

OBSERVATOIRE « HOMMES-MILIEUX »
Littoral méditerranéen



INGEST-CHILDREN

*Ingestion of dusts by young children (nurseries, kindergardens, playgrounds):
physico-chemical characterization, bio-accessibility and genotoxicity*

Rapport

16 Février 2016

Responsable scientifique

Yves NOACK

CEREGE, UMR 7330 CNRS - AMU
noack@cerege.fr

Sommaire

Sommaire	2
Résumé succinct du projet	3
1. Informations générales concernant le projet.....	4
2. Contexte problématique initial	5
3. Méthodologie	6
4. Résultats	7
Conclusion	8

Résumé succinct du projet

Le projet INGEST-CHILDREN s'intéresse à l'ingestion de poussières fines par les enfants en bas-âge et des éventuelles conséquences potentielles sur leur santé via l'étude de la génotoxicité de la fraction bioaccessible dans le liquide gastrique. Trois écoles des OHM Littoral Méditerranéen et BMP, représentant des environnements naturels, économiques et sociaux différents ont fait l'objet de prélèvements lors de deux campagnes saisonnières. Des prélèvements ont également eu lieu dans des écoles de l'OHM Estarreja. Les résultats sur une première école montrent :

- des concentrations en métaux équivalentes entre intérieur et extérieur ;
- le même comportement pour la bioaccessibilité gastrique de ces métaux - des concentrations totales de HAP plus élevées pour les prélèvements intérieurs que pour les prélèvements de la cour, avec cependant à chaque fois des distributions différentes ;
- une génotoxicité plus importante pour les prélèvements intérieurs.

Il ne semble donc pas y avoir de relation entre la génotoxicité et les paramètres mesurés (métaux et HAP).

L'étude des autres campagnes permettra de vérifier si ses résultats sont généralisables aux autres écoles ou s'il existe des spécificités liées à des environnements particuliers.

Mots clés : **Santé, Ecole, Enfant, Ingestion, Métaux lourds, HAP, Géotoxicité**

1. Informations générales concernant le projet

Responsable(s) scientifique(s)

Yves NOACK
CEREGE – Technopole de l'Environnement Arbois-Méditerranée – BP 80 – 13545 AIX en Provence
Cedex 4
Téléphone : 04 42 97 15 28
Email : noack@cerege.fr

Nom-Prénom	Fonctions et laboratoire	Spécialité
Noack Yves	DR CNRS, CEREGE	Géochimie
Miche Helene	IE CNRS, CEREGE	Chimie
Orsière Thierry	IR AMU, IMBE	Toxicologie
Plumejeaud Sophie	Doctorante CNRS, IMBE	Toxicologie
Tassitro Virginie	IE AMU, IMBE	Toxicologie
Malleret Laure	MCF AMU, LCE	Chimie
Patinha Carla	IR Univ Aveiro, GEOBIOTEC	Géochimie
Reis-Marinho Paula	Pr Univ Aveiro, GEOBIOTEC	Géochimie

Temporalité

Date de début des travaux : Février 2015

Date de fin des travaux pour la rédaction du rapport : Janvier 2016

Poursuite de l'étude en cours : Oui / ~~Non~~

Demande de soutien financier à l'OHM pour l'année 2016 : ~~Oui~~ / Non

Financement

Le projet a été financé par :

- Le Labex DRIHM (OHM Littoral Méditerranéen, Bassin Minier de Provence et Estarreja)
- La Fédération de Recherche ECCOREV
- Le Plan Régional Santé Environnement PACA (ARS, DREAL, Conseil Régional)

2. Contexte problématique

Les voies d'exposition aux contaminants sont au nombre de trois : l'inhalation, l'ingestion et le contact dermique. L'être humain est en permanence soumis à l'une ou l'autre de ces trois voies. L'origine des contaminants est bien sûr très diverse : industrie, trafic routier, sources résidentielles (chauffage, brûlage déchets verts, ...), sources intérieures. Ces contaminants peuvent être absorbés en ligne directe depuis leur émission, par remise en suspension après déposition sur une surface, par ingestion de sols contaminés, de végétaux contaminés, Sur des sites à forte pollution particulière, l'exposition aux particules a lieu par inhalation et par ingestion chez les enfants en bas-âge (moins de 6 ans) du fait du portage répétitif des mains à la bouche et de la succion fréquente d'objets tombés au sol, au premier rang desquels leurs sucettes. Cette population d'enfants présente par ailleurs un développement physiologique et immunitaire incomplet susceptible de les rendre plus vulnérables à ces expositions cumulées aux particules atmosphériques et de sols

Du fait que les enfants en bas-âge portent fréquemment leurs mains à la bouche, les contaminants étudiés (essentiellement les ETM) peuvent pénétrer dans l'organisme aussi bien par inhalation (particules en suspension) que par ingestion (particules sédimentées). Leur spéciation, et surtout leur bio-accessibilité peuvent cependant être différentes en fonction de la voie d'exposition. Leur rôle dans un certain nombre de maladies neurologiques et de cancers est soit prouvé, soit fortement suspecté (aluminium, plomb, chrome, cadmium, ...). Du fait de leur caractère cumulatif et du retard avec lequel peuvent se révéler les pathologies concernées, il est important de connaître le mieux possible les expositions subies dans la petite enfance et la nature des impacts biologiques induits, notamment leur potentielle génotoxicité.

L'originalité du projet présenté ici porte donc sur un continuum entre la caractérisation physico-chimique des particules et poussières, la détermination des formes sous lesquelles se trouvent les contaminants métalliques (spéciation), la détermination de leur bio-accessibilité dans les fluides pulmonaires et gastriques et la génotoxicité potentielle de ces contaminants.

L'impact attendu en santé/environnement est une meilleure connaissance des expositions et une meilleure estimation du risque sanitaire à long terme pour les enfants dans un certain nombre de situations types. Il devrait permettre de préciser la méthodologie à utiliser.

Le projet consiste en l'étude de l'exposition des enfants en bas-âge (moins de 3 ans), par voie d'inhalation ou d'ingestion, à des éléments traces métalliques (ETM) ou organiques (BTX, HAP) dans des crèches, des écoles maternelles ou des aires de jeux, tant en intérieur qu'en extérieur.

Le projet sera articulé sur trois axes :

- Caractérisation physico-chimique des particules prélevées, aussi bien dans l'atmosphère qu'au sol.
- Caractérisation de la bio-accessibilité dans les milieux pulmonaires et gastriques, *via* des tests *in vitro*.
- Caractérisation de la cyto-génotoxicité des différents extraits bioaccessibles.

La problématique de ce projet est en plein accord les thématiques du Plan Régional Santé Environnement, au carrefour des enjeux Air et Connaissances ainsi que des champs Qualité de l'Air et Cadre de Vie de la Région PACA. Il se situe aussi dans les préoccupations de l'ANSES (la santé de l'enfant est un des thèmes prioritaires) et de l'Observatoire de la Qualité de l'Air Intérieur (OQAI).

Le projet concerne trois des Observatoires Homme-Milieu du CNRS (Bassin Minier de Provence, Littoral Méditerranéen et Estarreja au Portugal). Les trois OHMs présentent des environnements assez différents mais avec, dans les trois cas, une composante industrielle importante. L'objectif est donc, au-delà de la caractérisation physico-chimique et de la détermination des bioaccessibilité et génotoxicité des poussières dans différentes parties d'une école maternelle ou d'une crèche, de préciser l'éventuelle influence de ces environnements (rural, urbain, industriel) sur la nature et la composition des poussières ingérées et sur les conséquences en terme de santé.

3. Méthodologie

3.1 Les sites d'étude

Huit communes (propriétaires des locaux scolaires) ont été sollicitées (Fig. 1) :

- Trois ont répondu positivement (Trets, Port Saint Louis du Rhône, Marseille)
- Une a refusé (Meyreuil)
- Quatre n'ont pas répondu (Gardanne, Fos sur Mer, Port de Bouc, Cavaillon)

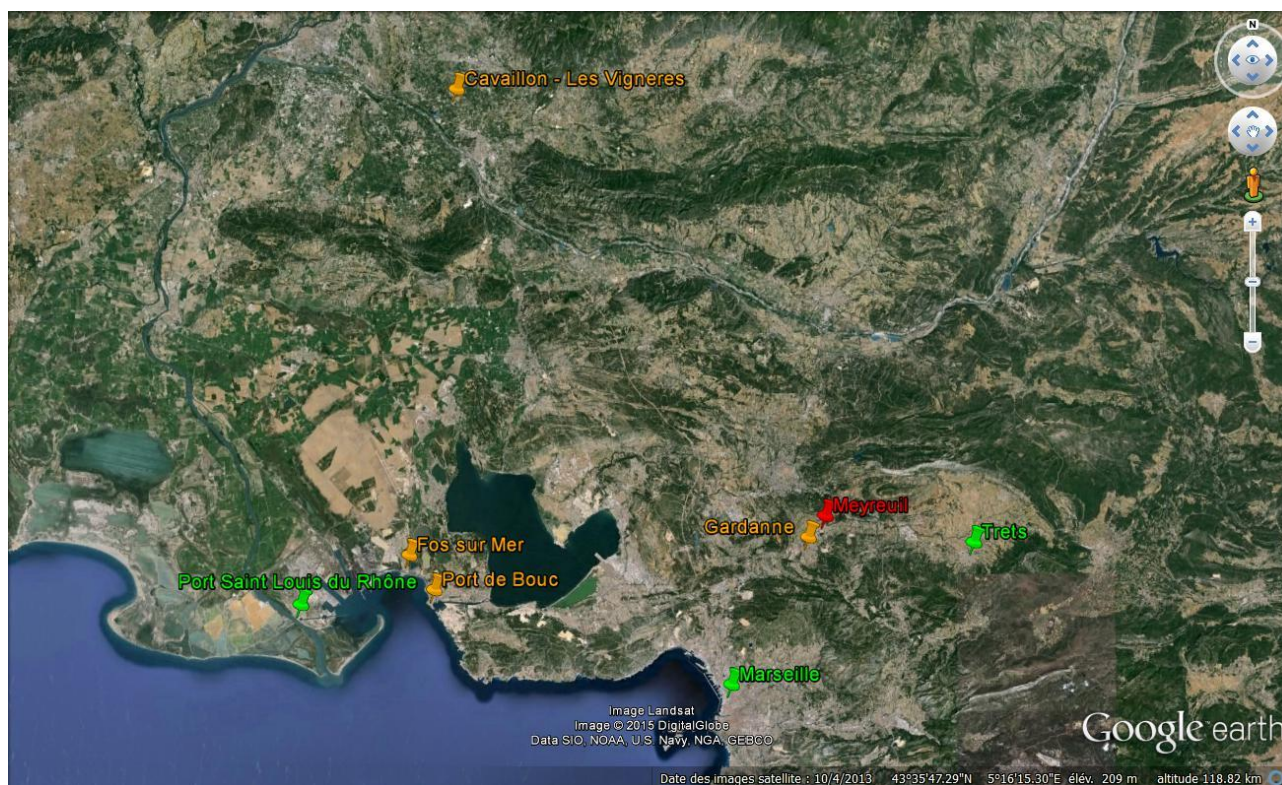


Figure 1 : Répartition des sites de prélèvement

En vert : réponse positive ; en orange : non réponse ; en rouge : réponse négative

Sur les trois sites ainsi sélectionnés, deux font partie du territoire de l'OHM Littoral Méditerranéen et une de l'OHM BMP. Elles représentent des environnements urbano-rural (Trets), urbain dense à influence industrielle (Marseille), faiblement urbain à influence industrielle forte (Port Saint Louis du Rhône).

3.2 Les campagnes de prélèvements

Actuellement, cinq campagnes de prélèvements ont eu lieu.

Une première campagne *Hiver* a eu lieu à Trets, à l'école maternelle des Colombes, du 9 Février au 3 Mars 2015. La campagne *Été* a eu lieu du 21 Septembre au 9 Octobre 2015.

Le deuxième site de prélèvement est l'école Louise Michel à Port Saint Louis du Rhône. La campagne *Été* a eu lieu du 22 Juin au 3 Juillet 2015, celle d'*Hiver* du 21 Janvier au 8 Mars 2016.

Le troisième site est l'école Ruffi à Marseille, dans le quartier d'Arenc. La campagne *Hiver* a eu lieu du 26 Novembre au 17 Décembre 2015. La campagne *Été* aura lieu en Mai-Juin 2016.

D'une façon générale, les salles de classe de petite section, les dortoirs et la cour ont été échantillonnés. Dans les cours, sont distingués la cour *sensu-stricto* et les aires de jeux, recouvertes d'un sol synthétique.

L'ensemble des prélèvements est tamisé à 250 µm, seuil de coupure en dessous duquel l'ingestion est possible. Dans le cas des prélèvements des cours, pour lesquels les quantités de particules sont abondantes, deux autres coupures granulométriques (100 µm et 50 µm) ont été faites, afin d'étudier l'effet de la granulométrie sur les caractéristiques des particules.

Sur chacune de ces fractions, les analyses suivantes sont effectuées :

- Caractérisation minéralogique
- Analyse chimique de la fraction minérale
- Analyse chimique des HAP
- Analyse mono-particule par microscopie électronique à balayage (pas systématique)
- Extraction de la fraction bioaccessible dans le liquide gastrique (méthode UBM)
- Analyse chimique de la solution et détermination de la fraction minérale bioaccessible
- Caractérisation de la génotoxicité de la solution gastrique.

L'ensemble des analyses prévues nécessitant une masse de particule de l'ordre de 2 g, il peut arriver que celle-ci ne soit pas atteinte, en particulier pour les prélèvements intérieurs. Dans un premier temps, les prélèvements intérieurs (classes et dortoirs) sont mixés, puis, éventuellement, certaines analyses ne sont pas effectuées.

4. Résultats

Ces résultats concernent la campagne Hiver de l'école des Colombes à Trets.

Deux salles de classe, le dortoir, la cour et les aires de jeux ont été échantillonnés. Dans la cour, des particules à la base d'un mur légèrement dégradé ont également été prélevées :

- TR1-2 : salles de classe
- TR3 : dortoir
- TR4a : jeux
- TR4c : cour avec trois fractions granulométriques (<50 µm, 50-100 µm, 100-250 µm)
- TR4i : débris base mur

4.1 Minéralogie des particules

Globalement, la minéralogie des prélèvements est homogène, dominée par le mélange Quart-Calcite. De l'halite (NaCl), liée au salage de la cour après un épisode neigeux, est également présente. Après l'extraction UBM, les carbonates ont disparus du résidu solide.

4.2 Composition chimique minérale

Treize éléments chimiques minéraux ont été analysés par ICP-AES.

Pour les éléments majeurs, il y a peu de variation d'un prélèvement à l'autre et pas de logique apparente.

Pour les éléments traces, l'Arsenic et dans une moindre mesure, le Chrome et le Nickel, sont nettement plus concentrés dans le prélèvement effectué sur les jeux.

D'autre part, hormis pour le Calcium, les concentrations diminuent, tant pour les majeurs que pour les traces, quand la granulométrie des particules augmente, pour les prélèvements de la cour. Cependant la fraction fine étant très nettement minoritaire, ce sont les fractions grossières qui apportent l'essentiel des éléments en cas d'ingestion.

4.3 Distribution des HAP

Seize HAP classiques ont été analysés.

Ce sont les prélèvements des classes et des jeux qui présentent les concentrations globales les plus importantes.

Les profils de distribution sont assez différents en fonction des prélèvements. Phénanthrène,

Fluoranthène et Pyrène sont les HAP principaux pour les salles de classe et les jeux, alors que le Naphtalène est le HAP le plus important pour la cour.

De la même façon que pour les éléments minéraux, la concentration en HAP diminue lorsque la granulométrie augmente pour le prélèvement de la cour. Mais, là aussi, compte tenu de la distribution granulométrique, ce sont les fractions grossières, en particulier la fraction intermédiaire, qui contribuent le plus.

4.4 Bioaccessibilité gastrique

La bioaccessibilité gastrique a été étudiée par la méthode UBM en ce qui concerne la fraction minérale.

Les résultats montrent trois groupes d'éléments :

- Al, Fe, Cr, Ni, V dont la bioaccessibilité est faible (moins de 30%)
- Mn et Pb pour lesquels la bioaccessibilité est importante (> 50 %)
- L'arsenic a un comportement intermédiaire avec une bioaccessibilité faible pour les prélèvements de la cour, moyennes à l'intérieur et élevée pour les jeux (environ 70%).

4.5 Génotoxicité

L'étude de la génotoxicité de la solution gastrique a fait l'objet d'un des chapitres de la thèse de Sophie Plumejeaud, financée par le Labex DRIIHM et qui a été soutenue le 19 Janvier 2016.

Des lésions primaires de l'ADN ont été mise en évidence par le test des comètes, pour deux doses d'exposition croissantes. Les principaux résultats sont :

- Une relation dose dépendante pour l'ensemble des prélèvements, plus nette néanmoins pour les prélèvements intérieurs que pour les extérieurs
- Pour l'extrait jeux, les fortes concentrations et bioaccessibilité de l'arsenic ne semblent pas jouer de rôle dans la génotoxicité de ce prélèvement
- Le rôle des HAP est également peu évident : l'extrait dortoir présente le même % de lésion de l'ADN que l'extrait classe alors que sa concentration totale en HAP est deux fois plus faible ; les prélèvements classes extraits 1 et jeux ont des concentrations totales en HAP voisines mais des % de lésion à l'ADN très différents.
- Pour le prélèvement de la cour, la relation granulométrie – génotoxicité n'est pas vraiment évidente.

Conclusion

Les résultats obtenus pour l'école de Trets montrent :

- des concentrations en métaux équivalentes entre intérieur et extérieur, à l'exception de l'Arsenic pour le prélèvement des jeux ;
- le même comportement pour la bioaccessibilité gastrique de ces métaux, avec également une bioaccessibilité plus importante de l'Arsenic pour les jeux ;
- des concentrations totales de HAP plus élevées pour les prélèvements intérieurs et les jeux que pour les prélèvements de la cour, avec cependant à chaque fois des distributions différentes ;
- une génotoxicité plus importante pour les prélèvements intérieurs qu'extérieurs (équivalente pour la cour et les jeux).

Il ne semble donc pas y avoir de relation entre la génotoxicité et les paramètres mesurés (métaux et HAP). En particulier la concentration plus élevée et la bio-accessibilité plus importante de l'Arsenic pour le prélèvement jeux n'a pas de conséquence sur la génotoxicité. Cela ne signifie cependant pas que ce prélèvement ne présente pas de risque potentiel, la génotoxicité ne concernant qu'une partie de la toxicité éventuelle.

Classiquement, les poussières intérieures sont considérées comme un mélange de poussières externes et de poussières générées dans le local. C'est probablement à cette deuxième origine, inconnue pour le moment, qu'il faut relier la génotoxicité observée.

L'étude des autres campagnes permettra de vérifier si ses résultats sont généralisables aux autres écoles ou s'il existe des spécificités liées à des environnements particuliers.

La dernière campagne de prélèvement (Ecole Ruffi à Marseille) est prévue en Mai-Juin 2016.

D'ici le mois de Mai, les analyses globales et HAP des prélèvements des autres campagnes auront été faites, de même que les extractions gastriques pour tous les prélèvements pour lesquels cela est possible (quantité de matière suffisante). Les tests de génotoxicité suivront.

Le rapport final sera rendu au mois de Septembre 2016. A la même période, des retours seront fait auprès des conseils d'école et/ou des municipalités concernées.