et de nous offrir l'opportunité de voir, interpréter et agir dans un cadre restreint défini par nos propres objectifs. La véracité des éléments observés est donc contingente du cadre d'observation défini. Ainsi la notion de biodisponibilité relative et les concepts connexes qui lui sont associés doivent être utilisés prudemment. Ce sont néanmoins des concepts générateurs de méthodes et outils de mesure qui permettent d'obtenir des estimateurs opérationnels assez faciles à transposer et permettant soit d'affiner l'évaluation d'un risque écotoxicologique, soit l'intensité d'un transfert trophique en fonction de la matrice vecteur.

Contacts

Cyril FEIDT et Matthieu DELANNOY

URAFPA, ENSAIA-Université de Lorraine, 54500 Vandoeuvre les Nancy



Pour en savoir plus

<http://urafpa.fr/>

Bibliographie citée

- AFNOR, 2015. Qualité du sol — Disponibilité environnementale des composés organiques non polaires — Détermination de la fraction biodisponible potentielle et de la fraction non biodisponible en utilisant un agent adsorbant ou complexant fort (Projet de norme internationale No. ISO/DIS 16751:2015). AFNOR.
- Delannoy, M., Rychen, G., Fournier, A., Jondreville, C., Feidt, C., 2014. Effects of condensed organic matter on PCBs bioavailability in juvenile swine, an animal model for young children. *Chemosphere* 104, 105–112. doi:10.1016/j.chemosphere.2013.10.072
- Denys, S., Caboche, J., Tack, K., Rychen, G., Wragg, J., Cave, M., Jondreville, C., Feidt, C., 2012. In vivo validation of the unified barge method to assess the bioaccessibility of arsenic, antimony, cadmium, and lead in soils. *Environ. Sci. Technol.* 46, 6252–6260. doi:10.1021/es3006942
- ISO, 2008. 17402:2008. Qual. Sol-Lignes Directrices Pour Sélection L'application Méthodes D'évaluation Biodisponibilité Contam. Dans *Sol Matér. Sol*» Geneva Switz.
- Jondreville, C., Bouveret, C., Lesueur-Jannoyer, M., Rychen, G., Feidt, C., 2013. Relative bioavailability of tropical volcanic soil-bound chlordecone in laying hens (*Gallus domesticus*). *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20, 292–299. doi:10.1007/s11356-012-1010-1
- U.S. EPA, 2007a. Estimation of relative bioavailability of lead in soil and soil-like materials using in vivo and in vitro methods (Guidance and technical report No. OSWER 9285.7-77), Superfund. Office of Solid Waste and Emergency Response - U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.
- U.S. EPA, 2007b. Guidance for evaluating the oral bioavailability of metals in soils for use in human health risk assessment (Guidance and technical report No. OSWER 9285.7-80), Superfund. Office of Solid Waste and Emergency Response - U.S. Environmental Protection Agency, Washington, DC.