



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

1360350174

03INPL024N

(1) 2003 LAURENT, C.

Institut National Polytechnique de Lorraine

Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires

Laboratoire de Sciences Animales, USC INRA 12340

Ecole Doctorale

Sciences et Ingénierie des Ressources, Procédés, Produits et Environnement

THESE

Service Commun de la Documentation
INPL
Nancy-Brabois

présentée en vue de l'obtention du grade de

Docteur de l'Institut National Polytechnique de Lorraine

Spécialité : **Sciences Agronomiques**

par **Claire LAURENT**

le 16 mai 2003 devant la commission d'examen

**Evaluation de l'absorption et de la distribution tissulaire
de micropolluants organiques suite à l'ingestion de lait contaminé**

Membres du jury :

F. ANDRE, Professeur, Directeur du Laboratoire d'Etude des Résidus et Contaminants dans les Aliments

G. BLANCHART, Professeur, UHP, IUT de Nancy-Brabois

G. RYCHEN, Professeur, ENSAIA-INPL

C. SIMOES NUNES, Directeur de recherche, Roche Vitamines

M. VERDENAL, Directeur de l'Union Lorraine des Producteurs Laitiers

E. VINDEL, Docteur vétérinaire, Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière

Rapporteur

Président

Examineur

Rapporteur

Examineur

Examineur

Avant propos

Mes premiers remerciements vont à Monsieur François LAURENT pour m'avoir accueillie au sein du laboratoire de Sciences Animales ainsi que pour le sujet de recherche qu'il m'a confié.

Je remercie sincèrement Monsieur Guido RYCHEN et Monsieur Cyril FEIDT pour avoir accepté de changer de sujet de recherche et redémarrer, de zéro, avec moi. Un grand merci, Messieurs, pour votre encadrement au cours de ces trois dernières années, pour votre disponibilité lors de la réalisation des essais et lors de la mise en forme de ce document.

Ce travail n'aurait pas été possible sans le soutien financier de la Fédération Régionale des Coopératives Laitières de Lorraine. Je tiens à remercier, tout particulièrement, Monsieur Martin VERDENAL pour cette collaboration et pour sa contribution dans l'évaluation de ce travail.

Je remercie également les membres du jury d'avoir accepté de juger le fruit de ces trois années de recherche :

Monsieur François ANDRE, Professeur, Directeur du LABORatoire d'Etude des Résidus et Contaminants dans l'Aliment

Monsieur Gérard BLANCHART, Professeur UHP, IUT de Nancy-Brabois

Monsieur Carlos SIMOES NUNES, Directeur de recherche chez Roche Vitamines

Madame Elisabeth VINDEL, Docteur vétérinaire exerçant au centre national interprofessionnel de l'économie laitière

Des remerciements sont également adressés à Monsieur Paul-Eric LAFARGUE et Monsieur Philippe MARCHAND qui ont réalisé toutes les analyses de dioxines froides dans les meilleurs délais.

Un grand merci à Catherine, Stefan et Valérie pour m'avoir épaulée durant ces quelques années de labeur.

Je remercie également Catherine, Christine, Claire, François, Nathalie, Sophie et Yves qui ont contribué à l'avancée de ce travail.

Résumé

Résumé

Les micropolluants organiques sont des molécules très lipophiles, persistantes, qui peuvent s'accumuler dans les produits d'origine animale. L'alimentation devient ainsi une voie d'exposition potentielle aux dioxines et aux HAP pour une population. Ces travaux de recherche ont porté sur les transferts des micropolluants organiques du lait vers le sang puis vers les tissus cibles (foie, peau, tissu adipeux). Nos résultats démontrent que, suite à l'ingestion de lait contaminé, les micropolluants organiques apparaissent dans le sang. Leur taux d'absorption apparent est dépendant des propriétés physico-chimiques des congénères et des doses ingérées : l'absorption diminue lors d'une augmentation de la lipophilicité et des poids moléculaires des molécules et lors d'une élévation de la dose administrée en 2,3,7,8-TCDD (de 1 à 5000 ng/kg de poids vif). Nos travaux ont également mis en évidence que les HAP seraient majoritairement excrétés des entérocytes dans la veine porte, contrairement aux dioxines. Suite à une ingestion chronique de lait contaminé, les PCDD/F se répartissent principalement dans le foie et le tissu adipeux et, secondairement, dans la peau (à l'exception de la 2,3,7,8-TCDD dont le taux de recouvrement dans ces trois tissus n'excède pas les 50%). La distribution tissulaire dépend des caractéristiques des molécules (lipophilicité et poids moléculaire) mais également de celles des tissus dont la teneur en matière grasse. L'augmentation du poids moléculaire et/ou de la lipophilicité des dioxines limite leur incorporation dans le tissu adipeux. De plus, dans ce tissu, les quantités des dioxines détectées sont corrélées à celles de la matière grasse. Ceci se traduit par une diminution des facteurs de bioconcentration (BCF) dans le tissu adipeux lors d'une augmentation du degré de chloration des congénères. Au niveau du foie, la fixation des dioxines apparaît indépendante des quantités de matière grasse tissulaire. Une distinction peut être faite entre les deux sous-familles : l'incorporation hépatique des PCDD semble facilitée pour les molécules fortement chlorées. Ainsi, les BCF des PCDD augmentent en fonction du nombre d'atomes de chlore. La relation inverse est observée pour les PCDF. Toutefois, pour un même niveau de chloration, les BCF des PCDF sont supérieurs à ceux des PCDD. Ce résultat suggère la présence d'un mécanisme de fixation sélectif au niveau du foie. Ce processus serait également présent au niveau de la peau.

Mots clefs : Lait, Dioxines/HAP, Cinétique, Absorption, Tissu, Ingestion chronique

Sommaire

Sommaire

Liste des publications et communications	1
Liste des abréviations	3
Liste des figures	6
Liste des tableaux	10
Liste des annexes	13

Introduction générale	14
------------------------------	-----------

Synthèse bibliographique	16-56
---------------------------------	--------------

I : Principales propriétés des HAP et des dioxines	16-23
---	--------------

1. Définitions et origines des micropolluants organiques lipophiles	16
1.1. Structure	16
1.2. Origine des HAP et des dioxines	18
2. Propriétés physico-chimiques spécifiques des HAP et des dioxines	19
3. Caractères toxiques des micropolluants organiques lipophiles dans l'organisme humain	21
3.1. Définition de la toxicité des HAP et des dioxines et conséquences en terme de santé humaine	21
3.2. Mode d'action des dioxines et des HAP	23

II : Absorption des HAP et des dioxines chez le monogastrique	23-43
--	--------------

1. Importance de l'alimentation dans les voies d'exposition humaine aux micropolluants organiques lipophiles	23
2. Lait et produits laitiers : sources de contamination en HAP et en dioxines	28
2.1. Teneurs et profils des HAP et des dioxines dans le lait	28
2.2. Teneurs et profils des dioxines dans les produits laitiers	32
2.3. Conclusion	34
3. Absorption intestinale des molécules liposolubles	34
3.1. Solubilisation micellaire des HAP et des dioxines	35
3.1.1. Mécanisme général	35
3.1.2. Facteurs modulant la solubilisation micellaire des micropolluants organiques	35
3.2. Transfert à travers la membrane cellulaire	37
3.2.1. Mécanisme général	37
3.2.2. Facteurs modulant le transfert des micropolluants organiques à travers la membrane cellulaire	38
3.3. Devenir des molécules dans les entérocytes et sécrétion chylo-portale	39
3.3.1. Mécanisme général	39
3.3.2. Facteurs modulant le devenir entérocytaire des HAP et des dioxines	40
4. Conclusion	42

III : Distribution tissulaire des HAP et des dioxines chez le monogastrique	44-54
1. Répartition des micropolluants organiques dans les composants sanguins	44
2. Distribution tissulaire des dioxines et des HAP	46
2.1. Distribution tissulaire des dioxines et des HAP chez l'Homme	46
2.2. Distribution tissulaire des dioxines chez les animaux modèles de l'Homme	47
2.3. Distribution tissulaire des HAP chez les animaux modèles de l'Homme	49
2.4. Conclusion	50
3. Coefficient de transfert "Aliment - Tissus" des micropolluants organiques	51
4. Conclusion	52
IV. Conclusion de la synthèse bibliographique	55-56

Partie expérimentale 57-110

Partie I : Etude expérimentale du transfert des dioxines et des HAP du Lait au Sang 57-79

Introduction	57
--------------	----

I : Apparitions portales et artérielles du [¹⁴C] phénanthrène, du [¹⁴C] benzo[a]pyrène et de la [¹⁴C] 2,3,7,8-TCDD contenus dans du lait chez le porc	59-69
1. Protocole expérimental	59
1.1. Animaux	59
1.2. Contamination du lait au [¹⁴ C] phénanthrène, au [¹⁴ C] benzo[a]pyrène ou au [¹⁴ C] 2,3,7,8-TCDD	60
1.3. Prélèvements sanguins	60
1.4. Méthodes analytiques	61
1.4.1. Réalisation d'une courbe de quenching	61
1.4.2. Préparation des échantillons radioactifs	61
1.5. Calcul de l'absorption portale	62
2. Résultats	63
3. Discussion	64
4. Conclusion	68

II : Transfert des 17 congénères de dioxines du lait vers le sang suite à l'ingestion de lait contaminé chez le porc en croissance	70-78
1. Protocole expérimental	70
1.1. Animaux	70
1.2. Contamination du lait par les 17 dioxines	70
1.3. Prélèvements sanguins	70
1.4. Analyses de dioxines et de furanes	71
1.4.1. Extraction	71
1.4.2. Purification	72
1.4.3. Analyse par CG/SMHR	72
2. Résultats	73
3. Discussion	76

4. Conclusion	78
Conclusion de la partie I : Transfert des dioxines et des HAP du lait au sang	79
 Partie II : Etude expérimentale du transfert des dioxines du lait vers les tissus cibles	 80-110
Introduction	80
I : Distribution tissulaire de la [¹⁴C] 2,3,7,8-TCDD chez le rat suite à l'ingestion chronique de caillé contaminé artificiellement	82-91
1. Protocole expérimental	82
1.1. Animaux	82
1.2. Apport de [¹⁴ C] 2,3,7,8-TCDD	82
1.3. Prélèvements sanguins et tissulaires	84
1.4. Méthodes analytiques	84
1.4.1. Dosage de la radioactivité contenue dans le caillé, le foie ou le tissu adipeux	85
1.4.2. Dosage de la radioactivité contenue dans le sang	85
1.4.3. Détermination de la radioactivité présente dans la peau	86
1.5. Traitement des données	86
2. Résultats	86
2.1. Croissance des rats, et notes d'état	86
2.2. Evolution des concentrations de la [¹⁴ C] 2,3,7,8-TCDD dans les tissus cibles au cours de l'ingestion	87
2.3. Détermination de la charge corporelle et des facteurs de bioaccumulation "Aliment-Sang" et "Aliment-Tissus" de la [¹⁴ C] 2,3,7,8-TCDD	87
3. Discussion	88
3.1. Profil de la [¹⁴ C] 2,3,7,8-TCDD dans le sang, le foie et le tissu adipeux au cours de la cinétique	88
3.2. Charge corporelle et facteurs de bioaccumulation	90
4. Conclusion	91
 II : Distribution tissulaire des 17 congénères des dioxines chez le rat suite à l'ingestion chronique de lait contaminé	 92-109
1. Protocole expérimental	92
1.1. Animaux	92
1.2. Contamination des aliments pour rat	92
1.3. Prélèvements tissulaires	92
1.4. Analyses des échantillons	93
1.5. Traitements statistiques	93
2. Résultats	94
2.1. Profil des dioxines dans l'aliment	94
2.2. Croissance des rats et notes d'état	95
2.3. Profils dans le foie et dans le tissu adipeux des 16 congénères de dioxines	96
2.4. Charge corporelle totale et facteur de bioconcentration des dioxines dans le foie, le tissu adipeux épидidymaire et la peau chez les rats	99
3. Discussion	100

3.1. Profil et teneurs en dioxines de l'aliment	100
3.2. Impact sur l'organisme de la prise régulière des dioxines	102
3.3. Profils et concentrations à l'équilibre des dioxines dans le foie et le tissu adipeux lors d'ingestion chronique de lait contaminé chez des rats	103
3.3.1. Profils des dioxines dans le foie et le tissu adipeux	103
3.3.2. Concentrations des dioxines dans le foie et le tissu adipeux à l'équilibre	104
3.4. Facteur de bioconcentration des dioxines dans le foie, dans le tissu adipeux et dans la peau	106
4. Conclusion	109

Conclusion de la partie II : Transfert des dioxines du lait vers les tissus cibles	110
---	------------

Discussion générale 111-122

I. Absorption intestinale des dioxines	112
II. Distribution tissulaire des dioxines	115
III. Equation de prédiction des concentrations tissulaires des dioxines suite à l'ingestion chronique d'aliment faiblement contaminé	118
IV. Limites et difficultés rencontrées lors des différentes expérimentations	120
1. La contamination des aliments utilisés	120
2. Les méthodes analytiques	121

Conclusion générale et perspectives 123-125

Références bibliographiques	126-140
Annexes	141-147

Liste des Publications et Communications

Liste des publications et communications

Publications dans des journaux internationaux à comité de lecture

- Feidt C., Grova N., Laurent C., Rychen G., Laurent F. (2000).** Le transfert des micropolluants organiques dans la chaîne alimentaire. Etat et perspectives de recherche. *Oléagineux Corps Gras Lipides*, 7, 1-5.
- Grova N., Laurent C., Feidt C., Rychen G., Laurent F., Lichtfouse E. (2000).** Gas chromatography-mass spectrometry study of polycyclic aromatic hydrocarbons in grass and milk from urban and rural farms. *European Journal of Mass Spectrometry*, 6/5, 457-460.
- Laurent C., Feidt C., Lichtfouse E., Grova N., Laurent F., Rychen G. (2001).** Milk-blood transfer of ^{14}C tagged polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in pigs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2493-2496.
- Cavret S., Laurent C., Feidt C., Laurent F., Rychen G. (2002).** Intestinal absorption of ^{14}C from ^{14}C -phenanthrene, ^{14}C -benzo[a]pyrene and ^{14}C -tetrachlorodibenzo-para-dioxin : approaches with Caco-2 cell line and with portal absorption measurements in growing pigs. *Reproduction Nutrition Développement*, sous presse.
- Grova N., Feidt C., Crépineau C., Laurent C., Lafargue P.E., Rychen G. (2002).** Influence of potential Polycyclic Aromatic Hydrocarbons emissions sources on milk contamination. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 50, 4640-4642.
- Laurent C., Feidt C., M'passi D., Grova N., Lichtfouse E., Laurent F., Rychen G. (2002).** Portal absorption of ^{14}C after ingestion of spiked milk with ^{14}C -phenanthrene, ^{14}C -benzo[a]pyrene, ^{14}C -TCDD in growing pigs. *Chemosphere*, 48(8), 843-848.
- Rychen G., Laurent C., Feidt C., Grova N., Lafargue P.E., Hachimi A., Laurent F. (2002).** Milk arterial transfer of PCDDs and PCDFs in pigs. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 50, 1695-1699.
- Grova N., Feidt C., Laurent C., Rychen G., Laurent F. (2003).** Milk transfer assessment of [^{14}C]PAHs after a single oral administration to lactating goats. *International Dairy Science*. Sous presse.

Chapitres d'ouvrage

- Feidt C., Cavret S., Grova N., Laurent C., Rychen G. (2003).** Evaluation of the risk of PAHs and dioxins transfer to humans via the dairy ruminant. In "environmental chemistry", Environmental Sciences and Geoscience, Springer 2002, sous presse.

Communications avec actes et comité de lecture

- Grova N., Laurent C., Feidt C., Rychen G., Laurent F., Lichtfouse E. (2000).** Hydrocarbures aromatiques polycycliques dans l'herbe et dans le lait. Colloque « Les Journées Françaises de Chimie Environnementale », E036, 13-15 décembre, Nancy.

Liste des abréviations et Nomenclature

Liste des abréviations et nomenclature

PCDD :	PolyChloroDibenzo- <i>para</i> -Dioxine
PCDF :	PolyChloroDibenzoFurane
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD :	1,2,3,4,6,7,8-HeptaChloroDibenzo- <i>para</i> -Dioxine
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF :	1,2,3,4,6,7,8-HeptaChloroDibenzoFurane
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF :	1,2,3,4,7,8,9-HeptaChloroDibenzoFurane
1,2,3,4,7,8-HxCDD :	1,2,3,4,7,8-HexaChloroDibenzo- <i>para</i> -Dioxine
1,2,3,4,7,8-HxCDF :	1,2,3,4,7,8-HexaChloroDibenzoFurane
1,2,3,6,7,8-HxCDD :	1,2,3,4,7,8,9-HeptaChloroDibenzoFurane
1,2,3,6,7,8-HxCDF :	1,2,3,6,7,8-HexaChloroDibenzo- <i>para</i> -Dioxine
1,2,3,7,8,9-HxCDD :	1,2,3,7,8,9-HexaChloroDibenzo- <i>para</i> -Dioxine
1,2,3,7,8,9-HxCDF :	1,2,3,7,8,9-HexaChloroDibenzoFurane
1,2,3,7,8-PeCDD :	1,2,3,7,8-PentaChloroDibenzo- <i>para</i> -Dioxine
1,2,3,7,8-PeCDF :	1,2,3,7,8-PentaChloroDibenzoFurane
2,3,4,6,7,8-HxCDF :	2,3,4,6,7,8-HexaChloroDibenzoFurane
2,3,4,7,8-PeCDF :	2,3,4,7,8-PentaChloroDibenzoFurane
2,3,7,8-TCDD :	2,3,7,8-TetraChloroDibenzo- <i>para</i> -Dioxine
2,3,7,8-TCDF :	2,3,7,8-TetraChloroDibenzoFurane
OCDD :	OctaChloroDibenzo- <i>para</i> -Dioxine
OCDF :	OctaChloroDibenzofurane

DGAL :	Direction Générale de l'Alimentation
IARC :	Agence Internationale de Recherche contre le Cancer
INSERM :	Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
US-EPA :	Agence de la protection environnementale des Etats Unis

[¹⁴C] :	Marquage au carbone 14
ADN :	Acide DésoxyriboNucléique
Ah :	Aryl Hydrocarbures
AHH :	Aryl Hydrocarbon Hydroxylase activity
AhR :	Récepteur des Aryl Hydrocarbures
ALBS :	Sous-unité du récepteur Ah liant les dioxines
ARNm :	Acide riboNucléique messenger
ARNT :	AhR Nuclear Translocator
AUC :	Aire sous la courbe
B :	Facteur de bioaccumulation
B[a]A :	Benzo[a]Anthracène
BCF :	Facteur de BioConcentration
Bq :	Becquerel
Ca :	Concentration artérielle
CCt :	Charge Corporelle totale
Ce :	Concentration à l'équilibre
CG :	Chromatographie en phase Gazeuse

SMHR : Spectromètre de Masse de Haute Résolution
ChP : Exploitation laitière à proximité d'une industrie chimique
Ci : Curie
Cp : Concentration portale
C-Src : Protéine de 60 kDa
Ct : Coefficient de transfert
CYP1A : Mono-oxygénase à Cytochrome P450 1A
Dq : Dose ingérée quotidiennement
DRE : Élément de Réponse des Dioxines
dt : Unité de temps
Dt : Dose totale ingérée
EROD : Activité de l'EthoxyResorufine-O-Dééthylase
F : Flux portal
H : Constante d'Henry
HAP : Hydrocarbure Aromatique Polycyclique
HDL : Lipoprotéine de forte densité
Hsp 90 : Protéine de choc thermique
IFN : Institut Français pour la Nutrition
Ind : Exploitation laitière à proximité d'une industrie
I-TEQ : Quantité d'Equivalence Toxique Internationale
IV : Intra-Veineux
k : Constante de dissipation
KCl : Chlorure de potassium
Kow : Lipophilicité (coefficient de partage octanol-eau)
L : Ligand
Lait s : Contamination en dioxines d'un lait standard
DL : Dose Létale
LDL : Lipoprotéine de faible densité
Lyoph : Lyophilisé
MG : Matière grasse
Mont : Exploitation laitière dans une zone de montagne
MP : Exploitation laitière à proximité d'une usine de métallurgie
N cycle : Nombre de cycle aromatique
NaCl : Chlorure de sodium
ND : Non Déterminé
NS : Non Significatif
NTEQ : Quantité d'Equivalent Toxique des pays Nordiques
PA : Différence de concentrations porto-artérielles
PCB : PolyChloroBiphényl
Phé : Phénanthrène
PM : Poids Moléculaire
PP : Exploitation laitière à proximité d'une papeterie
PV : Poids Vif
Pv : Pression de vapeur
Q (q) : Quantité
R : Coefficient de corrélation
R² : Coefficient de détermination

RC : Rétention Corporelle
REL : Réticulum Endoplasmique Lisse
Ru : Exploitation laitière à proximité dans une zone rurale
T_{1/2} : Temps de demi-vie
TA : Tissu Adipeux
TDI : Ingestion quotidienne Tolérée
Te : Temps nécessaire pour atteindre une concentration stable
TEF : Facteur d'Equivalence Toxique
TEQ : Quantité d'Equivalence Toxique
Tm : Température de fusion
V : Volume
VLDL : Lipoprotéine de très faible densité
WI : Exploitation laitière à proximité d'un incinérateur de déchets municipaux

Liste des figures, des tableaux et des annexes

Liste des figures

Figure 1 :	Structure chimique des HAP.	16
Figure 2 :	Structure chimique des PCB.	17
Figure 3 :	Structure chimique des PCDD/F.	17-1
Figure 4 :	Hypothèses pour le mécanisme d'action des dioxines au niveau cellulaire.	23-1
Figure 5 :	Dégradation et toxicité du benzo[a]pyrène dans la cellule d'un organisme : exemple du cancer du poumon.	23-2
Figure 6 :	Contamination en HAP des différents aliments.	26-1
Figure 7 :	Excrétion fécale des dioxines suite à l'ingestion d'un repas classique contaminé et enrichi plus ou moins en algues vertes chez les rats.	37-1
Figure 8 :	Répartition des PCDD et des PCDF dans les tissus humains.	46-1
Figure 9 :	Impact des doses administrées sur la distribution tissulaire de la 2,3,7,8- TCDD chez le rat.	47-2
Figure 10 :	Dépendance de la dose administrée sur la répartition tissulaire de la 2,3,7,8-TCDD chez la souris suite à une exposition chronique de 13 semaines.	47-2
Figure 11 :	Distribution tissulaire de la 2,3,7,8-TCDD 3 jours après une administration unique intrapéritonéale chez trois races de souris.	48
Figure 12 :	Principaux tissus de stockage de la 2,3,7,8-TCDD absorbée selon les doses administrées chez des souris suite à une exposition de 13 semaines.	48-1
Figure 13 :	Ratio de concentrations (pg/g de tissu) Foie/Tissu adipeux des dioxines chez le rat et le singe suite à une administration sous cutanée de ces congénères.	49-1
Figure 14 :	Distribution du pyrène dans les tissus de rat suite à l'administration de diverses doses.	49-2
Figure 15 :	Distribution tissulaire de la radioactivité associée au phénanthrène deux jours après administration orale de cette molécule contenue dans différentes matrices chez le rat.	50-1

Figure 16 :	Cinétiques d'apparition artérielle et portale de [¹⁴ C] suite à l'ingestion, chez le porc en croissance d'un litre de lait enrichi en [¹⁴ C] phénanthrène, en [¹⁴ C] benzo[a]pyrène ou en [¹⁴ C] 2,3,7,8-TCDD.	62-1
Figure 17 :	Cinétiques portales et artérielles de [¹⁴ C] suite à l'ingestion chez le porc en croissance de 1 litre de lait enrichi en [¹⁴ C] phénanthrène, [¹⁴ C] benzo[a]pyrène ou [¹⁴ C] 2,3,7,8-TCDD.	63
Figure 18 :	Corrélation entre l'absorption portale du [¹⁴ C] phénanthrène, du [¹⁴ C] benzo[a]pyrène et de la [¹⁴ C] 2,3,7,8-TCDD et leur lipophilicité, leur poids moléculaire ou leur nombre de cycles aromatiques.	67-1
Figure 19 :	Cinétiques d'évolution des concentrations plasmatiques des PCDD et PCDF suite à une ingestion de lait contaminé artificiellement chez le porc.	73
Figure 20 :	Ratio de concentrations "plasma/lait" des dioxines et des furanes à différents temps postprandiaux chez des porcs en croissance.	75
Figure 21 :	Ratio de concentrations "plasma/lait" des dioxines et de leurs homologues furanes à différents temps postprandiaux chez des porcs en croissance.	75-1
Figure 22 :	Ratio de concentrations "plasma/lait" des dioxines regroupées en fonction de leur degré de chloration à différents temps postprandiaux chez des porcs en croissance.	75-2
Figure 23 :	Comparaison des concentrations plasmatiques artérielles et des dioxines 5 heures après l'ingestion de lait contaminé artificiellement chez le porc en croissance.	75-2
Figure 24 :	Cinétique de la concentration en [¹⁴ C] suite à l'ingestion de [¹⁴ C] 2,3,7,8-TCDD chez des chèvres en lactation.	82-1
Figure 25 :	Répartition de la [¹⁴ C] 2,3,7,8-TCDD entre le lait écrémé, le caillé et le lactosérum suite à l'ingestion orale de cette molécule chez des chèvres en lactation.	83-1
Figure 26 :	Courbes de croissance des rats témoins et des rats contaminés lors d'ingestion chronique de TCDD marquée au [¹⁴ C].	86-1
Figure 27 :	Evolution des teneurs de [¹⁴ C] dans le sang, le foie et le tissu adipeux chez le rat suite à une ingestion chronique de [¹⁴ C] 2,3,7,8-TCDD par voie orale.	87-1

Figure 28 :	Niveaux de contamination des bouchons ingérés par les rats.	94-1
Figure 29 :	Courbe de croissance des rats contaminés par l'aliment.	95
Figure 30 :	Evolution des poids du foie et du tissu adipeux épидидymaire des rats contaminés par les 17 dioxines contenues dans l'aliment.	95
Figure 31 :	Coefficients d'allométrie du foie et du tissu adipeux en fonction du poids vif de rats exposés quotidiennement aux dioxines.	95-1
Figure 32 :	Evolutions des concentrations en dioxines du foie suite à l'ingestion chronique d'aliment contaminé.	96
Figure 33 :	Concentration en dioxines à l'équilibre du foie suite à l'ingestion chronique d'aliment contaminé chez des rats.	97
Figure 34 :	Evolutions des concentrations en dioxines du tissu adipeux suite à l'ingestion chronique d'aliment contaminé.	97-1
Figure 35 :	Concentration en dioxines à l'équilibre du tissu adipeux épидидymaire suite à l'ingestion chronique d'aliment.	98
Figure 36 :	Ratio de concentrations en dioxines Foie/Tissu pour les rats exposés pendant 120 jours.	98
Figure 37 :	Charge corporelle totale en dioxines de rats exposés pendant 120 jours.	99
Figure 38 :	Pourcentage de la charge corporelle totale en PCDD et en PCDF retrouvé dans le foie, le tissu adipeux, la peau et le reste de l'organisme de rats exposés pendant 120 jours.	99-1
Figure 39 :	Facteurs de bioconcentration des dioxines dans le foie, le tissu adipeux et la peau des rats exposés pendant 120 jours.	100-1
Figure 40 :	Comparaison des facteurs de bioconcentration des PCDD/F du foie, du tissu adipeux et de la peau de rats exposés pendant 120 jours.	100-2
Figure 41 :	Contribution relative du lait et des bouchons à la contamination.	101
Figure 42 :	Profils et teneurs des congénères de dioxines du lait frais. Comparaison de nos résultats avec celui d'un lait moyen provenant d'une exploitation à proximité d'un incinérateur.	101
Figure 43 :	Profils et teneurs des congénères de dioxines du lait frais et du lait lyophilisé.	102

Figure 44 :	Pourcentage de la dose administrée totale retenue dans l'organisme chez des rats exposés pendant 120 jours.	113
Figure 45 :	Impact négatif de l'augmentation de la lipophilicité et du poids moléculaire des dioxines sur l'absorption intestinale.	114
Figure 46 :	Corrélation entre les % de charge corporelle totale du foie, de la peau, du tissu adipeux et les propriétés physico-chimiques des dioxines.	115-1
Figure 47 :	Corrélation entre les % de charge corporelle totale du foie et les propriétés physico-chimiques des PCDD et des PCDF.	116
Figure 49 :	Coefficients de variations entre les concentrations prédites et celles mesurées. Comparaison de nos résultats avec ceux de la littérature.	119

Liste des tableaux

Tableau 1 :	Teneurs en HAP et en dioxines dans l'air ambiant en fonction des sources de contamination.	18
Tableau 2 :	Effet néfaste des dioxines chez les animaux modèles.	21-1
Tableau 3 :	Conséquences en terme de santé de la présence des HAP et des dioxines chez les hommes.	21
Tableau 4 :	Relation entre l'exposition journalière et les conséquences en terme de santé humaine.	22
Tableau 5 :	Teneur en HAP des produits alimentaires crus.	25
Tableau 6 :	Concentration en HAP des produits alimentaires manufacturés.	26
Tableau 7 :	Evolution de la contamination en dioxines des laits dans différents pays entre 1990 et 1995.	27-1
Tableau 8 :	Teneurs des laits en HAP en fonction de diverses sources de pollution.	28
Tableau 9 :	Teneurs en dioxines du lait de vache selon les lieux ou les sources d'exposition.	29-1
Tableau 10 :	Teneurs et profils des produits laitiers en dioxines.	33-1
Tableau 11 :	Absorption des dioxines chez les monogastriques.	34-1
Tableau 12 :	Absorption des HAP chez les monogastriques.	34-2
Tableau 13 :	Composition de la matière grasse du lait.	36
Tableau 14 :	Profils en dioxines dans le sang humain.	44-1
Tableau 15 :	Répartitions des dioxines dans les différentes fractions sanguines.	45
Tableau 16 :	Répartition des HAP dans les différentes fractions sanguines.	45
Tableau 17 :	Distribution tissulaire des dioxines chez les rongeurs.	47-1
Tableau 18 :	Distribution tissulaire des HAP chez le rat.	49-3
Tableau 19 :	Charge corporelle en dioxine suite à l'administration semi-chronique de 2,3,7,8-TCDD chez le rongeur.	51

Tableau 20 : Capacité de bioaccumulation de la 2,3,7,8-TCDD du foie et du tissu adipeux et temps requis pour atteindre 95% des valeurs obtenues à l'équilibre au niveau du tissu adipeux suite à un apport chronique de la molécule chez le rongeur.	51-1
Tableau 21 : Propriétés physico-chimiques des molécules étudiées.	60
Tableau 22 : Absorption portale en [^{14}C] après l'ingestion d'un litre de lait enrichi en [^{14}C] phénanthrène, [^{14}C] benzo[a]pyrène ou [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD chez le porc en croissance.	64
Tableau 23 : Absorption portale en [^{14}C] après l'ingestion d'un litre de lait enrichi en [^{14}C] phénanthrène, [^{14}C] benzo[a]pyrène ou [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD chez le porc en croissance.	65-1
Tableau 24 : Comparaison de l'absorption des micropolluants organiques déterminée dans notre expérimentation avec les données de la littérature.	67-2
Tableau 25 : Variation des teneurs en dioxines dans le lait entre les valeurs théoriques et celles mesurées.	70-1
Tableau 26 : Composition en isomères du mélange de dioxines marquées au ^{13}C .	71
Tableau 27 : Concentrations plasmatiques postprandiales des 17 congénères de dioxines suite à l'ingestion de lait contaminé chez des porcs en croissance.	74
Tableau 28 : Comparaison du profil sanguin et du ratio de concentration "plasma/lait" de la 2,3,7,8-TCDD entre une ingestion de [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD seule et celle des 17 congénères suite à une administration orale de lait contaminé chez des porcs en croissance.	76-1
Tableau 29 : Temps de demi-vie des PCDD dans le sang chez le rat et chez l'homme.	77
Tableau 30 : Composition nutritionnelle des bouchons UAR A03.	83
Tableau 31 : Dispositif expérimental mise en œuvre pour l'étude du transfert de la [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD du lait vers les tissus cibles.	84
Tableau 32 : Concentration et quantité de la [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD dans le foie, le tissu adipeux épидидymaire et le sang suite à une ingestion chronique pendant 150 jours.	87
Tableau 33 : Durée d'ingestion pour atteindre un équilibre tissulaire.	88

Tableau 34 :	Ratio de concentrations hépatique/adipeux en [¹⁴ C] 2,3,7,8-TCDD au cours de l'ingestion chronique chez des rats.	89-1
Tableau 35 :	Facteur de bioaccumulation "Aliment-Tissu" de la 2,3,7,8-TCDD suite à une ingestion chronique ou semi-chronique chez des rats.	90
Tableau 36 :	Dispositif expérimental mise en œuvre pour l'étude du transfert des dioxines du lait vers les tissus cibles.	93
Tableau 37 :	Concentration des dioxines du foie et du tissu adipeux épидидymaire chez des rats suite à une ingestion chronique d'aliment contaminé.	98-1
Tableau 38 :	DL ₅₀ des dioxines suite à l'ingestion unique d'une molécule donnée chez le rat Sprague Dawley (Geyer <i>et al.</i> , 2002). Comparaison avec l'ingestion totale utilisée lors de cette expérimentation.	102-1
Tableau 39 :	Evolution des concentrations et des quantités en dioxines dans le foie et le tissu adipeux.	103-1
Tableau 40 :	Ratio de concentrations en dioxines "Foie/Tissu adipeux" chez des différentes espèces animales et chez l'homme.	105
Tableau 41 :	Facteurs de bioaccumulation des dioxines suite à l'ingestion régulière de dioxines chez l'homme et chez des rongeurs.	106
Tableau 42 :	Corrélation entre la quantité de dioxines et celle de matière grasse présentes au niveau de la peau.	107
Tableau 43 :	Part relative des dioxines du foie, du tissu adipeux et de la peau par rapport à la charge corporelle totale des rats exposés pendant 120 jours.	108

Liste des annexes

Annexe 1 :	Tableau récapitulatif des propriétés physico-chimiques des HAP.	141
Annexe 2 :	Tableau récapitulatif des propriétés physico-chimiques des dioxines.	142
Annexe 3 :	Contamination en dioxines des produits alimentaires.	143-145
Annexe 4 :	Contamination des laits et des produits laitiers en dioxines de différents pays.	146

Introduction générale

Les dioxines, micropolluants organiques ubiquitaires et persistants dans l'environnement, ont récemment défrayé la chronique ("*La dioxine empoisonne la vallée d'Albertville*" L'Evènement, 20 Mars 2002 ; "*Dioxines : Elevage et Incinération ne font pas bon ménage*", Production Laitière Moderne, Avril 2002 ; "*Dioxines : Le lait fait les frais du laxisme*", Réussir Lait Elevage, Juillet-Août 2002). Ces molécules sont libérées dans notre environnement suite à des processus naturels (éruption volcanique, feux de forêt) mais essentiellement lors de procédés anthropiques (incinérateurs, métallurgies, industries chimiques...). Parmi les 210 congénères identifiés, 17 sont définis comme toxiques pour les animaux et pour l'homme (perturbations de la reproduction, du développement, du fonctionnement des hormones thyroïdiennes, voire même développement de cancers, IARC, 1997 ; INSERM, 2000). Les principales voies d'exposition à ces congénères pour une population étant l'alimentation et, lors d'accident industriel, l'inhalation, de nombreuses mesures prises pour limiter les risques en terme de santé concernant :

L'inhalation : le 10 octobre 1996, un arrêté ministériel fixe les limites d'émission de dioxines pour les différents types d'incinérateurs de déchets classés dangereux à $0,1 \text{ ng/m}^3$ d'effluents gazeux. En 2000, une directive européenne impose à tous les incinérateurs de respecter ce seuil. Or, en 2002, 27 incinérateurs répartis sur le territoire français étaient encore hors normes.

L'alimentation et plus particulièrement les teneurs en dioxines dans les produits d'origine animale en raison de la forte affinité de ces molécules pour les matrices lipidiques. Tout lait ou produit laitier est retiré de la commercialisation pour des teneurs supérieures à 3 pg I-TEQ/g de matière grasse (normes européennes du 1^{er} juillet 2002). Ces mesures draconiennes sur le lait s'expliquent par la forte consommation de ces produits en France, consommation engendrant une contribution de l'ordre des 40 % à l'exposition humaine aux dioxines (INSERM, 2000).

Si les voies d'exposition aux dioxines pour la population sont maintenant relativement bien connues, la connaissance du transfert de ces molécules d'une matrice alimentaire aux tissus de l'organisme reste très fragmentaire. Les études réalisées ont porté essentiellement sur l'absorption et la distribution tissulaire de la [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD contenue dans de l'huile contaminée artificiellement. Plusieurs questions sont actuellement en suspens :

Pouvons-nous supposer que le transfert de la 2,3,7,8-TCDD dans l'organisme est indépendant de la matrice de contamination utilisée ?

Comment extrapoler ces résultats à l'ensemble des matrices alimentaires ?

L'absorption et la distribution tissulaire des 16 autres congénères de dioxines sont-elles similaires à la 2,3,7,8-TCDD ?

Nos travaux de recherches ont été focalisés sur la biodisponibilité des dioxines présentes dans le lait. Le concept de biodisponibilité est pris comme un terme générique regroupant les processus d'absorption, de distribution tissulaire et de dégradation. Compte tenu du peu d'informations disponibles dans la littérature, l'étude a été étendue aux hydrocarbures aromatiques polycycliques, molécules proches des dioxines.

La première partie de ce document vise à fournir des connaissances générales sur :

la contamination du lait et des produits laitiers par les micropolluants organiques (impact des sources de pollution environnemental, du stade de lactation, et des traitements technologiques sur les teneurs dans le lait)

l'absorption de ces molécules (les différentes étapes du mécanisme d'absorption, les taux de transfert et les facteurs de variation)

la répartition des dioxines dans les différents tissus (Quels sont les tissus cibles ? Comment se répartissent-elles ? Quels sont les taux de transfert des dioxines de l'aliment aux tissus ?)

La seconde partie présente les travaux expérimentaux que nous avons conduits. Elle se présente en deux volets :

l'évaluation du transfert des dioxines du lait au sang (ingestion unique)

la détermination des coefficients de transfert des dioxines "Lait-Tissus cibles" (ingestion chronique)

Les résultats sont discutés pour chacune des expérimentations puis une approche globale est développée dans la discussion générale en vue d'établir des équations de prédiction des teneurs tissulaires en dioxines en fonction de la concentration présente dans le lait ingéré.

Synthèse bibliographique

I : Principales propriétés des HAP et des dioxines

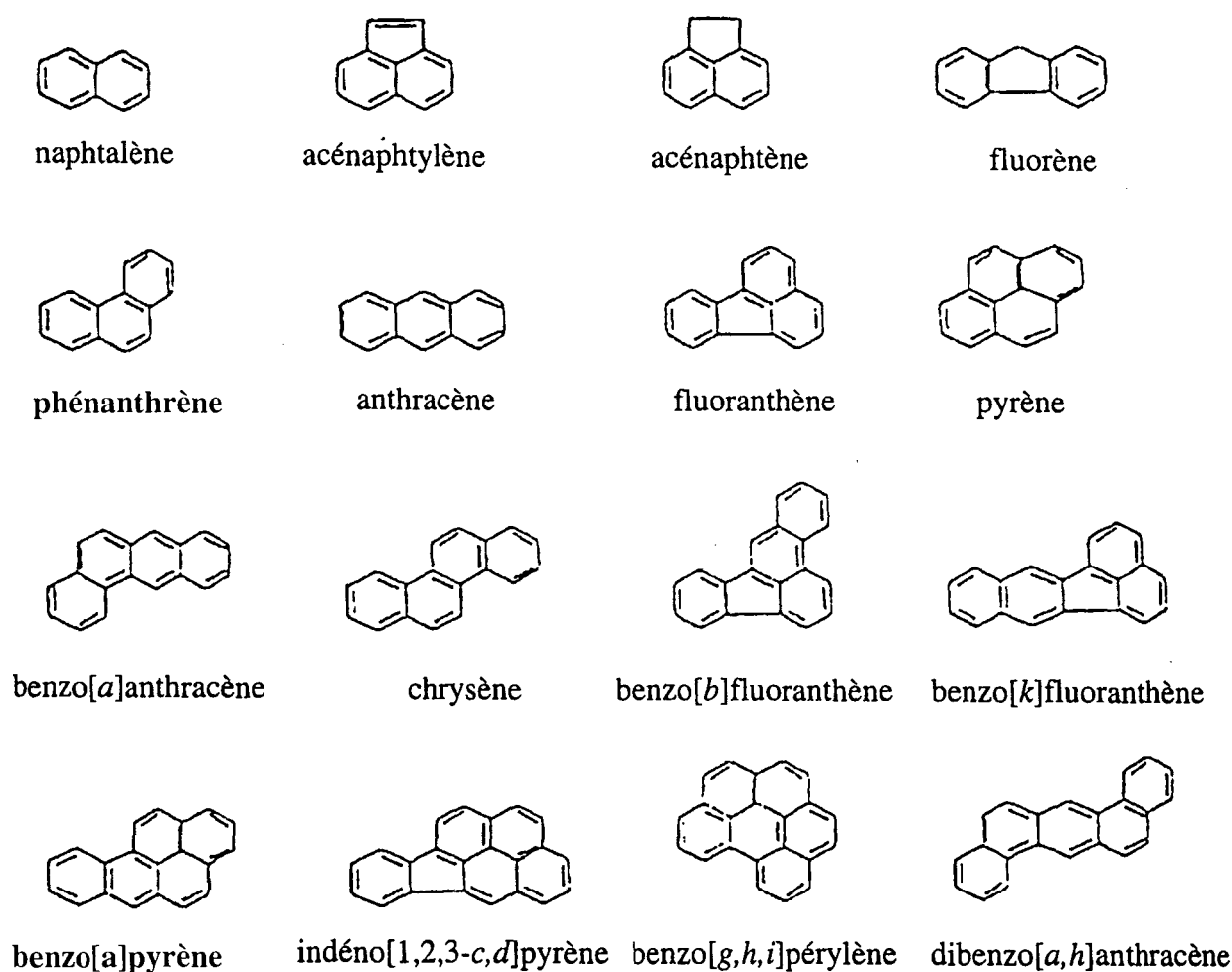
Les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et les dioxines sont définis comme des molécules organiques, lipophiles, relativement inertes et potentiellement toxiques. Leurs différentes caractéristiques sont abordées dans les paragraphes suivants.

1. Définitions et origines des micropolluants organiques lipophiles

1.1. Structure

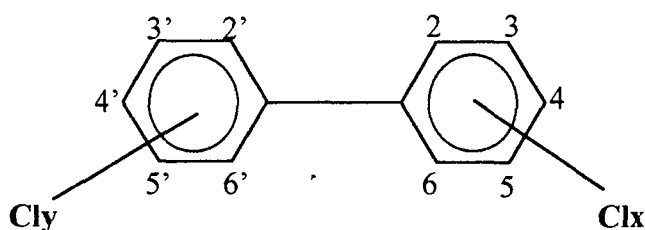
Les HAP et les dioxines représentent deux grandes familles de molécules dont le nombre de congénères détectés dans l'atmosphère est respectivement de plus d'une centaine et de 210 congénères. Seuls 16 HAP et 17 dioxines feront l'objet de cette synthèse bibliographique, le choix de cette restriction étant basé sur la toxicité potentielle de ces molécules pour l'homme (US EPA, 1990 ; Safe, 1998). Ces HAP sont exclusivement constitués d'atomes de carbone et d'hydrogène agencés sous forme de cycles aromatiques (Figure 1).

Figure 1 : Structure chimique des HAP



Le terme générique de «dioxines» réfère aux polychlorodibenzo-*para*-dioxines (PCDD) et polychlorodibenzofuranes (PCDF). Cependant, à ces deux types de composés, s'ajoutent certains PCB (PolyChloroBiphényls). Il s'agit des PCB co-planaires constitués d'un ou de plusieurs atomes de chlore en position non ortho sur leurs cycles aromatiques, ainsi que ceux portant un atome de chlore en position ortho, les mono-ortho (Figure 2, Fries, 1995a ; INSERM, 2000). Cette terminologie ne sera pas prise en compte durant la suite de la revue bibliographique.

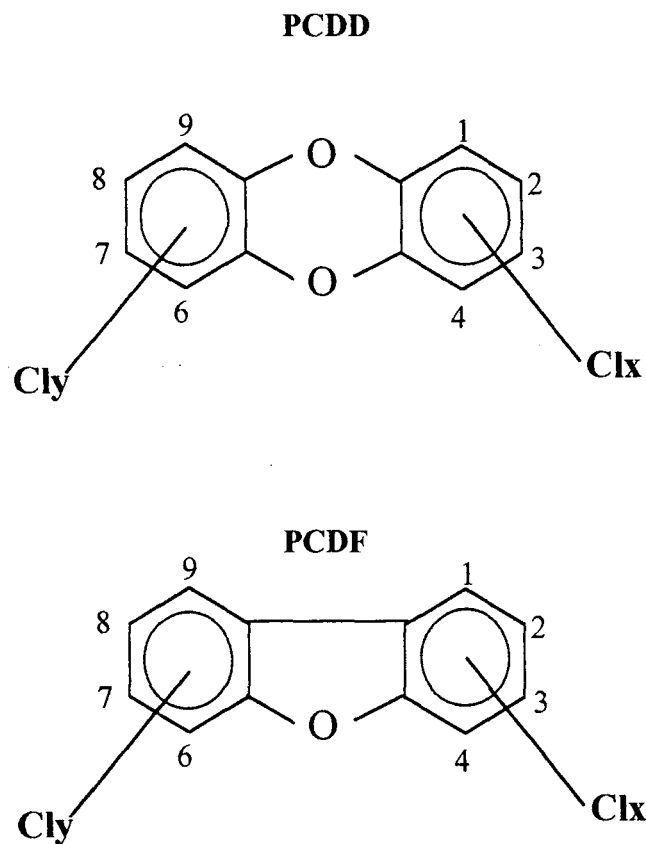
Figure 2 : Structure chimique des PCB



Les numéros représentent les éventuelles places des chlores
 Clx, Cly : atomes de chlore

Les 17 dioxines étudiées diffèrent, les unes des autres, principalement par le nombre et la position des atomes de chlore sur les 2 noyaux benzéniques. En effet, les 8 atomes de carbone, pour lesquels une liaison covalente est disponible, peuvent être occupés par des atomes d'hydrogène ou des atomes de chlore suivant le degré de chloration du composé (ADEME, 1997). De plus, une distinction peut être faite entre les PCDD et les PCDF : les PCDD appartiennent au groupe de la dibenzo-*para*-dioxine dont la structure renferme deux atomes d'oxygène formant un hétérocycle de type 1,4-dioxane. Les PCDF sont, quant à eux, rattachés au dibenzo[b-d]furane, dont la structure présente un enchaînement hétérocyclique ne comportant qu'un seul atome d'oxygène de type tétrahydrofurane (INSERM, 2000) (Figure 3). La dissymétrie du noyau furanique engendre un nombre plus important de congénères que celui des PCDD (135 PCDF et 75 PCDD).

Figure 3 : Structure chimique des PCDD/F



Les numéros représentent les éventuelles places des chlores
Clx, Cly : atomes de chlore

1.2. Origine des HAP et des dioxines

Les HAP et les dioxines résultent principalement de la combustion incomplète de matière organique. La contamination de l’environnement via ces molécules provient donc de procédés naturels ou anthropiques (Site Internet du Ministère de l’Agriculture et de la Pêche, 1999 ; Blumer, 1976). Les principales sources naturelles sont les feux de forêt et de prairie, les éruptions volcaniques et les fumées se dégageant de compost (Blumer, 1976 ; Bjorseth *et al.*, 1979 ; Baek *et al.*, 1991 , Ministère de l’Agriculture et de la Pêche, 1999 (Site Internet)). Une autre source naturelle importante dans la formation des HAP est la diagénèse géochimique à l’origine de la formation des pétroles (Rodriguez-Fernandez, 1995).

Cependant toutes ces contaminations naturelles ne sont pas conséquentes par rapport à celles d’origine anthropique (Baek *et al.*, 1991 ; Gribble, 1994 ; Ministère de l’Agriculture et de la Pêche, 1999 (Site Internet) ; Juhasz et Naidu, 2000) (Tableau 1).

Tableau 1 : Teneurs en HAP et en dioxines dans l’air ambiant en fonction des sources de contamination (IARC, 1997 ; IPCS, 1998)

Localisation	Teneur en HAP (ng/m ³)	Teneur en dioxines
Ville	1 à 30	0,02 à 0,4 pg I-TEQ/m ³
Industrie	1 à 10	0,146 à 2,186 pg I-TEQ/m ³
Ville + Industrie	200	0,0002 à 4,9 pg I-TEQ/m ³
Incinérateur	20 à 210 000	10 à 100 ng I-TEQ/m ³
Campagne	0,01 à 0,1	0,021 à 0,048 pg I-TEQ/m ³
Montagne	0,004 à 0,03	ND
Feu	ND	0,064 ng I-TEQ/m ³
Automobile	ND	
- essence sans plomb		9,8 pg/m ³
- super		141,5 pg/m ³
- diesel		1,2 pg/m ³

ND : Non déterminé

Selon les familles de molécules, les sources principales d'origine humaine diffèrent : les dioxines environnementales proviennent principalement des fumées des incinérateurs de déchets solides et hospitaliers tandis que les HAP seraient majoritairement formés suite aux procédés pétrogéniques et ceux pyrolytiques (Wakeham *et al.*, 1980 ; Neff, 1985 ; Freeman and Cattell, 1990 ; Moll, 1995).

La contamination de l'atmosphère en HAP et en dioxines provient essentiellement des émissions industrielles. Il est important de souligner que les taux atmosphériques demeurent relativement faibles (de l'ordre du ng/m^3 pour les HAP et du pg/m^3 pour les dioxines) exceptés lors d'un mauvais contrôle des rejets dans l'atmosphère d'origine anthropique cas pour lequel les concentrations peuvent atteindre quelques ng/m^3 pour les dioxines (Grochowalski et al., 1995).

2. Propriétés physico-chimiques spécifiques des HAP et des dioxines

Les HAP et les dioxines sont regroupés sous le terme générique de micropolluants organiques lipophiles, bien que les congénères des deux familles possèdent des propriétés physico-chimiques distinctes. Cependant, ces dernières demandent à être précisées dans la mesure où leurs données expérimentales sont rares (Sims et Overcash, 1983 ; Mackay *et al.*, 1991 ; Cerniglia, 1992 ; Wilson et Jones, 1993).

Les HAP sont sous forme solide à température ambiante. Ils se caractérisent par des températures de fusion et d'ébullition élevées, des faibles tensions de vapeur et des valeurs de solubilité aqueuse très peu élevée (Annexe 1). Parallèlement, les HAP sont fortement solubles dans des solvants organiques et apparaissent très lipophiles. Cependant quelques nuances doivent être émises en fonction du nombre de cycles aromatiques et de l'agencement spatial des molécules. En effet, la volatilité des HAP diminue lors d'une augmentation du nombre de cycles aromatiques fusionnés, les pressions de vapeur à 25°C s'échelonnant de 1.10^{-2} à 1.10^{-6} kPa (Wilson et Jones, 1993). Cette caractéristique a des répercussions sur le devenir de ces composés dans l'atmosphère : il a été démontré que les congénères de faible volatilité, donc associés à des particules, étaient moins exposés à des dégradations par photo-oxydation que les molécules gazeuses (Atkinson et Carter, 1984 ; Atkinson, 1991). La solubilité des molécules tend à évoluer en sens inverse de la lipophilicité en diminuant avec une augmentation du poids moléculaire (Wilson et Jones, 1993). Le naphthalène a une solubilité aqueuse de 32 mg/L à 25°C et une lipophilicité ($\log K_{ow}$) de l'ordre de 3,4 tandis que ces

mêmes paramètres pour le Benzo[g,l,i]pérylène sont de $2,6 \cdot 10^{-4}$ et de 7,1 mg/L à 25°C respectivement. La solubilité aqueuse et la lipophilicité des congénères des HAP influencent la persistance de ces molécules dans l'environnement (Blumer, 1976). En effet, les HAP peuvent être dégradés par photo-oxydation et oxydation chimique (Shiaris, 1989, Weissenfels *et al.*, 1992) mais les principaux mécanismes de dégradation des HAP seraient les réactions biologiques (Mueller *et al.*, 1990). La dégradation des HAP a été mise en évidence chez des micro-organismes (Cerniglia, 1992 ; Rodriguez-Fernandez, 1995; Juhasz et Naidu, 2000) mais également chez les animaux supérieurs (Van de Wiel *et al.*, 1992 ; Williams et Phillips, 2000). La principale différence est le degré de métabolisme : les micro-organismes sont dotés de complexes enzymatiques permettant l'ouverture des cycles benzéniques tandis que chez les mammifères la dégradation des HAP correspond généralement à l'ajout de groupements hydroxyles ou à des conjugaisons.

Les dioxines sont des molécules solides à température ambiante, peu ou pas volatiles (Annexe 2, Bildeman, 1988 ; IARC, 1997 ; D.G.A.L., 1998 ; Union Européenne, 1999). En effet, elles possèdent des pressions de vapeur de l'ordre de 0,2 à 3,3 Pa m^3/mol pour respectivement la 2,3,7,8-TCDD et l'OCDD (Eitzer et Hites, 1988). Leur faible volatilité rend négligeable leur dispersion sous forme gazeuse (INSERM, 2000) et donc leur dégradation par photo-oxydation atmosphérique. Ceci leur confère une certaine stabilité dans l'atmosphère. Les K_{ow} élevés pour ces molécules (s'échelonnant de 6,8 à 8,8 en fonction du degré de chloration du composé) permettent de classer les dioxines dans les molécules fortement lipophiles. Cette caractéristique physico-chimique leur permet de traverser les biomembranes cellulaires et de s'accumuler dans l'organisme (tissus adipeux), dans les cuticules des végétaux (Lorber *et al.*, 1994 ; Fries, 1995b ; Lohmann et Jones, 1998 ; Union Européenne, 1999). Contrairement aux HAP, les 17 dioxines étudiées sont des molécules fortement rémanentes dans tous les écosystèmes (les temps de demi-vie des dioxines chez l'homme sont compris entre 4 et 16 ans, Flesh-Janys *et al.*, 1996). Seuls quelques micro-organismes et certains animaux supérieurs sont aptes à les métaboliser (Wittich, 1998). Quatre voies principales de dégradation ont ainsi été démontrées pour les PCDD (Hu et Bunce, 1999)

- Hydroxylation à une ou plusieurs positions non substituées
- Hydroxylation à une position occupée par un atome de chlore
- Ouverture du cycle benzénique pour former un dihydroxydiphényl éther éventuellement suivie par une hydrolyse pour donner un cathécol.
- Oxydation avec migration d'un atome de chlore.

3. Caractères toxiques des micropolluants organiques lipophiles dans l'organisme humain

3.1. Définition de la toxicité des HAP et des dioxines et conséquences en terme de santé humaine

Le choix des micropolluants organiques lipophiles étudiés (16 HAP et 17 dioxines) est basé sur leur toxicité, toxicité démontrée suite à des multiples expérimentations et observations (Fries et Marrow, 1975 ; Keith et Teillard, 1979 ; Copper *et al.*, 1983 ; Ryan *et al.*, 1985 ; Wroblewski et Olson, 1985 ; Olson, 1986 ; Abraham *et al.*, 1989 a,b ; Neubert *et al.*, 1990 ; US EPA, 1990 ; Olling *et al.*, 1991 ; Belkin *et al.*, 1994 ; Olson *et al.*, 1994 ; DGAL, 1998 ; Bertazzi *et al.*, 1998). Ainsi de nombreux effets néfastes ont été observés dont principalement une augmentation de la fréquence de cancer chez les animaux exposés (Tableaux 2, 3).

Tableau 3 : Conséquences en terme de santé de la présence des HAP et des dioxines chez les hommes (Reid *et al.*, 1973 ; Autrup *et al.*, 1977 ; Bekesi et Holland, 1978 ; Rogan et Glaben, 1992 ; Zile, 1992 ; Rowat, 1999 ; Union Européenne, 1999 ; Juhasz et Naidu, 2000)

HAP	Dioxines
Sévères perturbations du métabolisme de la vitamine A	Formation et développement de cancers supposés lors de la présence de la 2,3,7,8-TCDD
Altération de la concentration en dopamine au niveau neurologique	Augmentation de la fréquence des diabètes et de la mortalité due à ces maladies
Retard cognitif et du développement moteur chez les enfants	Augmentation des maladies cardio-vasculaires
Modification du système immunitaire	Augmentation de la fatigue due à des insomnies
Diminutions du poids des nouveau-nés, du taux de croissance et du niveau d'activité des enfants	Douleurs musculaires
Perte de mémoire chez les enfants	Irritabilité
Augmentation des cancers avec l'âge des individus	Pertes de la libido
	Changement des perceptions sensorielles
	Augmentation de la fragilité et de la taille du foie
	Diminution de la vitesse de conduction nerveuse
	Diminution de la teneur en lipides du sérum sanguin

Tableau 2 : Effets néfastes des dioxines chez les animaux modèles (Kimbrough *et al.*, 1984)

Race Espèce	Age Sexe	Doses	Observations
Souris CF-1	6 à 15 jours de gestation	1µg ou 3µg 2,3,7,8-TCDD/kg de Poids corporel/jour	Chez les nouveaux nés : - augmentation des palais fendus - dilatation bilatérale des tissus rénaux pour les doses de 3µg
Rats Sprague Dawley	3 générations	0.1µg 2,3,7,8-TCDD/kg de Poids Corporel/jour 0.01 µg 2,3,7,8-TCDD/ kg de Poids corporel /jour	F ₀ diminution de la fertilité et de la survie néonatale. F ₁ de la survie néonatale Diminution de la fertilité pour les générations 1 et 2 Diminution de la taille des portées Diminution de la survie fœtale et néonatale Diminution de la croissance des animaux
Cochons Guinea Pig	adulte	40 ng de 2,3,7,8-TCDD /kg de poids corporel/semaine pendant 8 semaines	Diminution de la réaction d'hypersensibilité retardée
Souris C ₅₇ BL/6 J fh	Mâle de 4 semaines	2,86 et 1,43 µg 2,3,7,8-TCDD/kg de Poids corporel /jour pendant 4 semaines	Atrophie du thymus Pathologie du foie
Souris	3 à 4 semaines	15 µg 2,3,7,8-TCDD /kg de poids corporel/jour ou 50 µg 2,3,7,8-TCDD /kg de poids corporel /jour	Après 2 semaines de la dose finale de 2,3,7,8-TCDD, injection intraveineuse de 20µg d'endotoxine provenant d' <i>Escherichia Coli</i> . Après 48 h morts des souris La 2,3,7,8-TCDD augmente la sensibilité à cette toxine. Ceci est dose dépendante.
Rat Sprague Dawley	Mâle et femelle	0,1µg 2,3,7,8-TCDD /kg de Poids corporel/jour pendant 2 ans	Augmentation de la mortalité Diminution du gain de poids corporel Diminution des paramètres hématologiques Diminution des niveaux d'acide δ aminolévulinique et porphyrrique dans les urines Diminution des activités enzymatiques du sérum : Phosphatase alcaline Transférase γ glutamyl Transaminase acide glutamique– pyruvique Changement morphologique des tissus hépatique, lymphoïde, respiratoire, et vasculaire.

Cependant, les effets toxiques observés chez l'homme, jusqu'à présent, ne sont que la résultante entre la présence des micropolluants organiques dans l'environnement et d'autres facteurs non contrôlés. Ainsi le lien "cause/effet" n'est qu'hypothétique.

Suite à ces observations, et dans le but de diminuer les risques éventuels en terme de santé publique, des modèles mathématiques ont été mis en place. Le plus couramment utilisé découle du concept de TEQ pour Quantité d'Equivalence Toxique. Il permet d'estimer la toxicité d'une matrice renfermant plusieurs micropolluants organiques. Cette technique repose sur l'utilisation d'un intermédiaire, le Facteur d'Equivalent Toxique noté TEF. La valeur du TEF, propre à chaque molécule, provient d'une comparaison entre les conséquences néfastes engendrées par chaque congénère et ceux causés par une molécule de référence, la 2,3,7,8-TCDD pour les dioxines ou le benzo[a]pyrène pour les HAP (Nisbet et Lagoy, 1992 ; Moll 1995 ; Safe, 1998). La toxicité d'un mélange de congénères de dioxines, par exemple, se calcule de la manière suivante (DGAL, 1998) :

$$\text{TEQ} = [\sum(\text{PCDD}_i) \times \text{TEF}_i] + [\sum(\text{PCDF}_i) \times \text{TEF}_i]$$

Il en est de même pour les HAP. Les Doses Quotidiennes Tolérables (TDI) pour l'être humain représentent une application concrète de cette méthode mathématique (Tableau 4).

Tableau 4 : Relation entre l'exposition journalière (exprimée en pg I-TEQ/kg de poids corporel) et les conséquences en terme de santé humaine (INSERM, 2000)

Exposition journalière	Conséquences en terme de santé
Inférieure 1	Aucune conséquence
Entre 1 et 10 (à long terme)	Risque d'altération de la santé
Supérieur à 10 (à long terme)	Conséquences néfastes

L'Organisation Mondiale de la Santé, OMS (1999 cité par INSERM, 2000) a établi une TDI comprise entre 1 et 4 pg TEQ/kg de poids corporel/jour. L'US EPA a opté pour un niveau d'exposition maximale recommandée de 0,006 pg TEQ/kg de poids corporel/jour pour une durée de vie de 70 ans, le risque de développer un cancer étant sous ces conditions de 10^{-6} (Silbergeld, 1993).

Il est important de noter que les connaissances sur le pouvoir cancérigène des HAP sont beaucoup plus réduites que celles des dioxines. Par conséquent, les normes sur les teneurs maximales en HAP des aliments font défaut (Moll, 1995).

3.2. Mode d'action des dioxines et des HAP

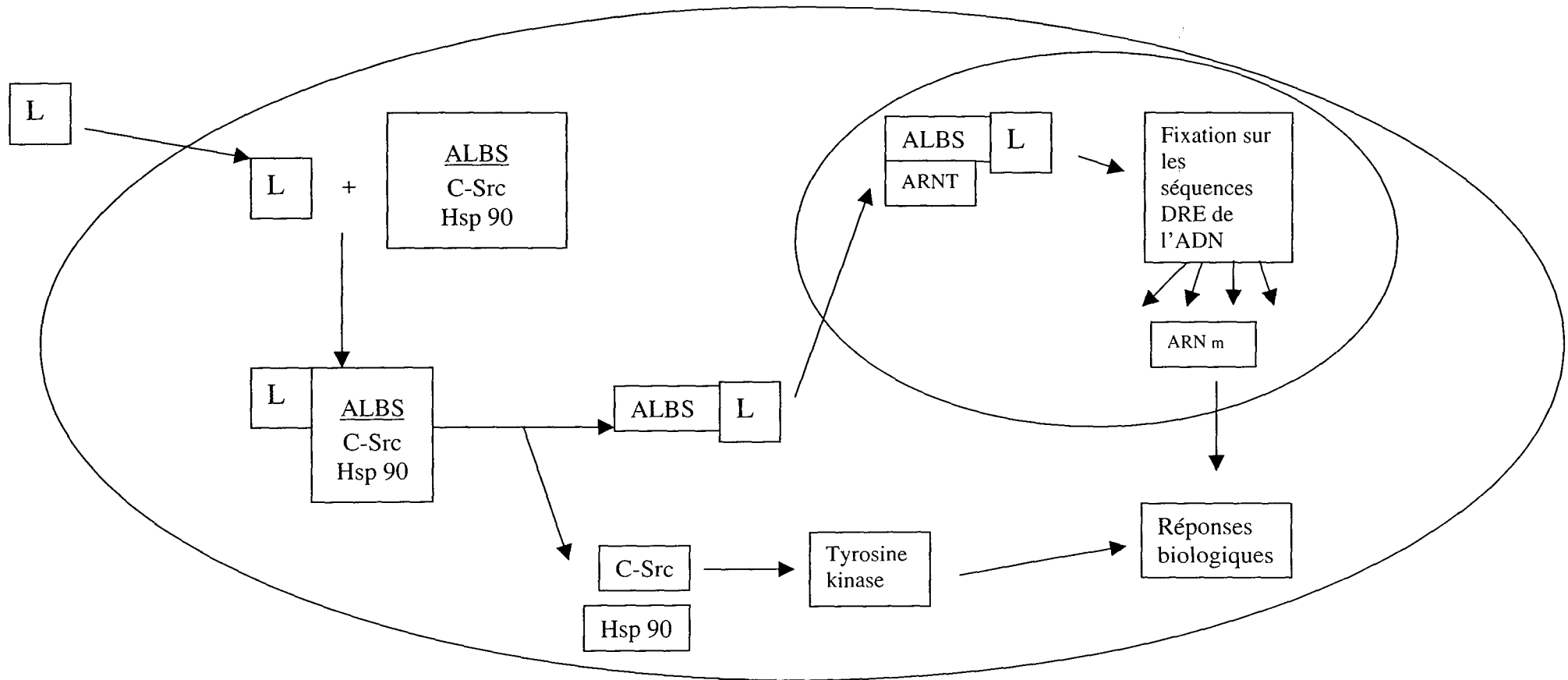
Les mécanismes d'action des dioxines et des HAP sont relativement semblables (Landers et Bunce, 1991 ; Okey *et al.*, 1994 ; Rowlands et Gustafsson, 1997 ; Hu et Bunce, 1999 ; Union Européenne, 1999 ; Pickering, 2000). Deux modes d'action peuvent être dégagés (Figure 4) :

- l'un modifiant la réplication du génome
- l'autre engendrant une perturbation des activités enzymatiques cytosoliques

Quel que soit le mécanisme d'action des micropolluants organiques, il semblerait que le premier intermédiaire de ces molécules dans le cytosol cellulaire soit le récepteur Ah pour aryl hydrocarbon, récepteur pouvant être complexé ou non à des protéines cytosoliques et présentant différentes formes alléliques. Ces différences alléliques, engendrant des affinités variables entre le récepteur Ah et les micropolluants pourraient en partie expliquer les sensibilités propres à chacun des êtres vivants. De plus, l'affinité stéréospécifique du récepteur Ah vis à vis des micropolluants permettrait de comprendre les différences de toxicité entre ces congénères. Contrairement aux dioxines, les HAP deviennent des molécules toxiques suite à des dégradations des formes parents. En effet, il a été clairement démontré que les diol-époxydes, formés lors du catabolisme de la région « baie » du benzo[a]pyrène par le système monooxygénase NADPH dépendante cytochrome P450, sont toxiques pour les cellules hôtes (Figure 5, Phillips, 1983 ; Rogan *et al.*, 1993 ; Moll, 1995 ; Beaune et Lorient, 2000).

Les HAP et les dioxines sont donc des micropolluants, engendrant des effets néfastes (multiples altérations de gènes, formation de métabolites toxiques) chez les organismes hôtes, et ce à des concentrations de type hormonal (Safe, 1998).

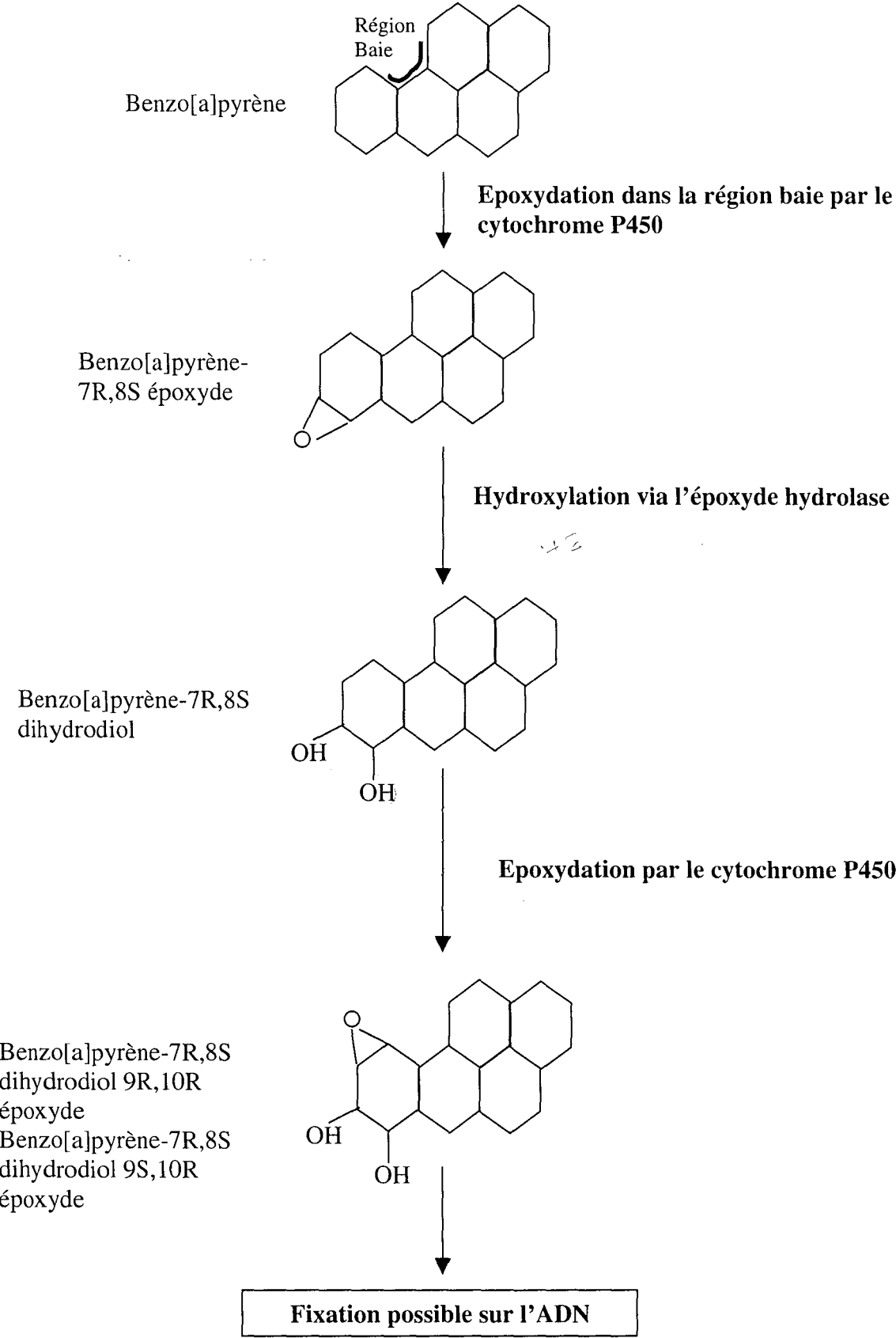
Figure 4 : Hypothèses pour le mécanisme d'action des dioxines au niveau cellulaire (Landers et Bunce, 1991 ; Okey *et al.*, 1994 ; Rowlands et Gustafsson, 1997 ; Pickering, 2000 ; Hu et Bunce, 1999 ; Union Européenne, 1999)



Légende : ALBS : sous unité du récepteur Ah liant les dioxines
Hsp 90 : protéine de choc thermique
C-Src : protéine de 60 kDa
L : ligand (dioxines)
ARNT : Ah receptor nuclear translocator
ARNm : ARN messenger

DRE : Élément de réponse des dioxines

Figure 5 : Dégradation et toxicité du benzo[a]pyrène dans la cellule : exemple du cancer du poumon (Moll, 1995)



II : Absorption des HAP et des dioxines chez le monogastrique

1. Importance de l'alimentation dans les voies d'exposition humaine aux micropolluants organiques lipophiles

Les hommes peuvent être exposés aux HAP et aux dioxines par l'inhalation d'air pollué, l'ingestion de produits liquides ou solides contaminés ou le contact cutané avec un sol riche en polluants organiques.

L'importance des voies de contamination est variable selon les deux familles de molécules étudiées. Pour les dioxines, de nombreuses études et enquêtes ont démontré que l'exposition humaine résultait, pour plus de 90 % de la contamination totale, d'ingestion d'aliment contaminé (McLachlan et Hutzinger, 1990a ; Theelen, 1991 ; Fries, 1995a,b ; Roeder *et al.*, 1998 ; Union Européenne, 1999 ; Tsutsumi *et al.*, 2001). Pour les HAP, il semblerait que le premier facteur de contamination soit l'inhalation d'air pollué (IARC, 1983 ; Waldman *et al.*, 1991 ; Ng *et al.*, 1992 ; Finley et Paustenbach, 1994 ; Staneck et Calabrese, 1995 ; Burratti *et al.*, 2000 ; Hollender *et al.*, 2000 ; Vyskocil *et al.*, 2000). Cependant, cette hiérarchisation peut être modulée en fonction du lieu d'habitation et des mœurs des individus. L'exemple le plus flagrant est donné par Lodovici *et al.* (1999). En effet ces chercheurs ont comparé l'exposition des Italiens, vivant en ville, suite à l'ingestion d'un repas à celle résultant de l'inhalation d'air pollué. Ils ont ainsi démontré que la prise d'HAP via le repas (3 µg/jour/personne) était 8 fois plus élevée que celle via l'air respiré. Il apparaît donc clairement que l'ingestion d'aliment contaminé peut être une voie d'exposition humaine non négligeable aux micropolluants organiques lipophiles (Phillips, 1999 ; Vyskocil *et al.*, 2000).

Les aliments contaminés par les dioxines sont principalement voire exclusivement les produits d'origine animale, les végétaux n'étant que très faiblement pollués (Annexe 3). Cette différence de contamination entre les produits des deux règnes peut s'expliquer de deux manières. D'une part, la grande majorité des espèces végétales sont incapables de prélever les dioxines dans le sol (réservoir en dioxines) via leur système racinaire et de les transporter, via la sève, vers les parties aériennes (Kew *et al.*, 1989). Une seule exception est connue à ce jour, les plantes de la famille des *cucurbitacées*. Lors d'une plantation sur un sol contaminé (à hauteur de 148 ng I-TEQ/ kg), les teneurs en dioxines détectées dans le végétal étaient de l'ordre de 20 ng I-TEQ/kg de matière sèche (Hülster *et al.*, 1994). Les végétaux sont donc pollués en dioxines majoritairement suite à un dépôt atmosphérique de ces molécules ou à des

éclaboussures de sol lors d'intempérie. La contamination n'est alors que superficielle et peut être dissipée par lavage. D'autre part, les différences de concentration en dioxines entre les deux origines de produit alimentaire peuvent être dues à des durées et des intensités d'exposition à ces molécules plus importantes pour les animaux que celles pour les végétaux : les poissons et crustacées filtrent quotidiennement de grosses quantités d'eau pour s'alimenter. Ceci se traduit par des teneurs en dioxines avoisinant les 25 pg I-TEQ/g de matière grasse (Annexe 3). Il est important également de rappeler que les dioxines sont des composés stables et persistants. Ainsi les molécules ne sont pas métabolisées et s'accumulent dans les tissus et autres matrices lipidiques de l'animal (Lorber *et al.*, 1994 ; Fries, 1995b, Lohmann et Jones, 1998 ; Ministère de l'agriculture et de la pêche, 1999 (site Internet)). Les autres produits d'origine animale (viande, lait et œuf) présentent des concentrations en dioxines inférieures à celles des poissons (de l'ordre de 1 pg I-TEQ/g de matière grasse, Tableau 5).

Tableau 5 : Teneur en HAP des produits alimentaires **crus** ($\mu\text{g/kg}$ de produit, Dennis *et al.*, 1983)

Congénères	Fruits et sucre	Céréales	Racine des végétaux	Parties aériennes des végétaux	Lait	Viande	Poisson
Fluoranthène	0,93	1,38	0,26	1,50	0,15	0,48	0,81
Pyrène	0,83	1,85	0,24	1,23	0,04	0,55	0,79
Benzo[a]anthracène	0,11	0,37	0,05	0,15	0,01	0,05	0,14
Chrysène	0,23	0,77	0,23	0,93	ND	0,15	0,65
Benzo[e]pyrène	0,03	0,22	0,02	0,10	ND	0,03	0,12
Benzo[b]fluoranthène	0,06	0,23	0,05	0,16	0,01	0,04	0,13
Benzo[k]fluoranthène	0,02	0,08	0,02	0,07	0,003	0,01	0,04
Benzo[a]pyrène	0,07	0,32	0,06	0,09	0,01	0,05	0,13
Benzo[g,h,i]pérylène	0,06	0,28	0,06	0,08	0,01	0,05	0,12
Dibenzo[a,h]anthracène	0,01	0,06	ND	0,01	ND	0,01	0,03
Indeno[1,2,3-c,d]pyrène	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

Cependant, fortement consommés en France, ces produits représentent chacun plus de 40 % de l'exposition quotidienne humaine contre seulement de l'ordre de 5 % pour les végétaux (Fürst *et al.*, 1990 ; Fürst *et al.*, 1992 ; Ministère de l'agriculture et de la pêche, 1999 (site Internet)).

Pour les teneurs en HAP des aliments, la distinction ne se fait pas selon l'origine (végétale ou animale) du produit mais selon l'application ou non de traitements technologiques. Parmi les aliments non manufacturés (crus), les aliments d'origine végétale sont plus fortement contaminés que ceux d'origine animale (Figure 6, Tableau 5). Cette forte contamination serait principalement due à la capacité des plantes à prélever les HAP du sol (Edwards, 1983) et à la synthèse éventuelle de nouveaux HAP chez certaines espèces végétales (Dennis *et al.*, 1983 ; Guillen *et al.*, 1997 ; Wagrowiki et Hites, 1997). La faible contamination des produits d'origine animale résulterait, en partie, de l'aptitude des animaux à métaboliser les HAP. Or, l'importance du métabolisme serait fonction des espèces animales : Meador *et al.* (1995) ont montré que les poissons, en général, possédaient une plus grande capacité à dégrader et donc à éliminer les HAP que les mollusques. Ainsi les mollusques sont des voies d'expositions plus importantes en HAP pour l'homme que les poissons.

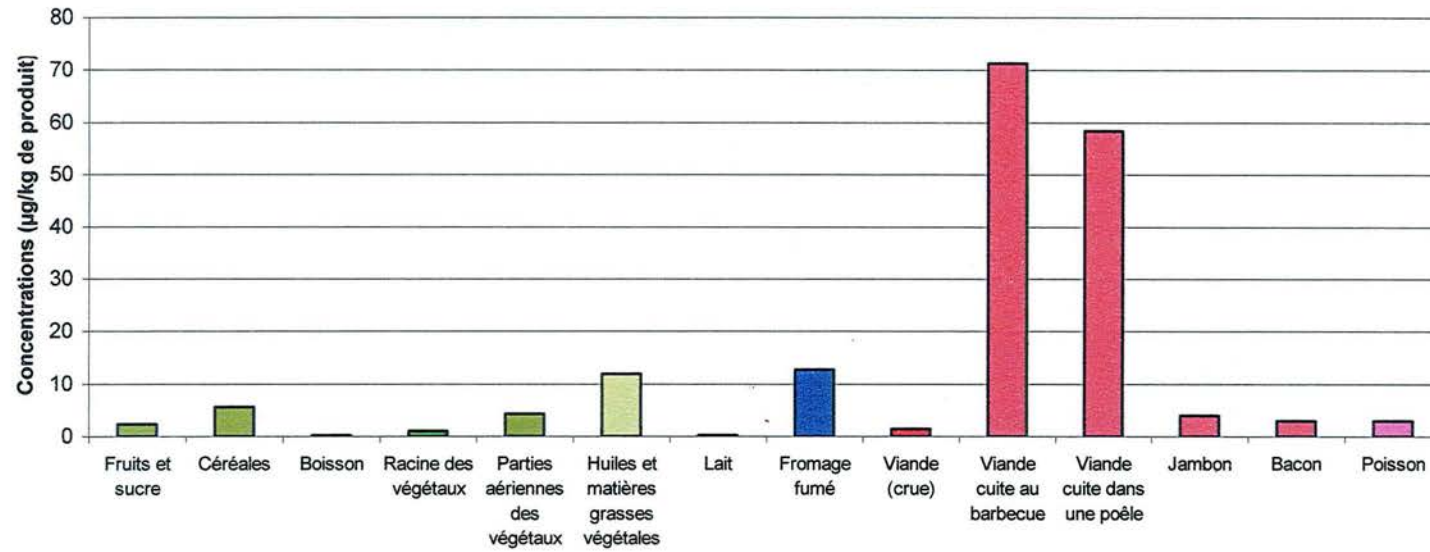
Pour les produits manufacturés, la tendance est inversée (Figure 6, Tableau 6) : les produits d'origine animale présentent des teneurs en HAP plus élevées que celles détectées dans les produits végétaux.

Tableau 6 : Concentration en HAP ($\mu\text{g/kg}$ de produit) des produits alimentaires manufacturés (Bartle, 1991)

Congénères	Fromage fumé	Jambon	Bacon	Viande cuite dans une poêle	Viande cuite au barbecue	Huiles et matières grasses végétales	Boisson
Fluoranthène	3,5	1,2	1,1	43	49	1,76	0,08
Pyrene	7,0	1,7	1,1	0,9	1,4	2,75	0,04
Benzo[a]anthracène	0,8	0,6	0,4	1,4	3,6	0,95	0,006
Chrysène	-	-	-	0,6	2,2	1,18	ND
Benzo[e]pyrène	-	-	-	-	-	1,10	ND
Benzo[b]fluoranthène	0,4	0,2	0,2	-	-	0,92	0,006
Benzo[k]fluoranthène	-	-	-	-	-	0,32	0,003
Benzo[a]pyrène	0,5	0,2	0,1	5,8	10,5	1,57	0,008
Benzo[g,h,i]pérylène	0,4	0,1	ND	6,7	4,7	1,26	0,01
Dibenzo[a,h]anthracène	0,1	ND	ND	-	-	0,06	ND
Indeno[1,2,3-c,d] pyrène	-	-	-	-	-	ND	ND

ND : Non Déterminé

Figure 6 : Contamination en HAP des différents aliments (Lodovici *et al.*,1995)



Ce phénomène est dû à une contamination ultérieure des produits, contamination via la combustion de bois, de matière grasse, processus engendrant la formation d'HAP (Howard et Fazio, 1980 ; Philipps, 1999). Ainsi, Panalaks (1976) a déterminé des teneurs de l'ordre de 164 $\mu\text{g/kg}$ dont 30 $\mu\text{g/kg}$ correspondait à la présence du benzo[a]pyrène lors de la cuisson de la viande au barbecue. Cependant, tous les procédés technologiques ne sont pas source de contamination : des teneurs plus élevées que celles des produits correspondants d'origine animale ont été déterminées dans les substituts végétaux du beurre et de la crème (Hopia *et al.*, 1986 ; Dennis *et al.*, 1991). Les huiles végétales sont, elles aussi, des voies de contamination humaine en HAP non négligeables (Moret et Conte, 2000) pouvant atteindre 23 $\mu\text{g/kg}$ d'huile (Hopia *et al.*, 1986). Ces forts taux s'expliquent par la nature lipophile du produit.

Enfin une autre source de contamination en dioxines et en HAP chez l'homme, très peu étudiée, est le conditionnement des produits alimentaires. En effet Rappe *et al.* (1990), Lafleur *et al.* (1990) et Fürst *et al.* (1993) ont rapporté que les dioxines peuvent migrer de l'emballage au produit : après 12 jours de stockage d'un lait dans des briques en carton, 6,7 % de la 2,3,7,8-TCDD ont migré de l'emballage au lait. Cependant, de nos jours, ces phénomènes sont quasiment inexistantes du fait des nombreux contrôles et de l'amélioration des matériaux disponibles (conférer la diminution des teneurs en dioxines dans le lait en fonction des emballages, Tableau 7).

Enfin ce paragraphe relate les voies d'exposition humaine aux micropolluants organiques et non la contamination des hommes par ces molécules. En effet, à aucun moment, les chercheurs cités précédemment n'ont déterminé la biodisponibilité des micropolluants organiques dans les différentes matrices alimentaires ou autres (la biodisponibilité correspondant à la fraction d'un composé disponible pour le métabolisme, le stockage ou l'excrétion ; Fries et Marrow, 1992). La hiérarchisation des voies d'exposition aux HAP et dioxines repose donc essentiellement sur les niveaux de pollution des différents produits consommés et les habitudes alimentaires.

Tableau 7 : Evolution de la contamination en dioxines des laits dans différents pays entre 1990 et 1995

Pays	Année	Concentration dans le lait (pg I-TEQ/g MG)	Commentaires	Références
Suède	Avant 1990	0,51-2,35 (N-TEQ)	Lait entier contenu dans un emballage carton	Ramos <i>et al.</i> (1997)
		0,46-1,74 (N-TEQ)	Lait entier contenu dans des bouteilles en verre	Ramos <i>et al.</i> (1997)
Angleterre	1990	1,50	Lait entier d'exploitation rurale	Harrisson <i>et al.</i> (1994)
Pays-Bas	1990	1,58	Lait entier d'exploitation rurale	Theelen <i>et al.</i> (1993)
Allemagne	1990	0,6-1,40	Lait entier d'exploitation rurale	Mayer (1995)
Suisse	1990-1991	0,98-1,32	Mélange de lait entier provenant de 9 laiteries	Ramos <i>et al.</i> (1997)
Suisse	1990-91	0,70-3,28	Lait entier d'exploitation rurale	Schmid et Schlatter (1992)
Allemagne	1993	0,8	Lait entier contenu dans des bouteilles en verre	Ramos <i>et al.</i> (1997)
Allemagne	1993	0,6-1,54	Lait entier d'exploitation	Lassek <i>et al.</i> (1993)
Espagne	1995	3,32	Lait entier d'exploitation à proximité d'un incinérateur	Ramos <i>et al.</i> (1997)
Espagne	1995	1,20	Lait entier d'exploitation à proximité d'une papeterie	Ramos <i>et al.</i> (1997)
Espagne	1995	2,27	Lait entier d'exploitation à proximité d'une usine métallurgique	Ramos <i>et al.</i> (1997)
Espagne	1995	3,50	Lait entier d'exploitation à proximité d'une usine chimique	Ramos <i>et al.</i> (1997)
Espagne	1995	1,87	Lait entier d'exploitation rurale	Ramos <i>et al.</i> (1997)
Espagne	1995-1996	0,67-2,47	Lait entier contenu dans des bouteilles en plastique	Ramos <i>et al.</i> (1997)

2. Lait et produits laitiers : sources de contamination en HAP et en dioxines

La filière a connu plusieurs crises récentes (listéria, ESB) et dernièrement les micropolluants organiques (Hallouin, Albertville) où le lait a été contaminé par l'émission de dioxines suite à un dysfonctionnement d'un incinérateur.

2.1. Teneurs et profils des HAP et des dioxines dans le lait

Pour les teneurs en HAP des laits, très peu de données sont disponibles dans la littérature. L'étude menée par Grova *et al.* (2000a) a démontré que les teneurs en HAP du lait variaient peu en fonction de la proximité ou non entre une source de pollution et l'exploitation laitière (Tableaux 6, 8).

Tableau 8 : Teneurs des laits en HAP en fonction de diverses sources de pollution (Grova, 2000b)

	Lait témoin (n=3)	Cimenterie (n=4)	Autoroute (n=5)	Multicontaminés (n=3)	Epandage de boues (n=7)
Naphtalène	6,3 ± 1,6	3,8 ± 2,9	8,3 ± 7,0	15,2 ± 1,6	4,8 ± 3,3
Acénaphtylène	0,8 ± 0,7	0,2 ± 0,4	0,4 ± 0,9	0,8 ± 0,7	0,3 ± 0,5
Acénaphène	0,3 ± 0,5	0,5 ± 1,0	0,8 ± 0,7	ND	0,2 ± 0,5
Fluorène	4,6 ± 2,8	16,1 ± 6,8	11,5 ± 6,7	7,7 ± 1,4	14,1 ± 7,7
Anthracène	1,5 ± 0,3	1,4 ± 0,3	1,4 ± 0,3	1,0 ± 0,3	1,4 ± 0,2
Fluoranthène	2,4 ± 0,4	2,3 ± 1,3	1,8 ± 0,5	1,3 ± 0,3	2,2 ± 0,7
Pyrène	2,4 ± 0,3	3,7 ± 2,9	2,7 ± 0,9	1,8 ± 0,5	2,9 ± 1,4
Benzo[a]anthracène	2,0 ± 0,3	2,2 ± 0,3	2,1 ± 0,1	1,9 ± 0,4	2,1 ± 0,1

ND : non déterminé

Parmi les 16 HAP toxiques, seuls 5 congénères ont été détectés dans le lait, à savoir le naphtalène, le phénanthrène, l'anthracène, le fluoranthène et le pyrène (Tableau 8, Grova,

2000b). Les molécules présentes ayant des pouvoirs toxiques peu élevés, le lait de vache n'engendrerait donc aucune conséquence nocive pour l'homme (Grova *et al.*, 2000a,b, Tableau 8, Annexe 1).

Trois hypothèses peuvent être formulées quant au profil des molécules dans le lait :

- les HAP de faible poids moléculaire sont présents dans l'environnement en plus fortes concentrations que les autres congénères, engendrant ainsi leur présence dans les produits d'origine animale
- seuls les HAP de faible poids moléculaire (nombre de cycles strictement inférieur à 5) peuvent franchir les barrières épithéliales intestinales et mammaires
- la différence entre le profil des HAP de l'environnement et celui du lait peut également résulter d'un métabolisme sélectif de ces molécules chez les ruminants laitiers

Une étude menée par Grova *et al.* (2003) a confirmé la première hypothèse sans exclure la seconde : la radioactivité associée au benzo[a]pyrène a été retrouvée dans le plasma sanguin (2 Bq/mL, au pic d'absorption) et à de très faibles pourcentages dans le lait (0,2 % de la dose administrée et 2,5 % de la dose absorbée) suite à l'ingestion unique de cette molécule marquée au [¹⁴C] chez des chèvres en lactation. Il semblerait aussi que la barrière épithéliale mammaire joue un rôle de filtre, ne laissant passer que des molécules de faible encombrement spatial (Cavret, 2002).

La contamination du lait en dioxines semble dépendre de nombreux facteurs qui peuvent être scindés en deux groupes :

- les facteurs environnementaux (dont la localisation des exploitations, la contamination en dioxines atmosphériques, la proximité ou non d'une source de contamination)
- les facteurs propres au système d'élevage (dont l'alimentation, la parité, le taux de renouvellement et l'état sanitaire du troupeau)

Plusieurs études ont porté sur la contamination du lait en dioxines en fonction de la présence ou non d'une source de pollution à proximité des exploitations laitières (Tableau 9) (Rappe *et al.*, 1987 ; Schmid et Schlatter, 1992 ; Eitzer, 1995 ; Harrison *et al.*, 1996 ; Hippelein *et al.*, 1996 ; Ramos *et al.*, 1997). Pour les laits provenant d'une exploitation rurale (dit lait "rural"), les teneurs en dioxines s'élèvent entre 1,3 et 2,5 pg I-TEQ/ g de matière grasse selon les pays

Tableau 9 : Teneurs (pg/g de matière grasse) en dioxines du lait de vache selon les lieux ou les sources d'exposition (Schmid et Schlatter, 1992 ; Ramos *et al.*, 1997 ; Hendriks *et al.*, 1996)

Lieu/ Source	2,3,7,8- TCDD	1,2,3,7,8- PeCDD	1,2,3,4,7,8- HxCDD	1,2,3,6,7,8- HxCDD	1,2,3,7,8,9- HxCDD	1,2,3,4,6,7,8 HpCDD	OCDD	I TEQ
Ind	ND	0,47±0,04	0,29±0,13	0,60±0,26	0,53±0,43	2,50±1,75	7,14±3,71	2,60±0,77
PP	0,55±0,19	0,38±0,20	80,0±14,0	0,60±0,45	0,94±0,37	1,32±0,77	5,18±0,43	1,46±0,56
WI	0,83±0,05	0,80±0,06	0,45±0,33	0,91±0,91	0,72±0,73	2,06±0,55	4,62±0,90	3,04±0,30
MP	0,71±0,16	1,04±0,95	0,75±0,51	1,47±0,86	0,96±0,40	1,43±1,03	4,22±2,16	3,34±1,07
Ch	0,86±0,08	0,42±0,06	0,45±0,27	0,6	0,98±0,90	0,89±0,46	5,52±2,35	2,76±1,04
Ru	0,54±0,25	0,67±0,53	0,32±0,27	0,57±0,22	0,86±0,77	1,50±0,55	6,17±3,58	1,72±0,69
Mont	ND	0,35±0,25	0,25±0,15	0,57±0,29	0,45±0,47	3,36±3,84	11,40±14,99	1,42±1,02
Lait s	ND	0,53±0,39	0,37±0,24	0,69±0,42	0,72±0,48	1,86±1,84	6,14±6,60	2,00±1,05

ND : non identifié
Ind : industrie
WI : Incinérateur de déchets municipaux
PP : papeterie
MP : industrie métallurgique
ChP : industrie chimique
Ru : zone rurale
Mont : montagne
Lait s : lait standard

Lieu/ Source	2,3,7,8 - TCDF	1,2,3,7,8- PeCDF	2,3,4,7,8- PeCDF	1,2,3,4,7,8- HxCDF	1,2,3,6,7,8- HxCDF	2,3,4,6,7,8- HxCDF	1,2,3,7,8,9- HxCDF	1,2,3,4,6,7,8- HpCDF	1,2,3,4,7,8,9- HpCDF	OCDF
Ind	0,43±0,21	0,18±0,09	2,00±0,92	1,36±1,23	0,80±0,43	0,88±0,62	0,11±0,09	1,69±1,93	0,27±0,34	1,12±1,44
PP	0,85±0,45	0,12±0,04	0,50±0,64	0,80±0,15	0,54±0,20	0,51±0,17	0,44±0,15	0,47±0,24	0,33±0,16	0,31±0,10
WI	0,60±0,59	0,19±0,15	1,53±1,02	1,66±1,21	1,19±0,30	1,68±0,82	0,43±0,68	0,67±0,15	0,45±0,57	0,33±0,19
MP	0,68±0,64	0,13±0,11	2,12±1,61	1,68±0,63	1,23±0,55	1,18±0,44	0,49±0,56	0,66±0,48	0,35±0,32	0,26±0,08
Ch	0,97±1,15	0,29±0,26	0,81±0,77	2,02±1,98	0,76±0,44	0,84±0,56	0,66±0,88	0,38±0,18	0,61±0,78	0,31±0,17
Ru	1,05±1,05	0,22±0,09	0,97±0,59	0,98±0,70	0,55±0,28	0,57±0,22	0,69±0,73	0,76±0,25	0,53±0,47	0,56±0,39
Mont	0,24±0,10	0,06±0,05	1,25±1,20	0,87±1,03	0,60±0,69	0,60±0,72	0,12±0,14	1,24±2,48	0,23±0,43	1,17±2,17
Lait s	0,66±0,56	0,16±0,10	1,27±0,93	1,20±0,88	0,71±0,45	0,78±0,56	0,38±0,39	0,88±1,27	0,38±0,34	0,63±1,06

avec une nette dominance des PCDD par rapport aux PCDF. Les teneurs plus élevées des PCDD par rapport aux PCDF du lait peuvent être expliquées de deux manières :

- les PCDD sont prédominants dans l'air ambiant (IARC, 1997)
- les PCDF sont des molécules moins persistantes que les PCDD.

Cette dernière suggestion a été formulée par de nombreux auteurs qui ont mis en évidence que certaines molécules (le 2,3,7,8-TCDF, le 1,2,3,7,8-PeCDF et la 1,2,3,7,8,9-HxCDF) étaient soit faiblement présentes soit inexistantes selon les laits (Tableau 9). Ainsi certains congénères des dioxines seraient davantage métabolisés par l'animal (Firestone *et al.*, 1979, Rappe *et al.*, 1987 ; McLachlan *et al.*, 1990 ; Olling *et al.*, 1991 ; Fries *et al.*, 1999). Pour les PCDD, les concentrations des congénères dans le lait croissent avec le nombre d'atomes de chlore portés par la molécule (Ramos *et al.*, 1997) : l'OCDD suivi par la 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD possèdent les plus fortes teneurs dans le lait comme cela était le cas dans l'air ambiant (Tableau 9). L'importance est toute autre lorsque les concentrations sont exprimées en I-TEQ pg/g de matière grasse, les molécules ayant les plus fortes teneurs sont alors le 2,3,4,7,8-PeCDF, le 1,2,3,7,8-PeCDD et la 2,3,7,8-TCDD, représentant, à elles trois, 75 % de la contamination totale du lait (McLachlan *et al.*, 1990 ; Tuinstra *et al.*, 1992 ; Ramos *et al.*, 1997).

Pour ce qui est de l'impact de sites industriels sur les teneurs en dioxines dans le lait, deux cas de figure se présentent :

- soit l'impact est nul (cas de la papeterie)
- soit un lien de cause à effet peut être suggéré (cas des incinérateurs, de la métallurgie et des entreprises chimiques)

Les entreprises étudiées étant réellement des sources de contamination environnementales, l'absence de dioxines dans les laits des fermes avoisinant des papeteries peut paraître surprenante. Les données bibliographiques n'étant pas suffisamment explicites quant à l'orientation respective des entreprises et des exploitations laitières par rapport à la rose des vents, une explication serait que les vents dominants ne balayent pas successivement ces deux sites.

L'incidence sur les teneurs en dioxines du lait à proximité d'une entreprise chimique, métallurgique ou d'un incinérateur se révèle être principalement une augmentation des teneurs de la 2,3,4,7,8-PeCDF, des 1,2,3,4,7,8-HxCDD/F, des 1,2,3,6,7,8-HxCDD/F, de la 2,3,4,6,7,8-HxCDF, et de la 2,3,7,8-TCDD (Tableau 9). Cependant aucun lien entre le profil

du lait et la nature de la source ne peut être établi dans la mesure où le nombre de données est relativement restreint.

L'ensemble des données bibliographiques recensées portant sur les teneurs en dioxines des laits met en évidence que, quelle que soit la source de pollution avoisinant l'exploitation, le lait peut être commercialisé, les concentrations en PCDD/F étant inférieures au seuil de non-commercialisation, soit 3 pg I-TEQ/g de matière grasse. Néanmoins, des valeurs atteignant les 20 pg/g de matière grasse (en moyenne) ont été déterminées dans le lait d'exploitations situés à un rayon de 5 km de l'incinérateur de Gilly sur Isère (en Savoie, 2001). Ce cas n'est pas isolé et fait souvent suite à un dysfonctionnement des unités de traitement. Inversement, avec le respect des normes, les concentrations détectées dans les laits de fermes situées à proximité d'un incinérateur sont identiques à des laits ruraux (Eitzer, 1995 ; Hippelein *et al.*, 1996).

Le second groupe de facteurs, modulant les teneurs en dioxines, est propre à l'animal. McLachlan (1995a) et Tuinstra *et al.* (1992) ont montré que, suite à l'arrêt d'ingestion de dioxines chez des vaches laitières, les concentrations en dioxines diminuaient au cours de la lactation, avec des teneurs maximales durant la période colostrale. De plus, Tuinstra *et al.* (1992) ont constaté que la disparition des dioxines dans le lait était d'autant plus rapide que le corps était appauvri en matière grasse. L'impact de ces différents facteurs sur les teneurs en dioxines du lait peut donc être relié à une seule et même cause, l'origine des lipides du lait au cours de la lactation. En effet, les lipides du lait proviennent soit d'une mobilisation des réserves corporelles de l'animal soit de l'alimentation. Durant les premières semaines après la mise-bas, les vaches laitières, ne parvenant pas à couvrir leurs besoins via l'alimentation, puisent dans leurs réserves corporelles. Plus tard dans la lactation, le phénomène inverse (apport nutritif en excès par rapport aux besoins) conduit à une prise de poids de l'animal (Jarrige, 1988 ; Thomas *et al.*, 1999). Ainsi le pic de concentration en dioxines observé durant la sécrétion du colostrum pourrait être la résultante de la contamination de la vache laitière durant sa phase d'engraissement, l'alimentation jouant un rôle croissant au cours de la lactation dans ce processus. Cette redistribution des lipides corporels à chaque lactation peut également être une explication des différences de concentration en dioxines entre les primipares et les multipares ingérant journallement des dioxines (de l'ordre de 3 pg/g de matière grasse, Vindel et Duhem, 1999).

Enfin, l'état sanitaire des vaches laitières module les teneurs en dioxines dans le lait. En effet, Fries *et al.* (1999) ont constaté une augmentation des concentrations en dioxines fortement chlorées lors d'infection de la glande mammaire. Ce phénomène peut être rapproché des

modifications structurales des cellules de la glande mammaire lors d'une mammite (c'est-à-dire lors d'une augmentation de la perméabilité des barrière épithéliales mammaires, permettant de ce fait le passage des constituants sanguins dans le lait dont les globules rouges, Fries *et al.*, 1999). Il semblerait que le passage des congénères de dioxines fortement chlorés serait limité au niveau de la barrière intestinale ou mammaire, phénomène précédemment observé pour les HAP de fort encombrement spatial.

En conclusions, les teneurs des dioxines dans le lait de tank peuvent être accrues par la présence d'une ou plusieurs sources de pollution à proximité de l'exploitation, par une grande proportion de primipares dans le troupeau. Il semblerait également que le lait provenant de vaches en début de lactation soit plus concentré en dioxines que celui de vaches proches du tarissement. La contamination du lait en dioxines apparaît donc comme le résultat de l'enchaînement de plusieurs paramètres (contamination de l'environnement, accumulation des micropolluants organiques dans l'organisme de la vache laitière, mobilisation de ces molécules au cours de la lactation). Cependant l'animal n'est pas neutre dans le transfert : une absence de similitudes entre les profils en dioxines des fumées d'un incinérateur et ceux du lait est constatée, une augmentation des teneurs en dioxines lors d'un état sanitaire médiocre (mammite) de la vache laitière a été observée. Plusieurs questions qui restent en suspens quant à la contamination du lait peuvent être regroupées ainsi :

- A quel niveau et par quel mécanisme s'effectue le transfert des dioxines de l'aliment au sang ?
- Quel est le devenir de ces molécules dans l'organisme ? (Métabolisme ? Stockage ?)
- Quel est le mécanisme d'absorption mammaire des dioxines ?

Ces questions pourraient être également formulées pour les HAP à condition de procéder à la détermination des teneurs en HAP dans le lait, car ce sujet a été peu étudié jusqu'à présent.

2.2. Teneurs et profils des dioxines dans les produits laitiers

La mesure de la contamination des différents produits laitiers a été réalisée suite à des enquêtes et analyses dans différents hypermarchés. Il semblerait que les traitements laitiers utilisés pour l'obtention de fromages, de yaourt et de dessert lacté ou de lait en poudre, n'influent pas sur les concentrations en dioxines des produits du lait (Fürst *et al.*, 1992 ; Fürst et Wilmers, 1995 ; DGAL, 1998 ; Ramos *et al.*, 1997, 1999a,b,c ; Malisch, 2000) :

- les teneurs dans les produits laitiers comprises entre 0,86 et 3,55 pg I-TEQ/g de matière grasse sont similaires à celle d'un lait standard, la teneur en dioxines de ce dernier étant de 2,14 pg I-TEQ/g de matière grasse (Annexe 4)
- les 17 congénères de dioxines peuvent être présents dans les produits laitiers (Tableau 10)
- les teneurs en PCDD augmentent en fonction du nombre d'atomes de chlore portés par les congénères
- aucune tendance n'est observée pour les PCDF

Cette similitude entre les produits laitiers et le lait laisse suggérer que la répartition de ces congénères dépend de celle de la matière grasse du lait, constituant très peu modifié lors des traitements technologiques (excepté lors de l'écémage). Ce résultat est cohérent avec les propriétés physico-chimiques des dioxines, molécules caractérisées par une grande stabilité thermique, et une très forte lipophilicité (Annexe 2) et les résultats de Ramos *et al.* (1998, 2000). Ces derniers ont démontré que les PCB, micropolluants organiques proches des dioxines de par leurs propriétés physico-chimiques, se trouvaient associées aux globules gras et plus précisément aux cholestérols, stérols retrouvés à la périphérie de cette structure complexe.

Le yaourt allégé a volontairement été écarté des autres produits laitiers. En effet, pour ce produit, de très faibles contaminations en dioxines étaient attendues du fait du taux de matière grasse réduit. Or la teneur moyenne (de 8 à 12 pg I-TEQ/g de matière grasse) et le profil des dioxines sont totalement différents de ceux d'un lait standard (teneur supérieure au lait et seulement 5 dioxines ont été détectées, Tableau 10). Le yaourt présentant des teneurs en dioxines proche de celles des autres produits laitiers, le traitement technologique employé lors de la fabrication de yaourt ne peut être mis en cause. De plus, lors d'un écémage partiel du lait, Durand *et al.* (2000) ont mis en évidence que les niveaux de contamination s'élèvent à 0,65 pg I-TEQ/g de matière grasse. Autrement dit, l'écémage ne peut être la cause des fortes teneurs en dioxines des yaourts allégés espagnols. Il semblerait donc que ces différences de contamination entre le yaourt allégé et le lait soient dues à l'origine des laits transformés. En effet, Ramos *et al.* (1999c) ont mis en évidence que, selon les échantillons, les profils varient énormément.

Tableau 10 : Teneurs et profils des produits laitiers en dioxines (concentrations exprimées en pg/g de matière grasse)

Référence	DGAL (1997)	Ramos <i>et al.</i> (1999b)	Ramos <i>et al.</i> (1997)	Ramos <i>et al.</i> (1999a)	Malisch <i>et al.</i> (2000)	DGAL (1996)	DGAL (1997)	Ramos <i>et al.</i> (1999c)	Ramos <i>et al.</i> (1999c)
Produit	Lait cru	Lait en poudre	Lait pasteurisé	Beurre	Beurre	Beurre	Dessert lacté	Yaourt	Yaourt allégé
2,3,7,8-TCDF	0,11	2,53	0,21	0,35	0,06	0,03	0	4,05	66,78
1,2,3,7,8-PeCDF	0,13	1,24	0,13	0,19	0,06	0,07	0,12	0,66	0
2,3,4,7,8-PeCDF	1,69	1,88	0,73	0,89	0,68	0,38	0,84	0,63	0
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,4	1,72	1,03	0,4	0,57	0,18	0,37	0,59	0
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,41	1,49	0,55	0,5	0,34	0,19	0,4	0,5	0
1,2,3,7,8,9-HxCDF	1,08	1,31	0,46	0,67	0	0,24	0,51	0	0
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,12	1,88	0	0,54	0,46	0,07	0,14	0,64	3,6
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	1,22	3,31	3,42	0,5	0,42	0,32	0,4	4,79	32,7
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,17	1,12	0,15	0	0,08	0,05	0,11	1,55	0
OCDF	2,95	16,4	2,53	0,49	0,48	0,68	6,2	0	0
2,3,7,8-TCDD	0,24	0,42	0	0,05	0,59	0	0,1	0	0
1,2,3,7,8-PeCDD	0,88	1,25	0	0,45	0,51	0,3	0,36	0	0
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,52	0,89	0,15	0,26	0,14	0,2	0,26	0	0
1,2,3,6,7,8-HxCDD	1,1	1,49	0,52	0,45	0,29	0,47	0,56	0	0
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,4	1,69	0,89	0,19	0,12	0,2	0,25	0	0
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	1,61	6,14	3,06	1,36	0,47	0,7	2,51	11,57	20,38
OCDD	10,73	90	37,78	6,54	0,72	1,28	9,44	82,48	553
Somme	23,76	134,73	51,61	13,83	5,94	5,36	22,57	107,46	676,46
PCDD	15,48	101,87	42,4	9,3	2,81	3,15	13,48	94,05	573,38
PCDF	8,28	32,87	9,21	4,53	3,13	2,21	9,09	13,41	103,08

2.3. Conclusion

Les dioxines et les HAP, formés suite à des combustions organiques incomplètes, sont ubiquitaires dans notre environnement. Ces molécules, en faible concentration dans l'atmosphère, tendent à s'accumuler le long de la chaîne trophique. A cela, s'ajoute une contamination suite à d'éventuels traitements technologiques et/ou de préparation des aliments. La principale voie de contamination des micropolluants organiques chez l'homme est l'alimentation. Le lait et les produits laitiers, occupant une grande place dans l'alimentation française et européenne, sont responsables de plus de 40 % de l'exposition humaine quotidienne en dioxines. Cette forte exposition s'explique par un transfert des dioxines (de l'ordre de 15 %, toutes molécules confondues) de l'aliment au lait chez les vaches laitières en lactation, et par un faible impact des traitements technologiques sur les teneurs en dioxines du lait (à l'exception de l'écémage, traitement pour lequel les résultats sont à confirmer).

Afin d'évaluer le transfert des dioxines et des HAP du lait et des produits laitiers dans l'organisme humain, il est nécessaire d'approfondir les données de contamination du lait en identifiant les micropolluants organiques lipophiles présents dans cette matrice alimentaire (molécules mères/métabolites) ainsi que les interactions existant entre ces molécules et les constituants du lait.

3. Absorption intestinale des molécules liposolubles

L'absorption des dioxines et des HAP au niveau du tractus gastro-intestinal fluctue énormément selon l'espèce animale étudiée ainsi que les doses ingérées, les matrices vecteurs utilisées et les molécules analysées (Tableaux 11, 12). En effet, ces différents paramètres peuvent influencer sur les étapes de l'absorption à savoir :

- la solubilisation micellaire des aliments lipophiles ingérés (le lumen étant un milieu aqueux)
- le transfert du milieu extracellulaire vers le milieu intracellulaire des molécules
- le devenir des composants dans le cytoplasme des entérocytes
- leur excrétion dans le sang

Tableau 11 : Absorption des dioxines chez les monogastriques

Animal	Molécule	Voie d'exposition	Matrice	Dose administrée (mg)	Absorption	Mode d'analyse	Remarques	Référence
Rat	2,3,7,8-TCDD	Orale	Huile	200 à 10000	70 à 85%	Bilan	Ingestion chronique	Allen <i>et al.</i> (1975) ; Piper <i>et al.</i> (1973) ; Rose <i>et al.</i> (1976)
Rat	2,3,7,8-TCDD	Orale	Repas classique	100 ou 280	50 à 60%	Bilan	Ingestion chronique	Fries et Marrow (1975)
Rat	2,3,7,8-TCDD	Injection duodénale	Huile de Maïs	2576	31,2% (dont respectivement 31±2,3 % et 0,2±0,06 %)	Lymphes + sang	Analyse sur 24 heures	Lakshmanan <i>et al.</i> (1986)
Rat	2,3,7,8-TCDD	Injection duodénale	Huile de Maïs	2576	68%	Fèces	Analyse sur 24 heures	Lakshmanan <i>et al.</i> (1986)
Rat	2,3,7,8-TCDD	Orale	Ethanol/emulphor/eau	49262	88±1,7%	Bilan	Analyse sur 3 jours	Diliberto <i>et al.</i> (1996)
Rat	2,3,7,8-TCDF	Orale	Huile végétale / éthanol (1/1)	6440 à 64400	90%	Sang		Birnbaum <i>et al.</i> (1980)
Rat	1,2,3,7,8-PeCDF	Orale		19300	19 à 71%		Analyse sur 2 jours	Wacker <i>et al.</i> (1986) cités par Van den Berg (1994)
Rat	2,3,4,7,8-PeCDF	Orale		6440 à 64400	70 à 85%		25 et 72 heures après ingestion	Brewster et Birnbaum (1987) ; Kamimura <i>et al.</i> (1988) ; Yoshimura <i>et al.</i> (1986) cités par Van den Berg (1994)
Rat	OCDD	Orale	Mélange avec de l'o-dichlorobenzène (500µg/mL)	10000 à 10000000	De l'ordre de 10%	Fèces	Analyse sur 3 jours	Birnbaum et Couture (1988)
Homme adulte	PCDD/F	Orale	repas classique		10 à 63%	Fèces	Estimation de la contamination des aliments	Rohde <i>et al.</i> (1999)
Nourrisson	PCDD/F	Orale	lait maternel		Avoisinant les 100%	Fèces	Estimation de la contamination du lait maternel	Jodicke <i>et al.</i> (1992) ; Körner <i>et al.</i> (1993) ; McLachlan (1993) ; Pluim <i>et al.</i> (1993) ; Abraham <i>et al.</i> (1994) ; Dahl <i>et al.</i> (1995)

Tableau 12 : Absorption des HAP chez le rat

Molécule	Voie d'exposition	Matrice	Dose administrée (mg)	Absorption (%)	Mode d'analyse	Référence
Acénaphthène	Orale	ration	715	94	Fèces	Chang (1943)
Anthracène	Orale	ration	830	16	Fèces	Chang (1943)
Anthracène	Orale	ration	605	18	Fèces	Chang (1943)
Anthracène	Orale	ration	270	47	Fèces	Chang (1943)
Anthracène	Orale	huile d'olive + 0.5mL bile	1	75.77	Bile	Rahman et Barrowman (1986)
Anthracène	Orale	huile d'olive	1	53.65	Bile	Rahman et Barrowman (1986)
Benzo[a]anthracène	Orale	huile d'olive	22,8	93.90	Fèces	Modica <i>et al.</i> (1983)
Benzo[a]pyrène	Orale	ration	525	56	Fèces	Chang (1943)
Benzo[a]pyrène	Orale	ration	400	56	Fèces	Chang (1943)
Benzo[a]pyrène	Orale	ration	480	62	Fèces	Chang (1943)
Benzo[a]pyrène	Orale	ration	0.0000005	15,7±4.3	Bile	Stravic et Klassen (1994)
Benzo[a]pyrène	Orale	ration + 0,5% de charbon	0.0000005	3,1±1,8	Bile	Stravic et Klassen (1994)
Benzo[a]pyrène	Orale	ration + 0.1% de charbon	0.0000005	9,2±3,6	Bile	Stravic et Klassen (1994)
Benzo[a]pyrène	Orale	ration + 2% acide chlorogénique	0.0000005	13,2±4,3	Bile	Stravic et Klassen (1994)
Benzo[a]pyrène	Orale	huile d'olive + 0,5mL bile	1	30,5	Bile	Rahman et Barrowman (1986)
Benzo[a]pyrène	Orale	huile d'olive	1	7,0	Bile	Rahman et Barrowman (1986)
Benzo[a]pyrène	Orale	huile d'olive (50µmol)	0,1	20.0±2,6	Bilan	Laher <i>et al.</i> (1984)
Benzo[a]pyrène	Orale	huile d'olive (500µmol)	0,1	17,0±1,0	Bilan	Laher <i>et al.</i> (1984)
Chrysène	Orale	ration	850	19	Fèces	Chang (1943)
Chrysène	Orale	ration	920	28	Fèces	Chang (1943)
Chrysène	Orale	ration	440	15	Fèces	Chang (1943)
Chrysène	Orale	ration	320	36	Fèces	Chang (1943)
Chrysène	Orale	huile d'olive	22,8	62,40	Fèces	Modica <i>et al.</i> (1983)
Naphtalène	Orale	ration	535	100	Fèces	Chang (1943)
Naphtalène	Orale	ration	770	100	Fèces	Chang (1943)
Phénanthrène	Orale	huile de maïs	3,25	90	Urine	Chu <i>et al.</i> (1992)
Phénanthrène	Orale	éthanol	0,07	72,20	Fèces	Kadry <i>et al.</i> (1995)
Phénanthrène	Orale	Sol sableux (0,5g)	0,07	76,20	Fèces	Kadry <i>et al.</i> (1995)
Phénanthrène	Orale	Sol argileux (0,5g)	0,07	77,90	Fèces	Kadry <i>et al.</i> (1995)
Phénanthrène	Orale	ration	720	94	Fèces	Chang (1943)
Phénanthrène	Orale	ration	635	96	Fèces	Chang (1943)
phénanthrène	Orale	huile d'olive + 0,5mL bile	1	72,74	Bile	Rahman et Barrowman (1986)
phénanthrène	Orale	huile d'olive	1	70,32	Bile	Rahman et Barrowman (1986)
Pyrène	Orale	Emulphore + eau physiologique	4 mg/kg	84	Sang	Withey <i>et al.</i> (1991)
Pyrène	Orale	Emulphore + eau physiologique	15 mg/kg	74	Sang	Withey <i>et al.</i> (1991)
Pyrène	Orale	Emulphore + eau physiologique	4 mg/kg	54	Sang	Withey <i>et al.</i> (1991)
Pyrène	Orale	Emulphore + eau physiologique	15 mg/kg	72	Sang	Withey <i>et al.</i> (1991)

3.1. Solubilisation micellaire des HAP et des dioxines

3.1.1. Mécanisme général

Généralement, l'absorption des molécules lipophiles débute par la solubilisation des composés, étape cruciale qui permet le franchissement de la barrière aqueuse bordant la membrane en brosse des cellules intestinales. La solubilisation des composés lipophiles correspond à l'incorporation de ces molécules dans des micelles de sels biliaires donnant ainsi des micelles biliaires mixtes. Cette étape succède à l'étape de digestion dont la finalité est l'obtention de composés lipophiles sous forme simplifiée (par exemple, les triglycérides, composants principaux de la matière grasse des aliments, sont hydrolysés par des complexes enzymatiques pancréatiques et intestinaux en monoglycérides et en acides gras libres, Holm *et al.*, 2001 ; Ramirez *et al.*, 2001). Compte tenu des caractéristiques physico-chimiques des HAP et des dioxines, la première étape du mécanisme d'absorption de ces micropolluants organiques pourrait être la solubilisation dans les micelles biliaires. Cependant, le naphthalène, l'acénaphthylène, l'acénaphthène, le fluorène et le phénanthrène (HAP de 2 et 3 cycles aromatiques et de solubilité importante) n'auraient pas besoin d'intermédiaire pour franchir la barrière aqueuse (Rahman *et al.*, 1986). Pour l'absorption du pyrène, les données bibliographiques sont contradictoires. En effet, Withey *et al.* (1991) ont montré que le pyrène était absorbé à des taux avoisinant 60 % de la dose administrée dans une solution saline, laissant ainsi suggérer un passage intestinal de cette molécule sans sels biliaires alors que Mitchell et Tu (1979) tendent à démontrer le phénomène inverse.

Si le mécanisme d'absorption des micropolluants organiques semble fonction des congénères étudiés, la solubilisation micellaire des congénères est le cas le plus fréquent.

3.1.2. Facteurs modulant la solubilisation micellaire des micropolluants organiques

Des études *in vitro* ont montré qu'en absence de produits lipolytiques (c'est-à-dire en absence de micelles biliaires mixtes), les HAP et autres composés lipophiles étaient faiblement solubles dans les micelles biliaires et donc faiblement incorporés dans ces structures amphiphiles (Laher et Barrowman, 1983). Inversement, ces molécules sont fortement solubles dans les micelles biliaires mixtes (Laher et Barrowman, 1983 ; Rahman et Barrowman, 1986 ;

Hack et Sélenka, 1996). Cependant cette solubilité micellaire semble être fonction de la lipophilicité : Wittsiepe *et al.* (2001) ont démontré *in vitro* que l'OCDD était moins soluble que la 2,3,7,8-TCDD. De même, la solubilisation micellaire des dioxines et des HAP dépend des concentrations luminales en sels biliaires (Laher et Barrowman, 1983) et de matrice vecteur fournissant des produits lipolytiques ou des solvants organiques. Ces deux facteurs favorisent l'absorption des micropolluants organiques à des degrés plus ou moins élevés selon les congénères (Fries et Marrow, 1975 ; Rose *et al.*, 1976 ; Rahman et Barrowman, 1986 ; Laher *et al.*, 1984 ; van den Berg *et al.*, 1994 ; Hack et Selenka, 1996 ; Moser et McLachlan, 2002). Ceci se traduit chez le rat par des taux d'absorption de la 2,3,7,8-TCDD de l'ordre de 85 % lorsqu'elle est véhiculée dans de l'huile et de 50 % lorsque la matrice utilisée est du sol (Tableau 11). Tous les produits lipolytiques n'ont, cependant, pas la même capacité à solubiliser les micropolluants organiques. En effet, des différences de solubilisation micellaire des dioxines et surtout des HAP ont été démontrées suivant la composition des acides gras des aliments. Palin *et al.* (1982) et Laher *et al.* (1983) ont mis en évidence que la présence de glycérides composés d'acides gras à longue chaîne hydrocarbonée dans le lumen, en comparaison avec les glycérides constitués de chaîne moyenne, maximisait la solubilisation micellaire du diméthyl-benzo[a]anthracène. Il en est de même pour les HAP en général. Ainsi, le lait constitué principalement d'acides gras à longue chaîne (Tableau 13) paraît être un bon vecteur pour le transfert des HAP et des dioxines de l'aliment à l'organisme.

Tableau 13 : Composition de la matière grasse du lait (Chilliard *et al.*, 2001)

Acides gras	Sécrétion des acides gras (g/L)
C4	27
C6+C8	34
C10+C12	65
C14	109
C16	285
C18	80
C18:1	187
C18:2	22
Composition en acides gras (% pondéral)	
C6 à C14	23,6
C16	32,4
C18	8,5
C18:1	20,2

Ceci est d'ailleurs conforté par les forts taux d'absorption des dioxines retrouvés chez les nourrissons (Jödicke *et al.*, 1992 ; Körner *et al.*, 1993 ; McLachlan, 1993 ; Pluim *et al.*, 1993 ; Abraham *et al.*, 1994 ; Dalh *et al.*, 1995).

Enfin, le dernier paramètre influençant la solubilisation micellaire des micropolluants organiques est l'affinité entre les constituants de la matrice et les xénobiotiques. En effet, Morita *et al.* (1999) et Morita et Nakano (2002) ont comparé l'excrétion fécale de la 2,3,7,8-TCDD suite à une ingestion d'une ration enrichie en huile contaminée avec ou sans *Chlorella* (algue unicellulaire verte) chez des rats. Ils ont ainsi mis en évidence que la présence d'algue verte dans l'alimentation des rats favorisait l'excrétion fécale des dioxines (augmentation de 0,8 à 5,6 % de la dose ingérée pour les PCDD et de 0,9 à 11,1 % de la dose ingérée pour les PCDF) (Figure 7). Cette élévation des teneurs en dioxines dans les fèces lors d'ajout d'algue verte peut s'expliquer par la composition de la *Chlorella* en relation avec la présence de chlorophylle et de fibres, constituants non absorbés par les monogastriques. Des résultats similaires ont été observés pour les HAP suite à l'ingestion d'acide ellagique, de polyphénols (Stravic et Klassen, 1994), de sols riches en matière organique (Kadry *et al.* 1995 ; Hack et Selenka, 1996 ; Van Schooten *et al.* 1997) et de carbone (Stravic et Klassen, 1994).

La solubilisation micellaire des dioxines et des HAP semble être un facteur clef dans le processus d'absorption de ces molécules, excepté pour certains HAP composés de 2 à 3 cycles aromatiques et de solubilité aqueuse importante pour cette famille de congénères. Elle dépend de nombreux facteurs tels que :

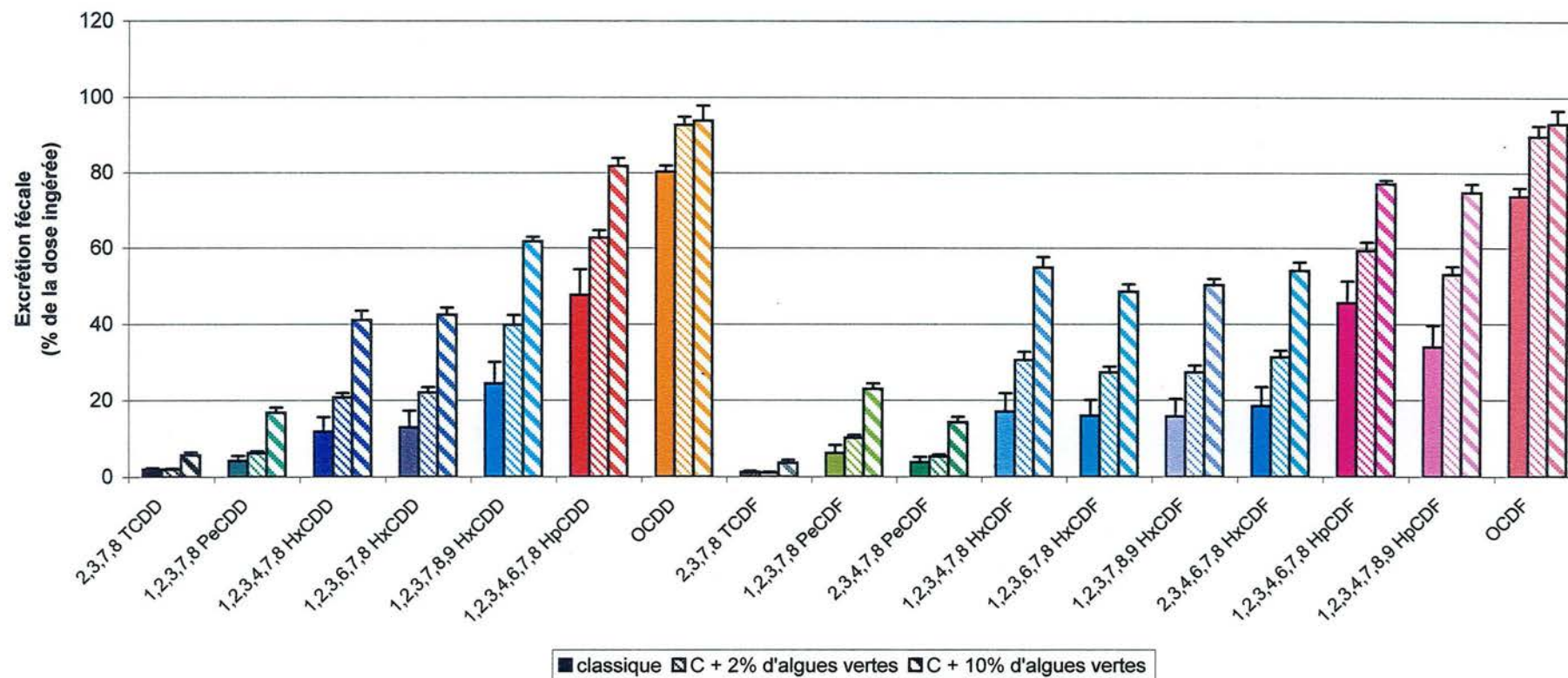
- les congénères eux-mêmes (lipophilicité)
- la teneur en acides biliaires au niveau de l'intestin grêle
- la composition des matrices vecteur dont la teneur et la composition de la matière grasse et les autres constituants matriciels (fibres, particules...)

3.2. Transfert à travers la membrane cellulaire

3.2.1. Mécanisme général

Les produits de la lipolyse et autres composants de même caractéristique suite à leur solubilisation micellaire pénètrent en forte concentration dans la barrière aqueuse bordant la

Figure 7 : Excrétion fécale des dioxines suite à l'ingestion d'un repas classique contaminé et enrichi plus ou moins en algues vertes chez des rats (Morita et Nakano, 2002)



C : repas classique

membrane en brosse des entérocytes. D'après Thomson *et al.* (1993), l'acidité régnant au niveau de la fine couche aqueuse favorise la dissociation des micelles mixtes et conduit ainsi à la libération massive de monomères liposolubles à proximité de la membrane en brosse. S'ensuit alors le passage des molécules liposolubles du lumen vers le cytoplasme des entérocytes (ce passage pouvant être un mécanisme passif, facilité ou actif) (Herrmann *et al.*, 1990). Contrairement aux caractéristiques physico-chimiques de la membrane des entérocytes (grande viscosité et point de fusion très élevé, Brasidus et Schachter, 1980), qui laisseraient supposer que tout passage fait appel à des mécanismes actifs, l'hypothèse communément acceptée quant au transfert des micropolluants organiques du lumen vers le cytoplasme des cellules intestinales est que le mécanisme s'effectue selon une diffusion passive (du milieu le plus concentré vers celui le moins concentré, Rees *et al.*, 1971 ; van Veld, 1990). Cette hypothèse est renforcée par le fait qu'*in vitro*, l'ajout ou non de molécules inhibant les transporteurs membranaires ne modifie pas le passage de ces composés lipophiles (Cavret, 2002).

3.2.2. Facteurs modulant le transfert des micropolluants organiques à travers la membrane cellulaire

Le premier paramètre modifiant le passage des HAP et des dioxines dans les entérocytes est le devenir cellulaire de ces molécules. En supposant que l'absorption des dioxines se fasse selon une diffusion passive, cela impliquerait que les concentrations extracellulaires doivent être plus élevées que celles intracellulaires, et donc une délocalisation des micropolluants organiques au niveau de la membrane intracellulaire (facteur plus amplement développé par la suite).

Le second paramètre clef lors du transfert des molécules vers le cytoplasme cellulaire est lié aux caractéristiques physico-chimiques des molécules. Les deux hypothèses suivantes sont avancées. Gobas *et al.* (1988), McLachlan (1994) et Moser et McLachlan (1999) suggèrent que l'absorption des molécules est fonction de la lipophilicité des congénères, paramètre limitant au niveau de la barrière aqueuse après dissociation des micelles biliaires mixtes : McLachlan (1994) démontre que le taux d'absorption des contaminants hydrophobes est de l'ordre de 80 % de la dose administrée pour toutes les molécules ayant des log Kow inférieurs à 6,5. Lorsque cette valeur est dépassée, le taux d'absorption diminue rapidement pour atteindre des valeurs inférieures à 10 % pour des molécules ayant des log Kow de 8. Ceci se

traduit pour les dioxines par des taux d'absorption de moins en moins élevés avec une augmentation du degré de chloration chez le rat (Tableau 11), chez le hamster (van den Berg *et al.*, 1986) et chez le poisson (Opperhuizen *et al.*, 1985 ; Gobas *et al.*, 1988). La seconde hypothèse est relative à l'encombrement spatial des molécules, limitant ainsi l'incorporation membranaire des molécules : toute molécule ayant un volume supérieur à 0,25 nm³ serait faiblement absorbée. Cependant cette relation à elle seule n'est pas suffisante. En effet l'encombrement sphérique de l'anthracène (1,57), exprimé via le ratio longueur/ largeur, est plus élevé que celui du benzo[a]pyrène (1,50) or cette molécule admet un taux d'absorption 3 fois plus élevé que celui déterminé pour le composé de référence des HAP (Tableau 12).

Le mécanisme de transfert des HAP et des dioxines au niveau de la membrane des cellules intestinales est encore hypothétique, les facteurs modulant ce passage demandant à être confirmés. Cependant, les HAP et les dioxines pénètrent dans les entérocytes.

3.3. Devenir des molécules dans les entérocytes et sécrétion chylo-portale

3.3.1. Mécanisme général

Le devenir des produits de la lipolyse gastro-intestinale varie en fonction de la structure de ces molécules telle que la longueur des chaînes hydrocarbonées pour les acides gras. Ceci se traduit par un partage "chylo-portal" (Jones et Kubow, 1999) : les acides gras à chaîne courte ou moyenne sont transportés du coté apical au coté basal pour être excrétés dans la veine porte (Thomson *et al.*, 1993) où ils sont pris en charge par des protéines plasmatiques telles que la sérum-albumine. Les acides gras à chaîne longue ont un devenir différent puisqu'ils vont être remaniés dans les entérocytes (remaniement impliquant des transports dans différents compartiments cytoplasmiques) et excrétés sous forme de chylomicrons via la voie lymphatique (IFN n°1, 1992 ; Thomson *et al.*, 1993 ; Hussain, 2000).

Contrairement aux dioxines où seule une étude a été recensée (transfert de la 2,3,7,8-TCDD du milieu apical au milieu basal lors d'une culture *in vitro* de Caco-2, Cavret, 2002), le devenir des HAP dans les entérocytes a fait l'objet de nombreux travaux. Cependant, la plupart de ces recherches ont été effectuées chez les poissons et principalement sur le benzo[a]pyrène (Vetter *et al.*, 1985 ; van Veld, 1990 ; Meador *et al.*, 1995). Ainsi toute extrapolation des poissons aux mammifères incite à la prudence dans la mesure où la lymphe

n'existe pas chez le poisson. De manière générale, il est couramment admis que suite à l'ingestion des micropolluants organiques, les congénères sont principalement voire exclusivement sécrétés dans le compartiment lymphatique associée aux chylomicrons, conformément aux propriétés physico-chimiques de ces congénères (Janss et Moon, 1970 ; Rees *et al.*, 1971 ; Kamp et Neumann, 1975 ; Lakshmanan *et al.*, 1986). Cependant, l'apparition sanguine du pyrène, du phénanthrène ou du benzo[a]anthracène est très rapide, le pic de concentration sanguine étant obtenu entre 1 heure et 1 heure et demi (Modica *et al.*, 1983 ; Withey *et al.*, 1991 ; Kadry *et al.*, 1995). Ce délai est trop court pour valider une absorption lymphatique qui a lieu entre 4 et 6 heures postprandiales (Dubois *et al.*, 1996). L'absorption des autres nutriments tels que les protéines et le glucose s'effectue au niveau de la veine porte respectivement 30 et 45 min après l'ingestion (Mahe *et al.*, 1994). Ainsi il semblerait que la principale voie de dissipation de ces HAP au niveau des cellules intestinales est la voie portale. Quant au benzo[a]pyrène, Foth *et al.* (1988) ont démontré que la radioactivité sanguine associée à la molécule présentait un pic à 3 heures postprandiales, mettant ainsi en évidence un comportement variable selon les HAP étudiés. Cependant, aucune des études recensées, abordant la cinétique d'absorption des micropolluants organiques après ingestion d'un produit contaminé, n'a porté sur la quantification de la répartition de ces molécules entre la veine porte et la lymphe.

3.3.2. Facteurs modulant le devenir entérocytaire des HAP et des dioxines

Chez le poisson Killi, le benzo[a]pyrène emprunte partiellement la voie des acides gras à longue chaîne. En effet, Vetter *et al.* (1985) ont montré une dissociation entre la fluorescence associée au benzo[a]pyrène et les gouttelettes lipidiques nouvellement synthétisées. Des recherches enzymatiques sur ce tissu ont indiqué que la disparition de ce congénère des vacuoles lipidiques résultait d'une dégradation du benzo[a]pyrène en métabolites plus polaires par un système enzymatique mono-oxygénase intestinal, localisé au niveau du réticulum endoplasmique lisse (van Veld *et al.*, 1987 ; van Veld, 1990 ; van den Berg *et al.*, 1994). Chez les mammifères, bien que le site où le benzo[a]pyrène est séparé des gouttelettes lipidiques soit incertain, de nombreuses études ont montré la présence d'enzymes métabolisant les HAP au niveau intestinal (Wattenberg *et al.*, 1962 ; Hietanen, 1980 ; Porter *et al.*, 1982 ; van Veld, 1990 ; Zhang *et al.*, 1996, 1999). Il s'avère que ces enzymes sont induites par les micropolluants organiques d'où le terme de métabolisme auto-induit (van Veld, 1990 ;

Buesen *et al.*, 2002, 2003). L'induction du complexe enzymatique est relativement rapide. En effet, chez le rat, 30 min après l'injection de benzo[a]pyrène marqué au niveau jéjunal, 40 % de la radioactivité administrée est détectée dans le sang portal et les métabolites en constituent 90% (Bock *et al.*, 1979). Parallèlement le benzo[a]pyrène (entre 10 et 20 % de la dose administrée) est détecté dans la lymphe associé aux chylomicrons (Laher *et al.*, 1984). Cependant le métabolisme semble être dépendant de nombreux facteurs tels que l'espèce et le congénère (Golor *et al.*, 2001 ; Bosveld *et al.*, 2002). Cette hypothèse de dégradation "congénère dépendant" des HAP peut être utilisée pour expliquer les différents pourcentages de métabolites du benzo[a]pyrène et du naphtalène détectés au niveau portal (respectivement de 90 % et 13 % des doses absorbées, Bock *et al.*, 1979). Par contre, cette suggestion ne permet pas d'expliquer la forte présence du naphtalène sous forme native (84 % de la dose administrée) dans le compartiment sanguin (Bock *et al.*, 1979). Ainsi il semblerait que les voies de dissipation des HAP au niveau des entérocytes (lymphe/sang portal) soit fonction du métabolisme cellulaire mais aussi des composés (les composés les plus solubles et constitués d'un nombre restreint de cycles aromatiques étant probablement excrétés comme les acides gras à chaînes petites et moyennes).

La sécrétion des HAP et des dioxines dans le sang s'effectue selon un mécanisme passif de diffusion (Schlummer *et al.*, 1998 ; Rhode *et al.*, 1999 ; Moser et McLachlan 1999, 2001). Deux facteurs peuvent interagir : les concentrations sanguines et lumenales. En effet Schlummer *et al.* (1998) ont démontré l'existence d'une corrélation entre les taux d'absorption et les concentrations sanguines en dioxines chez des adultes, teneurs qui d'après Schuhmacher *et al.* (1999a) ne cessent de croître en fonction de l'âge, conformément à leur grande rémanence. Ainsi les forts taux d'absorption chez les enfants peuvent être dus aux faibles concentrations en dioxines dans le sang et inversement chez les personnes âgées. Enfin, Moser et McLachlan (2001) ont mis en évidence que chez des adultes, lors de l'ingestion d'un repas faiblement contaminé, l'excrétion des dioxines corporelles avait lieu. A l'inverse, l'absorption est observée lors d'un repas fortement contaminé. Ceci met en évidence un effet dose sur le processus d'absorption, effet s'expliquant également par les deux mécanismes de diffusion passive dans l'entérocyte (l'un au pôle apical et l'autre du côté basal). L'absorption des micropolluants organiques semble donc dépendre des différences de concentrations entre le lumen et le cytoplasme et le cytoplasme et le compartiment sanguin.

Peu de données sont disponibles sur le transport cellulaire des dioxines au niveau intestinal. Pour les HAP, deux hypothèses sont avancées :

- les HAP de faible solubilité seraient transportés comme les acides gras à chaînes longues et ensuite dégradés par des complexes enzymatiques « congénères et espèces dépendants », localisés au niveau du REL principalement. L'importance relative entre la voie portale et lymphatique serait alors fonction du métabolisme : les molécules mères seraient excrétées dans la voie lymphatique associées aux chylomicrons, les métabolites plus polaires dans le sang portal
- les HAP de solubilité plus importante et de faible encombrement spatial emprunteraient la voie entérocytaire des acides gras à chaînes courtes et se retrouveraient ainsi principalement dans le sang portal

Cependant le facteur principal limitant l'excrétion des micropolluants organiques des entérocytes est la différence de concentrations entre le lumen et le compartiment sanguin, les concentrations sanguines en dioxines augmentant avec l'âge des individus.

4. Conclusion

Les études recensées mettent en évidence l'importance des composants des matrices vecteur et des propriétés physico-chimiques des micropolluants organiques sur l'absorption intestinale des micropolluants organiques. Toutefois plusieurs questions restent en suspens :

Quel est le mécanisme d'absorption des dioxines ?

Les seules données disponibles concernent la solubilisation micellaire des dioxines d'une part et la détection de la 2,3,7,8-TCDD dans les chylomicrons d'autre part. La présence de la 2,3,7,8-TCDD dans les chylomicrons laisse suggérer que cette molécule, et par extrapolation les dioxines transitent dans les entérocytes comme les acides gras à longues chaînes hydrocarbonées. Ainsi, une partie du parcours de ces congénères dans les cellules intestinales serait proche de celui du benzo[a]pyrène. Cependant pour les HAP, une séquestration enzymatique dans l'entérocyte suivie d'une dégradation précèdent l'excrétion dans la veine porte. Il est alors probable que la différence entre ces deux familles de micropolluants organiques résulte d'une résistance très prononcée des dioxines face aux enzymes cytochromiques. Néanmoins toutes les dioxines se comportent-elles comme la 2,3,7,8-

TCDD ? N'existe-t-il pas d'interactions entre molécules lors d'une ingestion d'un mélange de dioxines et/ou de HAP ?

Quelles sont les cinétiques d'apparition sanguines postprandiales des dioxines et des HAP ?

Pour les HAP, la cinétique d'apparition plasmatiques (suivi des molécules de manière individuelle) semble fortement influencée par les propriétés physico-chimiques des congénères (moins une molécule est lipophile, plus sa pénétration, son transit entérocytaire et son apparition dans le compartiment sanguin sont rapides). Aucune étude bibliographique n'a porté sur la cinétique d'apparition des dioxines suite à l'ingestion d'un aliment contaminé. Cependant l'hypothèse communément admise, basée sur le caractère fortement lipophile des dioxines, est que l'apparition de ces congénères dans le compartiment sanguin est liée celle de la matière grasse.

III : Distribution tissulaire des HAP et des dioxines chez le monogastrique

La distribution tissulaire des micropolluants organiques implique leur transport dans la circulation sanguine suivi par la captation tissulaire.

1. Répartition des micropolluants organiques dans les composants sanguins

La répartition des micropolluants dans les différentes fractions sanguines (principalement les lipoprotéines, les protéines plasmatiques et les globules rouges) peut moduler la distribution tissulaire de ces composés (Van den Berg, 1994). La captation cellulaire de benzo[a]pyrène et des PCB, contenus dans les lipoprotéines, s'effectuerait principalement selon un transfert spontané (diffusion passive) de ces molécules des lipoprotéines vers les cellules du tissu et ne nécessiterait pas l'endocytose des lipoprotéines médiée par un récepteur (Plant *et al.*, 1985 ; van Veld, 1990). Par contre, la captation tissulaire de composés liés à l'albumine impliquerait la liaison du complexe ligand-albumine à un récepteur spécifique à cette protéine (van Veld, 1990). Il a été démontré que les lipoprotéines étaient principalement prélevées par les tissus périphériques de manière aspécifique tandis que la sérum-albumine était principalement captée au niveau du foie, tissu possédant le récepteur de la protéine sanguine. Ainsi le mécanisme de captation tissulaire serait fonction des affinités des micropolluants organiques avec les composants sanguins et de leur équipement enzymatique membranaire.

La répartition des dioxines dans le sang a fait l'objet de nombreuses études souvent *in vitro* dans la mesure où les concentrations sanguines des micropolluants organiques sont relativement faibles sauf en cas d'exposition accidentelle (Tableau 14). Les différentes fractions sanguines contaminées par les dioxines évoluent dans le temps et dépendent des congénères. En effet, suite à l'absorption, Lakshmanan *et al.* (1986) ont démontré, *in vivo*, que la 2,3,7,8-TCDD était principalement transportée par les chylomicrons chez le rat. Cependant cette contamination est de courte durée, la demi-vie des chylomicrons dans la circulation générale étant de 20 à 30 minutes. Comme pour les composants du chylomicron, il peut être suggéré que la dioxine est ensuite intégrée dans les autres lipoprotéines plasmatiques. Ceci est en accord avec les résultats de Marinovich *et al.* (1983), Shireman et Wei (1986). En effet ces auteurs ont mis en évidence que les lipoprotéines possédaient une forte affinité pour la 2,3,7,8-TCDD lors d'étude de liaison de cette molécule avec différentes lipoprotéines. Cependant cette affinité semble être décroissante en fonction des teneurs

Tableau 14 : Profils en dioxines dans le sang humain (concentration en pg/g de matière grasse)

Référence	Gurn <i>et al.</i> (1995)	Schechter <i>et al.</i> (1990)	Iida <i>et al.</i> (1999)	Schuhmacher <i>et al.</i> (1999a)
Analyse	sang total	plasma	sang total	plasma
2,3,7,8-TCDD	96,7	5,7	2,6	1,9
1,2,3,7,8-PeCDD	74,1	7,1	13	9,8
1,2,3,4,7,8-HxCDD	169,5	56	11	5,5
1,2,3,6,7,8-HxCDD	679,7		63	62,6
1,2,3,7,8,9-HxCDD	178,6	8,5	ND	11,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	1069,4	107,9	100	123,6
OCDD	4667,6	843,1	2000	640,5
2,3,7,8-TCDF	3,1	1,3	5,2	1
1,2,3,7,8-PeCDF	1,5	ND	2	1
2,3,4,7,8-PeCDF	88	6,1	46	15,9
1,2,3,4,7,8-HxCDF	218,4	6,9	32	8,3
1,2,3,6,7,8-HxCDF	76,6	5,4	34	8,5
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND	ND	ND	1,9
2,3,4,6,7,8-HxCDF	9,5	1,2	ND	3,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	227,5	25,1	8,2	10,9
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	6,4	ND	ND	1,5
OCDF	3,1	ND	ND	3,8

ND : non déterminé

lipidiques de ces macromolécules avec VLDL (Very Low Density Lipoproteins) > LDL (Low Density Lipoproteins) > HDL (High Density Lipoproteins). Mais toutes les dioxines ne se comportent pas comme la 2,3,7,8-TCDD : Patterson *et al.* (1989) ont mis en évidence que l'affinité entre les dioxines et les lipoprotéines diminuait en fonction du degré croissant de chloration. Inversement les molécules fortement chlorées étaient principalement liées aux protéines plasmatiques telles que la sérum-albumine (Tableau 15).

Tableau 15 : Répartition des dioxines dans différentes fractions sanguines (% de la dose totale)

Molécules	Lipoprotéines	Protéines plasmatiques	Chylomicrons	Références
2,3,7,8-TCDD	71	20	10	Patterson <i>et al.</i> (1989) Schechter <i>et al.</i> (1990)
1,2,3,7,8-PeCDD	58	27	11	Patterson <i>et al.</i> (1989)
1,2,3,4,7,8-HxCDD	58	30	13	Patterson <i>et al.</i> (1989)
1,2,3,6,7,8-HxCDD	34	41	10	Patterson <i>et al.</i> (1989)
1,2,3,7,8,9-HxCDD	50	41	8	Patterson <i>et al.</i> (1989)
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	48	41	8	Patterson <i>et al.</i> (1989)
OCDD	40	53	6	Schechter <i>et al.</i> (1990) Van den Berg <i>et al.</i> (1994)
2,3,7,8-TCDF	66	27	5	Patterson <i>et al.</i> (1989)
2,3,4,7,8-PeCDF	53	36	10	Patterson <i>et al.</i> (1989)
1,2,3,4,7,8-HxCDF	45	45	7	Patterson <i>et al.</i> (1989)
1,2,3,6,7,8-HxCDF	45	53	5	Patterson <i>et al.</i> (1989)
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	34	57	5	Patterson <i>et al.</i> (1989)

Pour les HAP, la répartition des molécules dans les compartiments sanguins dépend de la nature des molécules (métabolites ou composés parents). Van Veld (1990) a mis en évidence que les formes métaboliques hydroxylées étaient principalement véhiculées par la sérum albumine. Quant aux formes conjuguées, elles ne se lieraient pas à des transporteurs sanguins (c'est tout du moins le cas chez le poisson, pour le benzo[a]pyrène conjugué ; van Veld, 1990). Les formes parents seraient quant à elles principalement liées aux globules rouges (Tableau 16).

Tableau 16 : Répartition des HAP dans différentes fractions sanguines (% de la dose administrée ; Smith et Doody, 1981 ; Capel *et al.*, 1979)

Molécules	Plasma	Globules rouges
Benzo[a]pyrène	30 ± 4	70±5
Benzo[a]anthracène	7 ± 2	93±2
Phénanthrène	11 ± 3	89±3
Anthracène	0 ± 0	100
Naphtalène	0 ± 0	100

Cependant un échange globules rouges - lipoprotéines peut avoir lieu. Ce mécanisme serait limité par la désorption des molécules dans le sang, milieu aqueux (Smith et Doody, 1981). Ainsi les HAP parents nouvellement absorbés seraient principalement associés aux globules rouges puis se répartiraient dans les lipoprotéines. En effet, des études de liaison lipoprotéines/HAP *in vitro* ont permis de mettre en évidence que ces micropolluants organiques possédaient des affinités pour les macromolécules. Ainsi, par exemple, le benzo[a]pyrène se répartirait de la même façon que la 2,3,7,8-TCDD entre les diverses lipoprotéines (principalement au niveau des VLDL puis des LDL et des HDL) (Smith et Doody, 1981).

Les différents composants sanguins étant variables selon les espèces, la répartition des micropolluants dans ces fractions évoluent en fonction de l'espèce étudiée. Sans en comprendre les causes, les protéines plasmatiques seraient les transporteurs des dioxines fortement chlorées et de certains métabolites des HAP, les lipoprotéines véhiculeraient les dioxines faiblement chlorées et à long terme les HAP parents, quant aux globules rouges leur contamination par les HAP non métabolisés seraient transitoires.

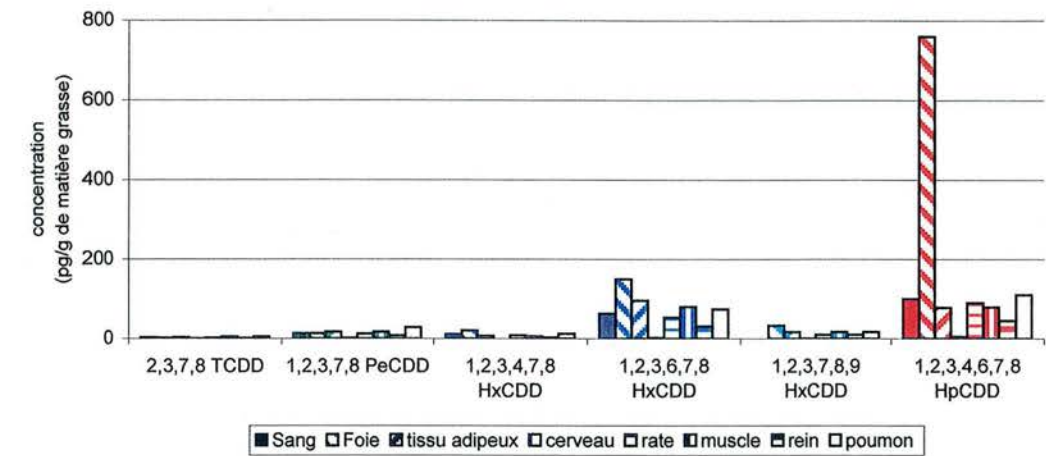
2. Distribution tissulaire des dioxines et des HAP

2.1. Distribution tissulaire des dioxines et des HAP chez l'Homme

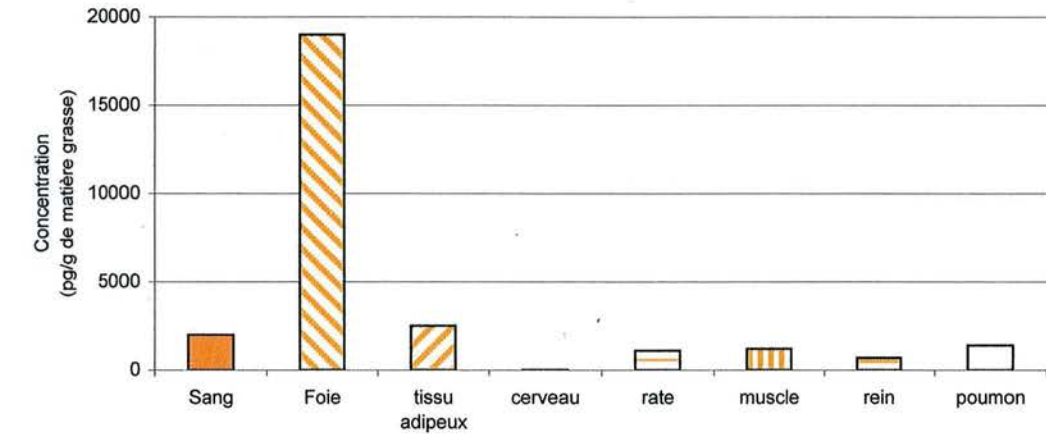
Chez l'Homme, lorsque les concentrations en dioxines sont exprimées en pg/g de matière grasse, le tissu le plus fortement contaminé en dioxines est le foie suivi par le tissu adipeux (Figure 8 ; Vartianen *et al.* 1995 ; Kreuzer *et al.*, 1997 ; Iida *et al.*, 1999). De plus, les teneurs dans les tissus et le sang sont globalement plus élevées chez des personnes âgées (Schuhmacher *et al.*, 1999a,b) mettant ainsi en évidence que les dioxines sont faiblement dégradées (la dégradation engendrant un changement de propriété physico-chimique aurait été un facteur explicatif de la forte contamination du tissu hépatique). Cependant cette relation entre l'âge et les teneurs sanguines est souvent controversée même s'il est généralement admis une accumulation tissulaire des dioxines au cours de la vie et une forte persistance des dioxines dans l'organisme humain. Les congénères de dioxines les plus présents dans les tissus hépatiques et adipeux confondus sont l'OCDD suivis par la 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD. La 2,3,7,8-TCDD n'est présente qu'en très faible concentration dans ces tissus (comprise entre

Figure 8 : Répartition des PCDD (A a,b) et des PCDF (B) dans les tissus humains (Kreuzer *et al.*, 1997 ; Iida *et al.*, 1999 ; Vartiainen *et al.*, 1995 ; Takenaka *et al.*, 2002)

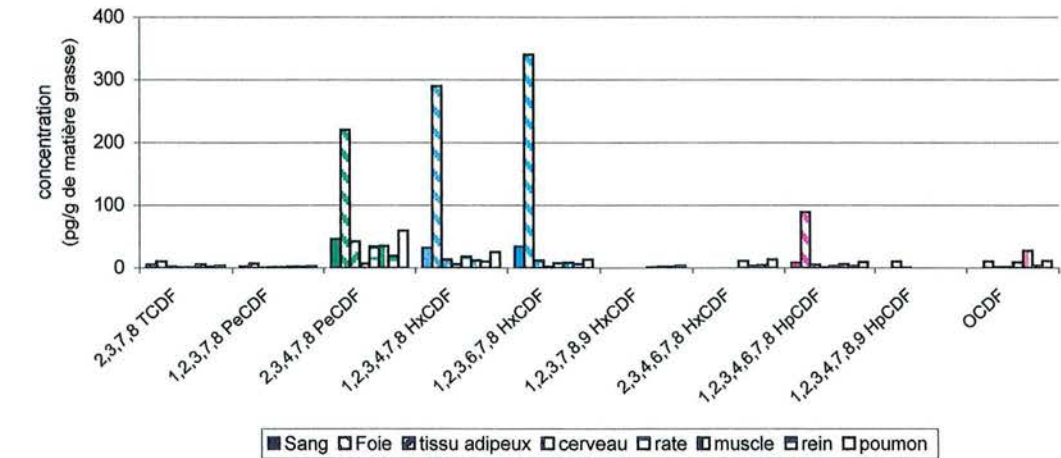
a : Répartition des PCDD sans l'OCDD



b : Répartition de l'OCDD



c : Répartition des PCDF



1,26 pg/g de matière grasse chez le nourrisson et 5,21 pg/g de matière grasse chez des adultes exposés) (Kreuzer *et al.*, 1997 ; Iida *et al.*, 1999). Iida *et al.* (1999) ont étudié la corrélation entre les concentrations hépatique et adipeuse des dioxines. Ils ont ainsi mis en évidence que le devenir des PCDD était similaire entre les deux tissus cibles tandis que pour les PCDF, aucune corrélation n'a été démontrée. Le comportement des dioxines au sens strict apparaît donc être différent de celui des furanes.

Seule une étude a été recensée sur la distribution tissulaire des HAP chez l'homme. Le pyrène est principalement stocké dans le tissu adipeux et dans le foie, la contamination des adipocytes étant 4,4 fois plus élevée que celle des hépatocytes (Obana *et al.*, 1981).

2.2. Distribution tissulaire des dioxines chez les animaux modèles de l'Homme

Des distributions tissulaires similaires à celles mesurées chez l'Homme ont été observées suite à une exposition contrôlée (orale, sous cutanée, intraveineuse, intra péritonéale) chez des rats ou des souris (Tableau 17). Cependant l'importance de l'écart entre les niveaux de contamination en dioxines du foie et ceux du tissu adipeux peut être modifiée selon les doses administrées. En effet, suite à une administration unique, Abraham *et al.* (1988), Pegram *et al.* (1995), Diliberto *et al.* (1995) et Nagao *et al.* (1996) ont démontré que la distribution tissulaire de la dioxine était « dose dépendante » : lors d'une injection sous cutanée ou d'une ingestion à faible teneur chez les rats, le tissu adipeux présente de plus fortes concentrations en dioxines, la tendance inverse étant obtenue suite à une administration à plus fortes concentrations (l'inversion ayant lieu au deçà de 6400 pg de 2,3,7,8-TCDD, Figure 9). De même, Diliberto *et al.* (2001) ont mis en évidence qu'en fonction des doses ingérées de 2,3,7,8-TCDD, le foie ou le tissu adipeux était le principal tissu de stockage chez la souris au cours d'une exposition chronique de 140 jours (Figure 10). Deux facteurs peuvent expliquer ce phénomène de distribution tissulaire doses dépendantes, la lipophilicité des tissus et la présence de protéines de liaison hépatiques telles que l'AHH, l'EROD, CYP1A 1/2 induites par la dioxine (Nessel *et al.*, 1990 ; Diliberto *et al.*, 1996, 2001 ; Golor *et al.*, 2001). En effet, à faible dose, il semblerait que les protéines de liaison hépatique ne soient pas induites et la dioxine étant une molécule lipophile se répartirait alors dans les tissus en fonction de leur teneur en matière grasse d'où le tissu adipeux comme premier tissu cible. En effet, Diliberto *et al.* (2001) ont mis en évidence que lors d'une administration semi-chronique (5 jours sur 7) de 3 pg/jour chez la souris, le tissu adipeux concentrait 19 % de la dose administrée, suivi

Tableau 17 : Distribution tissulaire des dioxines chez les rongeurs (résultats exprimés en % de la dose administrée/g de tissu frais)

Espèce	Voie administration	Temps * (jour)	dose (ng)	molécule	Foie	Tissus adipeux	Reins	Muscle	Peau	référence
Rat	intraveineuse	3	16513	2,3,7,8-TCDD	3,67±0,01	0,66±0,03	0,05±0,00	0,02±0,01	0,11±0,01	Diliberto <i>et al.</i> (1996)
Rat	orale	3	49538	2,3,7,8-TCDD	2,33±0,19	0,74±0,13	0,06±0,01	0,01±0,00	0,16±0,02	Diliberto <i>et al.</i> (1996)
Rat	intraveineuse	3	10000	OCDD	6,52±0,59	0,24±0,21			0,12±0,03	Birnbaum et Couture (1988)
Rat	orale	3	10000	OCDD	1,06±0,20	0,03±0,01			0,07±0,03	Birnbaum et Couture (1988)
Rat	sous cutanée	7	6450	2,3,7,8-TCDD	0,47	0,06	0,00		0,01	Abraham <i>et al.</i> (1988)
Souris	orale	7	2	2,3,7,8-TCDD	15,12±4,99	24,35±5,06	0,82±0,22		6,05±2,38	Diliberto <i>et al.</i> (1995)
Souris	orale	14	2	2,3,7,8-TCDD	6,95±2,36	16,01±2,24	0,41±0,09		3,96±1,09	Diliberto <i>et al.</i> (1995)
Souris	orale	21	2	2,3,7,8-TCDD	4,24±1,13	13,13±3,32	0,32±0,10		2,62±0,54	Diliberto <i>et al.</i> (1995)
Souris	orale	35	2	2,3,7,8-TCDD	1,30±0,39	5,77±1,60	0,12±0,04		1,37±0,24	Diliberto <i>et al.</i> (1995)
Souris	orale	7	20	2,3,7,8-TCDD	28,06±4,41	12,29±1,95	0,38±0,06		2,83±0,35	Diliberto <i>et al.</i> (1995)
Souris	orale	14	20	2,3,7,8-TCDD	11,31±2,14	7,74±0,66	0,23±0,02		1,61±0,26	Diliberto <i>et al.</i> (1995)
Souris	orale	21	20	2,3,7,8-TCDD	4,98±1,34	5,91±0,90	0,15±0,02		1,14±0,37	Diliberto <i>et al.</i> (1995)
Souris	orale	35	20	2,3,7,8-TCDD	1,54±0,47	2,86±0,52	0,08±0,02		0,74±0,14	Diliberto <i>et al.</i> (1995)
Souris	orale	7	200	2,3,7,8-TCDD	28,04±4,31	9,12±1,14	0,23±0,07		1,47±0,45	Diliberto <i>et al.</i> (1995)
Souris	orale	14	200	2,3,7,8-TCDD	14,79±2,95	5,39±0,85	0,15±0,03		1,07±0,25	Diliberto <i>et al.</i> (1995)
Souris	orale	21	200	2,3,7,8-TCDD	6,65±1,39	3,43±0,54	0,04±0,01		0,68±0,15	Diliberto <i>et al.</i> (1995)
Souris	orale	35	200	2,3,7,8-TCDD	1,89±0,47	1,39±0,18	0,04±0,01		0,37±0,02	Diliberto <i>et al.</i> (1995)
Souris	intrapéritonéale	3	210	2,3,7,8-TCDD	4,8±1,5	5,4±2,1	0,2±0,04			Gasiewicz <i>et al.</i> (1983)
Souris	intrapéritonéale	12	210	2,3,7,8-TCDD	2,6±0,5	2,2±0,5	0,2±0,02			Gasiewicz <i>et al.</i> (1983)
Souris	intrapéritonéale	25	210	2,3,7,8-TCDD	3,3±1,1	2,9±0,1	0,1±0,03		6,0±0,2	Gasiewicz <i>et al.</i> (1983)
Souris	orale	7	519	2,3,7,8-TCDD	5,64±0,32	1,81±0,21	0,09±0,01	0,11±0,03	0,49±0,10	Pegram <i>et al.</i> (1995)

Temps* : temps entre l'administration et les prélèvements des échantillons

Figure 9 : Impact des doses administrées sur la distribution tissulaire de la 2,3,7,8-TCDD chez le rat (Abraham *et al.*, 1988)

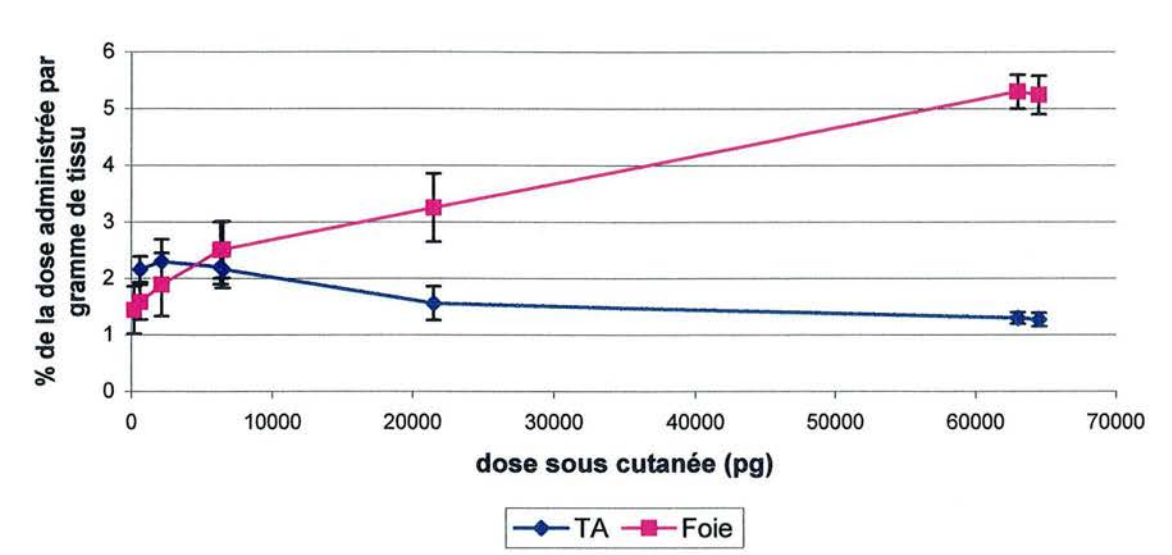
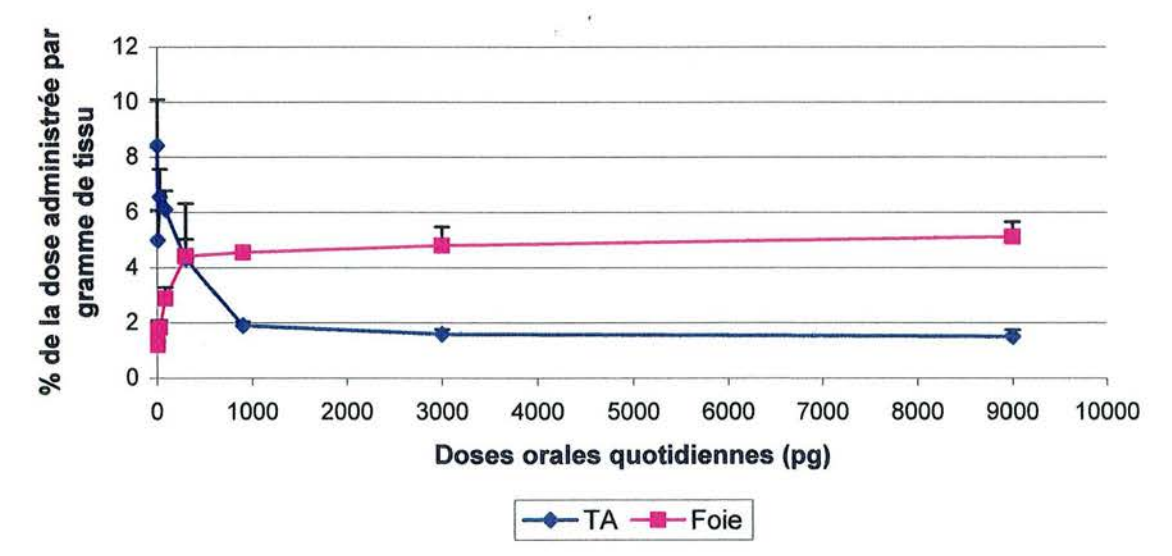


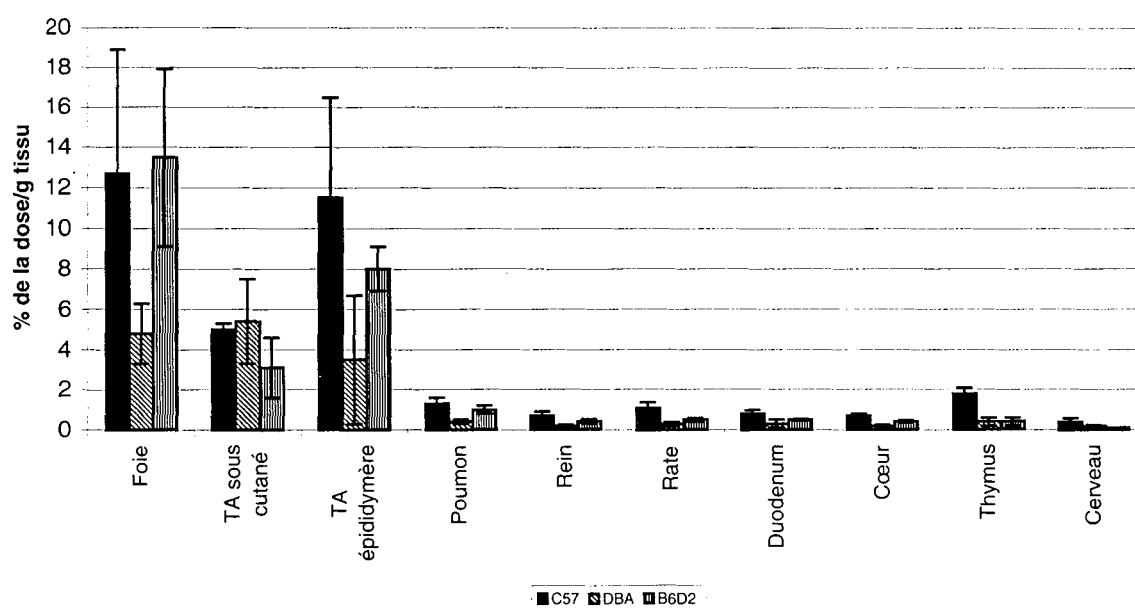
Figure 10 : Effet de la dose administrée sur la répartition tissulaire de la 2,3,7,8-TCDD chez la souris suite à une exposition chronique de 13 semaines (Diliberto *et al.*, 2001)



TA : tissu adipeux

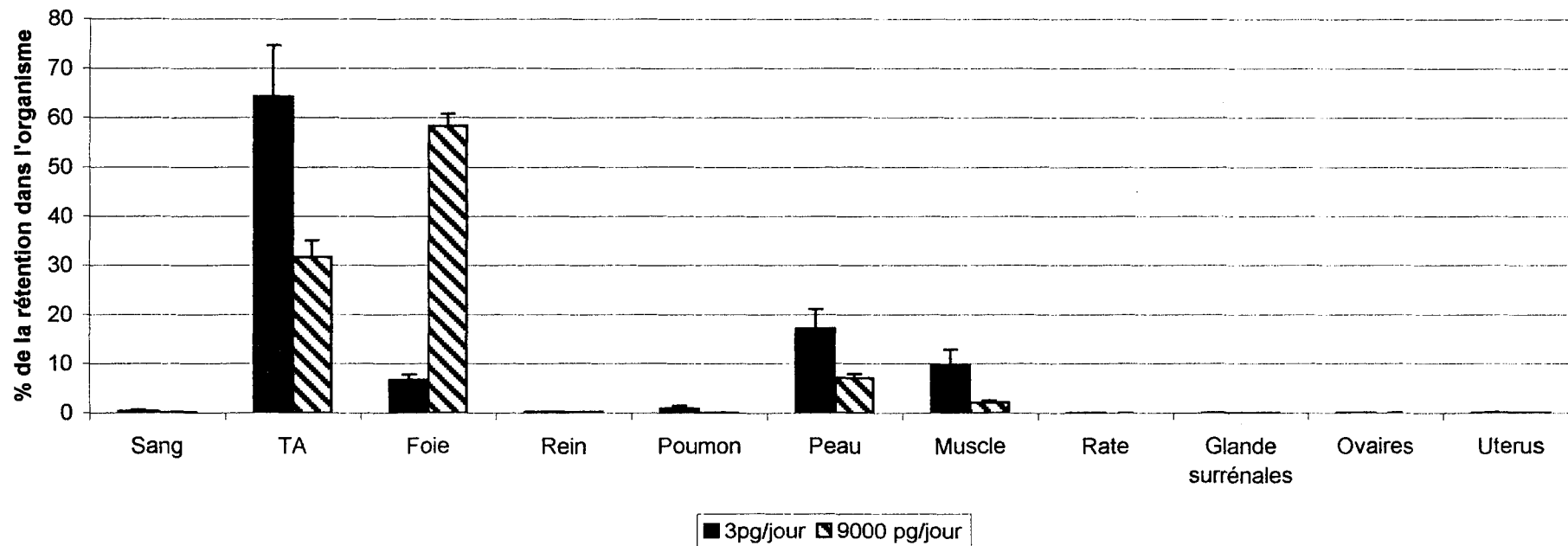
par la peau (5 %), le muscle (3 %), le foie (2 %) (la rate, les glandes surrénales, les ovaires, l'utérus, les reins, le sang accumulant moins de 0,1 % de la dose ingérée). Par contre, lorsque la dose administrée est plus importante (9000 pg/jour), l'induction des protéines microsomales hépatiques aurait lieu favorisant ainsi la séquestration de la dioxine au niveau du foie (avec une rétention de 6 % de la dose administrée), la lipophilicité des tissus étant alors reléguée au second plan (le pourcentage de l'ingéré retrouvé au niveau du tissu adipeux n'étant que de 3 %). Il est également important de souligner que l'induction de ces protéines serait variable en fonction des espèces et donc des races (Gasiewicz *et al.*, 1983 ; Aozasa *et al.*, 1995 ; Xu *et al.*, 2000). Ceci se traduit par une distribution tissulaire différente en fonction des lignées (Figure 11, la répartition tissulaire de la dioxine chez les souris DBA diffère de celle des souris C57 et B6D2).

Figure 11 : Distribution tissulaire de la 2,3,7,8-TCDD 3 jours après une administration unique intrapéritonéale (230 ng) chez trois races de souris (Diliberto *et al.*, 2001)



Toutefois, la distribution tissulaire de la 2,3,7,8-TCDD reste principalement localisée au niveau du foie et du tissu adipeux, ces deux organes représentant entre 71 et 90 % de la charge corporelle (Figure 12). De plus elle dépend fortement de la capacité du foie à séquestrer ces composés (Abraham *et al.*, 1988 ; Pegram *et al.*, 1995 ; Diliberto *et al.*, 1995, 2001).

Figure 12 : Principaux tissus de stockage de la 2,3,7,8-TCDD absorbée selon les doses administrées chez des souris suite à une exposition de 13 semaines (Diliberto *et al.*, 2001)



TA : Tissu Adipeux

Peu d'études ont porté sur l'ingestion simultanée des 17 dioxines (Abraham *et al.*, 1989 ; Aozasa *et al.*, 1995). De plus les travaux recensés ne peuvent pas être comparés aux autres dans la mesure où les doses ou les modes d'administration sont différents. Cependant, contrairement aux profils en dioxines dans les tissus humains, les molécules prépondérantes sont les composés constitués de 6 atomes de chlore chez le rat alors que chez le singe une molécule, le 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF, se démarque (Figure 13). Toutefois, ces profils tissulaires ont été obtenus suite à une administration unique du mélange des 17 dioxines et non suite à une exposition chronique. Or de nombreux auteurs ont démontré une dégradation de certaines dioxines en analysant les concentrations hépatiques à différents temps après administration unique (Brewster et Birnbaum, 1988 ; Brewster *et al.*, 1989 ; McKinley *et al.*, 1993 ; Aozasa *et al.*, 1995). Ce métabolisme hépatique serait dû à la présence d'un complexe enzymatique, les cytochromes P450 (Ramsey *et al.*, 1982 ; Nessel *et al.*, 1990 ; Hu et Bunce, 1999 ; Xu *et al.*, 2000). L'efficacité de cet ensemble d'enzymes semble varier en fonction des congénères dans la mesure où certaines molécules comme l'OCDF, le 1,2,3,7,8-PeCDF et le 2,3,7,8-TCDF, disparaissent très rapidement (Olling *et al.*, 1991 ; Aozasa *et al.*, 1995 ; Fries *et al.*, 2002). Cette affinité "congénère spécifique" des cytochromes P450 serait variable en fonction des espèces et des races. Ceci permettrait également de justifier les variations de la répartition tissulaire de la dioxine chez les trois lignées de souris Gasiewicz *et al.* (1983).

2.3. Distribution tissulaire des HAP chez les animaux modèles de l'homme

Très peu d'études ont porté sur la distribution tissulaire des HAP chez des animaux modèles de l'homme (Kotin *et al.*, 1959 ; Modica *et al.*, 1983 ; Plant *et al.*, 1985 ; Withey *et al.*, 1991 ; Kadry *et al.*, 1995 ; Saunders *et al.*, 2002). Il semblerait que, tout comme chez l'homme, le principal tissu de stockage du pyrène soit le tissu adipeux (Figure 14 ; Tableau 18). La répartition de cette molécule dans l'organisme serait, tout comme les dioxines, régie tout d'abord par les teneurs en lipides des tissus (Plant *et al.*, 1985). En effet, ces auteurs ont montré lors d'étude *in vitro* qu'une augmentation des lipides dans les fibroblastes humains engendrait une incorporation cellulaire plus importante de benzo[a]pyrène. De plus tout comme pour les dioxines, un autre paramètre semble intervenir dans la distribution tissulaire à savoir le capacité tissulaire à dégrader les molécules (rein et foie), propriété souvent à rattacher à la présence des protéines de liaison (Daniel *et al.*, 1967 ; Smith et Doody, 1981 ; Tyrer *et al.*, 1981 ; Modica *et al.*, 1983). Par contre, dans le cas du pyrène, plus les

Figure 13 : Ratio de concentrations (pg/g de tissus) Foie/Tissu adipeux des dioxines chez le rat et le singe suite à une administration sous-cutanée de ces congénères (Abraham *et al.* , 1989b ; Neubert *et al.* , 1990)

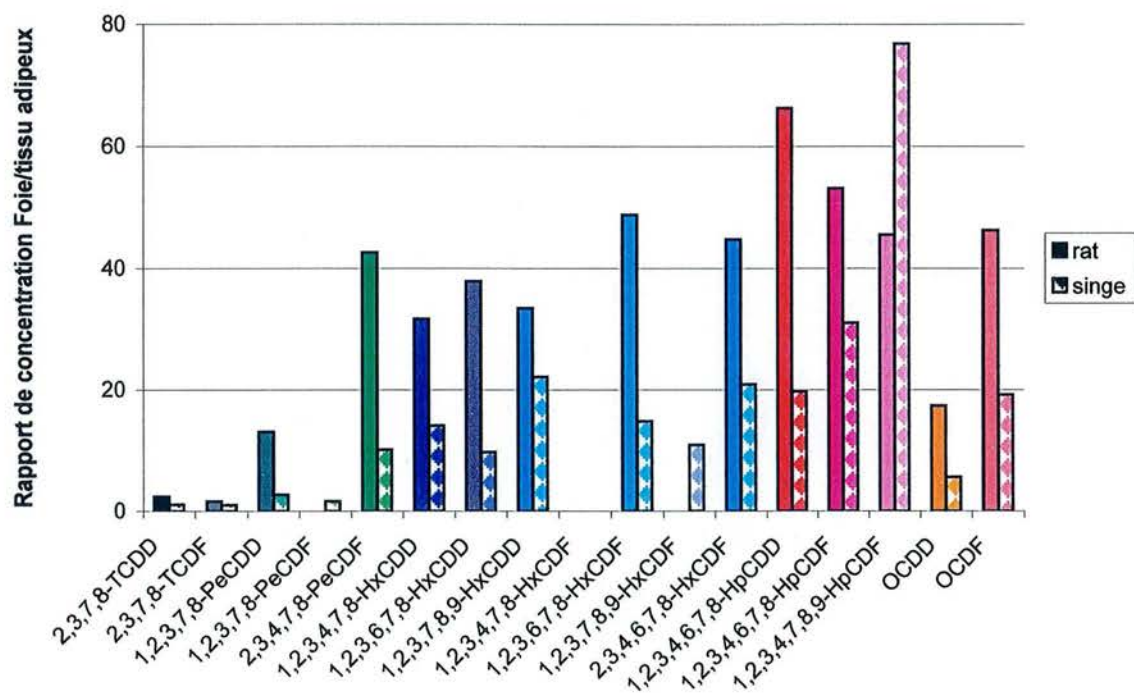
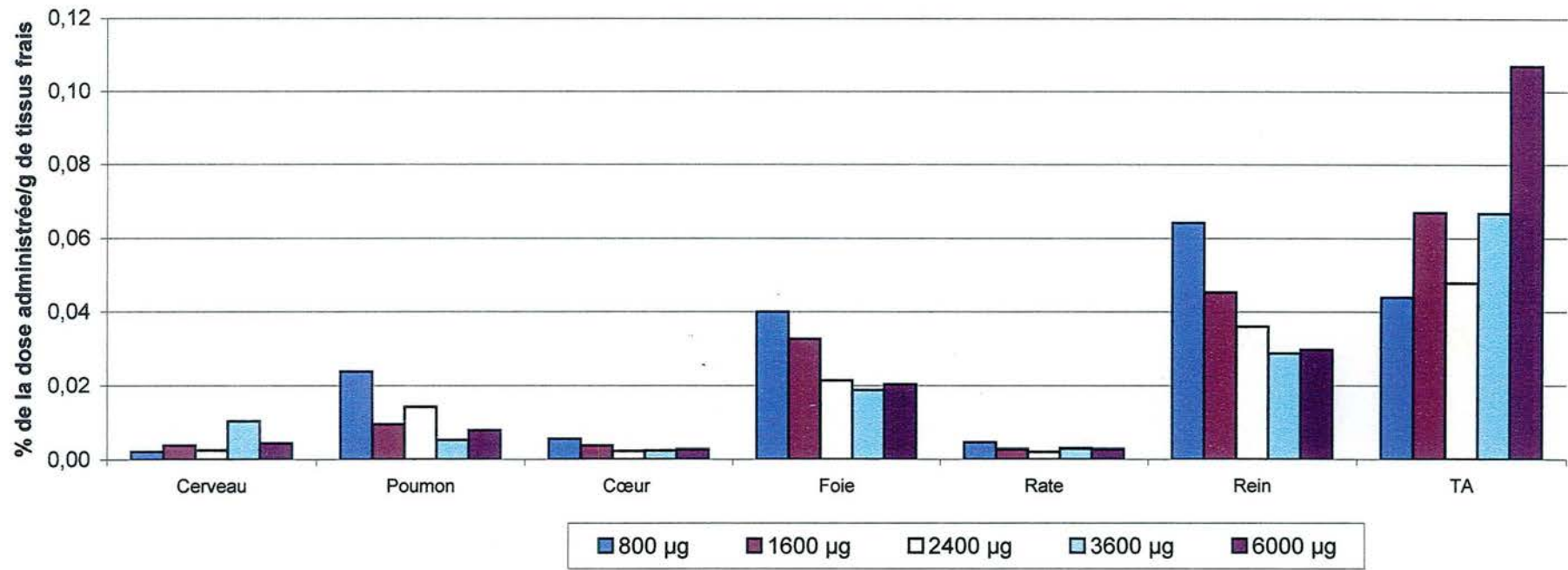


Figure 14 : Distribution du pyrène dans les tissus de rat suite à l'administration de diverses doses (µg) (Withey *et al.* , 1991)



TA : tissu adipeux

Tableau 18 : Distribution tissulaire des HAP chez le rat (résultats exprimés en % de la dose administrée/g de tissu frais)

Molécule	Voie d'exposition	Matrice	Dose* (µg)	Cerveau	Poumon	Cœur	Foie	Rate	Rein	TA	Analyse*	Référence
Pyrène	orale	Sol. A.	800	0,002	0,024	0,005	0,040	0,005	0,064	0,044	6 jours	Withey <i>et al.</i> (1991)
Pyrène	orale	Sol. A.	1600	0,004	0,009	0,004	0,033	0,003	0,045	0,067	6 jours	Withey <i>et al.</i> (1991)
Pyrène	orale	Sol. A.	2400	0,003	0,014	0,002	0,021	0,002	0,036	0,048	6 jours	Withey <i>et al.</i> (1991)
Pyrène	orale	Sol. A.	3600	0,010	0,005	0,002	0,019	0,003	0,029	0,067	6 jours	Withey <i>et al.</i> (1991)
Pyrène	orale	Sol. A.	6000	0,004	0,008	0,003	0,020	0,003	0,030	0,107	6 jours	Withey <i>et al.</i> (1991)
Pyrène	I.V.	Sol. A.	800	0,003	0,033	0,010	0,065	0,010	0,105	0,313	6 jours	Withey <i>et al.</i> (1991)
Pyrène	I.V.	Sol. A.	1600	0,004	0,044	0,014	0,104	0,012	0,165	0,410	6 jours	Withey <i>et al.</i> (1991)
Pyrène	I.V.	Sol. A.	2400	0,003	0,067	0,010	0,109	0,013	0,156	0,343	6 jours	Withey <i>et al.</i> (1991)
Pyrène	I.V.	Sol. A.	3600	0,003	0,056	0,010	0,072	0,011	0,105	0,330	6 jours	Withey <i>et al.</i> (1991)
Pyrène	I.V.	Sol. A.	6000	0,003	0,055	0,009	0,090	0,012	0,099	0,405	6 jours	Withey <i>et al.</i> (1991)
Phé	orale	Ethanol	70	0,006±0,001	0,034±0,003	0,008±0,0001	0,030±0,008	0,005±0,001	0,038±0,006	0,026±0,002	2 jours	Kadry <i>et al.</i> (1995)
B[a]a	orale	huile d'olive	22800	0,0079±0,0002			0,051±0,008			0,0198±0,0013	30 min	Modica <i>et al.</i> (1983)
B[a]a	orale	huile d'olive	22800	0,0328±0,0081			0,007±0,002			0,2161±0,0241	3 heures	Modica <i>et al.</i> (1983)
B[a]a	orale	huile d'olive	22800	0,0046±0,0013			0,0004±0,0001			0,1319±0,0029	12 heures	Modica <i>et al.</i> (1983)
B[a]a	orale	huile d'olive	22800	0,0005±0,000			ND			0,0611±0,0063	24 heures	Modica <i>et al.</i> (1983)

Dose* : dose administrée I.V. : Intraveineuse Sol. A. : Solution aqueuse B[a]A : Benzo[a]Anthracène Phé : phénanthrène

Analyse* : temps entre l'administration et le prélèvement des échantillons

concentrations administrées sont élevées, plus les teneurs détectées dans le foie et les reins diminuent tandis que celles du tissu adipeux augmentent (Figure 14). Ceci tend à montrer que le mécanisme de captation de ces deux tissus est saturable, phénomène non démontré pour les dioxines.

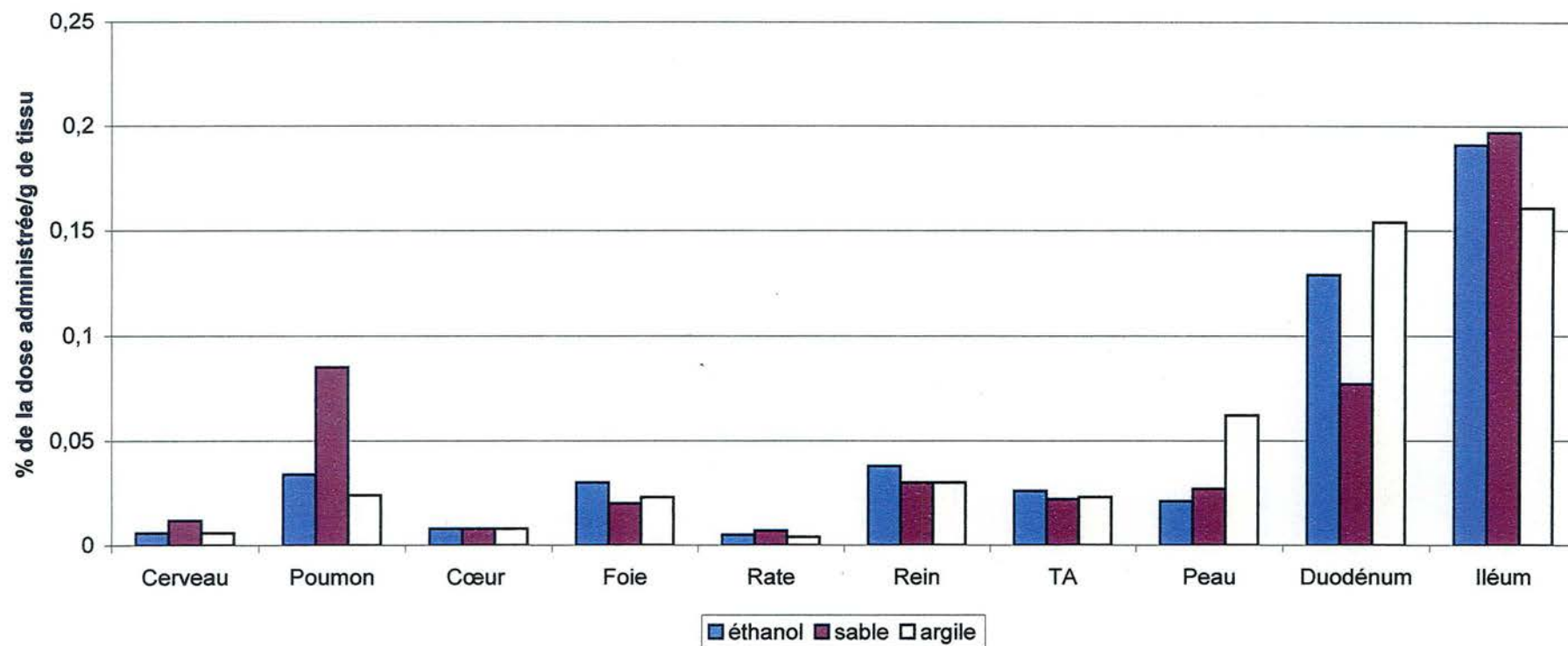
Suite à ces premières constatations, il est possible de suggérer que la répartition des HAP dépend de la teneur en lipides des tissus et/ou de leur pouvoir de séquestration (métabolisme). La répartition du phénanthrène démontre qu'on ne peut pas généraliser cette hypothèse. En effet, la radioactivité associée à cette molécule est principalement localisée au niveau de l'intestin grêle. Le foie, les reins et le tissu adipeux sont également contaminés avec des niveaux décroissants (Figure 15 ; Kadry *et al.*, 1995). Cependant, cette distribution "congénère spécifique" demande confirmation dans la mesure où les essais ont été réalisés dans des conditions expérimentales différentes avec des doses et des temps d'analyse entre l'administration et l'échantillonnage variables.

Enfin, Kadry *et al.* (1995) ont mis en évidence que la répartition tissulaire du phénanthrène variait en fonction de la matrice contaminée ingérée. En comparaison avec la distribution tissulaire suite à l'ingestion d'une solution éthanol, l'ingestion de sable engendre une diminution de la teneur en phénanthrène du duodénum au profit des poumons tandis que l'argile ingérée favoriserait un dépôt au niveau de la peau (Figure 15). Ce changement de distribution tissulaire en fonction des matrices demeure inexpliqué.

2.4. Conclusion

La distribution tissulaire des dioxines semble différente de celle des HAP. En effet, les 17 dioxines ont les mêmes tissus cibles (foie et tissu adipeux) ce qui ne semble pas être le cas des HAP. Une des principales explications de cette différence entre les familles de molécules réside dans le degré de métabolisme des micropolluants organiques dans les organismes vivants. Contrairement aux dioxines, les HAP sont fortement dégradés, le métabolisme modifiant alors la répartition des métabolites dans les tissus cibles. De plus, au niveau du foie, le mécanisme de dégradation des hydrocarbures aromatiques polycycliques est saturable. Ce phénomène n'a pas été démontré pour les dioxines. Ainsi il semblerait que les enzymes impliquées soient spécifiques non seulement d'une famille des micropolluants organiques mais également des congénères eux-mêmes. Cependant ces conclusions demandent à être confirmées, les conditions expérimentales variant énormément entre les études recensées. De

Figure 15 : Distribution tissulaire de la radioactivité associée au phénanthrène deux jours après administration orale de cette molécule contenue dans différentes matrices chez le rat (Kadry *et al.*, 1995)



TA : Tissu Adipeux

plus la répartition tissulaire des dioxines et de certains HAP semble être dépendante de nombreux facteurs tels que les doses administrées, les teneurs en matière grasse des tissus, la matrice ingérée et les espèces animales utilisées.

3. Coefficient de transfert “Aliment - Tissus” des micropolluants organiques

La détermination du coefficient de transfert des dioxines et des HAP de l'aliment aux tissus cibles nécessite que les composés testés soient à l'équilibre dans l'organisme. Cet équilibre est atteint lorsque les quantités administrées sont égales à celles éliminées (Diliberto *et al.*, 2001). Quatre études ont porté sur la détermination des coefficients de transfert “Aliment - Foie” de la 2,3,7,8-TCDD (Fries et Marrow, 1975 ; Rose *et al.*, 1976 ; Diliberto *et al.*, 2001) ainsi que “Aliment - Tissu adipeux” (Rose *et al.*, 1976 ; Diliberto *et al.*, 2001), ces deux tissus représentant presque la totalité de la dioxine stockée dans l'organisme. Ils ont ainsi montré que la rétention corporelle en dioxine augmentait en fonction de la dose administrée (Tableau 19).

Tableau 19 : Charge corporelle en dioxine suite à l'administration semi-chronique de la 2,3,7,8-TCDD chez le rongeur

Animal	Dose quotidienne (Dq, ng/kg/jour)	Charge corporelle (multiple de Dq)	Références
Rat	500 à 1300	10,5	Fries et Marrow (1975)
Rat	10 à 1000	21,3	Rose <i>et al.</i> (1976)
Souris	1,5	25,6±6,9	Diliberto <i>et al.</i> (2001)
Souris	150	10,4±1,9	Diliberto <i>et al.</i> (2001)

Pour des doses ingérées élevées, les concentrations corporelles sont de l'ordre de 10 fois celle administrée ; inversement des rétentions corporelles de 25 fois la dose administrée sont obtenues lors d'une faible exposition. Les concentrations tissulaires en dioxine, lorsque la molécule est à l'équilibre dans l'organisme, sont présentées dans le Tableau 20. Il apparaît que quelle que soit la dose ingérée par le rat, la bioaccumulation de la dioxine dans le tissu

Tableau 20 : Capacité de bioaccumulation de la 2,3,7,8-TCDD du foie et du tissu adipeux et temps requis pour atteindre 95% des valeurs obtenues à l'équilibre au niveau du tissu adipeux suite à un apport chronique de la molécule chez le rongeur. (Lawrence et Gobas, 1997 ; *Diliberto et al., 2001)

a : chez le rat

Doses (pg/kg/jour)	35 - 1390	6940 - 11700	51200 - 248000
B _{adipocytes}	0,10	0,10	0,10
B _{foie}	0,16	0,29	0,48
Temps pour atteindre 95% des valeurs obtenues à l'équilibre au niveau du tissu adipeux (jours)	89	110	140

b : chez la souris

Doses (pg/kg/jour)	1390 - 278000	150 - 1500*	1500000 - 4500000*
B _{adipocytes}	0,031	0,14±0,03	0,03±0,00
B _{foie}	0,072	0,03±0,00	0,09±0,01
Temps pour atteindre 95% des valeurs obtenues à l'équilibre au niveau du tissu adipeux (jours)	69		

B : capacité de bioaccumulation tissulaire déterminée par l'équation suivante :

$$B = \frac{\text{Concentration tissulaire de la 2,3,7,8-TCDD (pg/g de tissu)}}{\text{Concentration de la dose quotidienne (pg/kg/jour)}}$$

adipeux est de 0,10 (la bioaccumulation étant le rapport de la concentration tissulaire de la molécule sur la concentration de la dose ingérée quotidiennement). Inversement la bioaccumulation hépatique comprise entre 0,16 et 0,48 fluctue en fonction de doses ingérées respectives de 35 - 1390 et 51200 - 248000 pg/kg/jour. Cette accumulation hépatique "dose dépendante" vient principalement de la présence de protéines de liaisons inductibles par les PCDD/F. Ce phénomène d'induction a aussi été démontré chez des souris.

Il est également mis en évidence que plus les doses ingérées par les rats étaient élevées, plus le temps nécessaire pour atteindre 95 % de la teneur en dioxine dans les adipocytes à l'équilibre augmentait : elles sont de 89 jours pour des administrations de l'ordre de 35 à 1390 pg/kg/jour et de 140 jours pour des doses quotidiennes de 51200-248000 pg/kg/jour. Aucun coefficient de transfert "aliment-tissu" n'a été défini pour les HAP.

La contamination des tissus suite à un apport chronique de dioxines et de HAP a fait l'objet d'un petit nombre d'étude. De plus, l'ensemble des travaux recensés a été réalisé sur une seule matrice vecteur constituée d'huile alimentaire. Connaissant l'impact de la matrice sur le processus d'absorption ainsi que son éventuel rôle sur la distribution tissulaire (comme le suggère Kadry *et al.* (1995) pour le phénanthrène), il serait intéressant d'étudier la répartition des molécules suite à l'ingestion d'un aliment naturellement contaminé (contamination plus modérée) et de consommation courante : le lait.

4. Conclusion

Alors que le mécanisme d'absorption des micropolluants organiques lipophiles a fait l'objet de nombreuses études, la distribution tissulaire de ces congénères suite à l'ingestion de matrice alimentaire contaminée et l'exposition chronique ont été moins étudiées. Ainsi même si la répartition tissulaire des micropolluants organiques semble dépendre de nombreux facteurs (dont la persistance, la lipophilicité et l'encombrement spatial des congénères, la teneur en matière grasse, l'équipement enzymatique et les taux de perfusions tissulaires), de nombreuses questions restent en suspens :

La distribution tissulaire d'un micropolluant organique donné, obtenue suite à une ingestion chronique diffère-t-elle de celle observée suite à une administration unique ?

Un élément de réponse peut être suggéré en fonction de la dose appliquée. En effet si la dose

ingérée en une fois engendre une induction cytochromique au niveau du foie, alors cette molécule sera principalement localisée au niveau du foie. Lors du fractionnement de la dose sur une période plus longue, il peut être supposé que la concentration hépatique quotidienne de ce congénère soit inférieure à celle nécessaire pour induire les cytochromes P450. La distribution tissulaire serait alors principalement régie par la teneur lipidique des tissus et non plus par les protéines de liaison. Dans ce cas de figure, la répartition du micropolluant organique différerait entre les deux modes d'administration. Inversement, il peut être suggéré que la distribution tissulaire est similaire entre l'ingestion unique et l'ingestion chronique lorsque la dose ingérée en une fois n'engendre aucune induction hépatique. Cependant d'autres facteurs peuvent intervenir telles que l'accoutumance pouvant favoriser l'absorption.

Quelle est la répartition tissulaire des 17 dioxines, des 16 HAP ou des deux familles de molécules combinées suite à l'ingestion unique ou chronique d'une matrice vecteur contaminée ?

En effet, les travaux recensés ne portent d'une part que sur les 17 dioxines et d'autre part se sont focalisés sur la rétention hépatique. De plus, lors d'étude de la répartition tissulaire des micropolluants organiques, les molécules principalement étudiées étaient les deux molécules de référence : le benzo[a]pyrène et la 2,3,7,8-TCDD. Ainsi nous pouvons nous demander si les molécules prises individuellement se distribuent de la même façon que celles étudiées dans la littérature, et si les molécules d'un mélange ne vont pas interagir entre elles (compétition, dégradation...), modulant ainsi leur répartition tissulaire.

Quel est la nature des molécules se répartissant dans les tissus (molécules mères ou métabolites) ?

Pour les dioxines, la majorité des études recensées porte sur l'analyse des molécules mères dans les tissus, analyse s'effectuant après une extraction de la matière grasse tissulaire, du fait du fort caractère lipophile de ces congénères. Or, suite à l'amélioration des techniques analytiques, de nombreux auteurs ont démontré que la persistance des dioxines était relative, ces composants pouvant être dégradés dans l'organisme. Ainsi nous sommes en droit de nous demander quels sont ces métabolites, quelle est la part de ces composés par rapport à celle des molécules mères et quel est le devenir de ces produits de dégradations dans l'organisme (élimination : comment ? ; stockage : où ?).

Pour les HAP, les quelques travaux recensés ont été effectués à partir d'un marquage isotopique de ces congénères. Les molécules suivies sont ainsi à la fois des molécules mères et des métabolites. Or les études d'absorption intestinale ont démontré que certains HAP étaient très fortement métabolisés au niveau des entérocytes, la dégradation pouvant être quasi-totale. La distribution tissulaire des HAP correspondrait non pas aux molécules mères mais aux métabolites, d'où une forte disparité entre congénères.

IV. Conclusion de la synthèse bibliographique

Une des principales expositions de l'homme aux micropolluants organiques lipophiles résulte de la contamination des aliments, contamination provenant de la pollution de l'environnement (contamination de la chaîne alimentaire), ou suite aux procédés de cuisson.

Il peut être supposé qu'une exposition n'engendre pas forcément une contamination de l'organisme. Cependant de nombreuses études portant sur l'absorption des dioxines et des HAP suite à l'ingestion d'une matrice alimentaire contaminée, ont mis en évidence leur transfert. La détermination du taux d'absorption des micropolluants organiques via la méthode de bilan fécal et l'utilisation de modèles *in vitro* ont permis de mettre en évidence une modulation du taux d'absorption des dioxines et des HAP en fonction des propriétés physico-chimiques de ces molécules et des caractéristiques de la matrice vecteur (l'huile, et le sol étant les deux matrices les plus utilisées). De plus, le mécanisme d'absorption de ces congénères s'effectuerait en plusieurs étapes (solubilisation micellaire, transit entérocytaire orchestré ou non par une dégradation des molécules en composés plus solubles et une excrétion dans la veine porte ou la lymphe). Cependant parmi l'ensemble des recherches évoquées précédemment, les principales notions qui n'ont pas été prises en compte sont les suivantes :

- 1) La 2,3,7,8-TCDD et le benzo[a]pyrène sont les molécules utilisées comme référence des dioxines et des HAP respectivement d'après leur toxicité. Toutefois, l'ensemble des micropolluants organiques pourrait ne pas être transféré de la même façon. Ainsi nous nous proposons d'étudier l'absorption de ces deux molécules, ainsi que des molécules présentant des propriétés physico-chimiques distinctes : les 17 congénères de dioxines et le phénanthrène.
- 2) De plus, vu les limites des méthodes utilisées dans les essais antérieurs, il est difficilement envisageable d'avoir une cinétique d'absorption précise des micropolluants organiques. Ainsi les deux expérimentations que nous avons menées reposent sur l'apparition de ces composés dans le sang (artériel et/ou portal).
- 3) Enfin, le lait et ses dérivés constituent des matrices peu étudiées dans la littérature contrairement aux huiles. Or, il est montré que l'exposition aux dioxines via ces aliments représentent 40 % de l'exposition totale en France. Nous nous sommes donc intéressés aux transferts de ces congénères suite à l'ingestion de lait contaminé.

La majorité des travaux recensés portant sur le transfert des dioxines de l'aliment (l'huile) aux tissus cibles (foie, tissu adipeux) ont permis de mettre en évidence que la distribution tissulaire était non seulement fonction de la lipophilicité tissulaire mais également de la présence de protéines de liaisons. Cependant ces études ont porté sur la dioxine et non l'ensemble des PCDD/F avec comme mode d'administration bien souvent une ingestion unique. Ainsi, nous nous proposons d'étudier le devenir tissulaire des 16 autres congénères en plus de la 2,3,7,8-TCDD et ce en administration orale continue afin de se rapprocher des conditions de la contamination de l'homme. L'ingestion étant un paramètre contrôlé, nos travaux visent également la détermination de coefficients de transfert des molécules dans les tissus à l'équilibre.

Partie expérimentale

Partie I :

Transfert des dioxines et des HAP du lait au sang

PARTIE I : Etude expérimentale du transfert des dioxines et des HAP du Lait au Sang

Introduction

Les études portant sur l'absorption intestinale des micropolluants organiques sont basées soit sur la disparition de ces molécules lors du transit gastro-intestinal (méthode de bilan fécal *in vivo*), soit sur l'apparition des congénères dans l'organisme (méthode de culture cellulaire *in vitro*, méthode d'apparition sanguine *in vivo*). Alors que la première approche est couramment utilisée, la seconde est rare dans les expérimentations rapportées dans la bibliographie.

De ces deux démarches, ressortent différentes hypothèses et conclusions. L'absorption des dioxines et des HAP serait fonction des propriétés physico-chimiques de ces molécules (la lipophilicité principalement) et des caractéristiques de la matrice vecteur (l'huile, et le sol étant les deux matrices les plus utilisées). Ainsi par exemple, le mécanisme d'absorption du benzo[a]pyrène serait proche de celui des acides gras. Cependant contrairement à la majorité de ces derniers, la voie d'excrétion entérocytaire de ce congénère serait la voie portale, changement d'orientation dicté par une dégradation du HAP au niveau d'un compartiment/particule cytoplasmique (le réticulum endoplasmique lisse/microsome) (Van Veld, 1990 ; Zhang *et al.*, 1999). En est-il de même pour les autres molécules de cette famille de micropolluants organiques ? Cette question fait écho à la différence notée par Rahman et Barrowman (1986) au niveau de l'étape de solubilisation entre le benzo[a]pyrène et le phénanthrène ainsi que les différents taux de transfert démontrés lors d'études *in vivo*. Pour les dioxines, le mécanisme d'absorption est non élucidé. Wittsiepe *et al.* (2001) ont démontré que la solubilisation micellaire était nécessaire à l'absorption intestinale de ces molécules. Cavret (2002) met en évidence le transit lent de la 2,3,7,8-TCDD du milieu apical au milieu basal lors de cultures *in vitro*. Ceci suggère que la molécule passe dans différents compartiments cytoplasmiques avant d'être éliminée. Enfin Lakshmanan *et al.* (1986) démontrent qu'une voie d'excrétion entérocytaire de la 2,3,7,8-TCDD est la lymphe. Qu'en est-il au niveau portal ? Quelle est la principale voie d'excrétion des cellules intestinales pour la 2,3,7,8-TCDD ? En est-il de même pour les 16 autres congénères de dioxines ?

Ainsi, que ce soit pour les HAP ou pour les dioxines, le transfert de ces composés de l'aliment au sang demeure encore une énigme. Nos expérimentations visent à apporter des

renseignements supplémentaires sur l'absorption des micropolluants organiques. Le premier objectif est de démontrer l'apparition sanguine de ces molécules contenues dans une matrice telle que le lait, aliment fortement consommé en France et dont le niveau de contamination en dioxines est parfois non négligeable. Le deuxième objectif est de déterminer l'effet des propriétés physico-chimiques des congénères sur ce paramètre. Enfin, le dernier objectif est d'élucider le rôle de la veine porte dans l'absorption intestinale des micropolluants organiques. Deux expérimentations sont menées chez des porcs en croissance :

- l'une basée sur l'apparition porto-artérielle du [^{14}C] suite à l'ingestion de lait enrichi en [^{14}C] phénanthrène, [^{14}C] benzo[a]pyrène ou [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD
- l'autre sur le transfert des 17 congénères de dioxines du lait au plasma artériel suite à l'ingestion de lait contaminé

I : Apparitions portales et artérielles du [^{14}C] phénanthrène, du [^{14}C] benzo[a]pyrène et de la [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD contenus dans du lait chez le porc

1. Protocole expérimental

1.1. Animaux

Six porcs, munis de cathéters permanents au niveau de la veine porte et de l'artère brachiocéphalique, ont été utilisés lors de cette étude (2 porcs par molécule). Les animaux pesant (45 à 50 kg) issus d'une ferme commerciale (EARL BIMA, Pulligny, France) ont été choisis pour les deux raisons suivantes :

- la possibilité de réaliser des prélèvements sanguins répétitifs sans nuire à la santé de l'animal (9 prélèvements x 2 vaisseaux x 10 mL de sang par prélèvement)
- le porc est souvent utilisé comme un modèle de l'homme pour l'absorption de nutriments (Moughan et Rowan, 1989 ; Darragh et Moughan, 1995)

L'opération chirurgicale s'est déroulée à la faculté de médecine de Nancy, au Laboratoire de Chirurgie Expérimentale sous la direction du docteur Simoes-Nunes (chirurgien, Société Roche), du Docteur Mertes (anesthésiste) et de son équipe. Cette opération consistait à implanter deux cathéters permanents, l'un situé au niveau de la veine porte et l'autre dans la artère brachiocéphalique. Suite à leur opération, les porcs ont été placés dans des cages à métabolisme afin de faciliter les soins quotidiens (renouvellement des pansements, désinfection des plaies et veille au bon fonctionnement des cathéters) ainsi que de maintenir l'hygiène des locaux. Les animaux ont alors été alimentés avec une ration équilibrée, correspondant à leur besoin d'entretien et de croissance, composée de farine de céréales et de tourteau de soja (800 g/repas, 2 fois par jour). L'eau était distribuée à volonté. De plus, régulièrement, du lait leur a été fourni afin de les habituer à cet aliment.

A la fin de l'expérimentation, les animaux ont été anesthésiés par une injection intraveineuse de phénobarbital (Vétoquinol[®], SANOFI Santé Animal) puis euthanasiés par administration d'une solution de chlorure de potassium (KCl) saturée.

1.2. Contamination du lait au [¹⁴C] phénanthrène, au [¹⁴C] benzo[a]pyrène ou au [¹⁴C] 2,3,7,8-TCDD

Lors de la journée expérimentale, chaque porc a ingéré un litre de lait contaminé directement soit par 1,8.10⁶ Bq de [¹⁴C] benzo[a]pyrène (235 µg ou 4.10⁴ Bq/kg), soit par 1,8.10⁶ Bq de la [¹⁴C] 2,3,7,8-TCDD (355 µg ou 4.10⁴ Bq /kg) soit par 5,4.10⁵ Bq de [¹⁴C] phénanthrène (50 µg ou 1,2.10⁴ Bq/kg).

Le choix de ces molécules reposait sur le fait qu’elles représentaient la diversité des propriétés physico-chimiques des micropolluants organiques (Tableau 21).

Tableau 21 : Propriétés physico-chimiques des molécules étudiées

Composés	Nombre de cycles	Lipophilicité (Log Kow)	Solubilité aqueuse (mg/L)	PM (g/mol)	Activité spécifique (Bq/µmol)	Solvant organique	Fournisseur
Phénanthrène	3	4,5	1,21	178,2	1,98.10 ⁶	Méthanol	Moraveck Biochemicals, Inc.
Benzo[a]pyrène	5	6,31	0,0038	254	1,94.10 ⁶	Toluène	Amersham Pharmacia Biotech.
2,3,7,8-TCDD	2	6,96	0,00002	321,98	1,63.10 ⁶	Toluène	Isobio

PM: Poids moléculaire

En effet, les deux HAP diffèrent entre eux par leur lipophilicité, leur nombre de cycles aromatiques et leur poids moléculaire. La 2,3,7,8-TCDD présente un poids moléculaire plus important que celui des deux HAP, une lipophilicité plus élevée que celle du phénanthrène et un nombre de cycles aromatiques plus restreint que celui du benzo[a]pyrène.

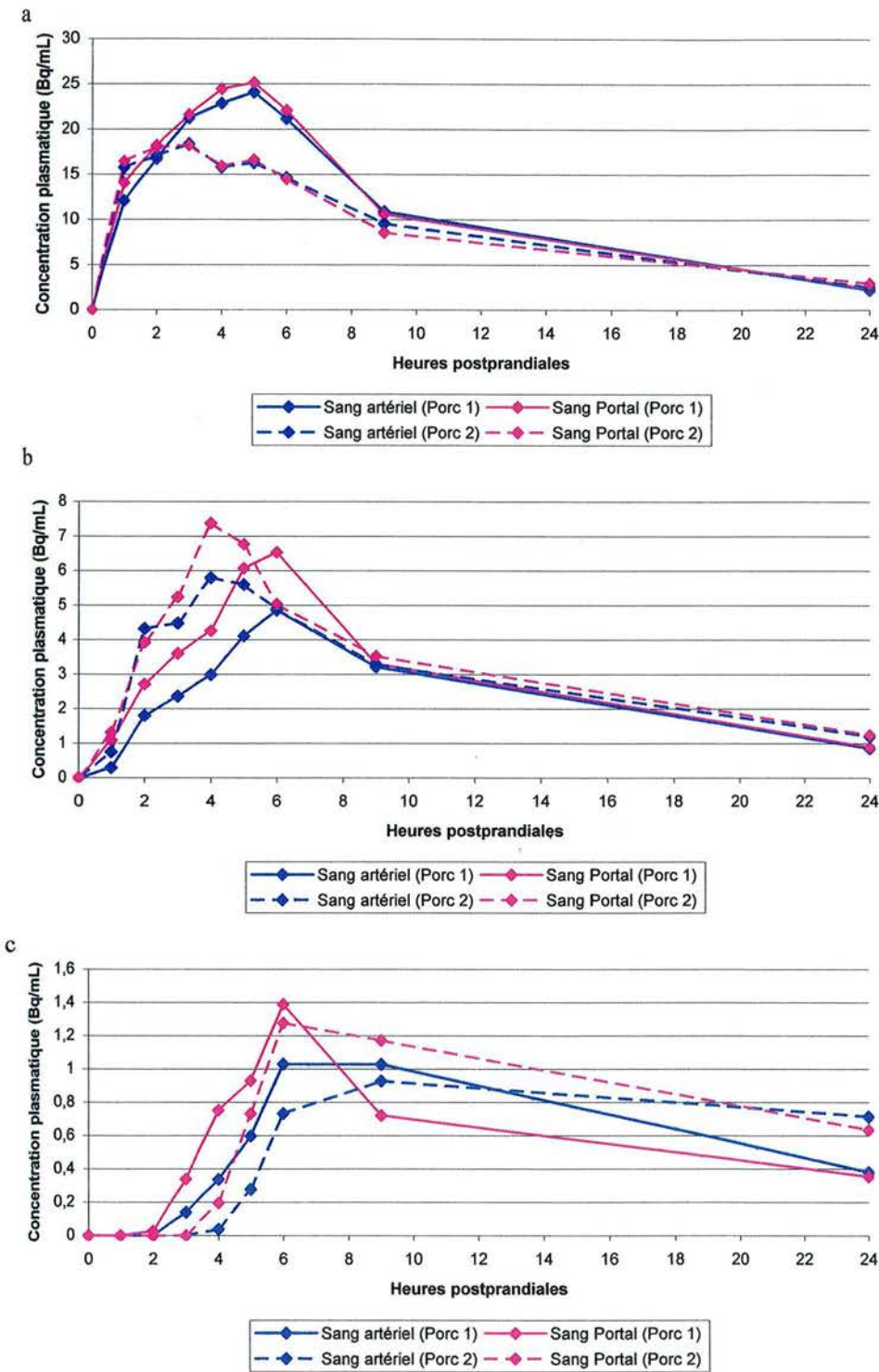
1.3. Prélèvements sanguins

Des prélèvements sanguins porto-artériels (10 mL par vaisseau sanguin) ont été collectés simultanément dans des vacutainers stériles héparinés :

- 1) avant la distribution du lait contaminé
- 2) 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9 et 24 heures après l’ingestion de lait

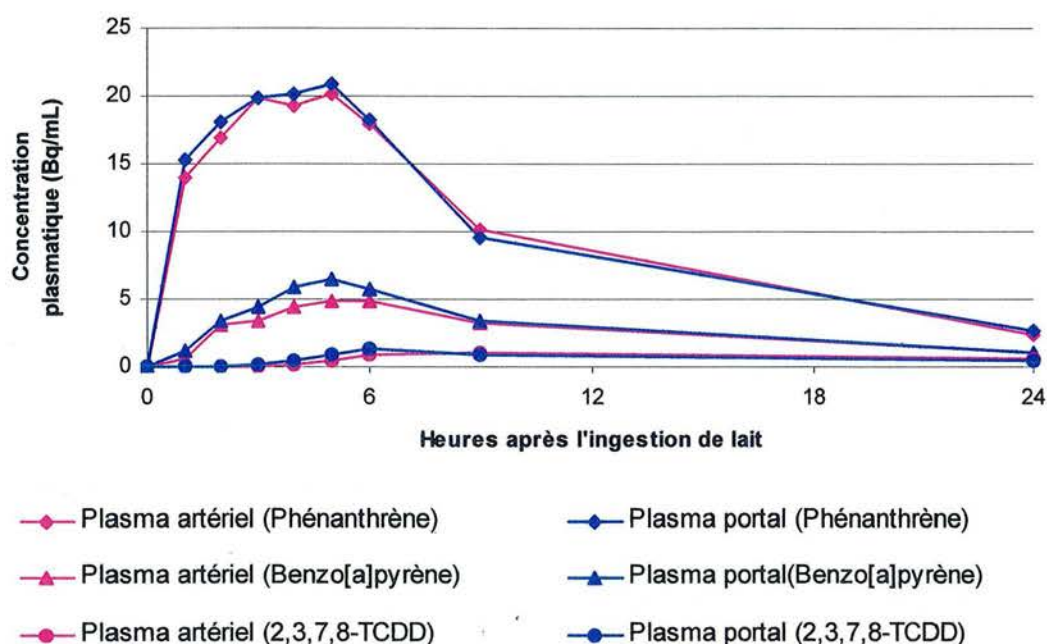
Le sang prélevé a été remplacé par des quantités équivalentes de solution héparinée de chlorure de sodium stérile (NaCl, 9 g/L) afin d’éviter la formation de caillots. Les échantillons

Figure 16 : Cinétiques d'apparition artérielle et portale de [¹⁴C] suite à l'ingestion, chez le porc en croissance d'un litre de lait enrichi en [¹⁴C] phénanthrène (a), en [¹⁴C] benzo[a]pyrène (b) ou en [¹⁴C] 2,3,7,8-TCDD (c)



la radioactivité associée aux trois micropolluants organiques étudiés sont similaires : les concentrations en ^{14}C atteignent des valeurs maximales entre 4 et 6 heures postprandiales (Figure 17).

Figure 17 : Cinétiques portales et artérielles de ^{14}C suite à l'ingestion chez le porc en croissance de 1 litre de lait enrichi en ^{14}C phénanthrène, ^{14}C benzo[a]pyrène ou ^{14}C 2,3,7,8-TCDD (valeur moyenne, n=2)



Vingt-quatre heures après l'ingestion de lait par les porcs, les teneurs plasmatiques pour les trois molécules sont de l'ordre de 1 Bq/mL. Cependant des différences d'évolution et de concentrations existent entre les micropolluants organiques étudiés. La radioactivité associée au ^{14}C phénanthrène apparaît très rapidement dans le sang et en forte teneur : 1 heure après l'ingestion du lait par le porc, la concentration plasmatique est de 14 Bq/mL alors qu'elle n'est que de 1 et 0 Bq/mL de plasma pour le benzo[a]pyrène et la 2,3,7,8-TCDD. De même, la teneur maximale (20 Bq/mL) du ^{14}C phénanthrène est 4 fois et 19 fois plus élevée que celles du ^{14}C benzo[a]pyrène et de la ^{14}C 2,3,7,8-TCDD respectivement. Or la contamination du lait par cette molécule était environ 3 fois moins importante que pour les deux autres. Enfin la dissipation de la radioactivité associée au phénanthrène ou du benzo[a]pyrène dans le compartiment plasmatique est beaucoup plus importante que celle de la 2,3,7,8-TCDD : 24

heures après l'ingestion du lait, seulement 13 et 19 % de la concentration mesurée au pic d'apparition plasmatique est détectée pour, respectivement, le phénanthrène et le benzo[a]pyrène, contre 43 % pour la 2,3,7,8-TCDD.

Les taux de radioactivité portale étant de manière générale supérieurs à ceux mesurés dans l'artère entre 0 et 6 heures postprandiales, et ce pour les trois micropolluants organiques testés, nous avons estimé l'absorption portale par différence de concentrations porto-artérielles durant ce laps de temps. Selon nos calculs, l'absorption portale de [^{14}C] du phénanthrène est de 85 % de la dose administrée. Elle est 3 et 13 fois plus élevée que celle déterminée pour le benzo[a]pyrène et la 2,3,7,8-TCDD (Tableau 22).

Tableau 22 : Absorption portale en [^{14}C] après l'ingestion d'un litre de lait enrichi en [^{14}C] phénanthrène, [^{14}C] benzo[a]pyrène ou [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD chez le porc en croissance (valeur moyenne, n=2)

	Phénanthrène	Benzo[a]pyrène	2,3,7,8-TCDD
% de la dose administrée	85	34	6
% de la dose absorbée			
0 - 3 heures	58	32	8
3 - 6 heures	42	64	92
6 - 24 heures	0	3	0

En effet, pour le benzo[a]pyrène, le taux d'absorption est de 34 %. Celui déterminé pour la 2,3,7,8-TCDD est beaucoup plus faible (6 %). Enfin, le pic d'absorption portale de la radioactivité associée au phénanthrène, situé entre 0 et 3 heures postprandiales, diffère de celui des deux autres (3 - 6 heures).

3. Discussion

Suite à l'ingestion de lait contaminé chez des porcs en croissance, le [^{14}C] issu du phénanthrène, du benzo[a]pyrène ou de la 2,3,7,8-TCDD est détecté dans le sang démontrant ainsi une absorption intestinale des trois molécules. Ce résultat met également en évidence que contrairement aux fibres alimentaires, composants favorisant l'excrétion fécale des dioxines (Morita *et al.*, 2002), le lait est une matrice susceptible de contaminer l'organisme.

Cette observation est concordante avec celles de Jodicke *et al.* (1992), Pluim *et al.* (1993), Körner *et al.* (1993), McLachlan (1993), Abraham *et al.* (1994), et de Dahl *et al.* (1995), données obtenues via la méthode des bilans, chez des enfants, pour la 2,3,7,8-TCDD. Pour les HAP, le transfert Lait-Sang n'avait pas été encore étudié.

Les cinétiques d'apparition plasmatique de [^{14}C] issues du phénanthrène, du benzo[a]pyrène et de la 2,3,7,8-TCDD sont en accord avec celles définies respectivement par Kadry *et al.* (1995), par Foth *et al.* (1988) et par Wang *et al.* (1997). Cependant, ces auteurs n'avaient étudié qu'une seule molécule à la fois. Il s'avère que la comparaison des cinétiques d'apparition plasmatique entre la radioactivité associée aux différentes molécules fournit des résultats intéressants. En effet, nos données permettent de mettre en évidence que, pour des conditions expérimentales similaires, le phénanthrène se comporte différemment des deux autres molécules étudiées. La radioactivité associée à ce congénère apparaît plus rapidement dans le compartiment sanguin que celles des deux autres et à des taux plus élevés (Tableau 22). Plusieurs hypothèses empruntées à la bibliographie et portant sur le mécanisme d'absorption des micropolluants organiques permettraient d'expliquer ce résultat. Selon Rahman et Barrowman (1986), le phénanthrène ainsi que les autres HAP de forte solubilité et composés de moins de 4 cycles aromatiques franchissent la membrane en brosse des cellules intestinales sans avoir recours aux sels biliaires (comportement analogue aux acides gras à courtes chaînes). Inversement les HAP de type benzo[a]pyrène sont absorbés suite à une solubilisation micellaire comme pour les acides gras à chaînes hydrocarbonées longues. Il peut donc être supposé que l'étape de solubilisation engendre un délai en terme d'apparition plasmatique. A cela peuvent s'ajouter les différences de transit entérocytaire des molécules lipophiles : pour les acides gras à chaînes hydrocarbonées courtes, le passage dans les cellules intestinales peut être considéré comme furtif (transport direct de part et d'autre de la cellule) en comparaison aux acides gras à chaînes longues qui transitent dans différents compartiments cytoplasmiques (réticulum endoplasmiques, appareil de Golgi, liposomes) avant d'atteindre la membrane basale des entérocytes. Ainsi en conservant l'analogie entre les acides gras et les micropolluants organiques, le phénanthrène pourrait être véhiculé directement de part et d'autre des entérocytes (d'où une apparition rapide dans le sang) tandis que le benzo[a]pyrène passerait par les différents compartiments cytoplasmiques. Ces hypothèses sont cohérentes avec les cinétiques des taux d'absorption des deux HAP (Tableau 23), similaires aux lipides pour le benzo[a]pyrène (Dubois *et al.*, 1996) et proche des molécules plus solubles pour le phénanthrène (protéines et glucose, Mahe *et al.*, 1994). Enfin,

Tableau 23 : Absorption portale en [¹⁴C] après l'ingestion d'un litre de lait enrichi en [¹⁴C] phénanthrène, [¹⁴C] benzo[a]pyrène ou [¹⁴C] 2,3,7,8-TCDD chez le porc en croissance (valeur moyenne, n=2)

	Phénanthrène	Benzo[a]pyrène	2,3,7,8-TCDD
% de la dose absorbée			
0 - 1 heure	29	11	0
1 - 2 heures	27	4	0
2 - 3 heures	2	17	8
3 - 4 heures	18	24	23
4 - 5 heures	15	26	32
5 - 6 heures	9	15	37

un dernier facteur peut être cité pour expliquer les différences d'apparition plasmatique entre les deux HAP, à savoir le métabolisme intestinal. En effet, Laher *et al.* (1983) ont démontré que le transit entérocytaire de la radioactivité associée au benzo[a]pyrène se différenciait de celui des acides gras au niveau du réticulum endoplasmique lisse, compartiment doté d'enzymes dont les cytochromes P450 (Van Veld, 1990). Parallèlement Bock *et al.* (1979), Cavret (2002) et Buesen *et al.* (2002, 2003) ont mis en évidence la présence de métabolites du benzo[a]pyrène au niveau sanguin ainsi que dans le milieu basal (lors de culture cellulaire) à des taux avoisinant les 90 % de la dose administrée. Ainsi la radioactivité associée au benzo[a]pyrène apparaîtrait plus lentement dans le sang que celle du phénanthrène, cette molécule devant être solubilisée pour franchir la barrière aqueuse, transitant dans les différents compartiments cytoplasmiques avant d'être excrétée sous forme de métabolites. Toutefois, le phénanthrène présente un taux d'absorption portale non négligeable (42 % de la radioactivité totale absorbée) entre 3 et 6 heures après administration de lait contaminé chez des porcs. Il peut être suggéré que son transit entérocytaire est double : une partie transiterait de manière similaire aux acides gras à courte chaîne hydrocarbonée (d'où la forte apparition et les forts taux d'absorption dans le sang dès une heure), l'autre partie subirait une biotransformation entérocytaire suite à une éventuelle liaison avec le récepteur Ah (récepteur cytosolique ; Denison *et al.*, 2002). Cette hypothèse coïncide avec les résultats de Cavret (2002). En effet cet auteur a mis en évidence que le pourcentage de la radioactivité totale associée au phénanthrène détecté dans le milieu basal comprend 45 % de formes hydroxylées (Cavret, 2002). Ainsi la concomitance des cinétiques d'apparition entre la matière grasse et les HAP s'expliquerait par une succession d'étapes pour les HAP (solubilisation micellaire ou non, un passage furtif dans les entérocytes ou au contraire une séquestration enzymatique conduisant à une dégradation des molécules) et non d'un lien physique entre ces molécules et les composants lipidiques.

La 2,3,7,8-TCDD admet une cinétique d'apparition proche de celle du benzo[a]pyrène. Son devenir entérocytaire est-il similaire à celui du benzo[a]pyrène (compartiments cytoplasmiques) ou à celui du phénanthrène (liaison avec le récepteur Ah) ? Même si l'affinité du récepteur Ah pour la 2,3,7,8-TCDD a été démontrée (Denison *et al.*, 2002) le peu de données bibliographiques ne permet pas de réfuter l'autre hypothèse. Cependant Jones *et al.* (2000) ont mis en évidence que la production des systèmes enzymatiques suite à la pénétration de la 2,3,7,8-TCDD dans les entérocytes était plus persistante que celle des HAP, cette production conduisant ou non à la formation de métabolites (le métabolisme de la

2,3,7,8-TCDD étant très controversé, Gasiewicz *et al.*, 1983 ; Kedderis *et al.*, 1991 ; Van den Berg *et al.*, 1994 ; Pegram *et al.*, 1995 ; Lawrence et Gobas, 1997 ; Jones *et al.*, 2000). Ainsi, le délai d'apparition plasmatique de la 2,3,7,8-TCDD correspond, certes, au temps nécessaire à la solubilisation micellaire (Wittsiepe *et al.*, 2001), mais surtout à celui de la séquestration intestinale.

Au-delà de 6 heures postprandiales, les concentrations plasmatiques (artérielles et portales) de la radioactivité associée aux trois molécules tend à diminuer. Cette observation met en évidence que l'absorption intestinale des molécules est soit terminée, soit inférieure à la captation tissulaire. L'évolution plasmatique de la radioactivité du phénanthrène ou du benzo[a]pyrène se démarque de celle de la 2,3,7,8-TCDD. En 18 heures, la teneur plasmatique en [^{14}C] des deux HAP chute en moyenne de 84 % de la concentration maximale, tandis que la teneur plasmatique 2,3,7,8-TCDD diminue seulement de moitié. La disparition sanguine rapide des deux HAP et lente de la 2,3,7,8-TCDD a été observée également par Kotin *et al.* (1959), par Van Schooten *et al.* (1997), Wang *et al.* (1997). Cette différence de diminution des concentrations plasmatiques peut être expliquée de deux manières :

- 1) L'absorption des HAP est terminée contrairement à celle de la 2,3,7,8-TCDD. Ainsi pour les HAP, leur disparition rapide du compartiment sanguin serait due à une captation tissulaire tandis que pour la 2,3,7,8-TCDD la distribution tissulaire serait certes prédominante mais les effets seraient atténués par l'absorption.
- 2) La rapidité de distribution tissulaire est différente en fonction des deux familles de micropolluants organiques. Est-ce l'impact de la lipophilicité ? En effet, le devenir plasmatique similaire entre les deux HAP laisse suggérer que la captation cellulaire est indépendante du poids moléculaire ou du nombre de cycles des molécules (la lipophilicité n'intervenant plus dans la mesure où les molécules sont dégradées donc moins lipophiles).

Le taux d'absorption portale de la radioactivité du phénanthrène est respectivement 3 et 16 fois plus élevé que celui du benzo[a]pyrène et de la 2,3,7,8-TCDD. Contrairement aux observations de Moser et McLachlan (1999), il semblerait que le poids moléculaire limite l'absorption au même titre que la lipophilicité (Figure 18). Cependant, cette observation ne reste qu'une hypothèse dans la mesure où le nombre de données utilisé est restreint. De plus, le taux d'absorption de la 2,3,7,8-TCDD obtenu dans cet essai diffère notablement des données bibliographiques (Tableau 24). Cette infériorité systématique de nos résultats par rapport à ceux recensés peut être en partie expliquée par les méthodes analytiques utilisées.

Figure 18 : Corrélation entre l'absorption portale du [¹⁴C] phénanthrène, du [¹⁴C] benzo[a]pyrène et de la [¹⁴C] 2,3,7,8-TCDD et leur lipophilicité, leur poids moléculaire ou leur nombre de cycles aromatiques

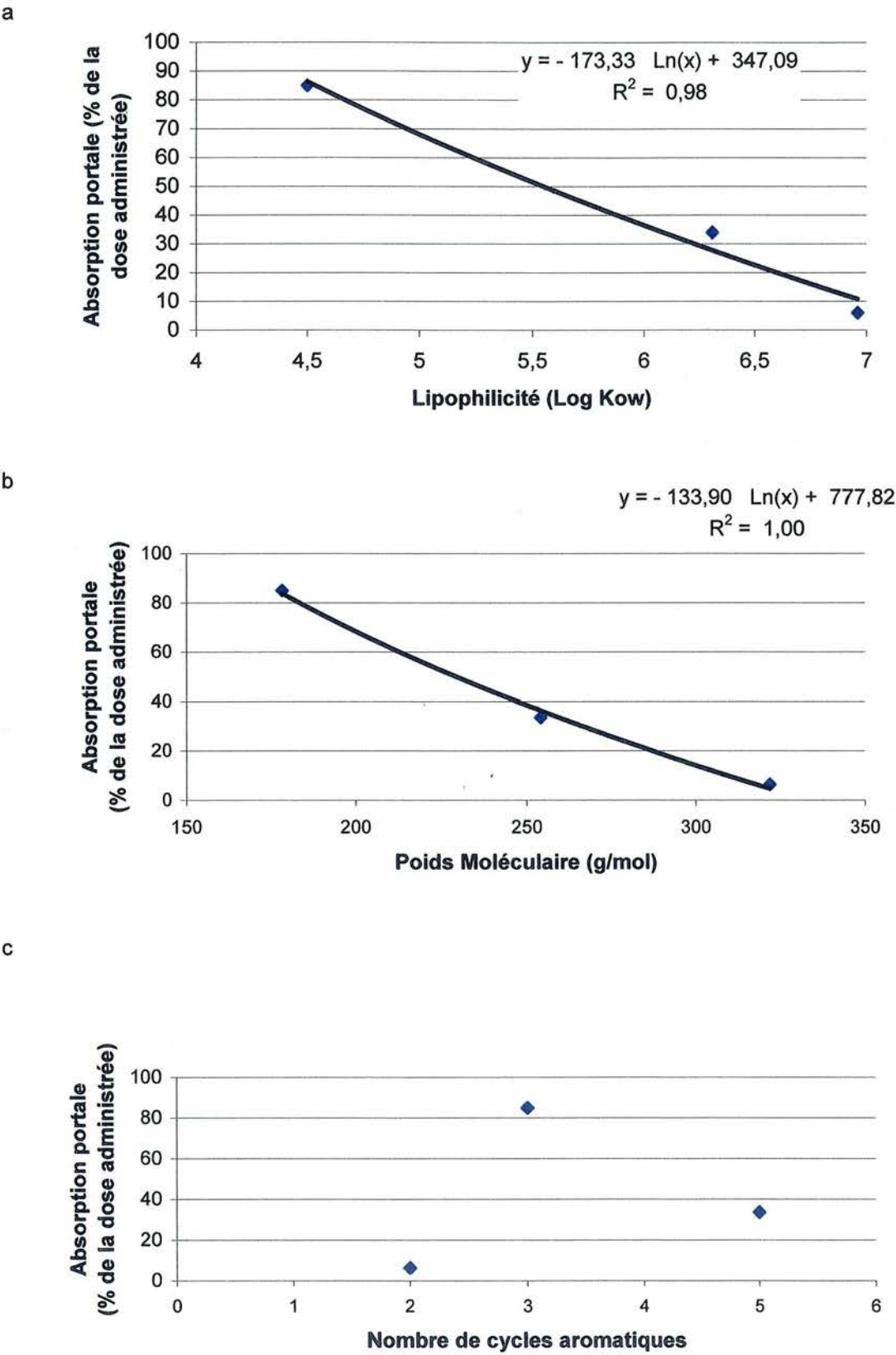


Tableau 24 : Comparaison de l'absorption des micropolluants organiques déterminée dans notre expérimentation avec les données de la littérature

	Méthodologie	Phénanthrène	Benzo[a]pyrène	2,3,7,8-TCDD
Données de la littérature				
(% de la dose administrée)				
Chu <i>et al.</i> (1992)	Sang (AUC)	90		
Kadry <i>et al.</i> (1995)	Sang (AUC)	72 à 78		
Bock <i>et al.</i> (1979)	Sang (AUC)		30	
Chang <i>et al.</i> (1988)	Fèces (bilan)		56 à 62	
Rahman <i>et al.</i> (1986)	Sang (AUC)		7 à 30	
Stravic et Klassen (1994)	Sang (AUC)		3 à 16	
Allen <i>et al.</i> (1995)				
Piper <i>et al.</i> (1973)	RC (bilan)			70 à 85
Rose <i>et al.</i> (1976)				
Fries et Marrow (1975)	RC (bilan)			50 à 60
Lakshamanan <i>et al.</i> (1986)	L (AUC)			30 à 70
Diliberto <i>et al.</i> (1996)	RC (bilan)			88
Moyenne des données bibliographiques		83	29	68
Nos résultats				
(% de la dose administrée)	Sang (PA)	85	34	6

AUC : Aire sous la courbe

RC : Rétention corporelle

L : Lymphé

PA : Différence de concentrations porto-artérielles

En effet, le modèle des différences porto-artérielles permet de mettre en évidence la prépondérance de l'une des deux voies de sécrétion entérocytaire (portale ou lymphatique) sans pouvoir quantifier indépendamment ces deux voies : une différence porto-artérielle positive signifie que la sécrétion portale est plus élevée que celle lymphatique. Ainsi pour des molécules hydrophiles, transitant principalement voire exclusivement par la voie portale, cette méthode d'absorption est très fiable (conférer la similitude entre nos données et celles de la bibliographie pour l'absorption des HAP). Inversement, elle peut engendrer une sous-estimation de l'absorption des composés lipophiles, empruntant les deux voies d'excrétion entérocytaire. D'autres hypothèses peuvent être également formulées telles que les différences de matrices, de doses administrées ou d'animaux modèles.

4. Conclusion

L'ingestion de lait contaminé par des porcs en croissance conduit à un transfert des molécules du lait au sang. Les trois molécules présentent un pic d'apparition plasmatique concomitant avec celui de la matière grasse. En effet, Dubois *et al.* (1996) ont démontré que l'absorption des acides gras avait lieu principalement entre 3 et 6 heures après l'ingestion. Cependant, la radioactivité associée au phénanthrène apparaît plus rapidement dans le plasma que celle du benzo[a]pyrène ou de la 2,3,7,8-TCDD. Le transfert "lait-plasma" est donc différentiel selon les congénères. Une hypothèse explicative, basée sur les données de la bibliographie, est que le transit entérocytaire est différent selon les HAP étudiés :

- le benzo[a]pyrène franchirait la membrane en brosse des cellules intestinales suite à une solubilisation dans les micelles biliaires, emprunterait la voie cytoplasmique des acides gras à longue chaîne hydrocarbonée. Lors de ce transit, il serait alors séquestré par un système enzymatique et dégradé.
- le phénanthrène de part sa faible lipophilicité et son nombre de cycles aromatiques restreint pénétrerait directement dans les entérocytes puis transiterait de part et d'autre de la cellule.

Cependant cette dernière suggestion ne tient pas compte de l'apparition plasmatique tardive (entre 4 et 6 heures) de la radioactivité associée au phénanthrène. Nous pouvons donc supposer que le transit entérocytaire du phénanthrène est double : ce congénère transiterait principalement de part et d'autre de la cellule intestinale ou secondairement serait séquestrer. Pour la 2,3,7,8-TCDD, les données de la littérature ne permettent de formuler une hypothèse

sur le mécanisme d'absorption. Est-il similaire à celui du benzo[a]pyrène ou au transit secondaire du phénanthrène ?

Enfin, dans nos conditions expérimentales (ingestion unique, fortes doses administrées), les taux d'absorption portale des micropolluants organiques diminuent linéairement lors d'une augmentation de la lipophilicité et du poids moléculaire des congénères. Cependant cette observation doit être nuancée dans la mesure où nous avons démontré que la veine porte était la principale voie d'excrétion entérocytaire des 2 HAP étudiés mais pas celle de la 2,3,7,8-TCDD. Ainsi le taux d'absorption portale de la 2,3,7,8-TCDD est sous-estimé.

II : Transfert des 17 congénères de dioxines du lait vers le sang suite à l'ingestion de lait contaminé chez le porc en croissance

1. Protocole expérimental

1.1. Animaux

Deux porcs, munis de cathéters permanents au niveau de l'artère brachiocéphalique et au niveau de la veine porte, ont été utilisés lors de cette étude. Le mode opératoire et l'acclimatation des animaux à leur nouveau logement ont été réalisés de la même manière que lors de l'expérimentation précédente (cf. Partie I, page 59).

1.2. Contamination du lait par les 17 dioxines

La solution étalon de dioxines était conservée dans du nonane, solvant organique fortement lipophile (Laboratoire Wellington, Canada). Afin de permettre un meilleur transfert de ces congénères du nonane à la matière grasse du lait, 4 mL d'acétone ont été mélangés à la solution mère. La contamination du lait s'est alors déroulée en deux étapes : dans 1 litre de lait (UHT, entier) a été versée la solution dioxinée, puis le litre restant a été ajouté. Après une agitation douce, afin de ne pas lyser les globules gras, pendant 20 minutes, 200 mL de lait ont été prélevés pour être analysés. Le restant (deux fois 900 mL de lait) a été distribué aux animaux.

1.3. Prélèvements sanguins

Les prélèvements artériels, de 60 mL chacun, ont été effectués avant l'administration du lait puis à 3, 5, 7 heures après ingestion. Un seul prélèvement de sang portal (à 5 heures postprandiales) a été effectué. Le volume de sang prélevé a été déterminé de manière à avoir suffisamment de matière grasse pour l'analyse. Les échantillons ont été immédiatement centrifugés afin de récupérer le plasma avant d'être congelés et envoyés au laboratoire Micropolluants Technologie (Thionville). La contamination du lait a aussi été déterminée. Les teneurs détectées sont en moyenne 4 fois supérieures à la dose administrée (Tableau 25).

Tableau 25 : Variation des teneurs (pg/g de matière grasse) en dioxines dans le lait entre les valeurs théoriques et celles mesurées

	Teneur solution (µg/mL)	Teneur théorique (ng/g MG)	Teneur mesurée (ng/g MG)	Rapport Mesuré/Théorique
2,3,7,8 TCDD	1	25	90,4	4
1,2,3,7,8 PeCDD	2,5	62,5	215,6	3
1,2,3,4,7,8 HxCDD	2,5	62,5	213,4	3
1,2,3,6,7,8 HxCDD	2,5	62,5	209,3	3
1,2,3,7,8,9 HxCDD	2,5	62,5	219,5	4
1,2,3,4,6,7,8 HpCDD	2,5	62,5	189,1	3
OCDD	5	125	426,9	3
2,3,7,8 TCDF	1	25	74,1	3
1,2,3,7,8 PeCDF	2,5	62,5	154,8	2
2,3,4,7,8 PeCDF	2,5	62,5	171,2	3
1,2,3,4,7,8 HxCDF	2,5	62,5	242,0	4
1,2,3,6,7,8 HxCDF	2,5	62,5	235,0	4
2,3,4,6,7,8 HxCDF	2,5	62,5	243,7	4
1,2,3,7,8,9 HxCDF	2,5	62,5	277,8	4
1,2,3,4,6,7,8 HpCDF	2,5	62,5	173,9	3
1,2,3,4,7,8,9 HpCDF	2,5	62,5	202,2	3
OCDF	5	125	384,6	3

1.4. Analyses de dioxines et de furanes

Les analyses de dioxines/furanes comprennent trois étapes :

- Extraction
- Purification
- Analyse par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse haute résolution (CG-SMHR).

1.4.1. Extraction

Les matières grasses ont été extraites de l'échantillon à analyser. Pour cela, 30 à 40 g de sérum ont été enrichis avec un mélange de composés marqués en ¹³C de concentrations connues (480 pg pour les tétra-, penta- et hexa-chlorés et 960 pg pour les HpCDD/F et les OCDD/F). La composition exacte du mélange est donnée dans le Tableau 26.

Tableau 26 : Composition en isomères du mélange de dioxines marquées au ¹³C

<u>Dioxines</u>	<u>Furanes</u>
2,3,7,8-TCDD	2,3,7,8-TCDF
1,2,3,7,8-PeCDD	1,2,3,7,8-PeCDF
	2,3,4,7,8-PeCDF
1,2,3,4,7,8-HxCDD	1,2,3,4,7,8-HxCDF
1,2,3,6,7,8-HxCDD	1,2,3,6,7,8-HxCDF
	1,2,3,7,8,9-HxCDF
	2,3,4,6,7,8-HxCDF
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF
	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF
OCDD	OCDF

Ce mélange de molécules marquées a été utilisé comme d'une part standard de quantification pour identifier le pouvoir de récupération et d'autre part comme référence de temps de rétention dans l'analyse par chromatographie en phase gazeuse (CG).

Après l'enrichissement, le mélange a été dilué avec de l'eau saturée en sulfate d'ammonium (50 mL, ASC, ISO), 50 mL d'éthanol (Merck Eurolab, Darmstadt, Allemagne) et 100 mL d'hexane (qualité Suprasolv, Merck Eurolab, Darmstadt, Allemagne). La résultante a alors été

agitée dans une ampoule à décanter pendant 10 min. La phase organique a été collectée et la phase aqueuse restante a été de nouveau extraite avec de l'hexane seul (100 mL). La phase organique finale a été ensuite évaporée à sec et la matière grasse a été déterminée par gravimétrie, puis elle a été dissoute dans l'hexane en vue d'une purification.

1.4.2. Purification

La purification est mise en œuvre afin d'éliminer la plupart des composés interférents avec l'analyse par CG-SMHR. Elle comprend deux étapes : une élution sur une colonne de silice, contenant différents types de gels puis une colonne d'alumine (l'éluant étant l'hexane et dichlorométhane, 98:2, V/V, Merck Eurolab, Darmstadt, Allemagne) suivi d'une seconde élution sur une colonne d'alumine (le mélange de l'éluant est 1 :1,V/V).

La composition de ces deux colonnes était :

- Colonne de silice (de bas en haut) : 1 g de sulfate de sodium anhydre (ASC, ISO, Merck Eurolab, Darmstadt, Allemagne), 1 g de silice activé (ASC, ISO, Merck Eurolab, Darmstadt, Allemagne), 8 g de silice imprégnée d'acide sulfurique 30 %, 1 g de silice activé et 4 g de silice imprégné d'hydroxyde de sodium 23 %.
- Colonne d'alumine (de bas en haut) : 1 g de sulfate de sodium anhydre, 15 g d'alumine activée (Brockman I, Merck Eurolab, Darmstadt, Allemagne).

Seule la seconde fraction a été collectée et concentrée suite à une évaporation du solvant sous flux d'azote très pur. Enfin 10 μ L de nonane a été ajouté (le nonane servant de solvant de garde, Merck Eurolab, Darmstadt, Allemagne). Des quantités connues (480 pg) de ^{13}C -2,3,7,8-TCDD et de ^{13}C -1,2,3,7,8,9-HxCDD ont été additionnées pour servir comme standards internes. L'extrait est alors évaporé au volume de nonane.

1.4.3. Analyse par CG/SMHR

Les analyses de dioxines sont réalisées à partir d'une chromatographie en phase gazeuse (HP 6890, Agilent Technologie). Le gaz vecteur utilisé est de l'hélium dont la pureté est supérieure à 99,9995 %. Le flux est fixé à 1 mL/min. A cet appareil est couplé le spectromètre

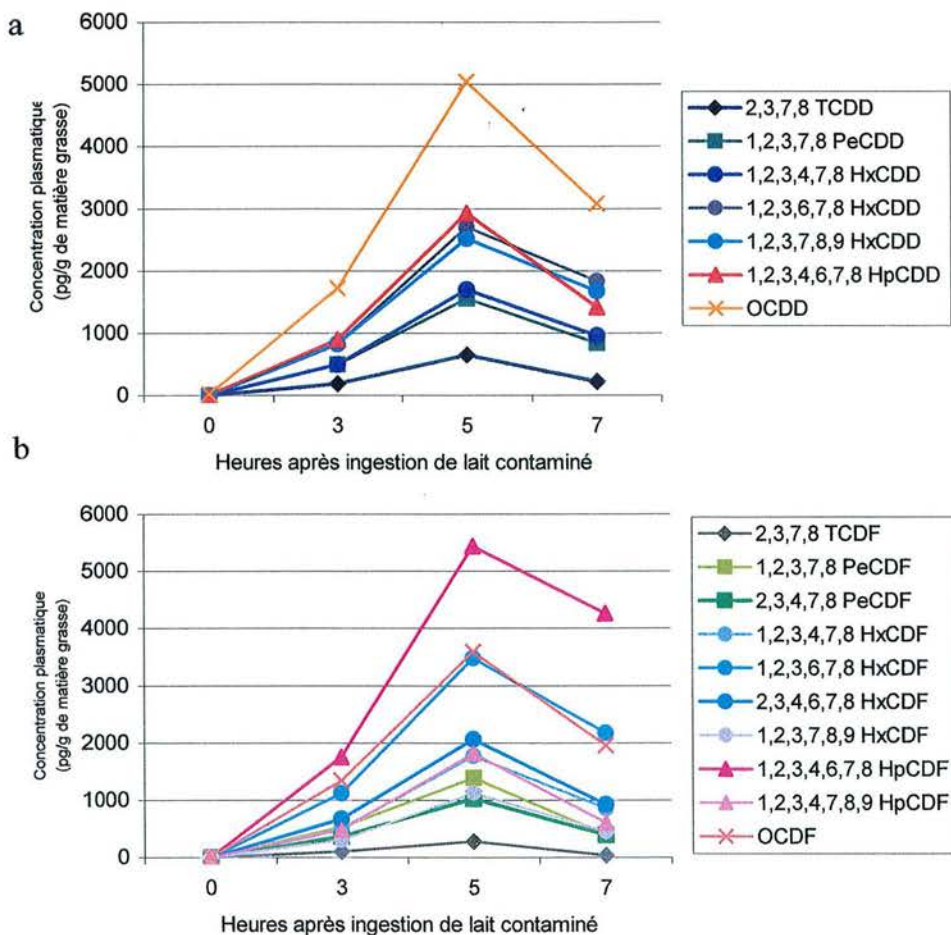
de masse haute résolution (Autoconcept MSI, Manchester, Grande-Bretagne). Son fonctionnement est régi sur un mode SIM (Selected Ion Monitoring) avec 5 groupes correspondant au degré de chloration des congénères. L'analyse a été effectuée à une température de 250°C, à un voltage de 30 eV et un ampérage de 300 uA.

Les pics des molécules recherchées ont été détectés de manière automatique et les données ont été transférées sur un tableur permettant la détermination des concentrations en dioxines des échantillons. Toutes ces valeurs ont été automatiquement corrigées en tenant compte de l'efficacité de l'extraction et des étapes de purification, déterminées par le taux de récupération des molécules marquées.

2. Résultats

Toutes les molécules étudiées sont transférées du lait au sang (Figure 19).

Figure 19 : Cinétiques d'évolution des concentrations plasmatiques artérielles (pg/g de matière grasse) des PCDD(a) et PCDF (b) suite à une ingestion de lait contaminé artificiellement chez le porc



Suite à l'ingestion de l'aliment contaminé par le porc 1, la cinétique d'apparition plasmatique en PCDD/F se décompose en deux phases : entre 3 et 5 heures postprandiales, les teneurs en micropolluants organiques dans le plasma augmentent, puis diminuent entre 5 et 7 heures après l'administration. Les teneurs les plus élevées sont trouvées pour l'OCDD, et le 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF respectivement pour la famille des dioxines et des furanes (Figure 19). Pour ces molécules, les concentrations dans le lait sont également plus élevées. Inversement, les molécules faiblement concentrées dans le lait sont détectées à des niveaux peu élevés dans le plasma artériel. Lors du transfert des dioxines chez le porc 2, la cinétique d'apparition plasmatique des molécules tend à différer de celle observé avec le premier animal (Tableau 27).

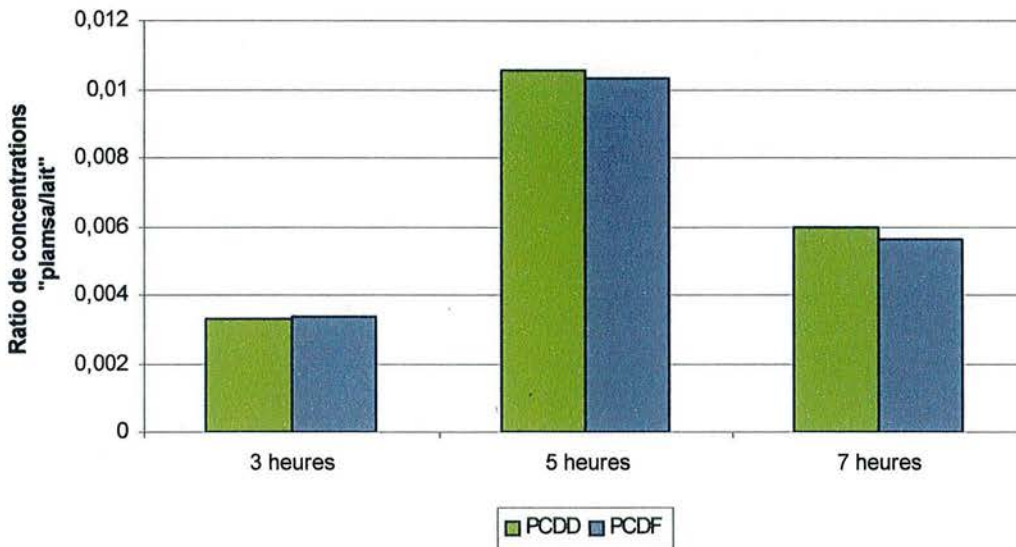
Tableau 27 : Concentrations plasmatiques postprandiales (pg/g de matière grasse) des 17 congénères de dioxines suite à l'ingestion de lait contaminé chez des porcs en croissance (n=1)

		3 heures		5 heures		7 heures	
	Témoin	Porc 1	Porc 2	Porc 1	Porc 2	Porc 1	Porc 2
2,3,7,8-TCDD	0	311	63	1195	97	356	82
1,2,3,7,8-PeCDD	0	836	162	2866	248	1422	244
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0	810	173	3151	241	1649	258
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0	1357	282	4977	429	3219	446
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0	1383	266	4692	342	2965	380
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	12	1474	292	5399	428	2323	487
OCDD	29	2619	767	8915	1118	5092	1005
2,3,7,8-TCDF	0	167	36	515	38	62	22
1,2,3,7,8-PeCDF	0	903	169	2638	151	653	139
2,3,4,7,8-PeCDF	0	606	127	1914	133	661	132
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0	824	177	3308	237	1482	239
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0	1886	360	6500	455	3792	556
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0	1128	223	3866	268	1561	295
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0	542	76	2133	109	772	115
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	7	2839	651	9965	908	7360	1148
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0	824	137	3460	170	1021	188
OCDF	12	2012	659	6513	647	3179	716

En effet, les concentrations plasmatiques maximales sont apparemment non plus obtenues à 5 heures mais à 7 heures après l'ingestion du lait. De plus les teneurs dans le plasma artériel

différent d'un facteur compris entre 3 et 20. Ces variations peuvent être dues à un effet individu (vidange gastrique, durée de rétention stomacale des molécules, van Schooten *et al.*, 1997) ou à une hétérogénéité de la contamination du lait voire à des variations analytiques. Ainsi, le rapport de concentration plasma/lait des molécules de dioxines a été réalisé à partir de la concentration moyenne en PCDD/F entre les deux porcs. Ce rapport de concentrations en dioxines plasma/lait permet de comparer les molécules entre elles en minimisant l'effet dose. La moyenne des ratios ne diffère pas entre les PCDD et les PCDF aussi bien à 3 heures, à 5 heures ou à 7 heures (Figure 20).

Figure 20 : Ratio de concentrations "plasma/lait" (pg/g de matière grasse) des dioxines et des furanes à différents temps postprandiaux chez des porcs en croissance



De plus, le comportement des PCDD et de leurs homologues PCDF tend à être similaire tout au long de la cinétique (Figure 21). Il en est de même lors de la comparaison des ratios des molécules regroupées en fonction du nombre d'atomes de chlore (Figure 22). Enfin les concentrations portales des deux porcs à 5 heures postprandiales ne présentent pas de différences par rapport à celles mesurées au niveau artériel (Figure 23).

Figure 21 : Ratio de concentrations "plasma/lait" (pg/g de matière grasse) des dioxines et de leurs homologues furanes à différents temps postprandiaux chez des porcs en croissance

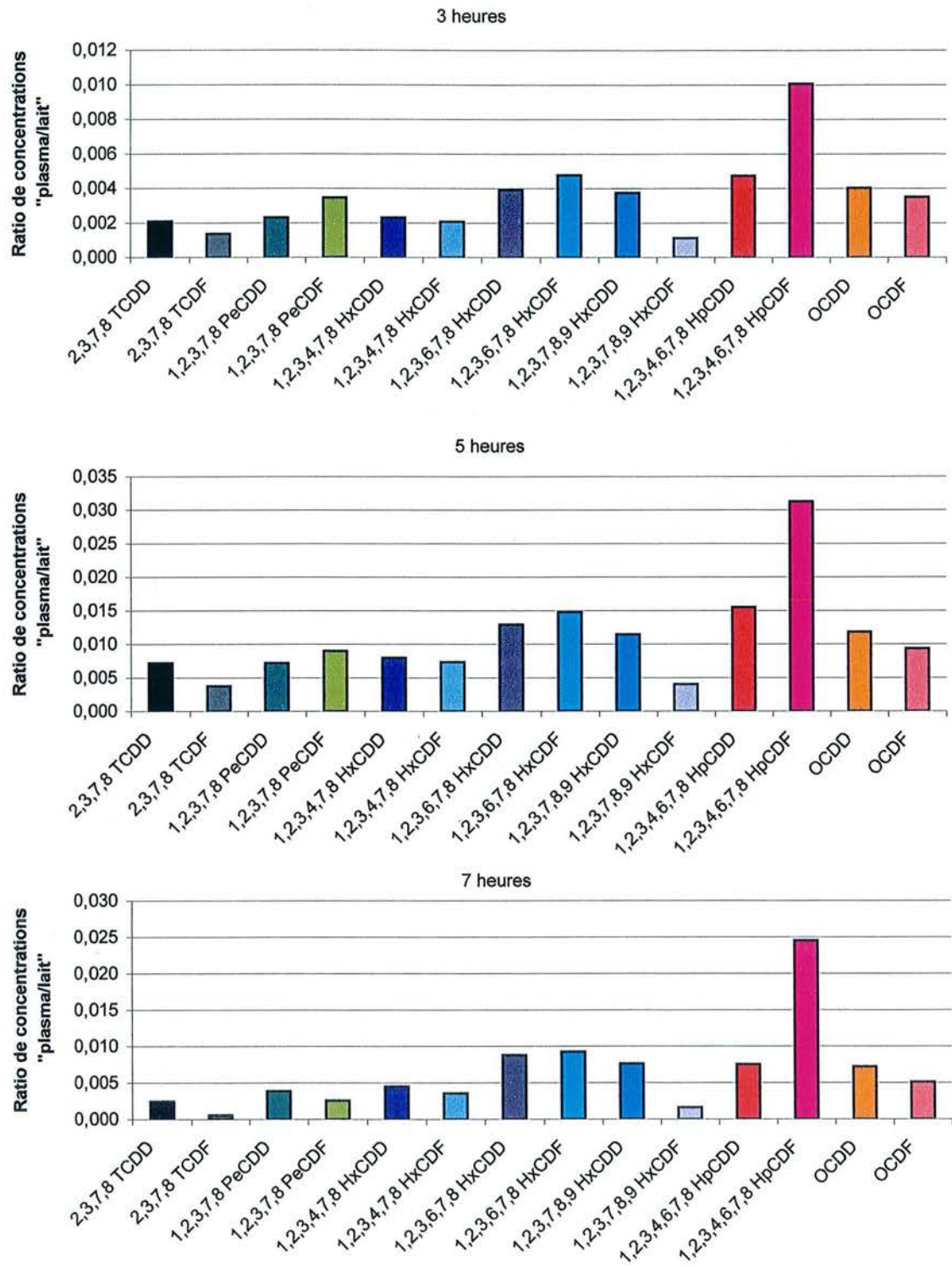


Figure 22 : Ratio de concentrations "plasma/lait" (pg/g de matière grasse) des dioxines regroupées en fonction de leur degré de chloration à différents temps postprandiaux chez des porcs en croissance

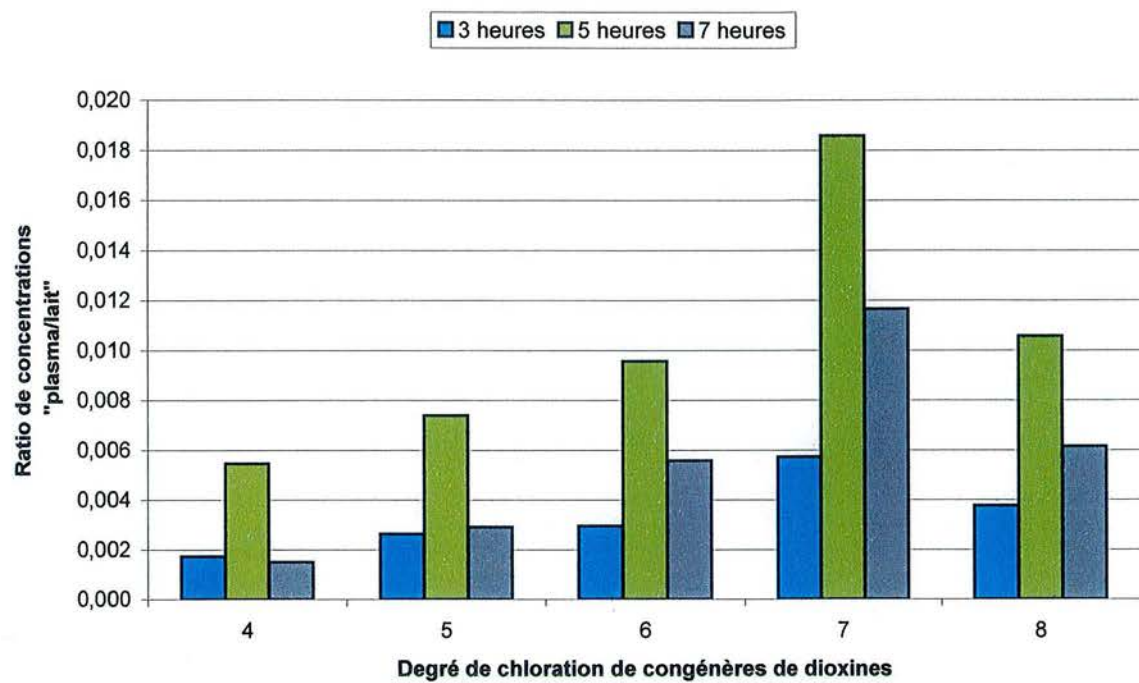
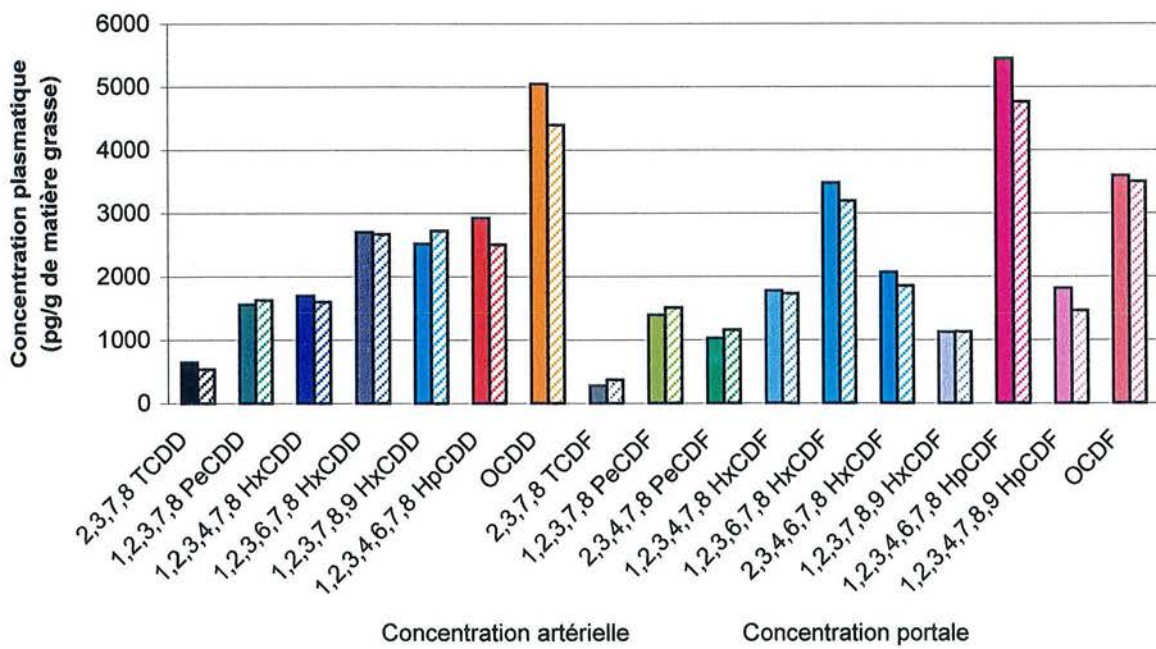


Figure 23 : Comparaison des concentrations plasmatiques artérielles et portales (pg/g de matière grasse) des dioxines 5 heures après l'ingestion de lait contaminé artificiellement chez le porc en croissance



3. Discussion

Suite à l'ingestion de lait contaminé, toutes les dioxines franchissent la barrière intestinale pour atteindre le compartiment sanguin. Ce résultat est cohérent avec celui présenté précédemment tout comme ceux de la littérature portant sur l'absorption des dioxines du lait chez le nourrisson (Jodicke *et al.*, 1992 ; Pluim *et al.*, 1993 ; Körner *et al.*, 1993 ; McLachlan 1993 ; Abraham *et al.*, 1994 ; Dahl *et al.*, 1995).

Les cinétiques du transfert des dioxines du lait au sang ont porté principalement sur la détermination des concentrations de ces micropolluants organiques dans la circulation artérielle (artère brachiocéphalique). Ainsi, les concentrations déterminées dans le plasma ne sont pas uniquement le reflet de l'absorption intestinale des molécules mais également celui de la captation tissulaire. L'augmentation des teneurs plasmatiques des 17 congénères de dioxines entre 3 et 5 heures postprandiales permet de suggérer que durant ce laps de temps, le mécanisme d'absorption prédomine sur celui de la prise tissulaire, la tendance inverse étant observée entre 5 et 7 heures après l'administration du lait contaminé chez les porcs. Cette cinétique plasmatique peut être rapprochée de celle de la matière grasse (pic d'apparition plasmatique compris entre 3 et 6 heures postprandiales, Dubois *et al.*, 1996). Cette relation éventuelle entre la matière grasse et les dioxines a déjà été suggérée par Keller *et al.* (2001). En effet ces auteurs ont démontré que chez le veau, les concentrations plasmatiques au niveau de la veine jugulaire en OCDD augmentaient fortement entre 5 et 10 heures pour atteindre des valeurs maximales entre 10 et 24 heures après ingestion de colostrum contaminé, temps nécessaire pour atteindre le pic d'absorption des lipides chez cette même espèce. Cependant ce délai d'apparition plasmatique n'est-il pas dû à une séquestration enzymatique ?

Le profil artériel de la 2,3,7,8-TCDD ainsi que son ratio de concentration "Plasma/Lait" est similaire à celui déterminé lors de l'ingestion de la molécule marquée seule chez des porcs en croissance (expérimentation précédente, Tableau 28). Ainsi il semblerait que la présence des 16 autres congénères des dioxines n'interagisse pas sur l'apparition sanguine de la 2,3,7,8-TCDD. Aucune différence de concentrations porto-artérielles n'a été mise en évidence. Ce résultat, concordant avec celui de l'expérimentation précédente, met en évidence que la veine porte n'est pas la voie principale d'excrétion non seulement pour la 2,3,7,8-TCDD mais encore pour les 16 autres congénères de dioxines.

Durant les deux phases de la cinétique (la phase où l'absorption prédomine sur la distribution tissulaire et la réciproque), les ratios de concentrations "Plasma/Lait" des congénères

Tableau 28 : Comparaison du profil sanguin et du ratio de concentration "plasma/lait" de la 2,3,7,8-TCDD entre une ingestion de [¹⁴C] 2,3,7,8-TCDD seule et celle des 17 congénères suite à une administration orale de lait contaminé chez des porcs en croissance

Temps après administration (Heures)	% de la dose administrée/ mL de plasma	
	[¹⁴ C] 2,3,7,8-TCDD	Mélange des 17 congénères
1	0	
3	0,000001	0,00002
5	0,00005	0,00006
6	0,00005	
7		0,00002
9	0,00005	

homologues de PCDD/F sont similaires. Il en est de même lors de la comparaison des rapports de teneurs "Plasma/Lait" entre les congénères tetra-, penta-, hexa-, hepta- et octa-chlorés. Deux hypothèses peuvent être formulées :

- 1) les 17 congénères sont absorbés et éliminés du sang de manière similaire
- 2) les variations d'absorption des congénères sont compensées par des variations de captation tissulaire

Une absorption indépendante des congénères de dioxines a été démontrée par Jodicke *et al.* (1992), Pluim *et al.* (1993), Körner *et al.* (1993) McLachlan (1993) Abraham *et al.* (1994), et de Dahl *et al.* (1995). Toutes les molécules présentaient des taux d'absorption de l'ordre de 100 %. Cependant selon Moser et McLachlan (1999), les taux d'absorption des dioxines diminuent en fonction de la lipophilicité des molécules. Il est intéressant de noter que dans le premier cas de figure, les individus étudiés étaient des nourrissons tandis que pour le second, les résultats ont été obtenus chez des adultes. Cette observation renforce l'hypothèse de Schuhmacher *et al.* (1999a) selon laquelle l'absorption des dioxines est fonction de l'âge, ce paramètre agissant sur les teneurs en micropolluants organiques du sang (Schlummer *et al.*, 1998). Pouvons-nous considérer que l'absorption des dioxines chez le porc en croissance se rapproche de celle obtenue chez le nourrisson ? En ce qui concerne la rapidité de la captation tissulaire, Geyer *et al.* (2002) ont mis en évidence que chez le rat tout comme chez l'homme, les temps de demi-vie ($T_{1/2}$) dans le sang des dioxines avaient tendance à augmenter en fonction du degré de chloration des molécules (compris entre 18 et 322 jours) (Tableau 29).

Tableau 29 : Temps de demi-vie des PCDD dans le sang chez le rat et chez l'homme (Geyer *et al.*, 2002)

Molécules	Temps de demi-vie des PCDD	
	Homme (années)	Rat (Jours)
2,3,7,8-TCDD	5,8 - 9,7	15,0 - 23,7
1,2,3,7,8-PeCDD	11 - 15,7	27,2 - 33,1
1,2,3,4,7,8-HxCDD	8,4 - 45	83 - 156
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	3,7 - 102	237 - 314
OCDD	6,7 - 132	173 - 413

Ces résultats permettraient de conclure que globalement la rapidité de captation tissulaire est fonction des congénères. Cependant, Fries *et al.* (2002) ont démontré que les molécules fortement chlorées (HpCDD/F et OCDD/F) étaient synthétisées au niveau de l'organisme. Ainsi l'augmentation des temps de demi-vie des dioxines en fonction du degré de chloration

peut être le résultat d'une synthèse *in situ* de ces molécules, ce qui conduirait à dire que l'élimination des dioxines dans le sang est indépendante des congénères. Au final, les deux hypothèses restent valables, les données de la bibliographie ne permettant pas de valider l'une ou l'autre des deux propositions.

4. Conclusion

Toutes les dioxines apparaissent dans le compartiment sanguin après l'ingestion de lait contaminé chez des porcs en croissance. La cinétique d'apparition plasmatique postprandiale suggère que l'absorption de ces molécules est concomitante avec celle de la matière grasse dans la mesure où le pic d'apparition plasmatique des acides gras ou des dioxines est compris entre 4 et 6 heures postprandiales (Dubois *et al.*, 1996). Cette relation correspond-elle à un lien physique (devenir identique dans les cellules intestinales) ou un lien temporel (devenir entérocytaire différent) ? Nos résultats démontrent également que les délais d'apparition plasmatique et les ratios de concentrations "Plasma/Lait" sont similaires pour l'ensemble des dioxines. Ainsi il semblerait que l'absorption des dioxines est indépendante des propriétés physico-chimiques de ces congénères. Cependant ce résultat pourrait être biaisé par le fait que les analyses de concentrations en dioxines ont été effectuées au niveau artériel. En effet, il peut être supposé que l'absorption différentielle des dioxines soit compensée par une rapidité de captation tissulaire variable selon les congénères. Ceci conduirait à des concentrations artérielles similaires en dioxines. Enfin, lors de cette expérimentation et conformément à la précédente, aucune différence de concentrations porto-artérielles n'a été mise en évidence. La voie portale n'est donc pas le mode principal d'excrétion entérocytaire des dioxines.

Conclusion de la partie I : Transfert des dioxines et des HAP du lait au sang

Les micropolluants organiques contenus dans le lait sont transférés au sang après l'ingestion de l'aliment chez des porcs en croissance. L'ensemble des dioxines et des HAP étudiés présente un pic d'apparition plasmatique entre 4 et 6/7 heures après l'ingestion de lait. Ce délai correspond d'après Dubois *et al.* (1996), au pic d'apparition des acides gras. Cependant, nous avons démontré que les deux HAP étudiés sont principalement excrétés dans la veine porte contrairement aux acides gras qui sont excrétés dans la lymphe. La concomitance entre la matière grasse et ces congénères ne résulterait alors pas d'un lien physique entre les composés mais d'une relation temporelle (les données de la bibliographie portant sur le transit entérocytaire des HAP permettant de confirmer ce résultat). A l'inverse, les dioxines ne sont pas éliminées des entérocytes de manière prépondérante par excrétion portale ; ce qui laisse suggérer que ces molécules empruntent la voie lymphatique. Le mécanisme d'absorption des HAP peut-il néanmoins être extrapolé aux dioxines ?

La comparaison entre l'absorption portale des HAP et de la 2,3,7,8-TCDD a permis de mettre en évidence que ce processus est fonction de la lipophilicité et du poids moléculaire des différents congénères. Toutefois, l'effet des propriétés physico-chimiques des dioxines sur leur transfert du lait au plasma artériel n'a pas été démontré.

Enfin, la détermination de l'absorption via la différence porto-artérielle est une méthode qui paraît être adaptée pour les HAP (concordance avec les données de la littérature) et beaucoup moins pour les dioxines (taux d'absorption plus faible que ceux définis dans la bibliographie).

Partie expérimentale

Partie II :

Transfert des dioxines du lait vers les tissus cibles

PARTIE II : Etude expérimentale du transfert des dioxines du lait vers les tissus cibles

Introduction

La détermination de la rétention tissulaire de 2,3,7,8-TCDD contenue dans différentes matrices (alimentaires ou non) a fait l'objet de nombreuses études particulièrement suite à une ingestion unique (Gasiewicz *et al.*, 1983 ; Aozasa *et al.*, 1995 ; Pegram *et al.*, 1995 ; Li *et al.*, 1995 ; Diliberto *et al.*, 1995, 1996 ; Wang *et al.*, 1997, 2000) ou suite à un apport semi-chronique d'huile contaminée chez le rat (Fries *et al.*, 1975 ; Rose *et al.*, 1976) et chez la souris (Diliberto *et al.*, 2001). Elles ont ainsi démontré que les deux organes cibles de la 2,3,7,8-TCDD étaient le foie et le tissu adipeux. Selon les doses utilisées, soit le foie soit le tissu adipeux présente les teneurs les plus élevées : lors d'une contamination faible, le tissu adipeux prédomine, le phénomène inverse découlant de doses administrées plus élevées. La distribution tissulaire ne serait donc pas uniquement régie par la teneur en matière grasse des tissus mais également par les concentrations en protéines de liaison inductibles capables de séquestrer la 2,3,7,8-TCDD (Evans et Andersen, 2000 ; Diliberto *et al.*, 1997, 1999 ; DeVito *et al.*, 1998). Jusqu'à présent ces protéines ont été identifiées dans le foie, la peau et les poumons.

Néanmoins, trois questions restent en suspens :

- La fréquence d'ingestion (chronique ou semi-chronique) module-t-elle le devenir tissulaire de la 2,3,7,8-TCDD ?
- Le devenir tissulaire de la 2,3,7,8-TCDD est-il indépendant de la matrice vecteur utilisée, sachant que ce paramètre module fortement l'absorption ?
- La 2,3,7,8-TCDD est-elle représentative de l'ensemble de ces congénères ? Autrement dit quel est l'effet des propriétés physico-chimiques des dioxines sur la distribution tissulaire suite à leur ingestion chez un animal ? Quel est leur implication dans le métabolisme hépatique ?

Il en découle que les objectifs scientifiques des deux expérimentations présentées dans cette partie étaient de déterminer la répartition des dioxines entre les tissus cibles suite à un apport chronique de lait contaminé (à forte et faible dose). Nous avons aussi cherché à évaluer le transfert et/ou l'accumulation de ces molécules dans les deux tissus cibles principaux que sont le foie et le tissu adipeux épидидymaire.

Deux hypothèses ont été posées pour construire les protocoles :

- Le foie et le tissu adipeux étant les tissus de stockage de la 2,3,7,8-TCDD, nous avons émis l'hypothèse qu'il en serait de même pour les 16 autres congénères.
- L'homéostasie des dioxines dans l'organisme a été estimée à priori sur les données bibliographiques concernant la 2,3,7,8-TCDD (entre 90 et 120 jours d'ingestion).

La première expérimentation a consisté à étudier la distribution tissulaire de la [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD chez le rat en croissance suite à l'ingestion chronique de caillé contaminé artificiellement. L'utilisation d'un lait "naturellement" contaminé par les émissions d'un incinérateur défectueux a permis d'étudier la distribution tissulaire des 17 congénères de dioxines chez le rat en croissance suite à l'ingestion chronique de lait.

I : Distribution tissulaire de la [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD chez le rat suite à l'ingestion chronique de caillé contaminé artificiellement

1. Protocole expérimental

1.1. Animaux

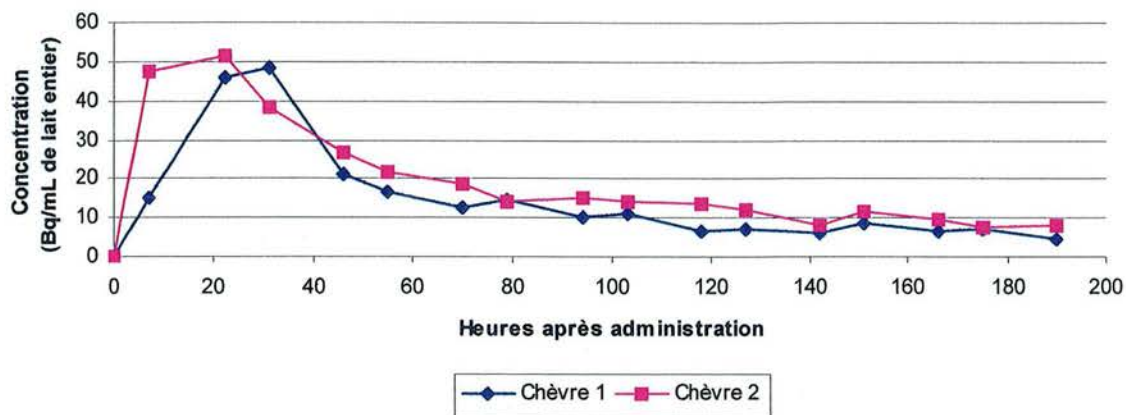
Dix-huit rats mâles Sprague Dawley, provenant du Centre d'élevage Dépré (Saint Doulchard, France), âgés de 7 semaines (pesant initialement 280-300g), ont été placés dans des cages individuelles. Durant une semaine d'adaptation, ces animaux ont reçu une ration équilibrée correspondant à leur besoin d'entretien et de croissance soit 30 g de pellets A03 composés principalement de fibres et de céréales (alimentation provenant de l'Usine d'Alimentation Rationnelle, Epinay sur Orge, France). De plus sur toute la période expérimentale, les rats avaient également accès à l'eau *ad libitum*.

Après une semaine d'adaptation, deux lots ont été formés : le premier, constitué de 16 animaux, a été alimenté avec de la nourriture contaminée et le second composé de 2 rats témoins avec l'aliment standard. Pour les deux groupes, la quantité de bouchons distribués a été limitée à 25 g par jour de manière à n'avoir aucun refus tout en maintenant les performances de croissance des animaux. Celles-ci ont été contrôlées par une pesée hebdomadaire des rats. A l'issue de la période expérimentale, les rats ont été anesthésiés à l'éther et au phénobarbital (Vétoquinol[®], SANOFI, Santé Animal) puis euthanasiés par injection d'une solution de KCl saturée.

1.2. Apport de [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD

Deux chèvres en lactation, de race alpine chamoisée (pesant 40 kg) provenant du domaine expérimental de l'ENSAIA (France), ont ingéré une dose unique de 70 μCi de [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD ($2,52 \cdot 10^6$ Bq). Afin de limiter les pertes, l'administration a été effectuée à l'aide d'une seringue directement dans la bouche de l'animal. La seringue a été par la suite rincée deux fois avec de l'huile. Le lait a été collecté deux fois par jour (à 8 heures et à 17 heures) pendant 8 jours. La radioactivité des échantillons de lait a été immédiatement déterminée (cette analyse nécessitant au préalable une transparisation du lait). La cinétique d'excrétion de la [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD dans le lait (Figure 24) présentait un pic de concentration entre 22 et 31 heures après l'administration orale. Au-delà de ce temps, les concentrations chutaient

Figure 24 : Cinétique de la concentration en [¹⁴C] suite à l'ingestion de [¹⁴C] 2,3,7,8-TCDD (2,52 x 10⁶ Bq) chez des chèvres en lactation



rapidement pour atteindre des valeurs de l'ordre du bruit de fond 8 jours après l'ingestion (Grova *et al.*, 2002).

Le lait présentant les plus fortes teneurs en [^{14}C] (36 Bq/mL soit 170 pg/g de matière grasse) a été utilisé pour réaliser l'ingestion chronique de 2,3,7,8-TCDD chez des rats. Ce produit a été transformé en caillé présure selon trois étapes :

- un emprésurage : 150 μL de présure (Naturen, Arpajon, France) dans 500 mL de lait maintenu à 37°C
- une découpe du caillé formé afin de permettre un meilleur égouttage
- un égouttage d'une heure à température ambiante (20°C).

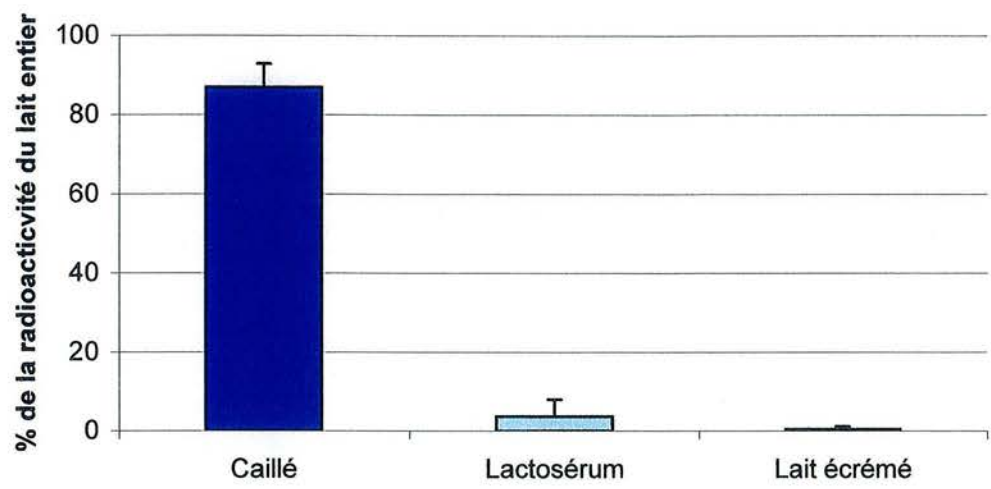
Ensuite ce caillé a été aliquoté et congelé avant son utilisation. La fabrication des bouchons a consisté à mélanger 0,5 grammes de caillé (soit 42 Bq) avec de la poudre d'aliment fourni par UAR. La pâte ainsi formée a été pressée à l'aide d'une seringue. Les bouchons ont été placés dans une étuve à 40°C pendant deux jours afin de les durcir et ainsi de limiter les pertes lors de leur ingestion par les animaux. La nourriture quotidienne des rats expérimentaux était ainsi composée de bouchons UAR A03 (24 g) et d'un bouchon contenant à la fois de la poudre d'aliment UAR et du caillé contaminé en [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD (la composition est donnée dans le Tableau 30).

Tableau 30 : Composition nutritionnelle des bouchons UAR A03

Matière première	% de la composition totale
Protéines brutes	13,5
Matière grasse brute	2,5
Cellulose brute	6,5
Cendres brutes	5,5

L'analyse de la répartition de la radioactivité entre le caillé et le lactosérum a révélé que la majorité de la radioactivité associée à la [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD du lait entier était présente à 87 % dans le caillé contre seulement 4 % au niveau du lactosérum. Les principales différences de composition entre le lactosérum et le caillé sont l'absence de caséines et de matière grasse au niveau du lactosérum. Ainsi, la contamination prépondérante du coagulum est probablement due à l'un de ces deux composants voire aux deux. Une étude complémentaire a permis de mettre en évidence que la radioactivité se répartissait en fonction de la matière grasse (le lait écrémé étant indemne de contamination, Figure 25). Ce résultat est cohérent avec les résultats de la littérature qui tendent à démontrer que la contamination des fromages (exprimée en pg/g de matière grasse)

Figure 25 : Répartition de la [¹⁴C] 2,3,7,8-TCDD entre le lait écrémé, le caillé et le lactosérum suite à l'ingestion orale de cette molécule chez des chèvres en lactation (n=2)



est similaire à celle du lait. Cependant jusqu'à présent, aucune donnée sur le transfert de cette molécule du lait vers le produit fini n'est disponible.

1.3. Prélèvements sanguins et tissulaires

Les prélèvements de sang et de tissus, portant à chaque fois sur deux rats, ont été réalisées tous les 15 jours entre le début de l'essai (J0) et 60 jours d'ingestion (J60). Ensuite, la fréquence a été de 30 jours (le dernier abattage ayant eu lieu à J150). A chaque sacrifice, du sang a été collecté ainsi que la totalité du foie et du tissu adipeux épидидymaire. Le nombre de prélèvements par matrice s'est élevé à 16 (Tableau 31).

Tableau 31 : Dispositif expérimental mise en œuvre pour l'étude du transfert de la [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD du lait vers les tissus cibles

Prélèvements d'échantillons biologiques	Nombre d'animaux par jour expérimental	Echantillons prélevés
Jours 0, 15, 30, 45, 60, 90, 120	2	Sang Foie Tissu adipeux épидидymaire
Jour 150	2	Sang Foie Tissu adipeux épидидymaire Peau

Les échantillons ont été pesés et congelés avant d'être analysés. Le dernier jour de l'expérimentation, les rats occis ont été dépecés afin de déterminer la radioactivité présente au niveau de la peau.

1.4. Méthodes analytiques

Les mesures de radioactivité ont été effectuées sur un compteur Tri-Carb modèle 1500 de Packard (BioSciences B.V., Pays Bas). La durée analytique choisie était de 10 min par échantillon. Les flacons utilisés pour ces analyses correspondaient à des vials à bouchons à visse de 20 mL. Le comptage de radioactivité nécessite que les échantillons soient limpides et que la radioactivité soit répartie de manière homogène dans le vial. Ces objectifs sont

difficilement atteints avec des produits biologiques. Ainsi tout dosage a nécessité au préalable la réalisation d'une courbe de quenching et une préparation adaptée des échantillons. Une courbe de quenching a été déterminée pour chaque matrice. Cette gamme permet de compenser les effets négatifs de la coloration des échantillons (à savoir une diminution du rendement de comptage). Pour ce faire, une solution étalon de [^{14}C] glucose, fournie par le laboratoire Etalons d'Activité (Compagnie pour l'étude et la réalisation de combustibles atomiques, FRAMATOME, Pierrelatte, France) a été diluée de manière à obtenir une concentration finale de 1000 Bq/mL. Dans 10 flacons, 200 μL de la solution diluée et des volumes croissants (entre 0 et 1 mL) de l'échantillon à compter ont été déposés puis 12 mL d'un scintillant liquide approprié ont été ajoutés. La matrice utilisée pour la gamme étalon était une matrice témoin (froide). Chaque analyse a été répétée trois fois. De plus, le bruit de fond de l'appareil a été déterminé à chaque dosage via l'utilisation de blancs (échantillons témoins) préparés de la même manière que les échantillons à compter. Les valeurs des blancs ont été soustraites à celles correspondants aux tissus/fluides contaminés.

1.4.1. Dosage de la radioactivité contenue dans le caillé, le foie ou le tissu adipeux

Cent milligrammes de chaque échantillon à doser ont tout d'abord été solubilisés par ajout de 1 mL de soluène-350 (Packard). Afin d'améliorer la digestion des produits analysés, les flacons ont été placés dans une étuve à 50°C pendant 3 heures (pour le tissu adipeux), 5 heures (pour le caillé) ou 20 heures (pour le foie). Après 15 min à température ambiante, 10 mL de Hionic Fluor (Scintillant, Packard) ont été ajoutés. Les échantillons ont été dosés 48 heures après cette dernière manipulation pour que le mélange final soit stable.

1.4.2. Dosage de la radioactivité contenue dans le sang

Afin de doser la radioactivité associée aux molécules dans le sang, les protéines des aliquotes prélevées (0,3 mL) ont été dégradées par l'ajout de 1 mL d'Isopropanol/Soluène-350 (V/V, 1/1) et une incubation de 30 min à 50°C. La coloration de la solution résultante étant très prononcée, les échantillons ont été décolorés par ajout de 0,5 mL d'eau oxygénée (33%, Prolabo, Fontenay sous Bois, France) puis placés dans une étuve à 50°C pendant 30 min. Enfin 10 mL de Hionic Fluor ont été ajoutés dans les flacons. Le dosage des échantillons a été effectué après 48 heures.

1.4.3. Détermination de la radioactivité présente dans la peau

La peau prélevée a tout d'abord été congelée, sciée et lyophilisée. Ensuite, le tissu a été broyé afin d'obtenir un échantillon homogène. 0,1 g de ce broyat a été prélevé et mélangé avec 2 mL de soluène-350 (Packard) dans les vials de comptage. Après 24 heures d'étuvage à 50°C, 10 mL de Hionic Fluor (Scintillant, Packard) ont été ajoutés et les vials ont été mis à compter 48 heures après.

1.5. Traitement des données

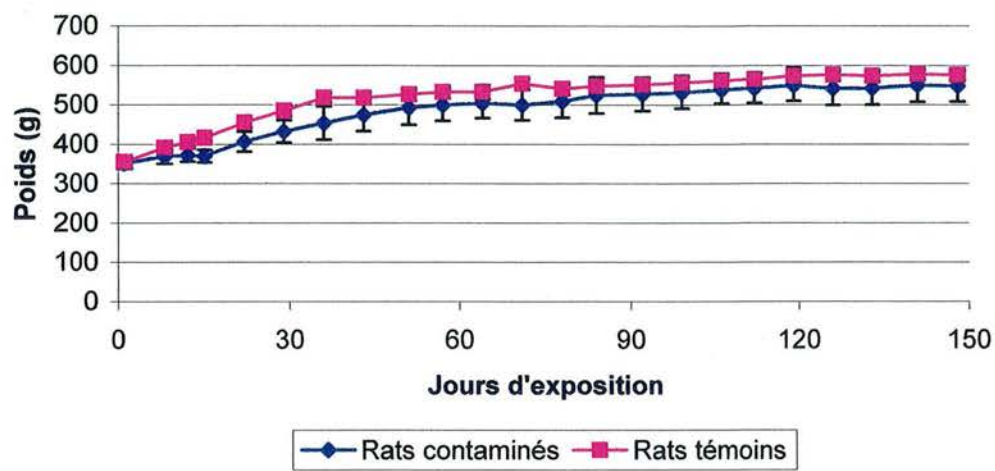
Les concentrations à l'équilibre correspondent à la valeur du plateau théorique obtenu par le modèle en $A \times (1 - e^{-kt})$ appliqué à l'ensemble des points expérimentaux. Cette régression a été obtenue par la méthode des moindres carrés. Les concentrations ont été considérées comme stables quand le coefficient de variation de la courbe de tendance entre le jour J et le jour J+1 est inférieur à 1%. Les facteurs de bioaccumulation ont été déterminés comme étant le rapport "concentration sanguine ou tissulaire (Bq/g) / quantité administrée journallement par kg de poids vifs (Bq/kg poids vifs/jour)". Pour déterminer la charge corporelle totale, nous avons supposé, d'une part, que la distribution de la [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD est homogène entre tous les tissus adipeux (Feil *et al.*, 2000), que la masse adipeuse d'un rat correspond à 11 % de poids vif (Leung *et al.*, 1990) et, d'autre part, que le volume sanguin d'un rat est voisin de 7,4 % de son poids vif (Wang *et al.*, 1997).

2. Résultats

2.1. Croissance des rats, et notes d'état

L'ingestion chronique de [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD n'a eu aucun effet négatif sur la croissance des animaux (Figure 26). Le rapport organes/poids vifs stable durant l'essai est de $0,03 \pm 0,00$ pour le foie et de $0,01 \pm 0,00$ pour le tissu adipeux. Pour les rats témoins, les valeurs de ces deux paramètres sont similaires à ceux des rats contaminés (respectivement $0,04 \pm 0,00$ et $0,01 \pm 0,00$).

Figure 26 : Courbes de croissance des rats témoins et des rats contaminés lors d'ingestion chronique de TCDD marquée au [¹⁴C]



2.2. Evolution des concentrations de la [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD dans les tissus cibles au cours de l'ingestion

Au-delà de 90 jours d'ingestion, les concentrations en [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD dans le sang atteignent un plateau (Figure 27). Pour le foie et le tissu adipeux, les teneurs se stabilisent dès 60 jours d'ingestion. La rétention de la molécule dans les trois matrices testées suit une cinétique de premier ordre. Les concentrations sanguines, hépatiques et adipeuses en [^{14}C] peuvent être définies en fonction du temps selon la relation : $C_t = C_e (1 - e^{-kt})$ avec C_t la concentration en radioactivité (Bq/g) à un instant t , C_e la concentration à l'équilibre théorique et k une constante d'élimination du premier ordre. Les C_e déterminées sont de 1,1 Bq/g de sang, 19,5 Bq/g de tissu hépatique et 5,4 Bq/g de tissu adipeux. La constante de dissipation respective pour ces différentes matrices s'élève à $0,017 \text{ jours}^{-1}$, $0,041 \text{ jours}^{-1}$ et $0,039 \text{ jours}^{-1}$.

2.3. Détermination de la charge corporelle et des facteurs de bioaccumulation "Aliment-Sang" et "Aliment-Tissus" de la [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD

Suite à l'ingestion chronique de la [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD pendant 150 jours, le foie de rat présente une concentration (Bq/g) 3, 18 et 28 fois plus élevée que celles du tissu adipeux épидидymaire, du sang et de la peau respectivement (Tableau 32). Cependant sur la plan quantitatif, la différence entre le foie et le tissu adipeux s'annule (Tableau 32).

Tableau 32 : Concentration et quantité de la [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD dans le foie, le tissu adipeux épидидymaire et le sang suite à une ingestion chronique pendant 150 jours

Bq/g	TA	Foie	Sang	Peau
Rat 1	5	22	1,3	0,8
Rat 2	6	19	1,0	0,7

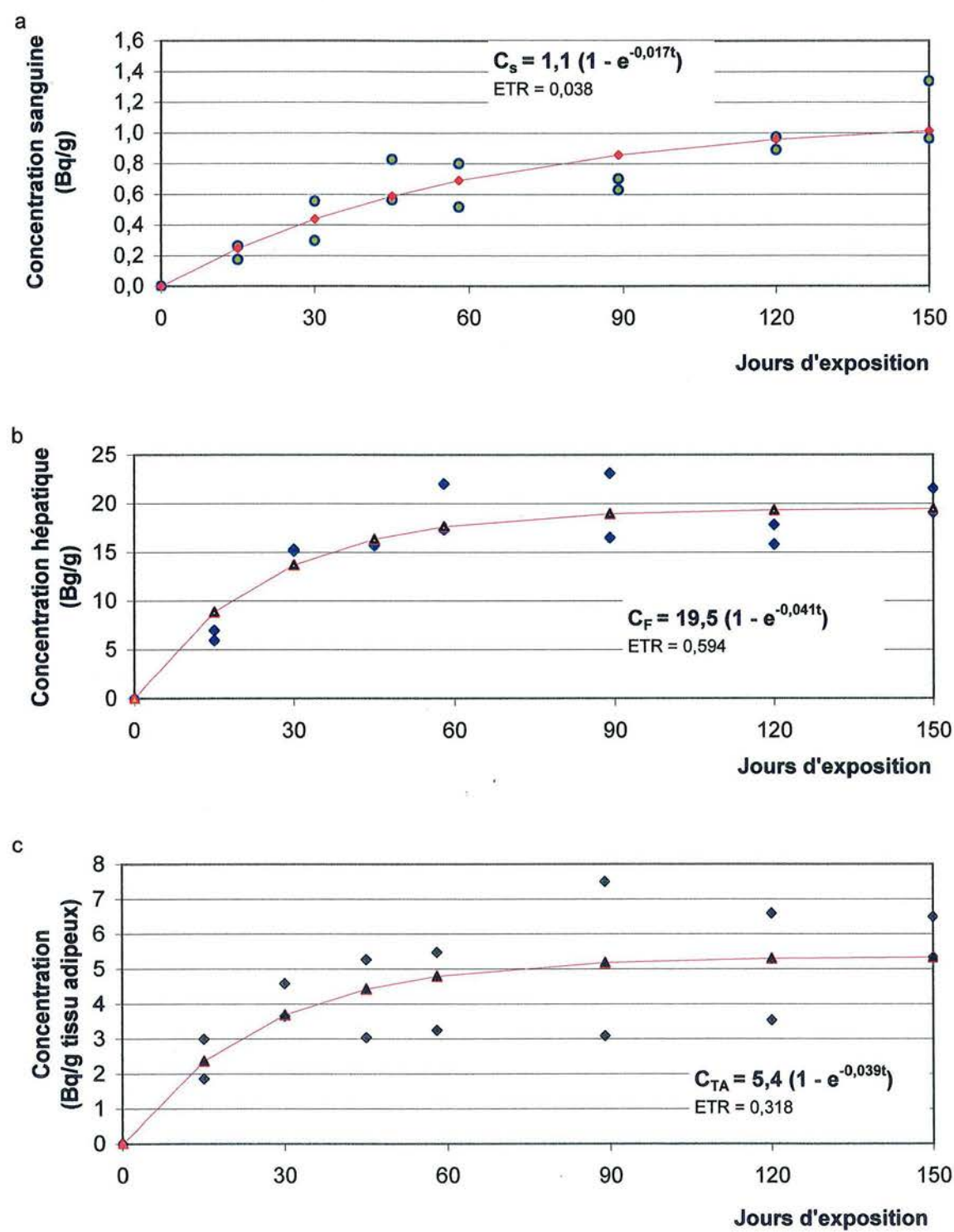
Bq	TA total*	Foie	Sang	Peau
Rat 1	332	336	56	47
Rat 2	395	363	39	38

TA : Tissu adipeux épидидymaire

TA total* : estimation de la quantité de radioactivité retrouvée dans le tissu adipeux total

Enfin la somme des quantités de becquerel (Bq) retrouvées dans les différents tissus analysés conduisent à une charge corporelle totale ($803 \pm 45 \text{ Bq}$) égale à 19 ± 1 fois la dose

Figure 27 : Evolution des teneurs de [¹⁴C] dans le sang (a), le foie (b) et le tissu adipeux (c) chez le rat suite à une ingestion chronique de [¹⁴C] 2,3,7,8-TCDD par voie orale (n=2)



C_s : Concentration dans le sang

C_{TA} : Concentration dans le tissu adipeux

C_F : Concentration dans le foie

ETR : Ecart type résiduel

quotidienne (apport de 42 ± 0 Bq/jour pour ces deux rats). Les facteurs de bioaccumulation sont de (0,014), (0,025) et (0,068) [(Bq/g de sang, de foie et de tissu adipeux épидидymaire respectivement)/(Bq/kg de poids vifs/jour)].

3. Discussion

3.1. Profil de la [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD dans le sang, le foie et le tissu adipeux au cours de la cinétique

Cette étude a permis de déterminer la cinétique de répartition de la [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD entre le sang, le foie et le tissu adipeux épидидymaire suite à l'ingestion chronique de lait enrichi artificiellement. Les concentrations sanguines présentent un plateau après 90 jours d'exposition. Cette stabilisation semble un peu plus précoce que celle déterminée par Diliberto *et al.* (2001) lors d'une ingestion semi-chronique (5j/7j) d'huile contaminée chez des souris pour une dose ingérée journallement voisine (Tableau 33, les doses ingérées étant exprimées en pg/kg de poids vifs/jour afin de s'affranchir des variations d'activité spécifique).

Tableau 33 : Durée d'ingestion pour atteindre un équilibre tissulaire (Jours)

	Diliberto <i>et al.</i> (2001)	Rose <i>et al.</i> (1976)	Lawrence et Gobas (1997)
Te (Sang)	>119	ND	ND
Te (Foie)	>91	>100	ND
Te (TA)	>119	>100	110 à 140

ND : Non Déterminé

Te : Temps nécessaire pour atteindre une concentration tissulaire stable

TA : Tissu adipeux

La remarque vaut aussi pour la comparaison des profils de la [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD dans le foie et le tissu adipeux (plateau déterminé à 60 jours dans nos expérimentations contre plus de 100 jours dans les études bibliographiques). Cependant les données de Diliberto *et al.* (2001), Lawrence et Gobas (1997), et de Rose *et al.* (1976) correspondent à l'évolution de la contamination de la 2,3,7,8-TCDD dans le sang et dans les tissus cibles suite à un apport semi-chronique (5j/7j) et non chronique. Le mode d'exposition influencerait donc sur le laps de temps nécessaire à l'obtention d'un équilibre des concentrations. Par ailleurs, les différences de délai de stabilisation des teneurs en [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD dans le sang par rapport au foie ou au tissu adipeux laissent suggérer que les capacités à prélever et à stocker cette molécule

varient selon les tissus. En effet, le transfert du lumen au sang étant régi par une diffusion passive (Schlummer *et al.*, 1998 ; Moser et McLachlan, 2001), l'augmentation des teneurs sanguines en dépit d'une stabilisation de celles des deux tissus cibles analysés démontre que l'organisme entier n'est pas à l'équilibre entre 60 et 90 jours d'ingestion et donc que certains tissus continuent à prélever des dioxines dans le sang.

Concernant les concentrations tissulaires au plateau, la forme d'expression retenue est : pg/g de tissu de façon à comparer nos résultats avec ceux de la littérature. Ce mode d'expression peut se justifier par le fait que le métabolisme de la 2,3,7,8-TCDD n'est pas formellement prouvé chez le rat. Dans ces conditions, nos résultats (3842 et 1089 pg/g de tissu pour le foie et le tissu adipeux, respectivement) se rapprochent de ceux définis expérimentalement par Rose *et al.* (1976) (2500 pg/g de foie et 580 pg/g de tissu adipeux), ou suite à une modélisation par Lawrence et Gobas (1997) (2010 - 3400 et 70 - 1170 pg/g de tissu pour respectivement pour le foie et le tissu adipeux). Ainsi la fréquence de contamination ne modulerait pas les valeurs des concentrations à l'équilibre. Les valeurs de la constante d'élimination de la [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD dans le tissu hépatique ($0,041 \text{ j}^{-1}$) et adipeuse ($0,039 \text{ j}^{-1}$) sont légèrement supérieures à celles définies par Rose *et al.* (1976) (respectivement pour le foie et le tissu adipeux de $0,026 \text{ j}^{-1}$ et $0,029 \text{ j}^{-1}$), ceci pouvant s'expliquer par une plus forte variabilité de nos résultats. Cependant, les tendances sont les mêmes : la constante de dissipation de la radioactivité associée à la [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD dans le tissu adipeux est similaire à celle du foie. Ceci tend à suggérer que l'équilibre est atteint en même temps dans ces deux tissus, ce qui est concordant avec les cinétiques de concentrations tissulaires. Inversement, la constante de dissipation du sang est plus faible, d'où un délai plus grand pour atteindre l'équilibre (>90 jours et non plus 60 jours comme pour les deux tissus étudiés). Cette augmentation du temps nécessaire pour atteindre une concentration sanguine stable peut être rapprochée de la fonction de cette matrice. En effet, le sang a pour rôle d'apporter des éléments nutritifs aux organes.

Toutefois, le foie présente des teneurs (Bq/g tissu) en [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD supérieures à celles du (des) tissu(s) adipeux et ce en tout point de la cinétique. Ceci se traduit par des ratios de concentrations "Foie/Tissu adipeux" toujours supérieurs à 3 (Tableau 34). Or si la distribution tissulaire était fonction des teneurs en matière grasse des tissus, alors le ratio de concentrations "Foie/Tissu adipeux" devrait être inférieur à 1. Ainsi, dans nos conditions expérimentales, la contamination du foie en [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD ne s'expliquerait pas par la teneur en matière grasse de ce tissu. A partir des données de la bibliographie, il peut être envisagé que la séquestration hépatique de cette molécule reflète l'induction de l'activité

Tableau 34 : Ratio de concentrations hépatique/adipeux (pg/g de tissu) en [¹⁴C] 2,3,7,8-TCDD au cours de l'ingestion chronique chez des rats

	TA	Foie	Foie/TA
Jours	Bq/g	Bq/g	Ratio
15	2,4	6,5	2,8
30	4,1	15,2	3,7
45	4,2	15,7	4,1
58	4,4	20,2	5,1
89	6,0	20,8	4,1
120	5,1	16,8	3,7
151	5,9	20,3	3,5

TA : Tissu adipeux épидидymaire

enzymatique du cytochrome P4501A2, noté CYP1A2 (Taï *et al.*, 1993 ; Olson *et al.*, 1994; Wang *et al.*, 1997 ; Evans et Andersen, 2000 ; Diliberto *et al.*, 1997, 2001).

3.2. Charge corporelle et facteurs de bioaccumulation

Lors de la détermination de la charge corporelle, nous avons supposé que la 2,3,7,8-TCDD se répartissait principalement dans le foie, le tissu adipeux et la peau. Dans ces conditions, la rétention corporelle est de 19 ± 1 fois la dose ingérée journallement (Dq). Ce résultat est proche de celui déterminé par Rose *et al.* (1976) (21,3 Dq) suite à l'analyse de l'organisme entier ce qui appuie notre hypothèse d'une répartition de la 2,3,7,8-TCDD principalement dans le foie, le tissu adipeux et la peau. Toutefois, la rétention corporelle chez la souris, n'est que 10,5 Dq (Diliberto *et al.*, 2001). Cette différence de rétention pourrait résulter soit d'une absorption plus faible soit d'un métabolisme plus élevé chez la souris par rapport à ce qui est observé chez le rat.

Les facteurs de bioaccumulation du "Lait-Sang", "Lait-Foie" et "Lait-Tissu adipeux" (exprimés en [Bq/g de tissu]/[Bq/kg de poids vifs/jour]) permettent de déterminer l'accumulation de la [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD en fonction d'une dose apportée. Il apparaît ainsi que la rétention de la 2,3,7,8-TCDD du lait vers les différentes matrices testées est relativement faible. Ceci signifie-t-il que le lait est une matrice limitant la contamination de l'organisme ? Afin de comparer nos données à celles de la bibliographie (données obtenues suite à l'ingestion d'huile), les facteurs de bioaccumulation de la [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD dans le foie et dans le tissu adipeux ont été exprimés en (pg/g de tissu)/(pg/jour/kg poids vifs). Les facteurs de bioaccumulation, ainsi obtenus, sont similaires à ceux prédits par Rose *et al.* (1976) et très proches de ceux de Lawrence et Gobas (1997) (Tableau 35).

Tableau 35 : Facteur de bioaccumulation "Aliment-Tissu" de la 2,3,7,8-TCDD suite à une ingestion chronique ou semi-chronique chez des rats

	Lawrence et Gobas (1997)	Rose <i>et al.</i> (1976)	Nos travaux
Ingestion (pg/kg/jour)	6 940 - 11 700	10 000 - 100 000	15 400
B Foie [(pg/g)/(pg/kg/jour)]	0,29	0,25	0,25
B TA [(pg/g)/(pg/kg/jour)]	0,10	0,06	0,07

B : Facteur de bioaccumulation

TA : Tissu adipeux

Ainsi l'huile et le caillé sont deux matrices similaires d'un point de vue vecteur. La faible contamination du foie et du tissu adipeux résulterait donc plutôt d'une faible absorption de la [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD suite à un apport chronique en forte concentration.

4. Conclusion

Suite à un apport chronique de caillé marqué en [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD à fortes doses (8 ng/jour soit 15 ng/kg de poids vifs/jour), nous avons mis en évidence une contamination de l'organisme. Le transfert de la [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD du caillé vers des tissus cibles a donc eu lieu et ce à un taux très proche de ceux obtenus suite à l'ingestion d'huile. Ainsi le lait et l'huile seraient deux matrices vecteur similaires en terme de biodisponibilité de la 2,3,7,8-TCDD pour l'organisme. De plus, nous avons démontré que les teneurs dans le foie, le tissu adipeux et le sang atteignaient plus ou moins rapidement un équilibre (un mois et demi pour les deux tissus, et plus de 90 jours pour le sang). Ceci signifie d'une part que les tissus et le sang sont saturés (l'accumulation est donc limitée) et d'autre part que la capacité tissulaire à prélever la 2,3,7,8-TCDD contenue dans le compartiment sanguin est forte pour le foie et le tissu adipeux par rapport à d'autres cibles (expliquant probablement la prépondérance en terme de concentration en [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD de ces deux tissus). De plus, les teneurs hépatiques étant 4 fois plus élevées que celles déterminées au niveau du tissu adipeux, il semblerait que la rétention hépatique en 2,3,7,8-TCDD ne soit pas fonction de la teneur en matière grasse de ce tissu (contrairement au tissu adipeux et à la peau) mais celle de l'induction du cytochrome P4501A2. Enfin, nous avons mis en évidence que les facteurs de bioaccumulation de la 2,3,7,8-TCDD dans le foie et le tissu adipeux était respectivement de 0,25 et 0,07 [Bq/g de tissu/Bq/kg/jour].

II : Distribution tissulaire des 17 congénères des dioxines chez le rat suite à l'ingestion chronique de lait contaminé

1. Protocole expérimental

1.1. Animaux

Dix-sept rats mâles Sprague Dawley, provenant du Centre d'élevage Dépré (Saint Doulchard, France), âgés de 7 semaines (pesant initialement 280-300 g), ont été placés dans des cages individuelles. Durant une semaine d'adaptation, ces animaux ont reçu une ration équilibrée correspondant à leur besoin d'entretien et de croissance soit 25 g de pellets A03 (alimentation provenant de l'Usine d'Alimentation Rationnelle, UAR, Epinay sur Orge, France). Les rats avaient également accès et ce sur toute la durée de l'expérimentation à l'eau *ad libitum*.

Après une semaine d'adaptation, les rats ont été alimentés avec des bouchons comprenant du lait lyophilisé contaminé. La quantité de bouchons distribués a été limitée à 25 g par jour et par animal de manière à n'avoir aucun refus tout en préservant les performances de croissance des animaux (pesée hebdomadaire). A l'issue de la période expérimentale, les rats ont été anesthésiés à l'éther puis euthanasiés par élongation des cervicales.

1.2. Contamination des aliments pour rat

Le lait utilisé a été collecté, en 2001, dans une zone polluée suite à un dysfonctionnement d'un incinérateur d'ordures ménagères (Albertville, Savoie, France). La fabrication des bouchons a consisté à mélanger 4 grammes de ce lait lyophilisé (soit 31 pg I-TEQ) avec 2 g de poudre d'aliment fourni par UAR. La pâte ainsi formée a été pressée à l'aide d'une seringue. Les bouchons ont alors été placés dans une étuve à 40°C pendant deux jours afin de les durcir et ainsi de limiter les pertes lors de leur ingestion par les animaux. La nourriture quotidienne des rats était donc composée de 6 g de bouchons fabriqués au sein du laboratoire et de 19 g de bouchons UAR.

1.3. Prélèvements tissulaires

Les prélèvements tissulaires, portant à chaque fois sur deux rats, ont été réalisés à 15, 30, 60, 90 et 120 jours d'exposition. A chaque sacrifice, la totalité du foie et du tissu adipeux

épididymaire a été prélevée. Le nombre de prélèvements par matrice biologique s'est donc élevé à 17 (Tableau 36).

Tableau 36 : Dispositif expérimental mise en œuvre pour l'étude du transfert des dioxines du lait vers les tissus cibles

Jour de prélèvements des échantillons	Nombre d'animaux par jour expérimental	Echantillons prélevés
15, 30, 60, 90	2	Foie
		Tissu adipeux épидидymaire
120	5	Foie
		Tissu adipeux épидидymaire
120	4	Foie
		Tissu adipeux épидидymaire
		Peau
		Reste de l'organisme

Le dernier jour de l'expérimentation, les rats occis ont été dépecés afin de déterminer les teneurs en dioxines de la peau et du reste de l'organisme. Les échantillons ont été pesés et congelés avant d'être analysés par le laboratoire LABERCA (Nantes, France).

1.4. Analyses des échantillons

L'analyse des dioxines a été réalisée par chromatographie gazeuse couplée à un spectromètre de masse à haute résolution. La méthode analytique est la même que celle développée dans la partie I, expérimentation 2 (p. 71-73). La totalité du foie a été utilisée pour l'analyse tandis que pour le tissu adipeux, la peau ou les organes restant, seule une partie a été prélevée et dosée. Deux analyses ont été réalisées sur l'aliment, une sur le bouchon UAR, une autre sur les bouchons fabriqués par addition de lait contaminé.

1.5. Traitements statistiques

Tous les traitements statistiques réalisés dans cette expérimentation sont des analyses de variance en randomisation totale obtenues avec le logiciel STATBOX (Grimmer logiciel).

Pour le traitement de l'évolution des concentrations (exprimées en pg/g de tissu frais) en dioxines dans le foie et dans le tissu adipeux au cours de l'ingestion, le modèle comprend un facteur jour et un facteur molécule. Les modalités sont indépendantes car, à chaque temps, correspondent des rats différents.

Tissu	Facteur 1 : Jours	Facteur 2 : Molécule détectée dans le tissu	Répétitions	Unités expérimentales
Foie	15	16 congénères	2	10
	30			
	60			
	90			
	120			
Tissu adipeux	15	16 congénères	2	10
	30			
	60			
	90			
	120			

Enfin le traitement des facteurs de bioconcentration (FBC) définis comme le rapport des concentrations tissulaires à l'équilibre (exprimées en pg/g de tissu frais) sur celles de l'aliment ingéré journallement (pg/g d'aliment), le modèle inclut le seul facteur : molécule avec 4 répétitions.

Tissu	Facteur 1 : Molécule détectée dans les tissus	Répétitions
Foie	16 congénères	4
Tissu adipeux	15 congénères	4
Peau	16 congénères	4

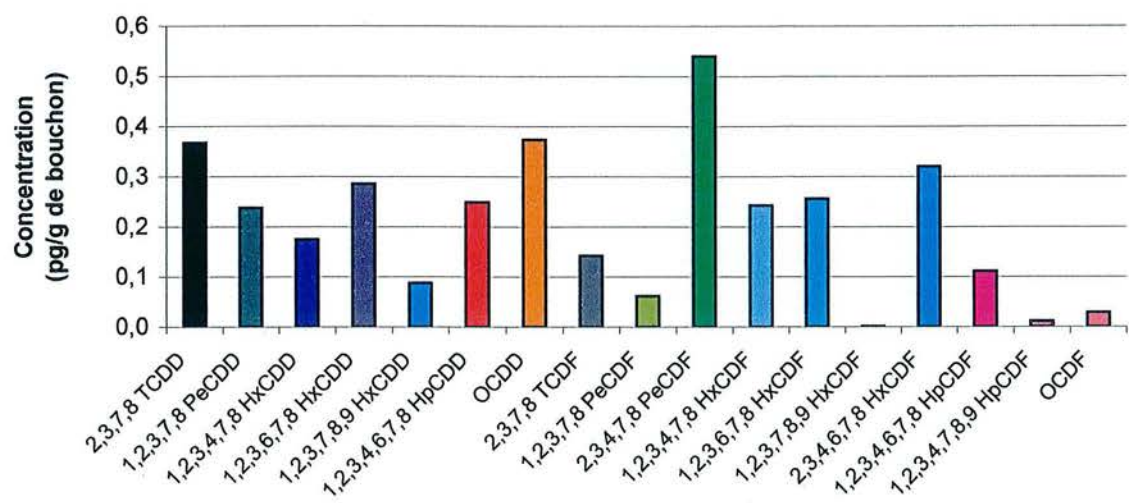
Une molécule est considérée comme non détectée dans un tissu lorsque l'intervalle de confiance de la teneur tissulaire des rats alimentés pendant 120 jours comprenait 0.

2. Résultats

2.1. Profil des dioxines dans l'aliment

La part relative de la contamination totale des PCDD dans l'aliment est similaire à celle des PCDF (respectivement 51 % et 49 %). Cependant les parts relatives entre les groupes de molécules de même chloration fluctuent : les HxCDD/F représentent environ 40 % de la contamination totale, les TCDD/F 15 %, les HpCDD/F et OCDD/F 10 % chacun, le pourcentage le plus faible étant mesuré pour les PeCDD/F (avec 8 %). En terme de teneurs, les PCDD présentent des concentrations comprises entre 0,09 pg/g d'aliment pour le 1,2,3,7,8,9-HxCDD et 0,37 pg/g d'aliment pour la 2,3,7,8-TCDD et l'OCDD (Figure 28). Pour les PCDF, les concentrations varient entre 0,01 et 0,54 pg/g d'aliment respectivement pour le 1,2,3,4,7,8,9 HpCDF et le 2,3,4,7,8-PeCDF. Seule une molécule, l'1,2,3,7,8,9-

Figure 28 : Niveaux de contamination (pg/g) des bouchons ingérés par les rats



HxCDF, n'a pas été détectée. Le 1,2,3,7,8,9-HxCDD, le 1,2,3,7,8-PeCDF, le 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF et l'OCDF présentent des concentrations très faibles, inférieures à 0,1 pg/g d'aliment.

2.2. Croissance des rats et notes d'état

Entre le début et la fin de l'expérimentation, les animaux ont pris environ 300 g. Les courbes théoriques mimant le mieux l'évolution du poids des rats, de la masse du foie ou du tissu adipeux sont de type logarithmique (Figure 29, Figure 30).

Figure 29 : Courbe de croissance des rats contaminés par l'aliment

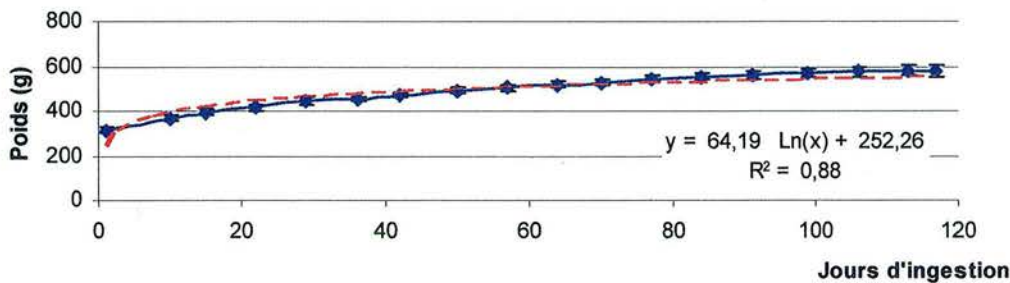
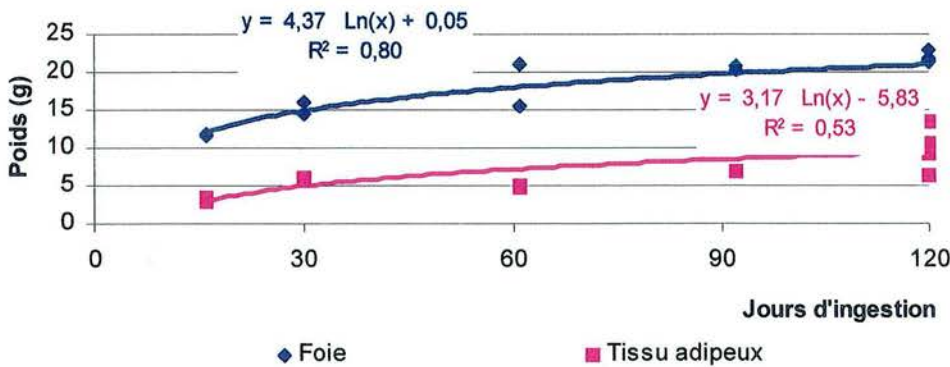
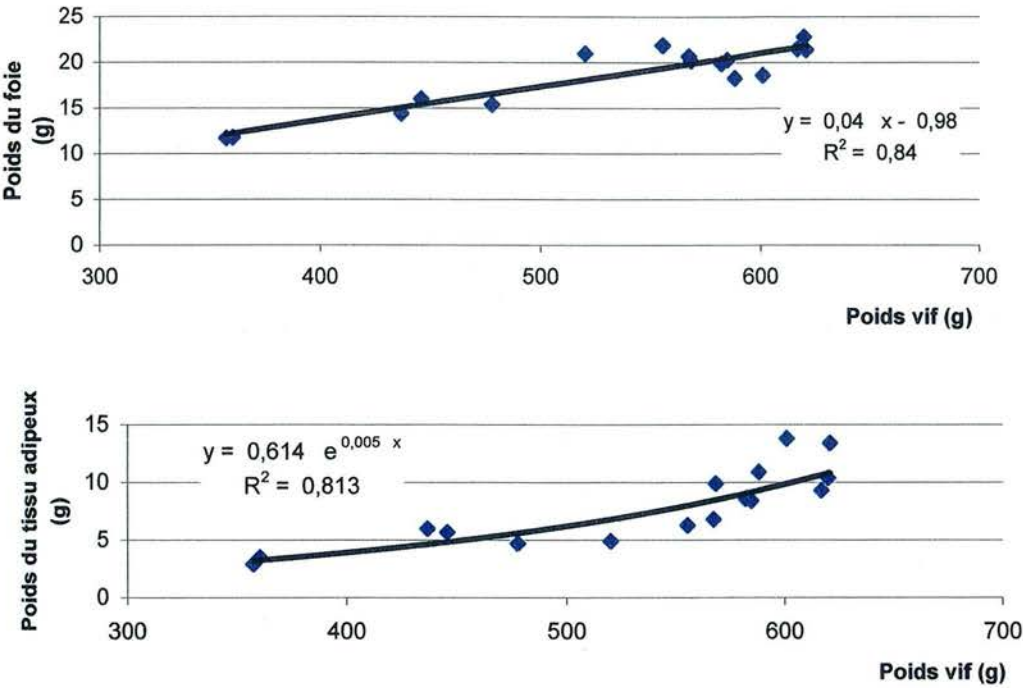


Figure 30 : Evolution des poids du foie et du tissu adipeux épididymaire des rats contaminés par les 17 dioxines contenues dans l'aliment



Les coefficients d'allométrie du poids du foie ou du tissu adipeux en fonction du poids vif de l'animal suivent respectivement une relation linéaire et exponentielle (Figure 31). Enfin leur ingestion cumulée au cours de la cinétique augmente linéairement.

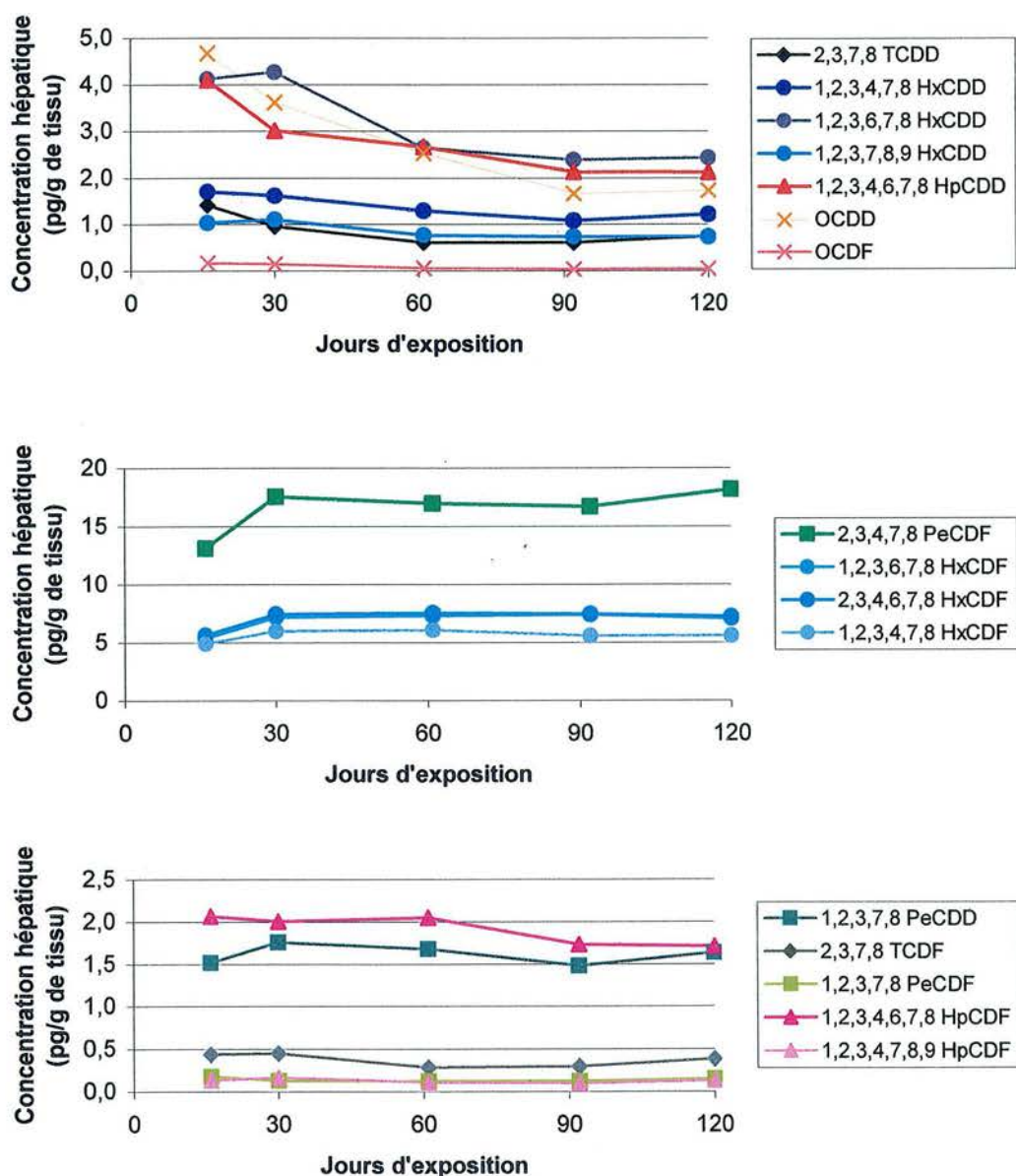
Figure 31 : Coefficients d'allométrie du foie et du tissu adipeux en fonction du poids vif de rats exposés quotidiennement aux dioxines



2.3. Profils dans le foie et dans le tissu adipeux des 16 congénères de dioxines

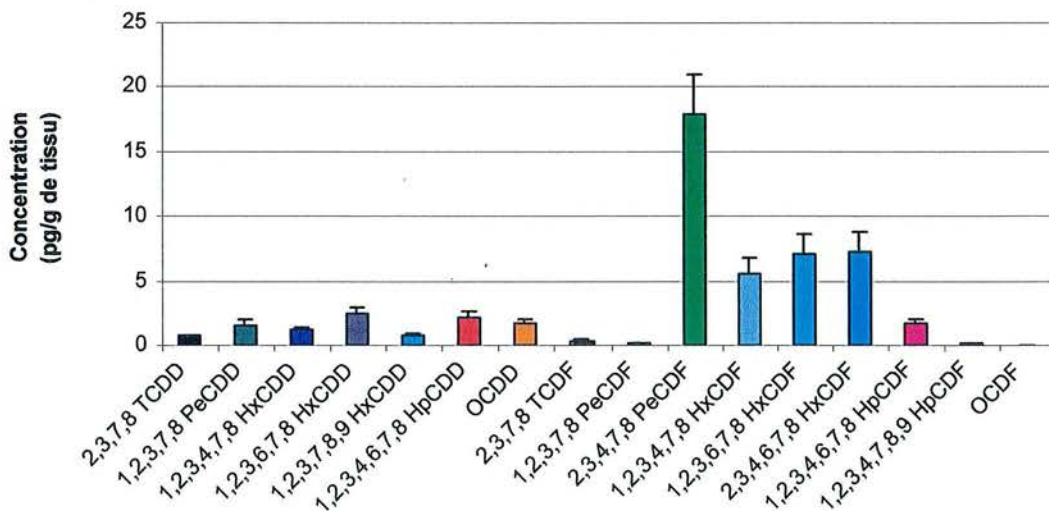
Seize dioxines sont détectées dans le foie et 15 dans le tissu adipeux des rats contaminés, les exceptions concernent le 1,2,3,7,8,9-HxCDF (absent des deux tissus et de l'aliment) et le 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF (retrouvé uniquement au niveau du foie). Le profil hépatique au cours de l'essai n'est pas semblable pour toutes les molécules (Figure 32).

Figure 32 : Evolutions des concentrations en dioxines du foie suite à l'ingestion chronique d'aliment contaminé



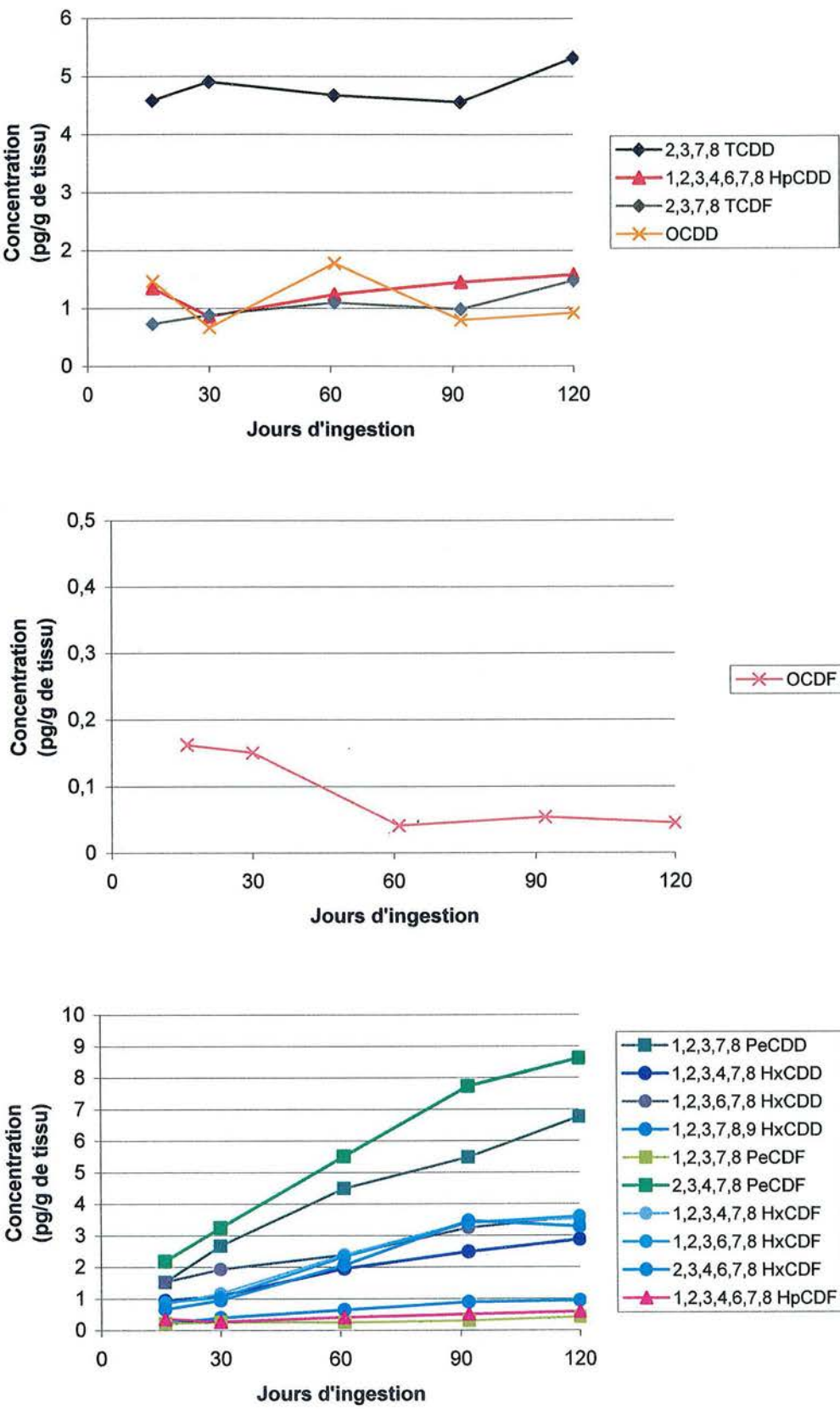
Trois groupes peuvent être distingués : le premier ensemble correspond aux molécules (2,3,7,8-TCDD, 1,2,3,4,7,8- / 1,2,3,6,7,8- / 1,2,3,7,8,9-HxCDD, 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD, OCDD/F) dont les concentrations hépatiques (exprimées en pg/g de tissu frais) tendent à diminuer en début de cinétique. Pour le deuxième groupe de congénères (le 2,3,4,7,8-PeCDF et les HxCDF), les teneurs augmentent durant le premier mois d'ingestion. Le troisième groupe est caractérisé par une stabilité apparente des teneurs hépatiques au cours de l'expérimentation. Après 90 jours d'ingestion, nous pouvons considérer que l'ensemble de ces congénères présente des concentrations stables. Ces dernières sont comprises entre $0,04 \pm 0,01$ et $17,91 \pm 3,09$ pg/g de tissu pour respectivement l'OCDF et le 2,3,4,7,8-PeCDF (Figure 33).

Figure 33 : Concentration (pg/g de tissu) en dioxines à l'équilibre du foie suite à l'ingestion chronique d'aliment contaminé chez des rats (moyenne des points entre 90 et 120 jours)



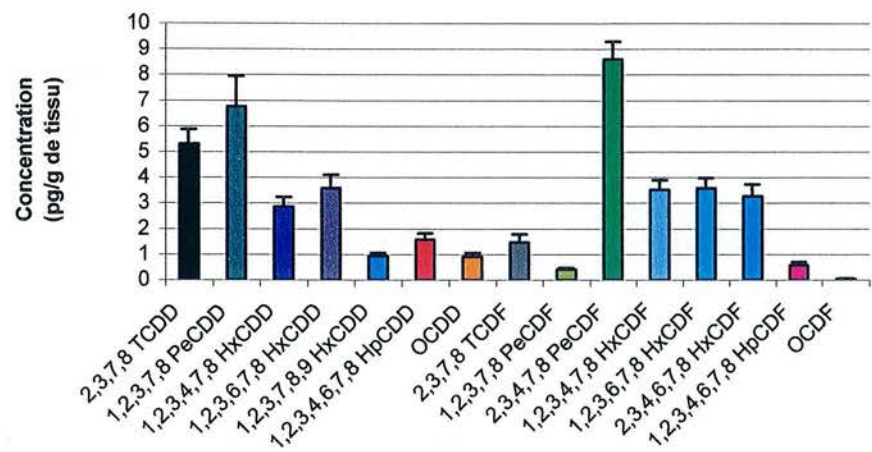
En ce qui concerne le tissu adipeux, les trois évolutions décrites pour le foie sont également observées (Figure 34). Les 2,3,7,8-TCDD/F, les 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD/F et l'OCDD présentent des concentrations stables au cours de l'expérimentation. Les teneurs en OCDF décroissent en début d'expérimentation pour se stabiliser après 60 jours d'exposition. Tous les autres correspondent aux congénères dont les teneurs s'accroissent. De manière générale, nous pouvons considérer que les concentrations en dioxines se stabilisent dans le tissu adipeux de rats exposés entre 90 et 120 jours d'ingestion. Le niveau de contamination

Figure 34 : Evolutions des concentrations (pg/g de tissu) en dioxines du tissu adipeux suite à l'ingestion chronique d'aliment contaminé



maximal est obtenu pour le 2,3,4,7,8-PeCDF (8,46 ± 0,81 pg/g de tissu). L’OCDF présente la plus faible concentration (0,05 ± 0,02 pg/g de tissu) (Figure 35).

Figure 35 : Concentration (pg/g de tissu) en dioxines à l'équilibre du tissu adipeux épididymaire suite à l'ingestion chronique d'aliment contaminé (moyenne des points entre 90 et 120 jours)



Les niveaux de contamination en dioxines entre les deux tissus cibles étudiés sont très différents (Tableau 37). Quelle que soit la molécule et les temps de cinétique, les concentrations hépatiques sont systématiquement supérieures à celles du tissu adipeux. Ceci se traduit en terme de rapport de concentrations “Foie/Tissu adipeux” par des valeurs comprises entre 2 et 51 pour la 2,3,7,8-TCDD et le 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF, respectivement (valeur obtenue chez les rats exposés pendant 120 jours, Figure 36).

Figure 36 : Ratio de concentrations en dioxines Foie/Tissu adipeux (pg/g MG de foie / pg/g MG de TA) pour les rats exposés pendant 120 jours

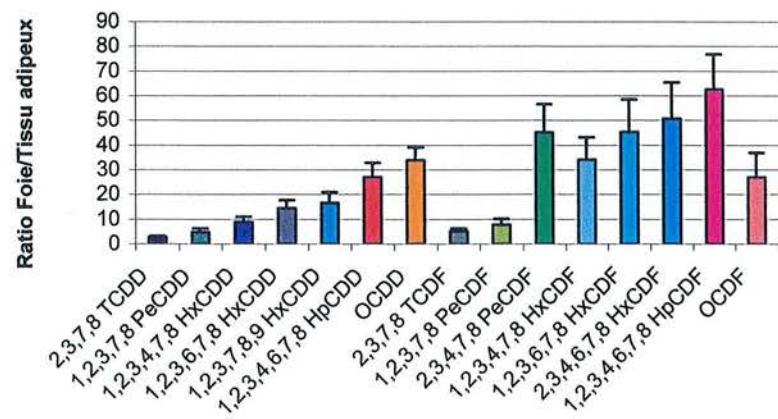


Tableau 37 : Concentration (pg/g de matière grasse) des dioxines du foie et du tissu adipeux épидидymaire chez des rats suite à une ingestion chronique d'aliment contaminé

Foie	15 jours	30 jours	60 jours	90 jours	120 jours
2,3,7,8-TCDD	24,02 ± 7,40	14,55	12,29 ± 4,86	11,84 ± 0,31	14,22 ± 3,60
1,2,3,7,8-PeCDD	25,91 ± 6,50	26,72	33,57 ± 17,60	29,05 ± 1,17	31,76 ± 12,94
1,2,3,4,7,8-HxCDD	28,91 ± 11,44	24,56	25,65 ± 14,84	21,11 ± 1,09	23,51 ± 9,15
1,2,3,6,7,8-HxCDD	70,20 ± 18,92	64,80	52,74 ± 32,73	46,98 ± 0,62	47,45 ± 19,10
1,2,3,7,8,9-HxCDD	17,59 ± 3,74	16,60	15,14 ± 8,25	14,23 ± 0,13	14,25 ± 5,70
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	69,81 ± 24,44	45,87	53,54 ± 26,29	41,83 ± 0,41	41,24 ± 16,52
OCDD	79,71 ± 14,12	55,01	51,20 ± 18,77	32,66 ± 1,45	33,02 ± 9,42
2,3,7,8-TCDF	7,43 ± 2,45	6,89	5,75 ± 1,01	5,72 ± 1,62	7,22 ± 1,92
1,2,3,7,8-PeCDF	3,02 ± 0,25	1,95	2,58 ± 0,52	2,43 ± 0,30	2,85 ± 0,88
2,3,4,7,8-PeCDF	222,99 ± 28,78	266,21	340,24 ± 156,19	327,16 ± 16,67	351,17 ± 108,97
1,2,3,4,7,8-HxCDF	83,17 ± 12,82	90,80	121,30 ± 67,30	109,10 ± 2,40	108,18 ± 40,93
1,2,3,6,7,8-HxCDF	90,59 ± 19,57	108,89	146,76 ± 73,16	145,38 ± 7,95	137,28 ± 53,92
2,3,4,6,7,8-HxCDF	95,16 ± 19,30	113,33	152,50 ± 45,46	146,58 ± 1,65	140,42 ± 51,47
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	35,15 ± 11,30	30,46	40,96 ± 21,00	34,15 ± 1,22	33,22 ± 12,01
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	2,33 ± 0,47	2,57	2,19 ± 1,55	2,00 ± 0,25	2,55 ± 1,01
OCDF	2,87 ± 1,17	2,17	1,09 ± 0,71	0,72 ± 0,07	0,87 ± 0,32

Tissu adipeux	15 jours	30 jours	60 jours	90 jours	120 jours
2,3,7,8-TCDD	5,23 ± 1,61	5,53 ± 0,71	5,09 ± 0,40	5,04 ± 0,50	5,77 ± 0,56
1,2,3,7,8-PeCDD	1,74 ± 0,19	3,01 ± 0,25	4,89 ± 0,12	6,04 ± 0,47	7,33 ± 1,27
1,2,3,4,7,8-HxCDD	1,08 ± 0,30	1,23 ± 0,01	2,12 ± 0,20	2,74 ± 0,21	3,11 ± 0,40
1,2,3,6,7,8-HxCDD	1,75 ± 0,43	2,18 ± 0,28	2,60 ± 0,29	3,58 ± 0,35	3,90 ± 0,53
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,25 ± 0,20	0,44 ± 0,13	0,70 ± 0,06	0,98 ± 0,01	1,02 ± 0,13
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	1,54 ± 0,09	0,97 ± 0,20	1,35 ± 0,13	1,61 ± 0,16	1,72 ± 0,26
OCDD	1,67 ± 1,00	0,76 ± 0,42	1,94 ± 1,66	0,89 ± 0,23	1,00 ± 0,15
2,3,7,8-TCDF	0,84 ± 0,22	1,00 ± 0,10	1,20 ± 0,52	1,09 ± 0,12	1,61 ± 0,34
1,2,3,7,8-PeCDF	0,25 ± 0,12	0,30 ± 0,16	0,28 ± 0,06	0,34 ± 0,01	0,45 ± 0,08
2,3,4,7,8-PeCDF	2,49 ± 0,54	3,65 ± 0,81	5,99 ± 1,43	8,52 ± 0,10	9,35 ± 0,69
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,95 ± 0,27	1,31 ± 0,35	2,60 ± 0,34	3,78 ± 0,10	3,82 ± 0,42
1,2,3,6,7,8-HxCDF	1,02 ± 0,16	1,17 ± 0,28	2,53 ± 0,45	3,75 ± 0,23	3,90 ± 0,39
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,76 ± 0,29	1,07 ± 0,13	2,24 ± 0,30	3,82 ± 0,02	3,56 ± 0,50
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,41 ± 0,05	0,31 ± 0,13	0,45 ± 0,13	0,56 ± 0,03	0,64 ± 0,12
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND	ND	ND	ND	ND
OCDF	0,19 ± 0,02	0,17 ± 0,04	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,06	0,05 ± 0,02

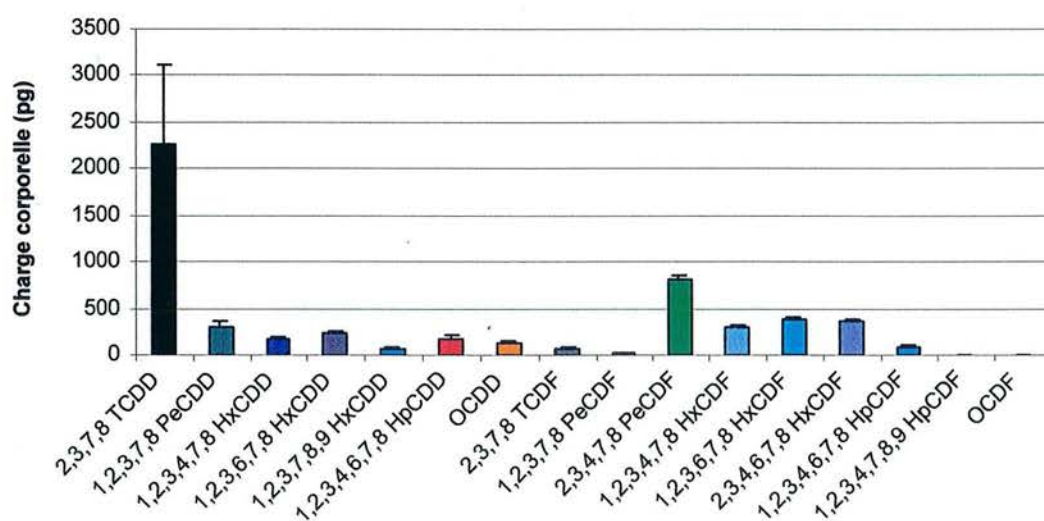
ND : Non Déterminé

Les ratios des teneurs "Foie/Tissu adipeux" des PCDD augmentent en fonction de degré de chloruration. Pour les PCDF, cette relation est plus discutable. Enfin, les rapports de concentration "Foie/Tissu adipeux" des PCDF sont globalement 2 fois plus élevés que ceux des PCDD.

2.4. Charge corporelle totale et facteur de bioconcentration des dioxines dans le foie, le tissu adipeux épididymaire et la peau chez les rats

Suite à l'ingestion chronique de bouchons contaminés (pendant 120 jours) la charge corporelle en dioxines s'échelonne entre 2261 ± 857 pg pour la TCDD (valeur maximale) et 5 ± 1 pg pour l'OCDF (valeur minimale) (Figure 37).

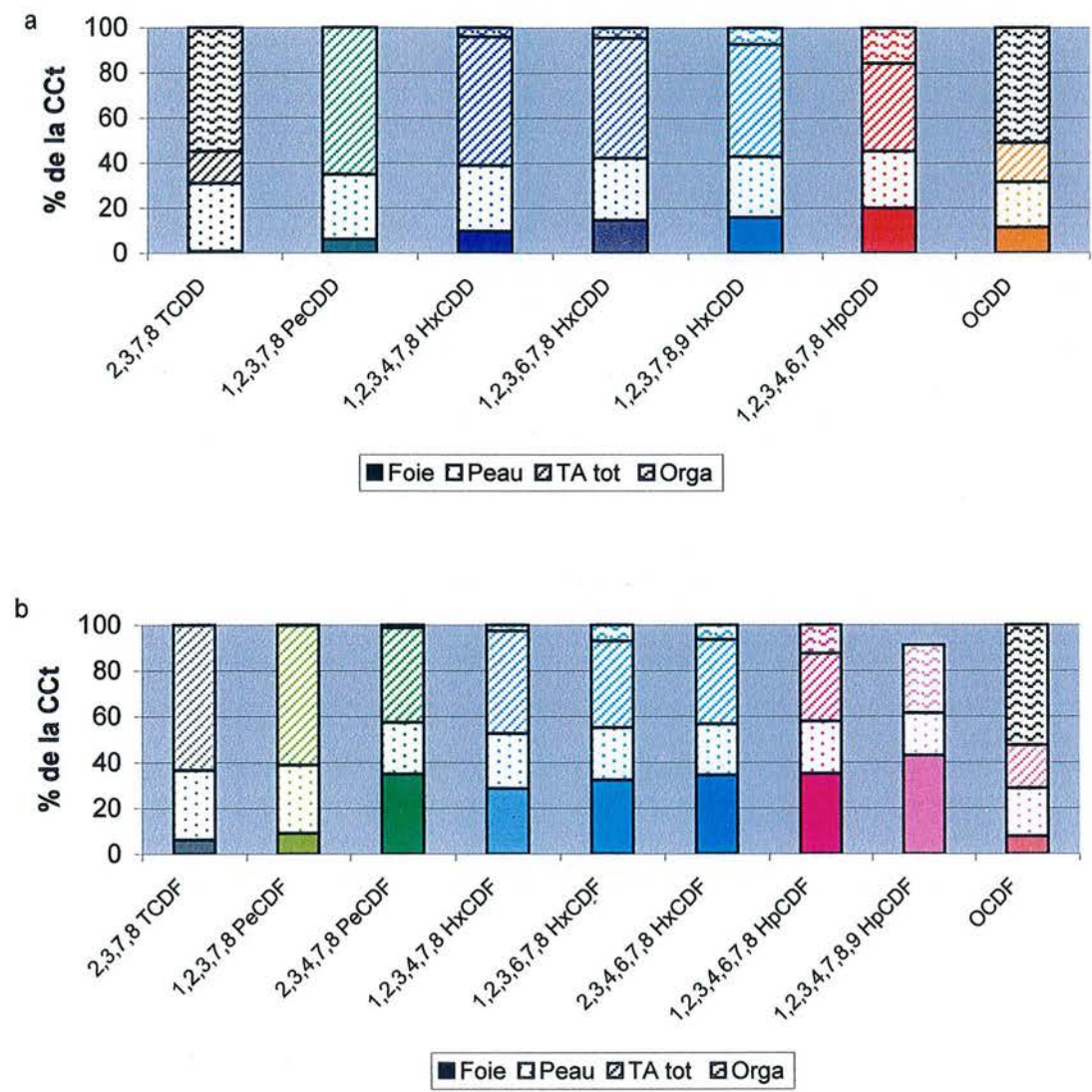
Figure 37 : Charge corporelle totale en dioxines de rats exposés pendant 120 jours (n=4)



La somme des quantités retrouvées au niveau du foie, du tissu adipeux total et de la peau correspond en moyenne à 90 % de la charge corporelle totale (CCT), la répartition étant de 41 %, 28 %, 21 % et 10 % pour respectivement, le tissu adipeux, la peau et le foie et le reste de l'organisme (c'est-à-dire l'animal sans foie, tissus adipeux et peau) (Figure 38). Cependant des exceptions peuvent être soulignées, notamment pour la 2,3,7,8-TCDD. En effet pour cette molécule, le cumul des quantités retrouvées dans les 3 tissus ne dépasse pas les 50 % de la CCT.

Les valeurs des facteurs de bioconcentration (FBC) des différents tissus étudiés sont déterminés par le ratio entre les concentrations tissulaires à l'équilibre (pg/g de tissu) et les

Figure 38 : Pourcentage de la charge corporelle totale en PCDD (a) et en PCDF (b) retrouvé dans le foie, le tissu adipeux, la peau et le reste de l'organisme de rats exposés pendant 120 jours (n=4)



TA : Tissu Adipeux total

Orga : Reste de l'organisme

concentrations ingérées (pg/g de bouchon). Au niveau du foie, les FBC des PCDF ($17,28 \pm 3,14$) sont globalement 2,4 fois plus élevés que ceux des dioxines ($7,31 \pm 1,72$) (Figure 39a). De plus, les FBC des PCDD augmentent significativement en fonction du nombre d'atomes de chlores alors que pour les PCDF, une relation inverse est observée. Seuls les tétra- et octa-congénères se comportent de la même façon entre les deux sous-familles.

Les FBC des PCDD dans le tissu adipeux s'échelonnent entre $2,40 \pm 0,41$ pour l'OCDD et $27,42 \pm 5,01$ pour le 1,2,3,7,8-PeCDD (Figure 39b). Les résultats pour les PCDF sont compris entre $1,61 \pm 0,80$ et $15,67 \pm 1,33$ pour l'OCDF et le 2,3,4,7,8-PeCDF, respectivement. Ainsi pour le tissu adipeux, les FBC des PCDD ($13,63 \pm 1,42$) tendent à être 1,6 fois supérieurs à ceux des PCDF ($8,37 \pm 0,82$). Par contre, les FBC des deux sous-familles diminuent en fonction du degré de chloration et les 1,2,3,4,7,8-HxCDD/F ; 1,2,3,6,7,8-HxCDD/F ; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD/F ; OCDD/F présentent des FBC voisins.

Les FBC des PCDD de la peau sont compris entre $1,36 \pm 0,51$ et $13,54 \pm 5,17$ pour l'OCDD et la 2,3,7,8-TCDD respectivement (Figure 39c). Pour les PCDF, les FBC présentent de plus faibles différences en fonction des congénères, le facteur de bioconcentration le plus élevé ($3,51 \pm 0,48$) étant obtenu avec le 2,3,7,8-PeCDF et le plus faible ($0,88 \pm 0,09$) avec le 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF. L'évolution des FBC en fonction du degré de chloration des dioxines est la même que celle observée au niveau du tissu adipeux : les valeurs des FBC diminuant significativement entre les molécules faiblement et fortement chlorées.

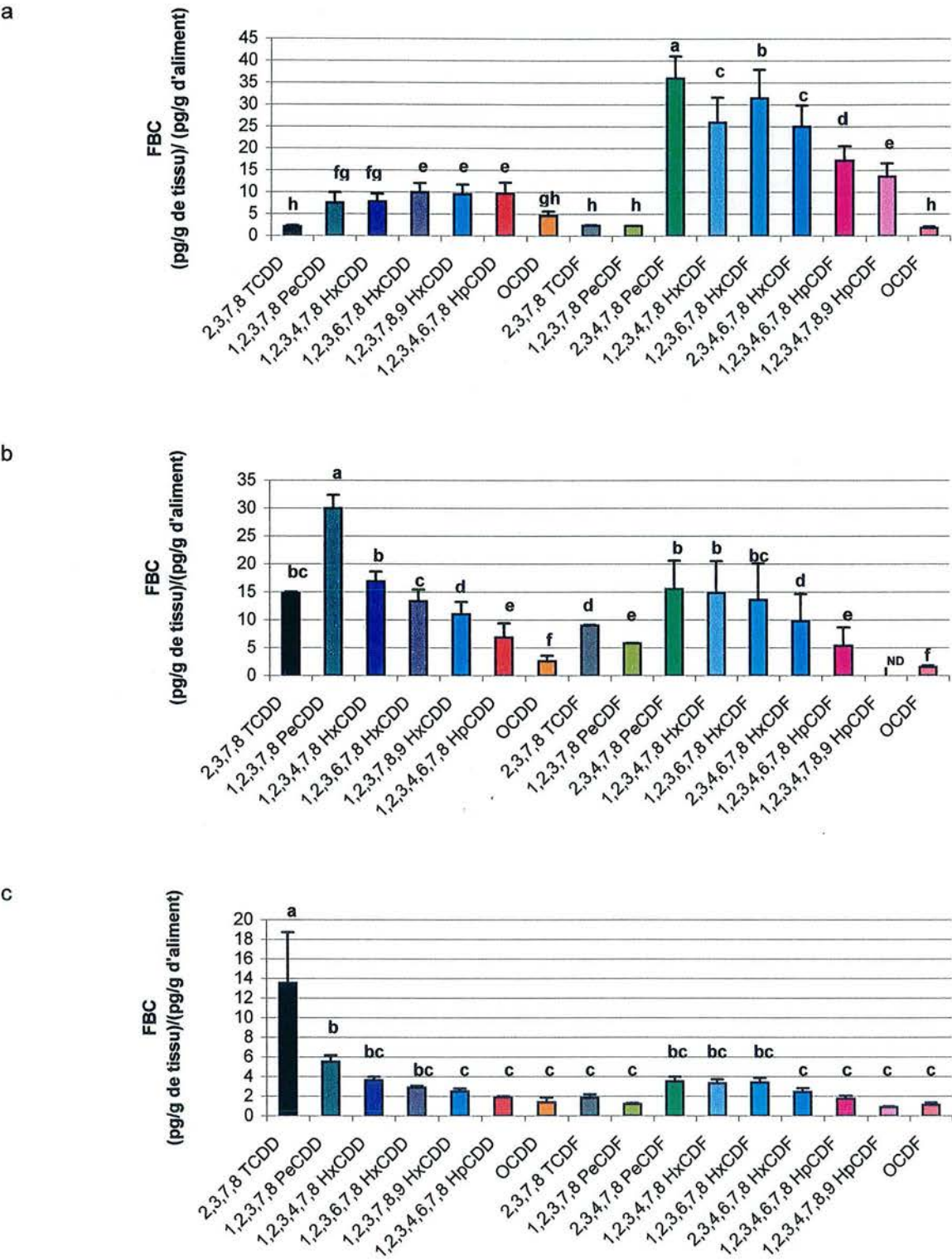
Enfin, lors d'une comparaison des trois tissus (Figure 40), les FBC hépatiques sont supérieurs à ceux du tissu adipeux épидидymaire pour l'ensemble des PCDF et pour les PCDD fortement chlorés. Pour les autres congénères, les FBC du tissu adipeux sont plus élevés. Quant aux FBC de la peau, ils sont significativement inférieurs à ceux des deux tissus pour l'ensemble des molécules à l'exception des 2,3,7,8-TCDD/F et du 1,2,3,7,8-PeCDD.

3. Discussion

3.1. Profil et teneurs en dioxines de l'aliment

Les analyses des bouchons UAR et des bouchons contaminés ont révélé que la contamination de l'aliment ne résultait pas uniquement de l'incorporation du lait. Les bouchons UAR A03, composés entre autre de farines de poisson, ont contribué à la pollution (les farines de poissons peuvent renfermer des quantités non négligeables de dioxines de l'ordre de 20 pg I-TEQ/g de matière grasse ; Fielder *et al.*, 1997). Cependant, pour la grande majorité

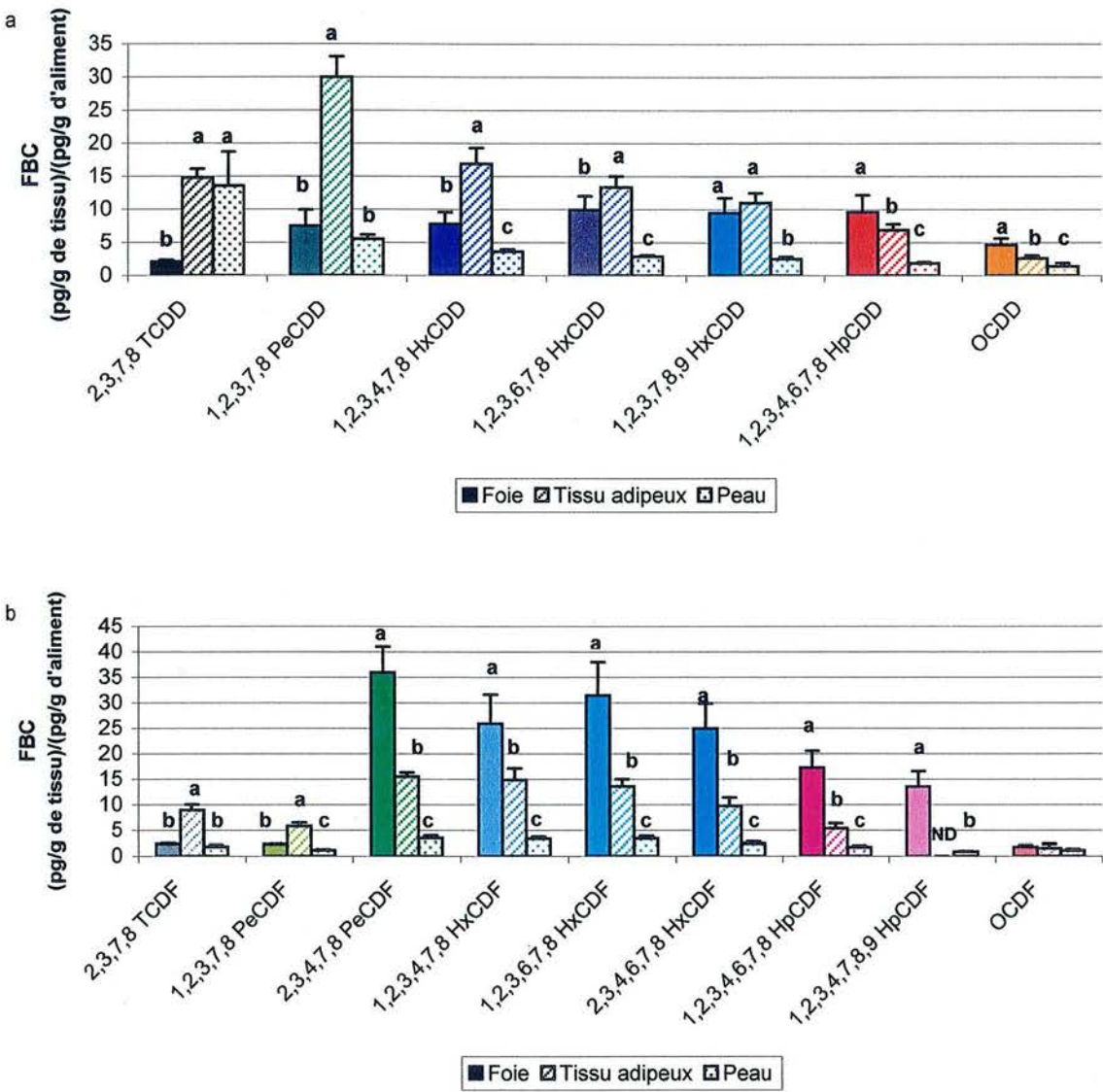
Figure 39 : Facteurs de bioconcentration (FBC) des dioxines dans le foie (a), le tissu adipeux (b) et la peau (c) des rats exposés pendant 120 jours



(a,b,c,d,e,f,g,h) : Pour un tissu donné, les colonnes portant une même lettre ne diffèrent pas au seuil de 5 %

ND : Non déterminé

Figure 40 : Comparaison des FBC des PCDD (a) et des PCDF (b) du foie, du tissu adipeux et de la peau de rats exposés pendant 120 jours



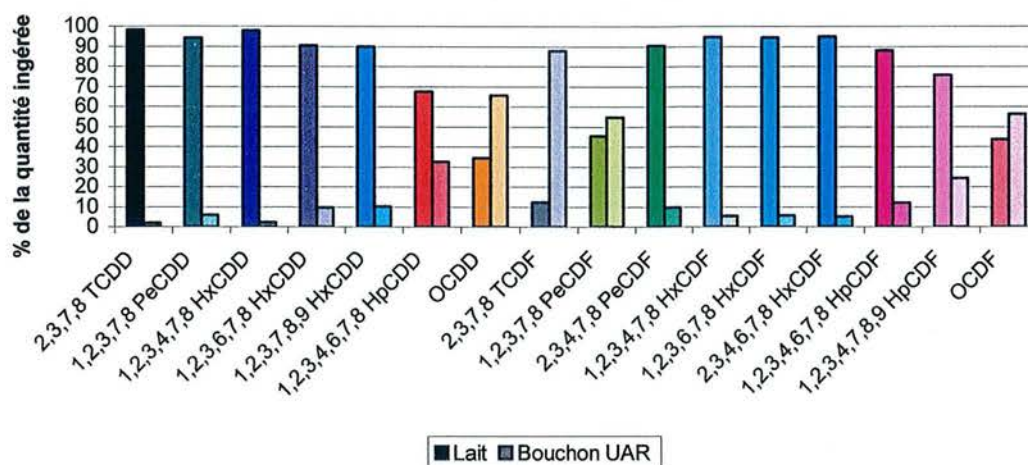
(a,b,c) : Pour une molécule donnée, les colonnes portant une même lettre ne diffèrent pas au seuil de 5 %

ND : Non déterminé

FBC : facteur de bioconcentration

des congénères, le lait a fourni plus de 90 % de la contamination totale de l'aliment (Figure 41).

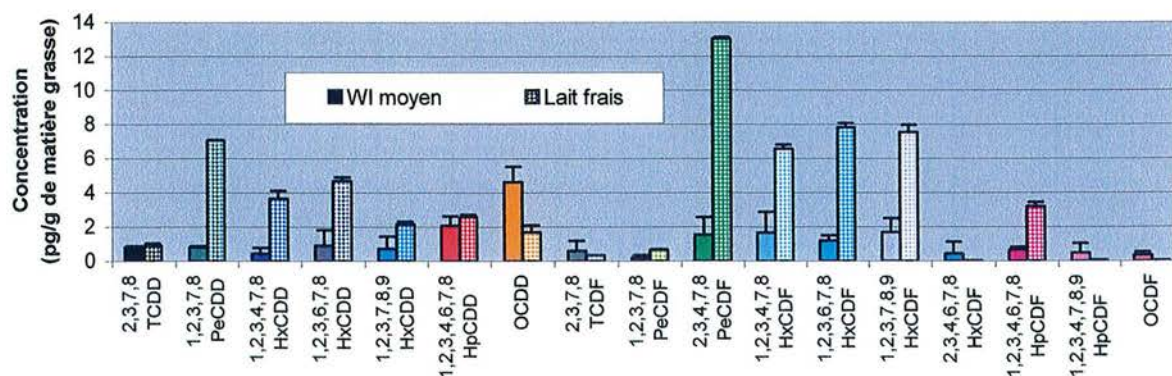
Figure 41 : Contribution relative du lait et des bouchons à la contamination



Seules cinq exceptions sont à signaler : le 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD et le 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF qui proviennent à hauteur de 70 % du lait, le 1,2,3,7,8-PeCDF, l'OCDD et son homologue furane dont la contamination du produit laitier correspond à 40 % de celle ingérée. Enfin la quantité de 2,3,7,8-TCDF du lait ne représente que 15 % de celle de l'aliment. Ainsi pour nos calculs, nous avons pris en compte la quantité totale de dioxines ingérées (bouchons UAR + bouchons contaminés volontairement par du lait).

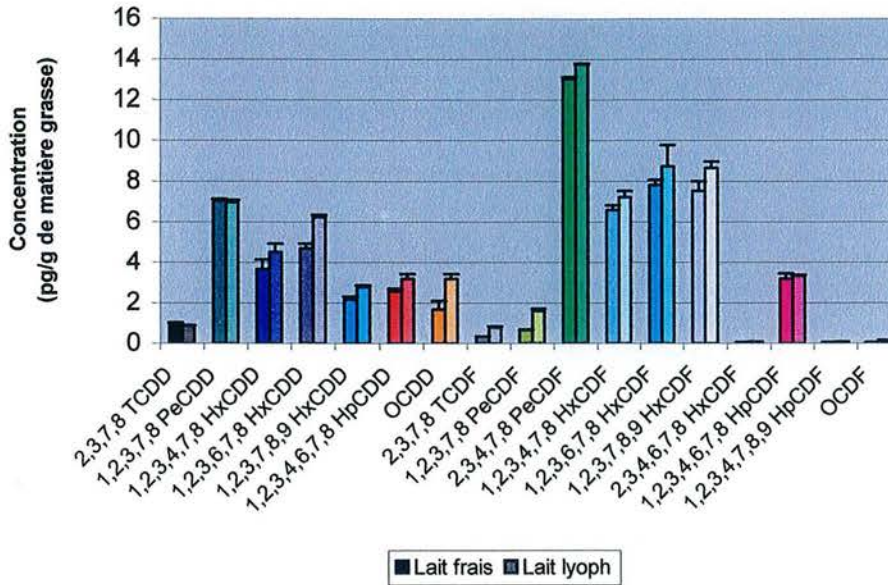
De manière générale, les teneurs du lait utilisé dans notre expérimentation sont 3,5 fois plus élevées que celles rapportées dans la littérature (Figure 42).

Figure 42 : Profils et teneurs des congénères de dioxines du lait frais. Comparaison de nos résultats avec celui d'un lait moyen provenant d'une exploitation à proximité d'un incinérateur (Ramos *et al.*, 1997; Schmid et Schlatter, 1992)



Nous avons également mis en évidence que la lyophilisation n'a pas eu d'impact sur les teneurs en dioxines du lait entier (Figure 43).

Figure 43 : Profils et teneurs des congénères de dioxines du lait frais et du lait lyophilisé (lait lyoph)



Ce résultat est concordant avec les données de Ramos *et al.* (1999b) basées sur des laits de consommation.

3.2. Impact sur l'organisme de la prise régulière des dioxines

Les rats ont ingéré quotidiennement 26 pg I-TEQ soit en moyenne 52 pg I-TEQ/kg de poids vif. Pour une période de 120 jours, la dose cumulée est de 6270 pg I-TEQ/kg. Peu de données sont disponibles sur les risques en terme de toxicité d'un tel mélange de dioxines.. Toutefois, il apparaît que les doses données lors de cette expérimentation sont au moins 200 fois inférieures aux DL_{50} (Tableau 38). De même la vitesse de croissance de nos animaux a été similaire à celle déterminée dans les grilles du Centre d'élevage Dépré. L'ensemble de ces résultats tend à montrer que la dose utilisée n'a pas eu de répercussions sur la croissance et le développement des animaux.

Tableau 38 : DL₅₀ des dioxines suite à l'ingestion unique d'une molécule donnée chez le rat Sprague Dawley (Geyer *et al.*, 2002). Comparaison avec l'ingestion totale utilisée lors de cette expérimentation

	DL ₅₀ (pg/kg)	Ingestion totale (pg/kg)
2,3,7,8-TCDD	43 000 000	2 200
1,2,3,7,8-PeCDD	206 000 000	1 400
1,2,3,4,7,8-HxCDD	887 000 000	1 100
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	6 325 000 000	1 500
OCDD	30 000 000 000	2 300

3.3. Profils et concentrations à l'équilibre des dioxines dans le foie et le tissu adipeux lors d'une ingestion chronique de lait contaminé chez des rats

3.3.1. Profils des dioxines dans le foie et le tissu adipeux

L'incorporation des dioxines dans les tissus dépend de plusieurs facteurs : la dose administrée, l'absorption et/ou l'excrétion, le mode de transport dans le sang, le devenir métabolique, la teneur en lipides des tissus et la concentration en protéines de liaison (DeVito *et al.*, 1998 ; Diliberto *et al.*, 2001). Les molécules absorbées sont soit stockées soit éliminées des tissus. Dans nos conditions expérimentales (utilisation d'animaux en croissance), le poids des différents tissus prélevés ne cesse d'augmenter limitant probablement le phénomène de redistribution.

Au niveau du foie, l'évolution des concentrations (pg/g de matière grasse tissulaire ou en pg/g de tissu) des congénères de dioxines diffère : nous avons démontré que les teneurs hépatiques de certaines molécules, principalement les PCDD, diminuaient en début de cinétique (Tableau 39). Ceci laisserait supposer que le rythme d'accumulation de ces congénères est inférieur à celui de la matière grasse. Néanmoins, les quantités hépatiques de ces molécules tendent à être stables (Tableau 39). Ainsi, l'accumulation des PCDD dans le foie est indépendante de la croissance de ce tissu. L'hypothèse d'une diffusion passive en fonction de la lipophilicité du tissu ne peut pas être retenue. Il semblerait que la rétention hépatique de ces molécules fasse intervenir d'autres mécanismes. DeVito *et al.* (1998), Diliberto *et al.* (1997, 1999) et Evans et Andersen (2000) ont mis en évidence, dans le foie de souris, des protéines capables de se lier aux dioxines. Il est donc vraisemblable que ces protéines soient impliquées dans la séquestration des PCDD.

Les concentrations hépatiques en PCDF apparaissent soit stables au cours de l'exposition, soit croissantes en début de cinétique. Pour ces congénères, l'accumulation dans le foie serait ainsi similaire ou supérieure à celle de la matière grasse. Parmi les molécules qui admettent des concentrations stables, seul le 2,3,7,8-TCDF présente des quantités hépatiques corrélées à celles de la matière grasse. L'hypothèse d'une rétention en fonction de la lipophilicité du tissu ne peut pas à elle seule expliquer ce phénomène. Par conséquent, il est envisageable que les protéines de liaison soient impliquées dans le mécanisme de fixation des PCDF au niveau du foie. Cependant, contrairement aux PCDD, les concentrations en protéines de liaison évolueraient au cours de la cinétique permettant ainsi une accumulation des PCDF. Cette hypothèse est en accord avec les données de DeVito *et al.* (1998), qui ont démontré que les

Tableau 39 : Evolution des concentrations et des quantités en dioxines dans le foie et le tissu adipeux

	Foie			Tissu adipeux		
	Concentration pg/g	Quantité pg	r ²	Concentration pg/g	Quantité pg	r ²
2,3,7,8 TCDD			NS			0,94
1,2,3,7,8 PeCDD			NS			0,84
1,2,3,4,7,8 HxCDD			NS			0,84
1,2,3,6,7,8 HxCDD			NS			0,86
1,2,3,7,8,9 HxCDD			NS			0,88
1,2,3,4,6,7,8 HpCDD			NS			0,83
OCDD			0,41			0,28
2,3,7,8 TCDF			0,34			0,83
1,2,3,7,8 PeCDF			NS			0,85
2,3,4,7,8 PeCDF			0,32			0,91
1,2,3,4,7,8 HxCDF			NS			0,89
1,2,3,6,7,8 HxCDF			NS			0,88
2,3,4,6,7,8 HxCDF			NS			0,86
1,2,3,4,6,7,8 HpCDF			NS			0,81
1,2,3,4,7,8,9 HpCDF			NS	ND	ND	ND
OCDF			0,37			NS

— : Evolution significative (P<0,05)

..... : Tendence

NS : Non Significatif

ND : Non Déterminé

r² : Corrélation entre la quantité de matière grasse tissulaire (g) et la quantité (pg) de dioxines

concentrations en protéines des liaisons peuvent être augmentées par la présence de 2,3,4,7,8-PeCDF dans le foie. Cette suggestion peut être également utilisée pour les molécules dont les concentrations hépatiques augmentent.

Au sein de ces familles, les profils de l'OCDD et l'OCDF constituent des exceptions. En effet, pour ces molécules, les teneurs et les quantités hépatiques diminuent en début de cinétique. Ces octa-congénères sont donc vraisemblablement éliminés du foie suite à une dégradation ou à un relargage dans la bile. Mais l'hypothèse d'une dégradation semble peu probable dans la mesure où Ewers *et al.* (1996) et Pöpke (1998) ont démontré que plus une molécule est chlorée, moins elle est dégradée. Ainsi la dissipation de ces molécules dans la bile serait le plus plausible confirmant les observations de Birnbaum et Couture (1988) qui ont mis en évidence la contamination de la bile par l'OCDD suite à l'ingestion de cette molécule chez des rats.

Au niveau du tissu adipeux, les concentrations et les quantités de dioxines sont significativement plus élevées en fin de cinétique qu'en début (Tableau 39). Contrairement au foie, les quantités de dioxines dans ce tissu sont corrélées aux quantités de matière grasse. Ainsi conformément aux données de la bibliographie, la contamination du tissu adipeux serait fonction de sa teneur en lipides. Une exception peut être notée, l'OCDF, pour lequel la concentration et la quantité dans le tissu adipeux diminuent significativement pour atteindre des valeurs proches du bruit de fond après 120 jours d'essai. La disparition parallèle de cette molécule au niveau du foie et du tissu adipeux laisse supposer que cet octa-congénère est éliminé de l'organisme.

3.3.2. Concentrations des dioxines dans le foie et le tissu adipeux à l'équilibre

La majorité des dioxines présente des concentrations stables entre 90 et 120 jours d'exposition dans les deux tissus cibles étudiés. Ce résultat est similaire à celui de Stephens *et al.* (1995) (résultat obtenu chez la poule suite à l'ingestion de sol contaminé à des doses voisines des nôtres). Autrement dit, conformément à l'hypothèse de Lawrence et Gobas (1997), avec des niveaux proches de contamination de l'aliment, le délai pour atteindre l'équilibre tissulaire est similaire.

A l'équilibre, la répartition des dioxines entre le foie et le tissu adipeux est fonction du degré de chloration des congénères : les molécules fortement chlorées admettent des ratios de concentration "Foie/TA" plus élevés que les autres. Ceci suggère que l'affinité du foie est

croissante en fonction du nombre d'atomes de chlore des molécules, fort pour les hepta-congénères et faibles pour les tétra-congénères. De plus, nous avons mis en évidence que les ratios de concentration "Foie/TA" des PCDF était supérieurs à ceux des PCDD. Ces résultats ont également été observés par de nombreux auteurs chez l'Homme et chez d'autres animaux modèles (Körner *et al.*, 2002 ; Feil *et al.*, 2000 ; de Vito *et al.*, 1998 ; Stephens *et al.*, 1995 ; Neubert *et al.*, 1990 ; Tableau 40).

Tableau 40 : Ratio de concentrations (pg/g de matière grasse) en dioxines "Foie/Tissu adipeux" chez différentes espèces animales et chez l'homme

	Rat*	Poule	Veau	Homme
2,3,7,8-TCDD	2,4	3,4	2	0,5
1,2,3,7,8-PeCDD	4,3	2,2	8,4	0,5
1,2,3,4,7,8-HxCDD	7,4	2,4		3,5
1,2,3,6,7,8-HxCDD	11,9	2,7	16,6	9,6
1,2,3,7,8,9-HxCDD	13,7	2,0		2,5
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	23,3	7,4	81	9,1
OCDD	32,7	43,1	225,5	24,8
2,3,7,8-TCDF	4,6	3,0	1,5	2,2
1,2,3,7,8-PeCDF	6,5	3,7	9,8	4,0
2,3,4,7,8-PeCDF	37,5	2,6		4,9
1,2,3,4,7,8-HxCDF	28,1	4,3	ND	20,0
1,2,3,6,7,8-HxCDF	35,1	2,7	ND	24,3
1,2,3,7,8,9-HxCDF	ND	ND	ND	0,1
2,3,4,6,7,8-HxCDF	39,9	5,0	ND	1,0
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	51,5	7,2	45,5	10,2
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	ND	6,1		0,8
OCDF	20,1	21,6	520,2	2,4

Rat * : Notre expérimentation, ingestion chronique
 Poule : Données de Stephens *et al.* (1995), ingestion chronique
 Veau : Données de Feil *et al.* (2000), valeur moyenne, ingestion chronique
 Homme : Données de Maruyama *et al.* (2002), ingestion chronique non contrôlée
 ND : Non déterminé

Sous le postulat d'une répartition des dioxines au niveau du foie en fonction des protéines de liaison, la rétention hépatique des congénères semble suggérer que l'affinité de ces protéines décroît lors d'une diminution du degré de chloration. De même, la prédominance hépatique des PCDF par rapport aux PCDD pourrait être expliquée par une affinité plus importante des protéines de liaison pour ces molécules.

3.4. Facteur de bioconcentration des dioxines dans le foie, dans le tissu adipeux et dans la peau

Les facteurs de bioconcentration (FBC) des dioxines au niveau du foie, du tissu adipeux et de la peau diminuent significativement ($P < 0,05$) en fonction du nombre d'atomes de chlore. Cette observation, plus marquée au niveau du tissu adipeux qu'au niveau du foie, a également été mise en évidence chez l'homme (Tableau 41).

Tableau 41 : Facteurs de bioaccumulation des dioxines suite à l'ingestion régulière de dioxines chez l'homme et chez des rongeurs

Facteur de bioaccumulation (B) (pg/g tissu)/(pg/kg PV)	Nos résultats		Maruyama <i>et al.</i> (2002)	
	B foie	B TA	B foie	B TA
2,3,7,8 TCDD	0,05	0,33	0,72	17,22
1,2,3,7,8 PeCDD	0,16	0,64	0,68	16,77
1,2,3,4,7,8 HxCDD	0,16	0,37	4,57	16,29
1,2,3,6,7,8 HxCDD	0,20	0,29	12,77	16,17
1,2,3,7,8,9 HxCDD	0,19	0,25	2,61	12,73
1,2,3,4,6,7,8 HpCDD	0,20	0,15	9,41	12,35
OCDD	0,11	0,06	19,06	9,31
2,3,7,8 TCDF	0,06	0,23	2,00	11,08
1,2,3,7,8 PeCDF	0,05	0,15	5,93	18,15
2,3,4,7,8 PeCDF	0,78	0,37	7,82	20,00
1,2,3,4,7,8 HxCDF	0,54	0,34	28,89	17,56
1,2,3,6,7,8 HxCDF	0,65	0,33	35,71	17,86
1,2,3,7,8,9 HxCDF	ND	ND	0,10	13,55
2,3,4,6,7,8 HxCDF	0,53	0,24	1,50	17,24
1,2,3,4,6,7,8 HpCDF	0,36	0,12	13,40	15,46
1,2,3,4,7,8,9 HpCDF	0,26	ND	8,57	13,14
OCDF	0,03	0,04	2,39	11,93

Deux hypothèses peuvent être formulées :

- le foie, le tissu adipeux et la peau ne sont pas les principales cibles de ces molécules
- l'absorption des molécules fortement chlorées est plus faible que celle des molécules faiblement chlorées. Cette suggestion est en accord avec les résultats de Moser et McLachlan (2001) qui ont suggéré que les taux d'absorption des dioxines étaient décroissants lors de l'augmentation de la lipophilicité des molécules

La rétention cumulée des hepta- et octa-congénères au niveau de ces trois tissus est en moyenne de 87 % de la CCt. Le foie, le tissu adipeux et la peau sont donc les lieux principaux

d'accumulation de ces molécules. Ainsi l'hypothèse la plus plausible est que le taux d'absorption des PCDD/F est fonction du nombre d'atomes de chlore des molécules, élevé pour les molécules faiblement chlorées, faible pour les hepta- et octa-congénères.

Lors de la comparaison des FBC des dioxines dans le foie, le tissu adipeux et la peau, il apparaît que selon les molécules, la répartition fluctue : les PCDF admettent les FBC les plus élevées au niveau du foie, tandis que les FBC au niveau du tissu adipeux prédominent pour les PCDD ; les FBC de la peau étant systématiquement les plus faibles pour toutes les molécules confondues. Ceci tend à démontrer que l'accumulation des dioxines dans les tissus dépend non seulement des molécules mais également des caractéristiques des tissus (teneur en matière grasse et vraisemblablement concentrations en protéines de liaison). En effet, nous avons démontré que la rétention dans le tissu adipeux était fonction de sa teneur en lipides, contrairement au foie. Pour la peau, les quantités de dioxines retrouvées dans ce tissu s'expliquent en grande partie par celle de la matière grasse (Tableau 42).

Tableau 42 : Corrélation entre la quantité de dioxines et celle de matière grasse présentes au niveau de la peau

Molécule	R ²	Molécule	R ²
2,3,7,8 TCDD	0,38	2,3,7,8 TCDF	0,99 *
1,2,3,7,8 PeCDD	0,99 *	1,2,3,7,8 PeCDF	0,95 *
1,2,3,4,7,8 HxCDD	0,97 *	2,3,4,7,8 PeCDF	0,98 *
1,2,3,6,7,8 HxCDD	1,00 *	1,2,3,4,7,8 HxCDF	0,95 *
1,2,3,7,8,9 HxCDD	0,95 *	1,2,3,6,7,8 HxCDF	0,92 *
1,2,3,4,6,7,8 HpCDD	0,92 *	2,3,4,6,7,8 HxCDF	0,95 *
OCDD	0,42	1,2,3,4,6,7,8 HpCDF	0,87
		1,2,3,4,7,8,9 HpCDF	0,89
		OCDF	0,88

* Coefficient de détermination significatif à P<0,05

R² : Coefficient de détermination

Cependant pour la 2,3,7,8-TCDD, l'OCDD, les HpCDF et l'OCDF, les corrélations entre ces deux paramètres ne sont pas significatives. Ainsi dans le tissu cutané, la rétention des molécules s'effectuerait selon la lipophilicité tissulaire et selon des protéines de liaison. Cette interprétation serait en accord avec la présence de protéines de liaison dans ce tissu, présence démontrée par Diliberto *et al.* (2001).

A ce schéma général, trois exceptions peuvent être notées. Elles concernent le 2,3,7,8-TCDF, le 1,2,3,7,8-PeCDF et la 2,3,7,8-TCDD. En effet pour les furanes, les FBC dans les trois tissus

cibles sont faibles (de l'ordre des 4 [pg/g de tissus]/[pg/g d'aliment]) et ce en dépit d'une accumulation exclusive dans ces tissus (100 % CCt). Ceci laisse suggérer que le 2,3,7,8-TCDF et le 1,2,3,7,8-PeCDF sont dégradés dans l'organisme, ce qui appuie les hypothèses de Brewster *et al.* (1989) et McKinley *et al.* (1993). Pour la 2,3,7,8-TCDD, seul le FBC cutané, très largement supérieur à ceux des autres PCDD/F, est concordant avec l'hypothèse d'un taux d'absorption variable selon le degré de chloration des congénères. Les faibles FBC hépatique et adipeux de la 2,3,7,8-TCDD (par rapport à celui des autres dioxines) ont été également mis en évidence chez l'Homme par Maruyama *et al.* (2002) (Tableau 41). Comment expliquer ces faibles valeurs ? Nous avons démontré que la répartition des dioxines était fonction des molécules et des caractéristiques tissulaires (teneurs en matière grasse et vraisemblablement en protéines de liaison). De plus, le pourcentage cumulé de la charge corporelle de la 2,3,7,8-TCDD retrouvé au niveau du foie, du tissu adipeux et de la peau est inférieur à 50 % (Tableau 43).

Tableau 43 : Part relative des dioxines du foie, du tissu adipeux et de la peau par rapport à la charge corporelle totale des rats exposés pendant 120 jours

% CCt	F + TA + P
2,3,7,8-TCDD	45 ± 15
1,2,3,7,8-PeCDD	100 ± 0
1,2,3,4,7,8-HxCDD	96 ± 4
1,2,3,6,7,8-HxCDD	95 ± 2
1,2,3,7,8,9-HxCDD	93 ± 5
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	84 ± 7
OCDD	100 ± 0
2,3,7,8-TCDF	100 ± 0
1,2,3,7,8-PeCDF	100 ± 1
2,3,4,7,8-PeCDF	99 ± 1
1,2,3,4,7,8-HxCDF	97 ± 3
1,2,3,6,7,8-HxCDF	93 ± 5
2,3,4,6,7,8-HxCDF	94 ± 5
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	88 ± 5
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	63 ± 5
OCDF	100 ± 0

TA : Tissu adipeux

F : Foie

P : Peau

Ainsi, cette molécule serait piégée dans d'autres tissus cibles.

4. Conclusion

Suite à une ingestion chronique des 17 dioxines à des concentrations de l'ordre de 0,21 pg/g d'aliment, nous avons mis en évidence un transfert de ces molécules de l'aliment vers l'organisme. L'intensité de ce transfert est inférieure quand le nombre d'atomes de chlore des molécules augmente et semble résulter du métabolisme des molécules (faibles facteurs de bioconcentration tissulaire du 2,3,7,8-TCDF et du 1,2,3,7,8-PeCDF). Les principaux tissus de stockage des dioxines, à l'exception notable de la 2,3,7,8-TCDD, sont le foie, le tissu adipeux et la peau, qui cumulent plus de 94 % des dioxines retenues dans l'organisme entier. Nous avons également démontré que l'accumulation tissulaire était limitée, les concentrations en dioxines du foie et du tissu adipeux se stabilisant après 1 mois et demi d'ingestion. De plus, l'incorporation dans les adipocytes des dioxines est corrélée à la quantité en lipides du tissu, contrairement au foie où l'accumulation est indépendante de la croissance de ce tissu, suggérant la présence d'un autre mécanisme tel que les protéines de liaison. Les teneurs en dioxines au niveau de la peau s'expliqueraient en partie par les concentrations lipidiques et en partie par un processus semblable à celui du foie.

Enfin nous avons mis en évidence que selon les molécules et les tissus, les FBC fluctuaient de manière significative : les PCDD étant principalement retrouvés au niveau du tissu adipeux, les PCDF au niveau du foie.

Conclusion de la partie II : Transfert des dioxines du lait vers les tissus cibles

Via ces deux expérimentations, nous avons mis en évidence une contamination de l'organisme suite à l'ingestion de caillé ou de lait contaminé. Le lait, matrice vecteur jusqu'alors non étudiée, présente les mêmes caractéristiques que l'huile permettant un transfert important de dioxines vers l'organisme. Nous avons également démontré que la fréquence d'ingestion chronique ou semi-chronique ne module pas les niveaux de contamination tissulaire mais plutôt le délai nécessaire à l'obtention d'un équilibre. Enfin, suite à une ingestion chronique de dioxines, la rétention tissulaire semble varier non seulement en fonction des congénères mais également selon les tissus. En effet nous avons démontré que :

- lors d'une administration d'un mélange de dioxines, la répartition de la 2,3,7,8-TCDD diffère totalement de celle des autres congénères (n'étant pas principalement concentré au niveau du foie, du tissu adipeux et de la peau). Cette molécule, ingérée seule et en forte concentration, se répartit comme les 16 autres congénères. Ce phénomène peut s'expliquer soit par un effet dose administrée soit par des interactions entre cette molécule et les autres congénères de dioxines.
- la rétention tissulaire est fortement influencée (positivement ou négativement selon les molécules) par les taux d'absorption des dioxines qui eux-mêmes diminuent lors d'une augmentation du degré de chloration.
- la distribution tissulaire des dioxines est fonction non seulement de la teneur en matière grasse des tissus mais également d'autres caractéristiques tissulaires. L'hypothèse de l'existence de protéines de liaison au niveau du foie et de la peau a été émise avec une affinité plus élevée pour les PCDF et les molécules fortement chlorées des PCDD.

Discussion générale

Une partie de nos travaux de recherche visaient à déterminer le transfert des dioxines de lait au sang suite à une ingestion unique chez des porcs en croissance. Les objectifs fixés, étaient :

- de déterminer la cinétique d'apparition plasmatique des dioxines
- d'élucider l'impact des propriétés physico-chimiques de ces congénères sur ce processus
- de clarifier le rôle de la veine porte, comme voie d'excrétion intestinale

Les expérimentations nous ont permis de démontrer :

- un transfert des dioxines du lait au sang
- une apparition plasmatique des dioxines entre 3 et 7 heures après l'ingestion d'où un lien possible avec l'absorption des acides gras
- un taux d'absorption dépendant des propriétés physico-chimiques, notamment du poids moléculaire et de la lipophilicité des congénères (en particulier lors de l'étude portant sur le transfert du [^{14}C] benzo[a]pyrène, du [^{14}C] phénanthrène, et de la [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD)
- une excrétion intestinale prépondérante des HAP dans la veine porte contrairement aux dioxines

Deux questions restent en suspens quant à l'absorption des dioxines :

- L'absorption, est-elle fonction des propriétés physico-chimiques de ces congénères ?
- Quel est l'effet de la dose administrée sur l'absorption de la 2,3,7,8-TCDD ?

Une autre partie de nos travaux a porté sur la distribution tissulaire des dioxines suite à l'ingestion chronique de lait contaminé. Les objectifs étaient de déterminer la répartition de ces congénères dans les différents tissus cibles suite à un apport chronique de lait contaminé (à forte dose, étude avec la [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD ou à faible teneur, essai portant sur les 17 congénères de dioxines). De même, nous avons cherché à évaluer le transfert et/ou l'accumulation de ces molécules dans les deux tissus cibles que sont le foie et le tissu adipeux épидидymaire.

Nous avons observé que :

- le lait présentait les mêmes caractéristiques que l'huile en terme de biodisponibilité de la 2,3,7,8-TCDD

- la fréquence d'ingestion chronique ou semi-chronique ne modulait pas les niveaux de contamination tissulaire mais plutôt le délai nécessaire à l'obtention d'un équilibre
- la rétention tissulaire variait selon les tissus (teneur en matière grasse, et peut-être concentration en protéines de liaison)
- le devenir tissulaire de la 2,3,7,8-TCDD différait de celui des autres congénères lors d'une administration d'un mélange de dioxines, cette différence pouvant résulter d'une interaction entre les molécules ou d'un effet dose ingérée.

Nous avons suggéré que les taux d'absorption des dioxines diminuaient lors d'une augmentation du degré de chloration, engendrant ainsi une accumulation plus faible des hepta- et octa-chlorés. Cependant, existe-t-il une corrélation entre les propriétés physico-chimiques des dioxines et leur répartition dans les différents tissus ? Comment expliquer la répartition singulière de la 2,3,7,8-TCDD ?

Dans cette partie, nous essayerons, tout d'abord, de discuter les différentes questions qui émanent de nos travaux expérimentaux. Puis, nous proposerons des équations permettant de prédire les teneurs tissulaires en dioxines en fonction des concentrations ingérées. Enfin, nous aborderons les points critiques des différentes expérimentations mises en œuvre.

I : Absorption intestinale des dioxines

Un des objectifs de nos travaux était de préciser l'impact des propriétés physico-chimiques des molécules sur leur transfert de l'aliment au sang. Nous avons mis en évidence qu'entre les HAP et la 2,3,7,8-TCDD (Expérimentation portant sur le transfert des micropolluants marqués au [^{14}C]), deux paramètres limitaient l'absorption : le poids moléculaire et la lipophilicité. Inversement, pour les dioxines (Expérimentation portant sur le transfert "lait-sang" des 17 dioxines), au niveau du sang artériel, les profils et les ratios de concentration plasma/lait entre les congénères étaient similaires. Nous avons alors suggéré 2 hypothèses :

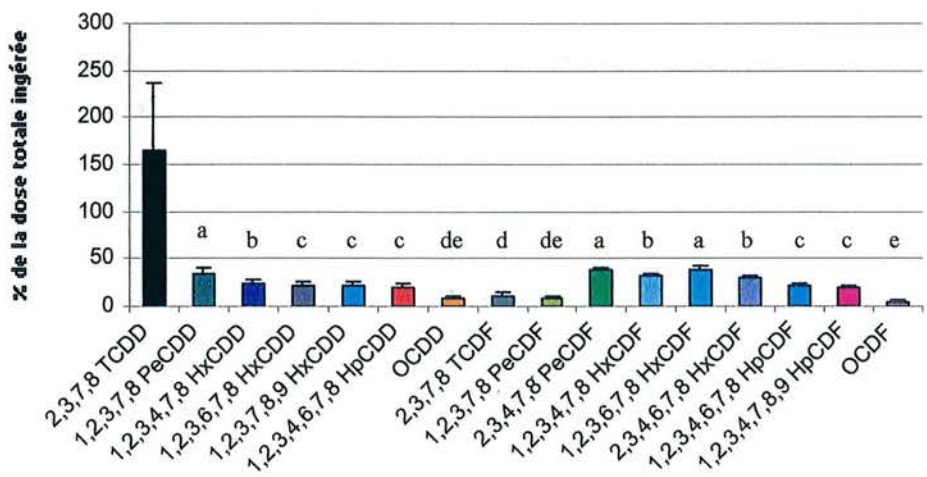
- l'absorption et la distribution tissulaire des dioxines sont différentielles, l'une pouvant composer l'autre. En effet, Moser et McLachlan (2001) ont montré des taux d'absorption plus élevés pour les molécules composées de 4 ou 5 atomes de chlore que pour les hépta- et octa-congénères. L'absence de différences de concentrations

artérielles laisse suggérer une captation tissulaire également fonction des propriétés physico-chimiques.

- Ou l'absorption est identique entre les congénères de dioxines

Après 120 jours d'ingestion d'aliment contaminé chez des rats en croissance (Expérimentation sur le transfert des dioxines du lait aux tissus cibles), nous avons observé que les facteurs de bioconcentration, tous tissus confondus, diminuaient lors d'une augmentation du degré de chloration des congénères, suggérant une faible absorption de ces molécules. Le taux d'absorption des dioxines dans cette étude a été estimé par le ratio "charge corporelle/dose totale ingérée" (Figure 44).

Figure 44 : Pourcentage de la dose administrée totale retenue dans l'organisme chez des rats exposés pendant 120 jours



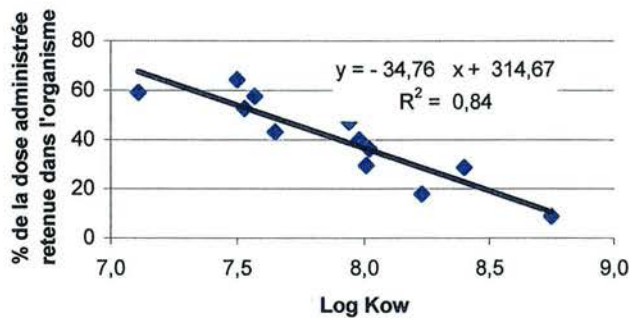
(a,b,c,d,e) : A l'exception de la 2,3,7,8-TCDD, les moyennes annotées des lettres différentes sont significativement différentes ($P < 0,05$)

Ce pourcentage définit une absorption apparente dans la mesure où il reflète certes l'absorption mais également l'élimination des molécules. En se basant sur les études bibliographiques, deux congénères sont connues pour être fortement dégradées (le 2,3,7,8-TCDF et le 1,2,3,7,8-PeCDF). De plus, nous avons montré que les teneurs et les quantités hépatiques en OCDF diminuaient au cours de la cinétique, reflétant sans doute une élimination de ce composé. Enfin, la 2,3,7,8-TCDD présentant des singularités (singularités détaillées plus amplement par la suite), son taux d'absorption apparent (de 165 %) a également été écarté de cette étude. Ainsi le pourcentage de la dose retenue dans l'organisme

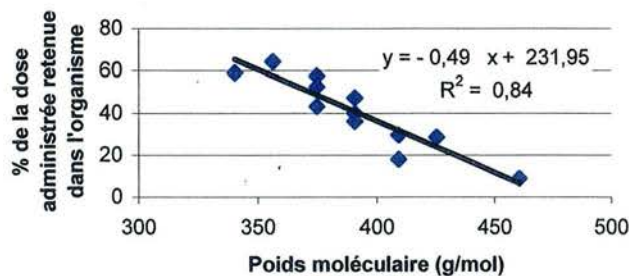
du rat correspondrait à l'absorption des dioxines à l'exception de ces 4 molécules. Dans ces conditions, l'absorption apparente des dioxines varierait entre 38,8 % et 8,2 % pour respectivement la 1,2,3,6,7,8-HxCDD et l'OCDD. Nous montrons que l'absorption apparente de ces dioxines est limitée par la lipophilicité et/ou le poids moléculaire (Figure 45).

Figure 45 : Impact négatif de l'augmentation de la lipophilicité (a) et du poids moléculaire (b) des dioxines sur l'absorption intestinale (n = 4)

a



b



Les équations sont les suivantes :

$$\text{Taux d'absorption (\%)} = 314,67 - 34,76 \log Kow \quad (R^2 = 0,84),$$

$$\text{Taux d'absorption (\%)} = 231,95 - 0,49 \log PM \quad (R^2 = 0,84)$$

avec log Kow la lipophilicité des dioxines et PM leur poids moléculaire. Cette relation négative entre le taux d'absorption apparent des dioxines et la lipophilicité est concordante avec celle définie par Moser et McLachlan (2001) pour ce type de congénères. En effet, ces auteurs ont montré que pour des molécules de lipophilicité moindre ($\log Kow < 6,5$), le taux d'absorption ne serait pas limité par cette propriété physico-chimique. Pour les PCDD ou les PCDF, nous émettons l'hypothèse que les molécules, portant le même nombre d'atomes de

chlore, sont absorbées de manière analogue. A contrario, les congénères homologues, présentant des niveaux de lipophilicité ou des poids moléculaires différents n'auront pas le même taux d'absorption. Où interviennent ces propriétés dans le processus d'absorption ? Une hypothèse envisageable est que le poids moléculaire limite le passage des dioxines du lumen aux entérocytes, la lipophilicité pouvant moduler la solubilisation micellaire comme le suggère Wittsiepe *et al.* (2000), lors d'une étude *in vitro*.

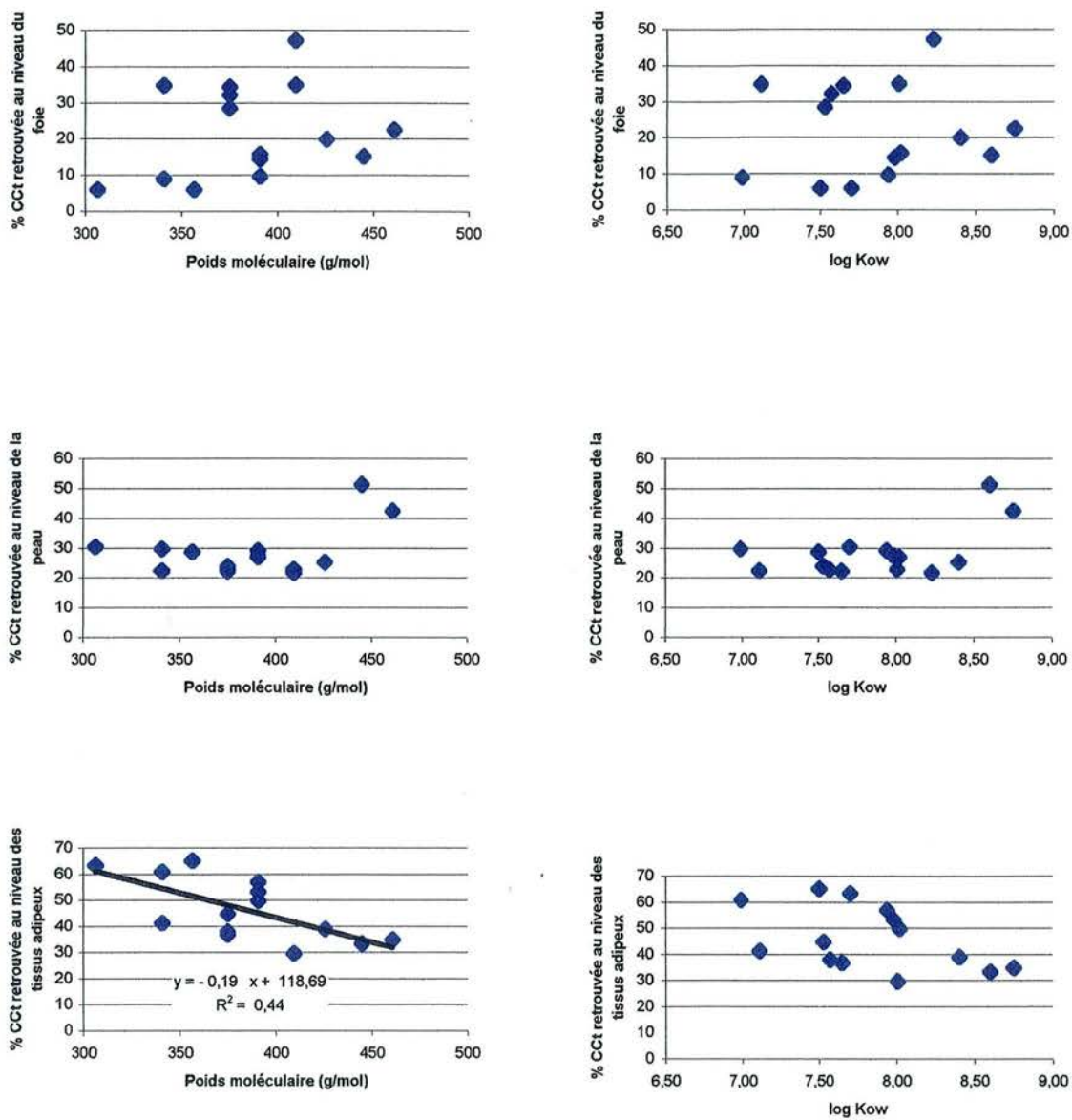
En utilisant l'équation établie, le taux d'absorption de la 2,3,7,8-TCDD lors d'un apport chronique à faible teneur aurait dû être non pas de 165 % mais de 76 %. Or dans l'expérimentation portant sur le transfert du lait aux tissus cibles de la [¹⁴C] 2,3,7,8-TCDD, le taux de rétention corporelle de cette molécule, suite à 120 jours d'exposition, a été estimé à 16 % de la dose totale administrée. Deux paramètres fluctuent entre nos deux essais expérimentaux visant à préciser la distribution tissulaire chez le rat en croissance. Le premier est la présence ou non des 16 autres congénères de dioxines et le second la dose administrée. Ayant démontré, lors de l'expérimentation portant sur l'absorption apparente des 17 dioxines, que la présence des 17 congénères ne modifiait pas leur absorption, il peut alors être supposé que l'augmentation des doses engendre une diminution du pourcentage des molécules absorbées. Cette hypothèse est en accord avec les données de Diliberto *et al.* (2001) chez la souris, qui ont démontré qu'une augmentation de la dose administrée engendrait une diminution de la rétention corporelle rapportée à l'ingérée.

II : Distribution tissulaire des dioxines

Dans le premier chapitre "Absorption des dioxines" nous avons démontré que les taux d'absorption des dioxines étaient fonction du poids moléculaire et de la lipophilicité des molécules. Qu'en est-il pour la distribution tissulaire ?

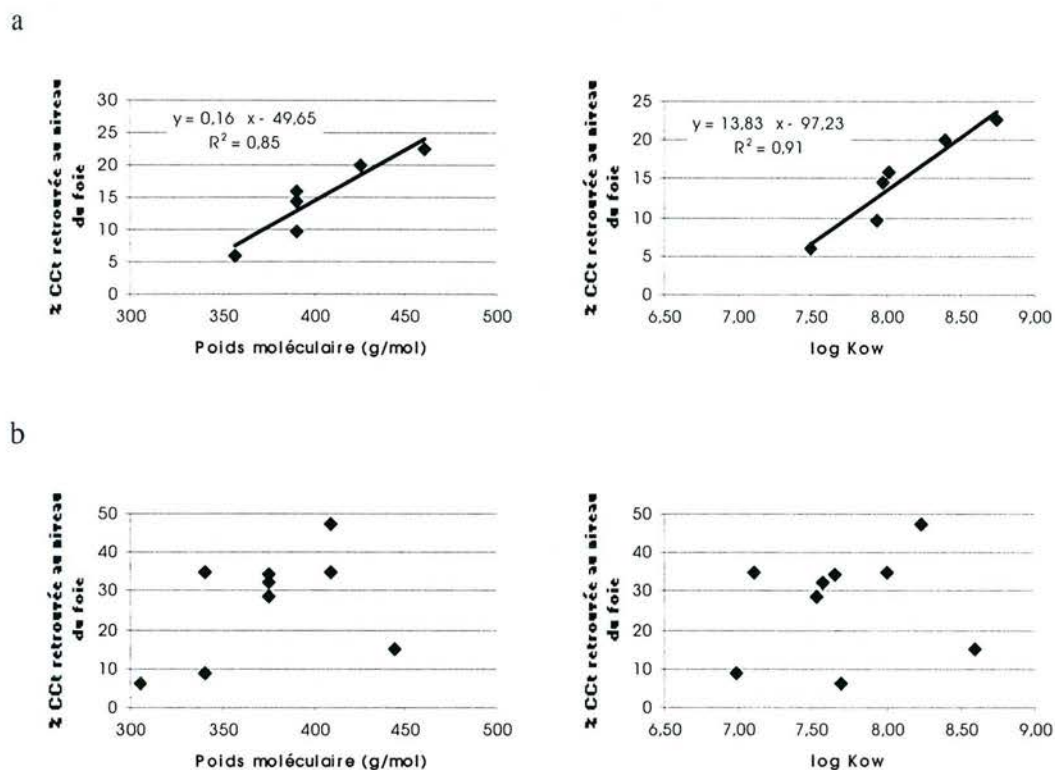
Afin de visualiser uniquement l'impact des propriétés physico-chimiques sur la répartition des molécules dans les tissus, les pourcentages de la charge corporelle totale en dioxines retrouvés dans le foie, le tissu adipeux ou la peau ont été utilisés. La 2,3,7,8-TCDD, présentant de très faible rétention dans les trois tissus, a été écartée de cette étude. Dans ces conditions, l'augmentation du poids moléculaire des dioxines limite l'accumulation de ces congénères au niveau des tissus adipeux. Quant à la peau ou au foie, les deux propriétés physico-chimiques ne semblent pas intervenir (Figure 46). Cependant, pour le foie, il apparaît que la répartition

Figure 46 : Corrélation entre les % de charge corporelle totale du foie, de la peau, du tissu adipeux et les propriétés physico-chimiques des dioxines



des pourcentages de la CCt des congénères en fonction des propriétés physico-chimiques se décompose en deux sous-ensembles, les PCDD et les PCDF. De plus au niveau de cet organe, les faibles pourcentages de rétention correspondent aux trois molécules éliminées (2,3,7,8-TCDF, 1,2,3,7,8-PeCDF et l'OCDF). Ainsi, en dissociant les PCDD et les PCDF d'une part et en ne tenant pas compte des molécules dissipées, seule une relation entre la rétention hépatique et les propriétés physico-chimiques des PCDD peut être établie (Figure 47).

Figure 47 : Corrélation entre les % de charge corporelle totale du foie et les propriétés physico-chimiques des PCDD (a) et des PCDF (b)



L'accumulation des PCDD dans le foie serait plus prononcée lors d'une augmentation de la lipophilicité et/ou du poids moléculaire de ces congénères. Nous démontrons ainsi que la distribution tissulaire est fonction des propriétés physico-chimiques des dioxines. Cependant l'impact des propriétés physico-chimiques sur ce mécanisme n'est pas toujours le même (augmentation de l'accumulation ou le phénomène inverse). Ceci met en évidence que la distribution est également fonction des caractéristiques des tissus eux-mêmes dont vraisemblablement la perméabilité membranaire, le flux sanguin (paramètre pris en compte dans les modèles de pharmacocinétique). Nous avons également démontré que la répartition des dioxines au niveau du foie était particulière : pour ce tissu, les deux familles de dioxines

ne se répartissent pas de la même manière. Ce résultat est concordant avec l'hypothèse de la bibliographie portant sur les protéines de liaison, protéines dont l'affinité pour les PCDD augmenterait en fonction du nombre de chlore (lipophilicité et/ou poids moléculaire) et serait très forte pour l'ensemble des PCDF (d'où l'absence de différence de rétention pour ces congénères en fonction de leurs propriétés physico-chimiques). Ceci sous-entend également que la lipophilicité et le poids moléculaire des dioxines ne peuvent à eux seuls expliquer l'affinité entre ces congénères et les protéines de liaison. La principale différence entre les PCDD et les PCDF étant leur configuration spatiale (les PCDD diffère des PCDF par la présence d'un atome d'oxygène supplémentaire), il peut être supposé que ce paramètre intervienne également dans les variations d'affinité molécules/protéines.

Suite à l'ingestion chronique des 17 dioxines chez le rat, il est apparu que la répartition de la 2,3,7,8-TCDD différait notablement de celles des 15 autres congénères, cette molécule n'étant pas principalement localisée au niveau du foie, du tissu adipeux et de la peau. La faible contamination hépatique pourrait être expliquée par une compétition entre les congénères pour les protéines de liaison, protéines fortement affines des PCDF et des congénères hepta et octa-chlorés des PCDD. Nous avons également suggéré que la forte contamination de la peau ne résultait pas d'une teneur élevée en matière grasse mais probablement de protéines de liaison. L'ensemble de ces résultats est concordant avec les études recensées (Stephens *et al.*, 1995 ; Maruyama *et al.*, 2003). Cependant le taux d'absorption apparent de la 2,3,7,8-TCDD obtenue suite à la détermination de la contamination dans l'organisme entier de rats exposés pendant 120 jours, est de 165 % c'est-à-dire particulièrement élevée. Deux hypothèses peuvent être formulées : soit cette molécule a été "synthétisée" dans l'organisme, soit il existe une autre source de contamination que celles prises en compte. Cette deuxième hypothèse est peu probable dans la mesure où seul le taux d'absorption de la 2,3,7,8-TCDD est incohérent avec les données de la littérature. Ainsi il semblerait que cette molécule soit formée dans l'organisme. Une synthèse à proprement parlée n'est pas envisageable du fait que l'organisme a certes à sa disposition des atomes de carbones, d'oxygènes, et d'hydrogène mais pas des atomes de chlore. Nous pouvons donc supposer que l'apparition de la 2,3,7,8-TCDD provient de la dégradation de certains PCDD. En effet, Wittich (1998) a démontré un mécanisme de déchloration des dioxines chez les micro-organismes. Suite à sa formation hypothétique, la 2,3,7,8-TCDD se répartirait dans les tissus cibles en fonction de la teneur en matière grasse

tissulaire, de l'affinité avec les protéines de liaison, et de la présence des 15 autres congénères de dioxines.

III : Equation de prédiction des concentrations tissulaires des dioxines suite à l'ingestion chronique d'aliment faiblement contaminé

Lors de l'étude de la distribution tissulaire des 17 dioxines chez le rat, nous avons montré que les facteurs de bioconcentration diminuaient en fonction du degré de chloration des congénères. Existe-t-il une corrélation entre les concentrations tissulaires en dioxines et la lipophilicité de ces congénères ainsi qu'entre les teneurs en dioxines dans les tissus et celles dans l'aliment ? Le choix de la lipophilicité et non du poids moléculaire repose le fait que cette dernière est caractéristique de chaque molécule. Le 2,3,7,8-TCDF, le 1,2,3,7,8-PeCDF et l'OCDF étant dégradés dans l'organisme et la 2,3,7,8-TCDD présentant de faible teneur dans ces trois tissus, ces 4 molécules ont été écartées pour la mise au point des équations de prédiction.

Dans ces conditions, suite à l'analyse statistique en régression linéaire multiple, les concentrations en dioxines de l'organisme entier, du foie, du tissu adipeux et de la peau sont significativement corrélées à la lipophilicité de ces congénères d'une part et d'autre part à la contamination de l'aliment. L'introduction des variables explicatives (lipophilicité et concentrations dans l'aliment) a été réalisée au seuil de 5 %. Elles sont, par conséquent, suffisamment indépendantes pour apporter des informations significatives. Ainsi, 4 équations ont été établies :

$$C_O = 2,65 - 0,33 \times \log Kow + 1,19 \times C_A \text{ (ETR} = 0,06 \text{ ; } R^2 = 0,96)$$

$$C_F = 46,72 - 6,04 \times \log Kow + 23,00 \times C_A \text{ (ETR} = 2,49 \text{ ; } R^2 = 0,83)$$

$$C_{TA} = 29,54 - 3,62 \times \log Kow + 8,49 \times C_A \text{ (ETR} = 1,26 \text{ ; } R^2 = 0,79)$$

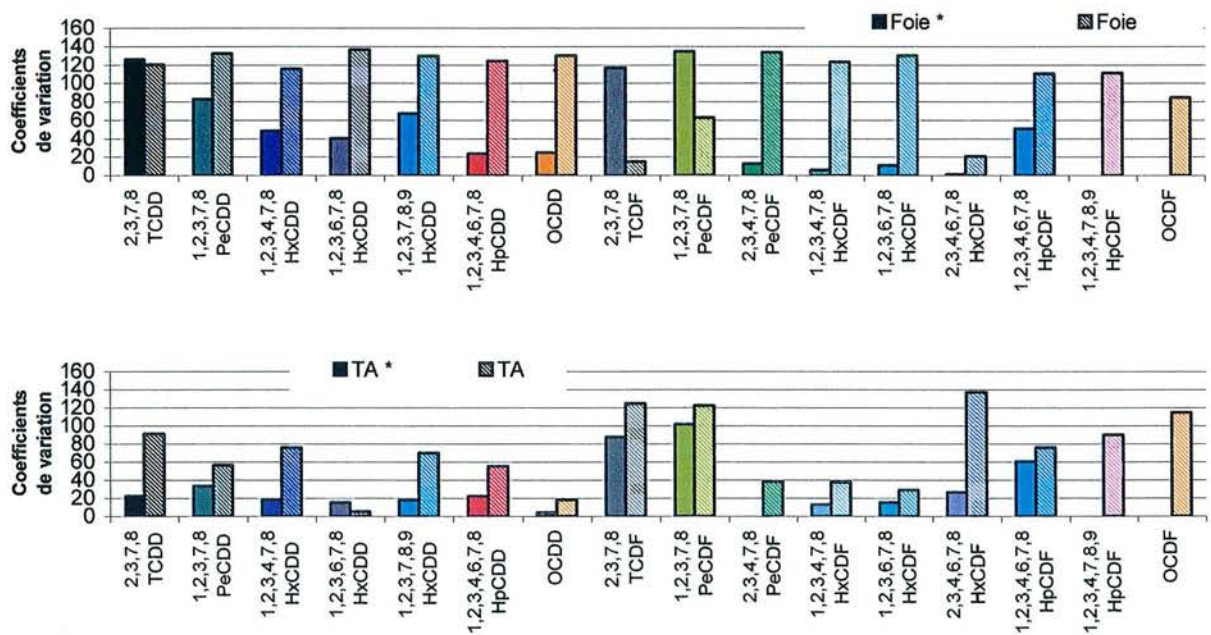
$$C_P = 5,15 - 0,63 \times \log Kow + 2,44 \times C_A \text{ (ETR} = 0,18 \text{ ; } R^2 = 0,91)$$

avec C_O la concentration en dioxines dans l'organisme entier (pg/g de poids vifs), C_F , C_{TA} , C_P les concentrations en dioxines dans respectivement le foie, le tissu adipeux et la peau [exprimés en (pg/g de tissu)], $\log Kow$ la lipophilicité des molécules et C_A la concentration en dioxines dans l'aliment (pg/g d'aliment).

Ces prédictions permettent d'expliquer entre 79 % et 91 % des concentrations mesurées en dioxines dans les tissus et à hauteur de 96 % celle obtenue dans l'organisme entier. Elles peuvent donc être utilisées pour prédire la contamination d'un animal et de ses différents tissus cibles suite à l'ingestion d'un aliment faiblement contaminé en dioxines. Nous pouvons également observer que les concentrations sont toutes corrélées négativement à la lipophilicité des molécules. Ceci met en évidence que plus une molécule est lipophile moins elle est accumulée dans un tissu. Cette observation est concordante avec les données de Sweetman *et al.* (1999). Cependant ce résultat est dépendant du degré de lipophilicité des congénères. En effet, les travaux de Veerkamp *et al.* (1994) et de la Directive européenne (93/67/EEC) ont montré que pour des molécules de lipophilicité comprise entre 3,5 et 6,5, l'accumulation dans la viande, les œufs ou le lait augmentait en fonction de la lipophilicité des molécules.

Suite à l'application de ces équations de prédiction pour les 17 congénères de dioxines, nous pouvons constater que de manière générale, les valeurs des concentrations prédites sont de meilleures qualités que celles définies par Maruyama *et al.* (2003) (Figure 48).

Figure 48 : Coefficients de variation entre les concentrations prédites et celles mesurées. Comparaison de nos résultats avec ceux de la littérature



TA Tissu adipeux TA * : Nos résultats TA : Résultats de Maruyama *et al.* (2003)

La qualité moindre des prédictions des concentrations tissulaires de Maruyama *et al.* (2003) en comparaison à nos résultats peut être expliquée de deux manières. D'une part, ces auteurs estiment les concentrations dans les aliments et donc l'ingestion quotidienne. D'autre part, leurs équations tiennent compte de l'absorption des dioxines. Or ce paramètre est également estimé, voire même surestimé, dans la mesure où leur taux moyen d'absorption des dioxines est supérieur à 90 %. Par contre, les modèles de pharmacocinétique font intervenir dans leurs équations de prédiction des notions de concentrations en protéines de liaison, d'excrétion biliaire, de perméabilité membranaire, qui devraient améliorer la prédiction des estimations.

IV : Limites et difficultés rencontrés lors des différentes expérimentations

1. La contamination des aliments utilisés

Les dispositifs expérimentaux utilisés lors de nos travaux étaient établis de manière à se rapprocher de la voie d'exposition humaine. Le lait, produit phare en terme d'exposition humaine aux dioxines, a été choisi. Deux modes de contamination de cet aliment ont été utilisés :

- une contamination directe (ajout des dioxines dans le lait)
- une contamination via l'animal (ingestion contrôlée de [^{14}C] 2,3,7,8-TCDD chez des chèvres en lactation, ou pollution naturelle du lait de vache suite à une contamination de l'environnement).

Lors de la contamination directe du lait, il s'est avéré que l'homogénéisation des micropolluants organiques suite à leur ajout dans cet aliment n'était pas une chose aisée. En effet, le lait a une structure complexe et fragile : une agitation trop violente par exemple déstructure les globules gras. De plus, les solvants organiques conservateurs des dioxines (toluène et nonane) ont rendu la tâche difficile (évaporation du toluène, ajout d'autre solvant tel que l'acétone pour faciliter le transfert des dioxines du nonane à la matière grasse du lait). Cependant, et en dépit de diverses manipulations préparatoires, il est possible que la contamination du lait n'était pas homogène (d'où les fortes variabilités des profils artériels de dioxines entre les deux porcs). Le seul dispositif expérimental permettant de contrecarrer ce problème est vraisemblablement le mode de contamination via l'animal : l'ingestion de dioxines par des animaux en lactation. S'instaure alors un dilemme entre les concentrations

désirées dans le lait et la toxicité des molécules, limitant ainsi les doses ingérées. De plus lors de ce dispositif expérimental, un autre biais peut se produire à savoir la contamination non désirée comme ce fut le cas avec les bouchons UAR. En effet, suite à l'ingestion de lait contaminé naturellement chez des rats en croissance, et contrairement à l'objectif initial, les facteurs de bioconcentration des dioxines dans les tissus ne peuvent être attribués exclusivement à la disponibilité des dioxines dans le lait seul.

2. Les méthodes analytiques

A ces différentes limites, se sont ajoutées les complexités analytiques : les dioxines, étant des molécules fortement lipophiles, les analyses ont débuté par l'extraction de la matière grasse des matrices étudiées. Pour avoir un dosage fiable, il est nécessaire de récupérer suffisamment de matière grasse (de l'ordre de 500 mg à 1 g). De telles quantités sont difficilement accessibles pour des matrices telles que le sang (0,5 mg de matière grasse / mL plasma). Ainsi nous avons eu recours au porc, animal supportant des prélèvements de sang quotidien de 300 mL. Cependant le nombre de points de la cinétique d'apparition des dioxines suite à l'ingestion de lait a été tout de même limité.

Cette pratique analytique présente également une autre limite. En effet, comme tend à le démontrer la contamination du foie ou celle du reste de l'organisme (lors de l'expérimentation portant sur la distribution tissulaire des dioxines suite à l'ingestion de lait), la rétention tissulaire des dioxines n'est pas toujours corrélée à la matière grasse, ces molécules pouvant être fixées par des protéines de liaison. Ainsi la méthode analytique utilisée pour doser les dioxines ne serait pas adaptée pour l'ensemble des tissus à moins que, comme nous l'avons supposé, la fraction des dioxines associée aux protéines de liaison soit récupérée lors de l'extraction de la matière grasse. Ce point demande à être éclairci. Cependant, il me semble important de noter que, durant ces 10 dernières années, les techniques analytiques des dioxines dans différentes matrices ont grandement évolué, permettant ainsi la détection de ces congénères dans des matrices animales (où rappelons, les molécules présentent des teneurs de l'ordre du pg/g de matière grasse) et non plus uniquement dans celles environnementales (contamination atmosphérique de l'ordre du ng/m³).

La détermination du taux d'absorption apparent via la méthode des bilans corporels (taux déterminé comme étant le ratio entre la charge corporelle et la dose totale ingérée) présente quelques inconvénients. En effet, nous avons démontré que certaines molécules étaient

dégradées dans l'organisme (faible accumulation), sous-estimant le taux d'absorption apparent. Un autre facteur d'erreur est la non prise en compte du délai entre le moment où l'organisme entier est à l'équilibre et celui choisi pour déterminer la charge corporelle et donc le taux d'absorption. En effet, une fois que les dioxines sont à l'équilibre dans l'organisme entier, l'accumulation supplémentaire de ces congénères est nulle. Ainsi toutes doses additionnelles apportées engendrent une diminution du taux d'absorption.

Conclusion générale et perspectives

L'ensemble des travaux que nous avons conduit démontre un transfert des dioxines du lait à l'organisme. Ce transfert peut être modulé par l'absorption. Nous avons mis en évidence que, lors d'une administration unique ou chronique de 2,3,7,8-TCDD en forte concentration, le taux d'absorption était relativement faible (s'échelonnant respectivement entre 6 % et 12 % de la dose administrée). Inversement lors d'un apport à hauteur de la contamination environnementale (de l'ordre du pg/g d'aliment), le taux d'absorption de cette molécule atteignait 76 % de la dose administrée, démontrant ainsi un effet dose négatif sur le processus d'absorption. De plus, nous avons montré que l'absorption des dioxines (lors d'un apport chronique à faible concentration) était dépendante de ces congénères et notamment de deux propriétés physico-chimiques, la lipophilicité et le poids moléculaire (les taux d'absorption s'échelonnant entre 76 % pour la 2,3,7,8-TCDD et 5 % pour l'OCDF). Autrement dit, plus une molécule est lipophile et de poids moléculaire élevé, moins elle est absorbée. Cependant les méthodes utilisées ne permettent qu'une estimation plus ou moins erronée de l'absorption. En effet, nous avons démontré que la veine porte n'était la principale voie d'excrétion entérocytaire ni de la 2,3,7,8-TCDD ni des 17 congénères de dioxines. Ainsi la méthode des différences porto-artérielles sous-estime l'absorption de cette molécule. De même, nous avons montré que l'OCDF était éliminé de l'organisme lors de l'exposition chronique chez des rats, engendrant ainsi une sous-estimation de son absorption via la méthode des bilans. Il serait donc intéressant de renouveler une étude portant sur l'absorption des dioxines mais en développant un nouveau dispositif expérimental : une bicathétérisation d'un vaisseau lymphatique et artère brachiocéphalique. En terme de cinétique plasmatique, nous avons montré que l'apparition des dioxines était proche de celle de la matière grasse. Cette similitude ne serait pas due à un lien physique entre les différentes molécules (les teneurs en dioxines n'étant pas corrélés avec celles de la matière grasse) mais à une séquestration enzymatique des dioxines dans les cellules intestinales. Cette hypothèse pourrait être confirmée avec un nombre d'échantillons plasmatiques plus élevé ainsi que via un suivi cellulaire par cryoscopie.

Une fois absorbées, les dioxines se répartissent dans trois tissus cibles à savoir le foie, le tissu adipeux et la peau à l'exception de la 2,3,7,8-TCDD lors de l'administration d'un mélange des 17 congénères de dioxines en faible concentration. Ainsi, la 2,3,7,8-TCDD ne serait pas représentative des 16 autres congénères. Un effet dose sur la rétention hépatique a été suggéré (accumulation prépondérante et faible dans ce tissu lors d'une administration élevée et faible de cette molécule respectivement), effet qui pourrait être dû à la présence de protéines de liaison hépatique inductibles. En effet, lors de l'ingestion chronique des 17 dioxines, nous

avons démontré que l'évolution des quantités de dioxines était indépendante de celle de la matière grasse tissulaire. De plus, les facteurs de bioconcentration des PCDF sont supérieurs à ceux des PCDD (pour des congénères comportant le même nombre d'atomes de chlore), laissant supposé une affinité de ces protéines plus importante pour les furanes. Nous avons également observé que, contrairement aux PCDF, la distribution hépatique des PCDD dépendait des propriétés physico-chimiques de ces molécules (augmentation de la rétention lors d'une augmentation de la lipophilicité et/ou du poids moléculaire). Cette observation permet de comprendre qu'en dépit d'un taux d'absorption faible pour les molécules fortement chlorées, les facteurs de bioconcentration hépatique des PCDD augmentent en fonction du nombre d'atomes de chlore porté par les congénères. Au niveau du tissu adipeux, nous avons démontré que les FBC étaient identiques entre congénères de même degré de chloration et diminuaient lors d'une augmentation du nombre d'atomes de chlore. Ceci est la résultante de l'absorption mais également de la limitation de l'accumulation des dioxines de fort poids moléculaire et de lipophilicité élevée. La prépondérance de ce tissu en tant que tissu cible dépendrait de la capacité de rétention hépatique (faible contamination en 2,3,7,8-TCDD lors d'une forte séquestration au niveau des cellules du foie, forte présence des PCDD faiblement chlorés). Nous avons également remarqué que la distribution cutanée des dioxines est régie par la teneur en matière grasse tissulaire et vraisemblablement par les concentrations en protéines de liaison mais probablement pas par les propriétés physico-chimiques des dioxines. Ainsi les FBC obtenues sont relativement faibles et tendent à diminuer en fonction du nombre d'atomes de chlore porté par les congénères. Aux vues de l'ensemble de ces résultats portant sur la distribution tissulaire, il serait nécessaire d'approfondir la question des protéines de liaison en terme d'affinité, de teneur tissulaire et de localisation ainsi que celle de la captation tissulaire (Comment expliquer que les propriétés physico-chimiques des dioxines peuvent dans un cas être des facteurs limitants et pas dans un autre ?). Une hypothèse serait la présence de protéines de liaison au niveau membranaire et non uniquement au niveau cytoplasmique. De même, il serait opportun d'approfondir le devenir tissulaire de la 2,3,7,8-TCDD lors de l'ingestion d'aliment faiblement contaminé par les 17 dioxines, les questions étant : quelles sont les PCDD déchlorées ? Dans quel tissu la déchloration a-t-elle lieu ?

Les études de transfert "Lait-Tissus cibles" devront être réalisées pour les HAP, dans la mesure où les connaissances sur la distribution tissulaire sont très restreintes. Cependant, il serait opportun dans un premier temps d'identifier les molécules présentes dans la veine porte (composés parents ou métabolites ?). En effet, en fonction de l'intensité du métabolisme intestinal, la répartition tissulaire des HAP ne sera probablement pas la même : nous pouvons

supposer que les molécules mères seront localisées comme les dioxines (foie, tissu adipeux, peau), tandis que les métabolites seront soit éliminés de l'organisme (urine ?) soit stockés dans des tissus qu'il faudra alors définir.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abad E., Llerena J.J., Saulo J., Caixach J., Rivera J. (2002). Study on PCDDs/PCDFs and co-PCBs content in food samples from Catalonia (Spain). *Chemosphere*, 46, 1435-1441.
- Abraham K., Hille A., Ende M., Helge H. (1994). Intake and fecal excretion of PCDDs, PCDFs, HCB and PCB (138, 153, 180) in a breast-fed and a formula-fed infant. *Chemosphere*, 29, 2279-2286.
- Abraham K., Krowke R., Neubert D. (1988). Pharmacokinetics and biological activity of 2,3,7,8-terachlorodibenzo-p-dioxin. 1. Dose-dependent tissue distribution and induction of hepatic ethoxyresorufin O-deethylase in rats following a single injection. *Arch. Toxicol.*, 62, 359-368.
- Abraham K., Wiesmüller T., Brunner H., Krowke R., Hagenmaier H., Neubert D. (1989a). Elimination of various polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PCDDs and PCDFs) in the rat faeces. *Arch. Toxicol.*, 63, 75-82.
- Abraham K., Wiesmüller T., Brunner H., Krowke R., Hagenmaier H., Neubert D. (1989b). Absorption and tissue distribution of various polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PCDDs and PCDFs) in the rat. *Arch. Toxicol.*, 63, 193-202.
- ADEME. (1997). Les micropolluants organiques dans les boues résiduelles des stations d'épuration urbaines. Connaître pour agir guides et cahiers techniques.
- Allen J.R., van Miller J.P., Norback D.H. (1975). Tissue distribution, excretion and biological effects of [^{14}C] tetrachlorodibenzo-p-dioxin in rats. *Food Cosmet. Toxicol.*, 13, 501-505.
- Aozasa O., Ohta S., Mase Y., Miyata H. (1995). Comparatives studies on bioaccumulation of PCDDs and PCDFs in C57BL/6 and DBA/2 mice treated with a mixture by oral administration. *Chemosphere*, 30, 1819-1828.
- Atkinson R. (1991). Atmospheric lifetimes of dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans. *Sci. Total Environ.*, 104, 17-33.
- Atkinson R., Carter W.P.L. (1984). Kinetics and mechanisms of the gas-phase reactions of ozone with organic compounds under atmospheric conditions. *Chem Rev.*, 84, 437-470.
- Autrup H., Jeffrey A.M., Harris C.C. (1977). Metabolism of benzo(a)pyrene in cultured Human Bronchus, Trachea, Colon, and Esophagus. In: Polynuclea Aromatic Hydrocarbons. Chemistry & Biological Effects, Fourth International Symposium. Columbus, Ohio: Batelle Press, 89-105.
- Baek S.O., Field R.A., Goldstone M.E., Kirk P.W., Lester J.N., Perry R. (1991). A review of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons: sources, fate and behavior. *Water, air and soil pollution*, 60, 279-300.
- Bartle K.D. (1991). Analysis and occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in food. In *Food contaminants: Sources and surveillance*, Ed. Cambridge, Royal Society of Chemistry, Colin S. Creaser and Rupert Purchase, chapitre 3, 41-60.
- Beaune P.H., Lorient M.A. (2000). Bases moléculaires de la susceptibilité aux xénobiotiques : Aspects métaboliques. *Medecine science*, 16 (10), 1051-1056
- Bekesi J.G., Holland J.F. (1978). Lymphocyte function of Michigan dairy farmers exposed to polybrominated biphenyls. *Science*, 199, 1207-1209.
- Belkin S., Stieber M., Tiehm A., Frimmel F.H., Abeliovich A., Ulitzur S., Werner P. (1994). Toxicity and genotoxicity enhancement during polycyclic aromatic hydrocarbons biodegradation. *Environ. Tox. Water. Quality*, 9, 303-309.
- Bertazzi P.A., Bernucci I., Brambilla G., Consmni D., Pesatori A.C. (1998). The Seveso studies on early and long-term effects of dioxin exposure: a review. *Environ. Health Perspect.*, 106, 625-633.

- Bildeman T.F. (1988).** Wet and dry deposition of organic compounds are controlled by their vapour-particle partitioning. *Env. Sci. Technol.*, 22, 361-367.
- Birnbaum L.S., Couture L.A. (1988).** Disposition of octachlorodibenzo-p-dioxin (OCDD) in mal rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 93, 22-30.
- Birnbaum L.S., Decad G.M., Matthews H.B. (1980).** Disposition and excretion of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 55, 342-352.
- Bjorseth A., Lunde G., Lindskog A. (1979).** Long-range transport of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Atmospheric Environment*, 13, 45-53.
- Blumer M. (1976).** Polycyclic aromatic compounds in nature. *Scientific America*, March 1976, 35-45.
- Bock K.W., van Clausbruch U.C., Winne D. (1979).** Absorption and metabolism of naphthalene and benzo[a]pyrene in the rat jejunum in situ. *Medical biology*, 57, 262-264.
- Bosveld A.T.C., de Bie P.A.F., van den Brink N.W., Jongepier H., Klomp A.V. (2002).** In vitro EROD induction equivalency factors for the 10 PAHs generally monitored in risk assessment study in the Netherlands. *Chemosphere*, 49, 75-83.
- Brasidas T.A., Schachter D. (1980).** Lipid dynamics and lipid protein interactions in rat enterocyte basolateral and microvillus membrane. *Biochemistry*, 19, 2763-2769.
- Brewster D.W., Banks Y.B., Clark A.M., Bironbaum L.S. (1989).** Comparative dermal absorption of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-dioxin and three polychlorinated dibenzofurans. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 97, 156-166.
- Brewster D.W., Birnbaum L.S. (1987).** Disposition and excretion of 2,3,4,7,8-pentachlorodibenzofuran in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 90, 243-252.
- Brewster D.W., Birnbaum L.S. (1988).** Disposition of 1,2,3,7,8-pentachlorodibenzofuran in the rat. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 95, 490-498.
- Buesen R., Mock M., Nau H., Seidel A., Jacob J., Lampen A. (2003).** Human intestinal Caco-2 cells display active transport of benzo[a]pyrene metabolites. *Chemico-biological Interaction*, 142, 201-221.
- Buesen R., Mock M., Seidel A., Jacob J., Lampen A. (2002).** Interaction between metabolism and transport of benzo[a]pyrene and its metabolites in enterocytes. *Toxicology and applied pharmacology*, 183, 168-178.
- Burratti M., Pellegrino O., Brambilla G., Colombi A. (2000).** Urinary excretion of 1-hydroxypyrene as a biomarker of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons from different sources. *Biomarkers*, 5 (5), 368-381.
- Capel I.D., Dorrell H.M., Jenner M., Williams D.C. (1979).** The distribution of some carcinogens in blood. *IRCS Medical Science: Biochemistry ; Cancer ; Drug Metabolism and Toxicology ; Environmental Biology and Medicine ; Hematology ; Pharmacology*, 7, 492.
- Cavret S. (2002).** Transfert *in vitro* des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans les epitheliums mammaire et intestinal. Doctorat de l'INPL, décembre 2002.
- Cerniglia C.E. (1992).** Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Biodegradation*, 3, 351-368.
- Chang L.H. (1943).** The fecal excretion of polycyclic aromatic hydrocarbons following their administration to the rat. *Journal of Biological chemistry*, 151, 93-99.
- Chilliard Y., Ferlay A., Doreau M. (2001).** Contrôle de la qualité nutritionnelle des matières grasses du lait par l'alimentation des vaches laitières : acides gras *trans*, polyinsaturés, acide limoléique conjugué. *INRA production animal*, 14, 323-335.
- Chu I., Ng K.M.E., Benoit F.M., Moir D. (1992).** Comparative metabolism of phenanthrene in the rat and guinea pig. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 12, 88-95.
- Copper C.S., Grover P.L., Sims P. (1983).** The metabolism and activation of benzo[a]pyrene. *Progress in Drug metabolism*, 7, 493-502.

- D.G.A.L. (1996). Surveillance de la contamination du lait par la dioxine. *SDHA / FLQ / EC*-245.
- D.G.A.L. (1997). Surveillance de la contamination du lait par la dioxine. *SDHA / FLQ / EC*-82.
- D.G.A.L. (1998). Surveillance de la contamination du lait par la dioxine. *SDHA / FLQ / EC*-1414.
- Dahl P., Lindstrom G., Wiberg K., Rappe C. (1995). Absorption of polychlorinated biphenyls, dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans by breast-fed infants. *Chemosphere*, 30, 2297-2306.
- Daniel P.M., Pratt O.E., Prichard M.M. (1967). Metabolism of labelled carcinogenic hydrocarbons in rats. *Nature*, 215, 1142-1146.
- Darragh A.J. et Moughan P.J. (1995). The three week old piglet as a model animal for studying protein digestion in human infants. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 21, 387-393.
- Denison M.S., Pandini A., Nagy S.R., Baldwin E.P., Bonati L. (2002). Ligand binding and activation of the Ah receptor. *Chemico-biological Interactions*, 141, 3-24.
- Dennis M.J., Massey R.C., Cripps G., Venn I., Howarth N., Lee G. (1991). Factors affecting the polycyclic aromatic hydrocarbon content of cereals, fats and other food products. *Food Addit. Contam.*, 8, 517-530.
- Dennis M.J., Massey R.C., McWeeny D.J., Knowles M.E., Watson D. (1983). Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in the UK total diets. *Fd Chem. Toxic.*, 21 (5), 569-574.
- DeVito M.J., Ross D.G., Dupuy A.E., Ferrario J., McDaniel D., Birnbaum L.S. (1998). Dose-response relationships for disposition and hepatic sequestration of polyhalogenated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans, and biphenyls following subchronic treatment in mice. *Toxicological Sciences*, 46, 223-234.
- Diliberto J.J., DeVito M.J., Ross D.G., Birnbaum L.S. (2001). Subchronic exposure of [3H]-2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in female B6C3F1 mice: relationship of steady-state levels to disposition and metabolism. *Toxicological sciences*, 61, 241-255.
- Diliberto J.J., Akubue P.I., Luebke R.W., Birnbaum L.S. (1995). Dose response relationships of tissue distribution and induction of CYP1A1 and CYP1A2 enzymatic activities following acute exposure to 2,3,7,8 tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in mice. *Toxicol. Applied Pharmacol.*, 130, 197-208.
- Diliberto J.J., Jackson J.A., Birnbaum L.S. (1996). Comparison of 2,3,7,8 tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) disposition following pulmonary, oral, dermal and parenteral exposures to rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 138, 158-168.
- Directive Européenne (1996). Technical guidance documents in support of the commission directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances.
- Dubois C., Arnaud M., Férézou J., Beaumier G., Porugal H., Pauli A.M., Bernard P.M., Bécue T., Lafont H., Lairon D. (1996). Postprandial appearance of dietary deuterated cholesterol in the chylomicron fraction and whole plasma in healthy subjects. *Amer. J. Clin. Nutr.*, 64, 47-52.
- Durand B., Dufour B., Vindel E., Fraisse D. (2000). A survey of PCDD and PCDF in french long-time half-skimmed drinking milk. *Chemosphere*, 41, 865-869.
- Edwards N.T (1983). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH's) in the terrestrial environment- A review. *Journal of environmental quality*, 12, 427-441.
- Eitzer B.D, Hites R.A (1988). Vapor pressures of chlorinated dioxins and dibenzofurans. *Environ. Sci. Technol.*, 22, 1389-1395.
- Eitzer B.D. (1995). Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in raw milk samples from farms located near a new resource recovery incinerator. *Chemosphere*, 30, 1237-1248.

- Evans M.V., Andersen M.E. (2000). Sensitivity analysis of a physiological model for 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD): Assessing the impact of specific model parameters on sequestration in liver and fat in the rat. *Toxicological sciences*, 54, 71-80.
- Ewers U., Wittsiepe J., Schrey P., Selenka F. (1996). Levels of PCDD/PCDF in blood fat as indices of the PCDD/PCDF body burden in humans. *Toxicol. Lett.*, 88, 327-334.
- Feil V.J., Huwe J.K., Zaylskie R.G., Davison K.L. (2000). Chlorinated dibenzo-*p*-dioxin and dibenzofuran concentrations in beef animals from a feeding study. *J. Agri. Food Chem.*, 48, 6163-6173.
- Fielder H., Cooper K.R., Bergek S., Hjelt M., Rappe C. (1997). Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and polychlorinated dibenzofurans (PCDD/PCDF) in food samples in Southern Mississippi, USA. *Chemosphere*, 34, 1411-1419.
- Finley B., Paustenbach D. (1994). The benefits of probabilistic exposure assessment: three case studies involving contaminated air, water, and soil. *Risk Analysis*, 14, 53-73.
- Firestone D., Clower M. Jr, Borsetti A.P., Teske R.H., Long P.E. (1979). Polychlorodibenzo-*p*-dioxin and pentachlorophenol residues in milk and blood of cows fed technical pentachlorophenol. *J. Agric. Food Chem.*, 27, 1171-1177.
- Flesh-Janys D., Becher H., Gurn P., Jung D., Konietzko J., Manz A., Pöpke O. (1996). Elimination of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in occupationally exposed persons. *Journal of Toxicology and environmental health*, 47, 363-378.
- Foth H., Kahl R., Kahl G.F. (1988). Pharmacokinetics of low doses of benzo[*a*]pyrene in the rat. *Fd chem. Toxic.*, 26, 45-51.
- Fraser R., Cliff W.J., Courtice F.C. (1968). The effect of dietary fat load on the size and composition of chylomicrons in thoracic duct lymph. *Q. J. Exp. Physiol.*, 53, 390-398.
- Freeman D.J., Cattell F.C.R. (1990). Woodburning as a source of atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environ. Sci. Technol.*, 24, 1581-1585.
- Fries G.F. (1995a). A review of the significance of animal food product as potential pathways of human exposures to dioxins. *J. Anim. Sci.*, 73, 1639-1650.
- Fries G.F. (1995b). Transport of organic environmental contaminants to animal products. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 141, 71-109.
- Fries G.F., Marrow G.S. (1975). Retention and excretion of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin by rats. *J. Agric. Food. Chem.*, 23, 265-269.
- Fries G.F., Marrow G.S. (1992). Influence of soil properties on the uptake of hexachlorobiphenyls by rats. *Chemosphere*, 25, 1449-1456.
- Fries G.F., Paustenbach D.J., Luksemburg W.J. (2002). Complete mass balance of dietary polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in dairy cattle and characterization of the apparent synthesis of hepta- and octachlorodioxins. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 4226-4231.
- Fries G.F., Paustenbach D.J., Mather D.B., Luksemburg W.J. (1999). A congener specific evaluation of transfer of chlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans to milk of cows following ingestion of pentachlorophenol-treated wood. *Environ. Sci. Technol.*, 33, 1165-1170.
- Fürst P., Fürst C., Groebel W. (1990). Levels of PCDDs and PCDFs in food-stuffs from Federal Republic of Germany. *Chemosphere*, 20, 787-792.
- Fürst P., Fürst C., Wilmers K. (1992). Survey of dairy products for PCDDs, PCDFs, PCBs and HCB. *Chemosphere*, 25, 1039-1048.
- Fürst P., Krause G.H.M., Hein D., Delschen T., Wilmers K. (1993). PCDD/PCDF in cow's milk in relation to their levels in grass and soil. *Chemosphere*, 27, 1349-1357.
- Fürst P., Wilmers K. (1995). PCDD/F levels in dairy products 1994 versus 1990. *Organohalogen compounds*, 26, 101-104.

- Gasiewicz T.A., Geiger L.E., Rucci G., Neal R.A. (1983).** Distribution, excretion, and metabolism of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in C57BL/6J, DBA/2J, and B6D2F₁/J mice. *Drug metabolism and disposition*, 11, 397-403.
- Gobas F.A.P.C., Muir D.C.G., Mackay D. (1988).** Dynamics of dietary bioaccumulation and faecal elimination of hydrophobic organic chemicals in fish. *Chemosphere*, 17, 943-962.
- Golor G., Yamashita K., Körner W., Hagenmaier H., Neubert D. (2001).** Kinetics and inductive potency of 1,2,3,4,6,7,8-heptachlorodibenzo-p-dioxin (H7CDD) in rats. *Life sciences*, 69, 493-508.
- Govers H.A.J., Krop H.B. (1998).** Partition constants of chlorinated dibenzofurans and dibenzo-p-dioxins. *Chemosphere*, 37, 2139-2152.
- Gribble G.W. (1994).** The natural production of chlorinated compounds. *Environ. Sci. Technol.*, 28, 310-319.
- Grochowalski A., Wybraniec S., Chrzaszcz R. (1995).** Determination of PCDFs/PCDDs in ambient air from Kracw city Poland. *Organohalogen Compounds*, 24, 153-156.
- Grova N. (2000b).** Etude du niveau de contamination en Hydrocarbures aromatiques polycycliques dans l'herbe et dans le lait. DEA sciences agronomiques, INPL.
- Grova N., Feidt C., Laurent C., Rychen G. (2003).** [¹⁴C] milk, urine and faeces excretion kinetics in lactating goats after an oral administration of [¹⁴C] polycyclic aromatic hydrocarbons, *International Dairy journal*, sous-presse.
- Grova N., Laurent C., Feidt C., Rychen G., Lichtfouse E. (2000a).** Gas chromatography-mass spectrometry study of polycyclic aromatic hydrocarbons in grass and milk from urban and rural farms. *Euro. J. Mass Spectrom.*, 6, 457-460.
- Guillen M.D., Sopelana P., Partearroyo M.A. (1997).** Food as a source of polycyclic aromatic carcinogens. *Rev. Environ. Health*, 12, 133-146.
- Gurn P., Beck H., Flesh-Janys D., Jung D., Konietzko J., Manz A., Mathar W., Pöpke O. (1995).** Partitioning of PCDD/Fs between blood and adipose tissue in 9 former chemical workers. *Organohalogen Compounds*, 26, 233-238.
- Hack A., Selenka F. (1996).** Mobilization of PAH and PCB from contaminated soil using a digestive tract model. *Toxicol. Letters*, 88, 199-210.
- Harrison N., de M Gem M.G., Startin J.R. (1994).** Dioxins in milk: a case study on localised contamination. *Organohalogen compounds*, 20, 69-72.
- Harrison N., de M. de Gem M.G., Starting J.R., Wright C., Kelly M., Rose M. (1996).** PCDDs and PCDFs in milk from farms in Derbyshire, U.K. *Chemosphere*, 32, 453-460.
- Hendriks A.J., Wever H., Olie K., van de Guchte K., Liem A.K.D., van Oosterom R.A.A., van Zorge J. (1996).** Monitoring and estimating concentrations of polychlorinated biphenyls, dioxins, and furans in cattle milk and soils of Rhine-Delta foodplains. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 31, 263-270.
- Herrmann A., Zachowski A., Devaux P.E. (1990).** The protein mediated phospholipid translocation of endoplasmic reticulum has a low lipid specificity. *Biochem.*, 29, 2023-2027.
- Hietanen E. (1980).** Oxidation and subsequent glucuronisation of 3,4-benzopyrene in everted intestinal sacs in control and 3-methylcholanthrene-pretreated rats. *Pharmacology*, 21, 233-243.
- Hippelein M., Kaupp H., Dörr G., Hutzinger O. (1996).** Baseline contamination assessment for a new resource recovery facility in Germany. Part III: PCDD/Fs, HCB, and PCBs in cow's milk. *Chemosphere*, 32, 1617-1622.
- Hollender J., Koch B., Dott W. (2000).** Biomonitoring of environmental polycyclic aromatic hydrocarbon exposure by simultaneous measurement of urinary phenanthrene, pyrene and benzo[a]pyrene hydroxydes. *Journal of chromatography B: Biomedical sciences and applications*, 739, 225-229.

- Holm R., Müllertz A., Christensen E., Hoy C.E., Kristensen H.G. (2001). Comparison of total oral bioavailability and the lymphatic transport of halofantrine from three different unsaturated triglycerides in lymph-cannulated conscious rats. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14, 331-337.
- Hopia A., Pyysalo H., Wickstrom K. (1986). Margarines, butter and vegetable oils as a sources of polycyclic aromatic hydrocarbons. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 63, 889-893.
- Howard J.W., Fazio T. (1980). Analytical methodology and reported findings of polycyclic aromatic hydrocarbons in foods. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 63, 1077-1104.
- Hu K., Bunce N.J. (1999). Metabolism of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and related dioxin-like compounds. *J. Toxicol. Environ. Health*, 2, 183-210.
- Hülster A., Müller J.F., Marschner H. (1994). Soil-plant transfer of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans to vegetables of the cucumber family (*Cucurbitaceae*). *Environ. Sci. Technol.*, 28, 1110-1115.
- Hussain M.M. (2000). A proposed model for the assembly of chylomicrons. *Atherosclerosis*, 148, 1-15.
- IFN n°1 (1992). Dossier scientifique de l'institut français pour la nutrition.
- Iida T., Hirakawa H., Matsueda T., Takenaka S., Yu M.L., Guo Y.L.L. (1999). Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and related compounds: correlation of levels in human tissues and in blood. *Chemosphere*, 38, 2767-2774.
- INSERM (Institut national de la santé et de la recherche médicale) (2000). Dioxines dans l'environnement. Quels risques pour la santé ? Expertise collective. In *Les éditions Inserm*, 2000, 101 rue de Tolbiac, 75013 Paris, pp406.
- IARC (International Agency for Research on Cancer, 1983). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks of chemicals to humans. Polynuclear aromatic compounds. Part 1: Chemical, environmental and experimental data. 32. *International Agency for Research on Cancer, Lyon, France*.
- IARC (International Agency for Research on Cancer, 1997). IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. 69. *Polychlorinated dibenzo-para-dioxins and polychlorinated dibenzofurans*, *International Agency for Research on Cancer, Lyon, France, February*.
- IPCS (1998) (International Programme on Chemical Safety). Environmental Health Criteria 202. Selected non heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons. *Ed. World Health Organisation, Geneva*, p.883.
- Janss D.H., Moon R.C. (1970). Absorption of intragastrically administrated 7,12-dimethylbenzanthracene. *Federation Proc.*, 29, 817 (abstract)
- Jarrige R. (1988). Alimentation des bovins, ovins et caprins. *Ed. INRA, France*, 471p.
- Jödicke B., Ende M., Helge H., Neubert D. (1992). Fecal excretion of PCDDs/PCDFs in a 3-month-old breast-fed infants. *Chemosphere*, 25, 1061-1065.
- Jones J.M., Anderson J.W., Tukey R.H. (2000). Using the metabolism of PAHs in a human cell line to characterize environmental samples. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 8, 119-126.
- Jones P.J.H., Kubow S. (1999). Modern nutrition health and disease. *Ninth Ed*, p 67-94
- Juhasz A.L., Naidu R. (2000). Bioremediation of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo[a]pyrène. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 45, 57-88.
- Kadry A.M., Skowronski G.I., Turkall R.M., Abdel-Rahman M.S. (1995). Comparison between oral and dermal bioavailability of soil-absorbed phenanthrene in female rats. *Toxicology letters*, 78, 153-163.

- Kamimura H., Koga N., Ogari K., Yoshimura H., Honda Y., Nakani M. (1988). Enhanced faecal excretion of 2, 3, 4, 7, 8, pentachlorodibenzofuran in rats by a long term treatment with activated charcoal beads. *Xenobiotica*, 18, 585-592.
- Kamp J.D., Neumann H-G. (1975). Absorption of carcinogens into the thoracic duct lymph of the rat: aminostilbene derivatives and 3-methylchloranthrene. *Xenobiotica*, 5, 717-725.
- Kedderis L.B., Diliberto J.J., Birnbaum L.S. (1991). Disposition and excretion of intravenous 2,3,7,8-tetrabromodibenzo-p-dioxin (TBDD) in rats. *Toxicology and applied pharmacology*, 108, 397-406.
- Keith L., Teillard W. A. (1979). Priority pollutants. I. A perspective view., *Environ. Sci. Technol.*, 13, 416-423.
- Keller H.L., Borger D.C., Willett L.B. (2001). Uptake and excretion of organochlorine compounds in neonatal calves. *J. Anim. Sci.*, 79, 155-166.
- Kew G.A., Schaum J.L., White P., Evans T.T. (1989). Review of plant uptake of 2,3,7,8-TCDD from soil and potential influences of bioavailability. *Chemosphere*, 18, 1313-1318.
- Kim Y., Yang S.H., Lee S.Y., Kim M. (2001). Levels of PCDDs and PCDFs in two kinds of fast foods in Korea. *Chemosphere*, 43, 851-855.
- Kimbrough R.D., Falk H., Stehr P., Fries G.F. (1984). Health implications of 2378 tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) contamination of residential soil. *J. Toxicol. Environ. Health*, 14, 47-93.
- Körner W., Dawidowsky N., Hagenmaier H. (1993). Fecal excretion rates of PCDDs and PCDFs in two breast-fed infants. *Chemosphere*, 27, 157-162.
- Körner W., Golor G., Schultz T., Wiesmüller T., Hagenmaier H., Neubert D. (2002). Tissue concentrations and induction of hepatic monooxygenase in male Wistar rats after repeated doses of defined polychlorinated dibenzo-p-dioxin and dibenzofuran (PCDDs and PCDFs) mixture. *Arch. Toxicol.*, 75, 653-664.
- Kotin P., Falk H.L., Busser R. (1959). Distribution, retention, and elimination of C¹⁴-3,4-Benzpyrene after administration to mice and rats. *Journal of the national cancer institute*, 23, 541-555.
- Kreuzer P.E., Csanady G.A., Baur C., Kessler W., Pöpke O., Greim H., Filser J.G. (1997). 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) and congeners in infants. A toxicokinetics model in human lifetime body burden by TCDD with special emphasis on its uptake by nutrition. *Arch. Toxicol.*, 71, 383-400.
- Lafleur L., Bousquet T., Ramage K., Brunck B., Davis T., Luksemburg W., Peterson B. (1990). Analysis of TCDD and TCDF on the ppq-level in milk and food sources. *Chemosphere*, 20, 1657-1662.
- Laher J.M., Barrowman J.A. (1983). Polycyclic hydrocarbon and polychlorinated biphenyl solubilization in aqueous solutions of mixed micelles. *Lipids*, 18, 216-222.
- Laher J.M., Chernenko G.A., Barrowman J.A. (1983). Studies of the absorption and enterohepatic circulation of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene in the rat. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 61, 1368-1373.
- Laher J.M., Rigler M.W., Vetter R.D., Barrowman J.A., Patton J.S. (1984). Similar bioavailability and lymphatic transport of benzo[a]pyrene when administered to rats in different amounts of dietary fat. *Journal of lipid research*, 25, 1337-1342.
- Lakshmanan M.R., Campbell B.S., Chirtle S.J., Ekarohita N., Ezekiel M. (1986). Studies on the mechanism of absorption and distribution of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in the rat. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 239, 673-677.
- Landers J.P., Bunce N.J. (1991). The Ah receptor and mechanism of dioxin toxicity. *Biochem. J.*, 276, 273-287.
- Lassek E., Jahr D., Mayer R. (1993). Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in cow milk from Bavaria, FRG. *Chemosphere*, 37, 519-534.

- Lawrence G.S., Gobas F.A.P.C. (1997).** A pharmacokinetic analysis of interspecies extrapolation in dioxin risk assessment. *Chemosphere*, 35, 427-452.
- Leung H.-W., Paustenbach D.J., Murray F.J., Andersen M.E. (1990).** A physiological pharmacokinetic description of the tissue distribution and enzyme-induction properties of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in the rat. *Toxicology and applied pharmacology*, 103, 399-410.
- Li X., Weber L.W.D., Rozman K.K. (1995).** Toxicokinetics of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin in female Sprague-Dawley Rats including placental and lactational transfer to fetuses and neonates. *Fundamental and applied toxicology*, 27, 70-76.
- Lodovici M., Dolara P., Casalini C., Ciappellano S., Testolin G. (1999).** Polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in the Italian diet. *Advances in experimental medicine and biology*, 459, 179-193.
- Lodovici M., Dolara P., Casalini C., Ciappellano S., Testolin G. (1995).** Polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in the Italian diet. *Food Additives and Contaminants*, 12, 703-713.
- Lohmann R., Jones K.C. (1998).** Dioxins and furans in air and deposition: a review of levels, behaviour and process. *Sci. Total Environ.*, 219, 53-81.
- Lorber M., Cleverly D., Schaum J., Phillips L., Schweer G., Leighton T. (1994).** Development and validation of an air – to beef food chain model for dioxin – like compounds. *Sci. Technol. Environ.*, 156, 39-65.
- Mackay D., Shiu W.Y., Ma K.C. (1991).** Illustrated handbook of physical-chemical properties and environmental fate for organic chemicals. Vol. II Polynuclear aromatic hydrocarbons, Polychlorinated dioxins and dibenzofurans. Boca Raton, Floride, Lewis publisher.
- Mahe S., Roos N., Benamouzig R., Sick H., Baglieri A., Huneau J.F., Tome D. (1994).** True exogenous and endogenous nitrogen fractions in the human jejunum after ingestion of small amounts of ¹⁵N-labeled casein. *J. Nutr.*, 124, 548-555.
- Malisch R. (2000).** Increase of the PCDD/F-contamination of milk, butter and meat samples by use of contaminated citrus pulp. *Chemosphere*, 40, 1041-1053.
- Malisch R., Bruns-Weller E., Knoll A., Fürst P; Mayer R., Wiesmüller T. (2000).** Results of an emergency quality control study as confirmation of a PCDD/PCDF-contamination of milk and butter samples. *Chemosphere*, 40, 1033-1040.
- Marinovitch M., Sirtori C.R., Galli C.L., Paoletti R. (1983).** The binding of 2,3,7,8 tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin to plasma lipoproteins may delay toxicity in experimental hyperlipidemia. *Chem. Biol. Interact.*, 45, 393-399.
- Maruyama W., Yoshida K., Tanaka T., Nakanishi J. (2002).** Determination of tissue-blood partition coefficients for a physiological model for humans, and estimation of dioxin concentrations in tissues. *Chemosphere*, 46, 975-985.
- Maruyama W., Yoshida K., Tanaka T., Nakanishi J. (2003).** Simulation of dioxin accumulation in human tissues and analysis of reproductive risk. *Chemosphere*, Sous presse.
- Mayer R. (1995).** Low levels of polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in cow's milk from south Germany. *Organohalogen compounds*, 26, 109-111.
- Maystrenko V., Kruglov E., Amirova Z., Khamitov R. (1998).** Polychlorinated dioxin and dibenzofuran levels in the environment and food from the republic of Bashkortostan, Russia. *Chemosphere*, 37, 1699-1708.
- McKinley M.K., Kedderis L.B., Birnbaum L.S. (1993).** The effect of pre-treatment on the biliary excretion of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin, 2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran, and 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl in the rat. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 21, 425-432.
- McLachlan M.S (1995a).** Accumulation of PCDD/F in an agricultural food chain. *Organohalogen compounds*, 26, 105-108.

- McLachlan M.S., Thoma H., Reissinger M., Hutzinger O. (1990).** PCDD/F in an agricultural food chain. Part 1 : PCDD/F mass balance of a lactating cow. *Chemosphere*, 20, 1013-1020.
- McLachlan M.S. (1993).** Digestive tract absorption of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans and biphenyls in a nursing infant. *Toxicol. Applied Pharmacol.*, 123, 68-72.
- McLachlan M.S. (1994).** Model of the fate of hydrophobic contaminants in cows. *Environ. Sci. Technol.*, 28, 2407-2414.
- McLachlan M.S., Hutzinger O. (1990a).** Accumulation of organochlorine compounds in agricultural food chains. *Organohalogen Compounds*, 1, 479-484.
- Meador J.P., Stein J.E., Reichert W.L., Varanasi U. (1995).** Bioaccumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons by marine organisms. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 143, 79-165.
- Ministère de l'agriculture et de la pêche, internet (1999).**
<http://europea.eu.int/comm/environment/dioxin/index.html>
- Mitchell C.E., Tu K.W. (1979).** Distribution, retention and elimination of pyrene in rats after inhalation. *J. Toxicol. Environ. Health*, 5, 1171-1179.
- Modica R., Fiume M., Guitani A., Bartosek I. (1983).** Comparative kinetics of benzo[a]anthracene, chrysene and triphenylene in rats after oral administration. I. Study with single compounds. *Toxicology letters*, 18, 103-109.
- Moll N. (1995).** Evaluations de la contamination des aliments et des boissons par les hydrocarbures aromatiques polycycliques et les amines hétérocycliques. Moll M., Moll N. (eds), *sécurité alimentaire du consommateur, Technique et Documentation Lavoisier*, Paris: 265-284.
- Moret S., Conte L.S. (2000).** Polycyclic aromatic hydrocarbons in edible fats and oils: occurrence and analytical methods. *J. Chromatography A*, 882 (1-2), 245-253.
- Morita K., Matsueda T., Iida T., Hasegawa T. (1999).** Chlorella accelerates dioxin excretion in rats. *J. Nutr.*, 129, 1731-1736.
- Morita K., Nakano T. (2002).** Seaweed accelerates the excretion of dioxin stored in rats. *J. Agri. Food Chem.*, 50, 910-917.
- Moser G.A., McLachlan M.S. (1999).** A non-absorbable dietary fat substitute enhances elimination of persistent lipophilic contaminants in human. *Chemosphere*, 39, 1513-1521.
- Moser G.A., McLachlan M.S. (2001).** The influence of dietary concentration on the absorption and excretion of persistent lipophilic organic pollutants in the human intestinal tract. *Chemosphere*, 45, 201-211.
- Moser G.A., McLachlan M.S. (2002).** Partitioning of polychlorinated biphenyls and hexachlorobenzene into human faeces. *Chemosphere*, 46, 449-457.
- Moughan P.J. et Rowan A.M. (1989).** The pig as a model animal for human nutrition research. *The proceeding of the nutrition society*, 116-123.
- M'Passi D.A. (2001).** Effet de la fermentation lactique sur l'apparition portale du calcium et des produits de la digestion des protéines du lait. Doctorat de l'INPL, Novembre 2001.
- Mueller J.G., Chapman P.J., Pritchard P.H. (1990).** Action of a fluoranthene-utilising bacterial community on polycyclic aromatic hydrocarbon components of creosote. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55, 3085-3090.
- Nagao T., Yamashita K., Golor G., Bittmann H., Körner W., Hagenmaier H., Neubert D. (1996).** Tissue distribution after a single subcutaneous administration of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in comparison with toxicokinetics of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in female wistar rats. *Life Sciences*, 58, 325-336.
- Neff J.M. (1985).** Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Fundamentals of Aquatic Toxicology*, 14, 416-454.

- Nessel C.S., Amoroso M.A., Umbreit T.H., Gallo M.A. (1990). Hepatic aryl hydroxylase and cytochrome P450 induction following the transpulmonary absorption of TCDD from intratracheally instilled particles. *Fundamental and applied Toxicology*, 15, 500-509.
- Neubert D., Wiesmüller T., Abraham K., Krowke R., Hagenmaier H. (1990). Persistence of various polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PCDDs and PCDFs) in hepatic and adipose tissue of marmoset monkeys. *Arch. Toxicol.*, 64, 431-442.
- Ng K.M.E., Chu I., Bronaugh R.L., Franklin C.A., Somers D.A. (1992). Percutaneous absorption and metabolism of pyrene, benzo[a]pyrene, and di(2-ethylhexyl)phthalate: comparison of in vitro and in vivo results in the hairless guinea pig. *Toxicology and applied pharmacology*, 115, 216-223.
- Nisbet I.C.T., Lagoy P.K. (1992). Toxic equivalency factors (TEFs) for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Regulatory toxicology and pharmacology*, 16, 290-300.
- Obana H., Hori S., Kashimoto T., Kunita N. (1981). Polycyclic aromatic hydrocarbons in human fat and liver. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 27, 23-27.
- Okey A.B., Riddick D.S., Harper P.A. (1994). The Ah receptor: mediator of the toxicity of 2,3,7,8 tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) related compounds. *Toxicol. Lett.*, 70, 1-22.
- Olling M., Derks H.J.G.M., Berende P.L.M., Liem A.K.D., Jong A.P.J.M. (1991). Toxicokinetics of eight ¹³C-labelled polychlorinated dibenzo-p-dioxins and -furans in lactating cows. *Chemosphere*, 23, 1377-1385.
- Olson J.R. (1986). Metabolism and disposition of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in guinea pig. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 85, 263-273.
- Olson J.R., Mc Garrigle B.P., Gigliotti P.J., Kumar S., Mc Reynolds J.H. (1994). Hepatic uptake and metabolism of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and 2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran. *Fundamental and applied toxicology*, 22, 631-640.
- Oppenhuizen A., van den Velde E.W., Gobas F.A.P.C., Liem A.K.D., van den Steen J.M.D., Hutzinger O. (1985). Relationship between bioconcentration in fish and steric factors of hydrophobic chemicals. *Chemosphere*, 14, 1871-1896.
- Palin K.J., Wilson C.G., Davis S.S., Phillips A.J. (1982). The effect of oils on the lymphatic absorption of DDT. *J. Pharm. Pharmacol.*, 34, 707-710.
- Panalaks T. (1976). Determination and identification of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked and charcoal-broiled food products by high pressure liquid chromatography and gas chromatography. *J. Environ. Sci. Health*, B 11, 299-315.
- Päpke O. (1998). PCDD/PCDF: human background data for Germany, a 10-year experience. *Environ. Health Perspect.*, 106, 723-731.
- Patterson D.G., Fürst P., Henderson L.O., Isaacs S.G., Alexander L.R., Turner W.E., Needham L.L., Hannon H. (1989). Partitioning of in vivo bound PCDD/PCDFs among various compartments in whole blood. *Chemosphere*, 19, 135-142.
- Pegram R.A., Diliberto J.J., Moore T.C., Gao P., Birnbaum L.S. (1995). 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) distribution and cytochrome P4501A induction in young adult and senescent male mice. *Toxicology letters*, 76, 119-126.
- Phillips D.H. (1983). Fifty years of benzo[a]pyrene. *Nature*, 303, 472-486.
- Phillips D.H. (1999). Polycyclic aromatic hydrocarbons in the diet. *Mutation research*, 443, 139-147.
- Pickering R.W. (2000). Toxicity of polyaromatic hydrocarbons other than benzo[a]pyrene: a review. *J. Toxicol. Cut. & Ocular Toxicol.*, 19, 55-67.
- Piper W.N., Rose J.Q., Gehring P.J. (1973). Excretion and tissue distribution of 2, 3, 7, 8 tetrachlorodibenzo-p-dioxin in the rat. *Environ. Health Perspect.*, 5, 241-244.
- Plant A.L., Benson D.M., Smith L.C. (1985). Cellular uptake and intracellular localization of benzo[a]pyrene by digital fluorescence imaging microscopy. *The journal of cell biology*, 100, 1295-1308.

- Pluim H.J., Wever J., Koppe J.G., Slikker vd J.W., Olie K. (1993).** Intake and fecal excretion of chlorinated dioxins and dibenzofurans in breast-fed infants at different ages. *Chemosphere*, 26, 1947-1952.
- Porter C.W., Dworaczak D., Gurtoo H.L. (1982).** Biochemical localization of aryl hydroxylase in the intestinal epithelium of the rat. *Cancer Research*, 42, 1283-1285.
- Rahman A., Barrowman J.A. (1986).** The influence of bile on the bioavailability of polynuclear aromatic hydrocarbons from the rat intestine. *Can J. Physiol. Pharmacol.*, 64, 1214-1218.
- Rahman A., Barrowman J.A., Rahimtula A. (1986).** The influence of bile on the bioavailability of polynuclear aromatic hydrocarbons in bitumen, heavy oil fractions boiling above 350°C by G.C.-M.S. *Fuel*, 63, 361-367.
- Ramirez M., Amate L., Gil A. (2001).** Absorption and distribution of dietary fatty acids from different sources. *Early Human Development*, 65 Suppl., S95-S101.
- Ramos L., Eljarrat E., Hernandez L.M., Alonso L., Rivera J., Gonzalez M.J. (1997).** Levels of PCDDs and PCDFs in farm cow's milk located near potential contaminant sources in Asturias (Spain). Comparison with levels found in control, rural farms and commercial pasteurized cow's milk. *Chemosphere*, 35, 2167-2179.
- Ramos L., Eljarrat E., Hernandez L.M., Rivera J., Gonzalez M.J. (1999b).** Comparative study of methodologies for the analysis of PCDDs and PCDFs in powdered full-fat milk. PCB, PCDD and PCDF levels in commercial samples from Spain. *Chemosphere*, 38, 2577-2589.
- Ramos L., Eljarrat E., Hernandez L.M., Rivera J., Gonzalez M.J. (1999c).** Levels of polychlorinated biphenyls, polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in commercial yoghurt samples in Spain. Comparison with different dairy product. *Analytica chimica acta*, 402, 241-252.
- Ramos L., Eljarrat E., Hernandez L.M., Rivera J., Gonzalez M.J. (1999a).** Levels of PCBs, PCDDs and PCDFs in commercial butter samples in Spain. *Chemosphere*, 38, 3141-3153.
- Ramos L., Hernandez L.M., Gonzalez M.J. (1998).** Comparative study of methodologies for the analysis of organochlorinated compounds in whole powdered milk. *J. Environ. Anal. Chem.*, 67, 1-18.
- Ramos L., Hernandez L.M., Gonzalez M.J. (2000).** Study of distribution of polychlorinated biphenyls in the milk fat globule by supercritical fluid extraction. *Chemosphere*, 41, 881-888.
- Ramsey J.C., Hefner J.G., Karbowski R.J., Braun W.H., Gehring P.J. (1982).** The *in vivo* biotransformation of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in the rat. *Toxicology and applied pharmacology*, 65, 180-184.
- Rappe C., Lindström G., Glas B., Lundström K., Borgström S. (1990).** Levels of PCDDs and PCDFs in milk cartons and in commercial milk. *Chemosphere*, 20, 1646-1656.
- Rappe C., Nygren M., Lindström G., Buser H.R., Blaser O., Wüthrich C. (1987).** Polychlorinated dibenzofurans and dibenzo-p-dioxins and other chlorinated contaminants in cow milk from various locations in Switzerland. *Environ. Sci. Technol.*, 21, 964-970.
- Rees E.D., Mandelstam P., Lowry J.Q., Lipscomb H. (1971).** A study of the mechanism of intestinal absorption of benzo[a]pyrene. *Biochim. Biophys. Acta*, 225, 96-107.
- Reid W.D., Ilett K.F., Krishna G. (1973).** Metabolism and Binding of Aromatic Hydrocarbons in Lung: relationship to experimental Bronchiolar Necrosis. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 107, 539-551.
- Rodriguez-Fernandez C. (1995).** Extraction par fluide supercritique: contribution à la caractérisation des sols contaminés par des hydrocarbures aromatiques polycycliques. Doctorat INPL, décembre 1995.

- Roeder R.A., Garber M.J., Schelling G.T. (1998). Assessment of dioxins in foods from animal origins. *J. Anim. Sci.*, 76, 142-151.
- Rogan E.G., Devanesan P.D., RamaKrishna N.V., Higginbotham S., Padmavathi N.S., Chapman K., Cavalieri E.L., Jeong H., Jahnkowiak R., Small G.J. (1993). Identification and quantification of benzo[a]pyrene-DNA adducts formed in mouse skin. *Chem. Res. Toxicol.*, 6, 356-363.
- Rogan W.J., Glaben B.C. (1992). Neurotoxicology of PCBs and related compounds. *Neurotoxicology*, 13 (1), 27-35.
- Rhode S., Moser G.A., Pöpke O., McLachlan M.S. (1999). Clearance of PCDD/Fs via the gastrointestinal tract in occupationally exposed persons. *Chemosphere*, 38, 3397-3410.
- Rose J.Q., Ramsey J.C., Wentzler T.H., Hummel R.A., Gerhing P.J. (1976). The fate of 2,3,7,8 tetrachlorodibenzo-p-dioxin following single and repeated oral doses to the rat. *Toxicol. Applied Pharmacol.*, 36, 209-226.
- Rowat S.C. (1999). Incinerator toxic emissions. A brief summary of human health effects with a note on regulatory control. *Medical hypotheses* <http://www.rowatworks.com>.
- Rowlands J.C., Gustafsson J.A. (1997). Aryl hydrocarbon receptor-mediated signal transduction. *Crit. Rev. Toxicol.*, 27, 109-134.
- Ryan J.J., Lizotte R., Sakuma T., Mori B. (1985). Chlorinated dibenzo-p-dioxins, chlorinated dibenzofurans and pentachlorophenol in canadian chicken and pork samples. *J. Agri. Food Chem.*, 33, 1021-1026.
- Safe S.H. (1998). Development validation and problems with the toxic equivalency factor : approach for risk assessment of dioxins and related compounds. *J. Anim. Sci.*, 76, 134-141.
- Saunders C.R., Ramseh A., Shockley D.C. (2002). Modulation of neurotoxic behavior in F-344 rats by temporal disposition of benzo[a]pyrene. *Toxicology letters*, 129, 33-45.
- Schechter A., Dellarco M., Pöpke O., Olson J. (1998). A comparison of dioxins, dibenzofurans and coplanar PCBs in uncooked and broiled ground beef, catfish and bacon. *Chemosphere*, 37, 1723-1730.
- Schechter A., Ryan J.J., Constable J.D., Braghman R., Bangert J., Fürst J., Fürst P., Wilmers K., Oates R.P. (1990). Partitioning of 2,3,7,8 chlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans between adipose tissue and plasma lipid of 20 massachusetts vietnam veterans. *Chemosphere*, 20, 951-958.
- Schlummer M., Moser G.A., McLachlan M.S. (1998). Digestive tract absorption of PCDD/Fs, PCBs and HCB in humans: mass balances and mechanistic considerations. *Toxicol. Applied Pharmacol.*, 152, 128-137.
- Schmid P., Schlatter C. (1992). Polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs) and polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) in cow's milk from switzerland. *Chemosphere*, 8, 1013-1030.
- Schuhmacher M., Domingo J.L., Llobet J.M., Lindström G., Wingfors H. (1999b). Dioxin and dibenzofuran concentrations in adipose tissue of a general population from Tarragona, Spain *Chemosphere*, 38, 2475-2487.
- Schuhmacher M., Domingo J.L., Llobet J.M., Lindström G., Wingfors H. (1999a). Dioxin and dibenzofuran concentrations in blood of a general population from Tarragona, Spain *Chemosphere*, 38, 1123-1133.
- Shiaris M.P. (1989). Phenanthrene mineralisation along a natural salinity gradient in an urban estuary, Boston Harbor, MA. *Microbial Ecology*, 18, 135-146.
- Shireman R.B., Wei C. (1986). Uptake of 2, 3, 7, 8 tetrachlorodibenzene-p-dioxin from plasma lipoproteins by cultured human fibroblasts. *Chem. Biol. Interact.*, 58, 1-12.
- Silbergeld E.K. (1993). Risk assessment. The perspective and experience of U.S. environmentalists. *Environ. Health Perspect.*, 101, 100-104.

- Sims R.C., Overcash M.R. (1983).** Fate of polynuclear aromatic hydrocarbons (PNAs) in soil-plant systems. *Residue reviews*, 88, 1-68.
- Smith L.C., Doody M.C. (1981).** Kinetics of benzo[a]pyrene transfer between human plasma lipoproteins. In Chemical analysis and fate: Polycyclic aromatic hydrocarbons. 5th Int. Symp. Eds Mr Cooke and A.J. Dennis, Columbus, Ohio: Battelle Press, pp. 615-624.
- Staneck III E.J., Calabrese E.J. (1995).** Daily estimates of soil ingestion in children. *Environ. Health Perspect.*, 103, 276-285.
- Stephens R.D., Petreas M.Y., Hayward D.G. (1995).** Biotransfer and bioaccumulation of dioxins and furans from soil: chickens as a model for foraging animals. *The Science of the Total Environment*, 175, 253-273.
- Stravic B., Klassen R. (1994).** Dietary effects on the uptake of benzo[a]pyrene. *Fd. Chem. Toxic.*, 32, 727-734.
- Sweetman A.J., Thomas G.O., Jones K.C. (1999).** Modelling the fate and behaviour of lipophilic organic contaminants in lactating dairy cows. *Environmental pollution*, 104, 261-270.
- Tai H.L., Goldstein J.A., Alworth W.L., Olson J.R. (1993).** Cytochrome P450 1A1 mediates the metabolism of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran (TCDF) in rat and human. *Toxicology and applied pharmacology*, 123, 34-42.
- Takenaka S., Todaka T., Nakamura M., Hori T., Iida T., Yamada T., Hata J-I. (2002).** Polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans and non-ortho chlorine substituted biphenyls in japanses human liver and adipose tissue. *Chemosphere*, 49, 161-172.
- Theelen R.M.C. (1991).** Modeling of human exposure to TCDD and I-TEQ in the Netherlands: Background and human exposure. In M.A. Gallo, R.J. Sheuplein, K.A. van der Heijden edition, Biological basis for risk assessment of dioxins and related compounds, p 277-288.
- Theelen R.M.C., Liem A.K.D., Slob W., van Wijnen J.H. (1993).** Intake of 2,3,7,8 chlorine substituted dioxins, furans and planar PCBs from food in the Netherlands; Median and distribution. *Chemosphere*, 24, 1013-1030.
- Thomas G.O., Sweetman A.J. nd Jones K.C. (1999).** Metabolism and body-burden of PCBs in lactating dairy cows. *Chemosphere*, 39 (9), 1533-1544.
- Thomson A.B.R., Schoeller C., Keelan M., Smith L., Clandinin M.T. (1993).** Lipid absorption: passing through the unstirred layers, brush-border membrane, and beyond. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 71, 531-555.
- Tsutsumi T., Yanagi T., Nakamura M., kono Y., Uchibe H., Iida T., Hori T., Nakagawa R., Tobiishi K., Matsuda R., Sasaki K., Toyoda M. (2001).** Update of daily intake of PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs from food in Japan. *Chemosphere*, 45, 1129-1137.
- Tuinstra L.G.M.Th., Roos A.H., Berende P.L.M., van Rhijn J.A., Traag W.A., Mengelers M.J.B. (1992).** Excretion of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and -furans in milk of cows fed on dioxins in the dry period. *J. Agric. Food Chem.*, 40, 1772-1776.
- Tyrer H.W., Cantrell E.T., Horres R., Lee I.P., Peirano W.B., Danner R.M. (1981).** Benzo[a]pyrene metabolism in mice exposed to diesel exhaust : I. Uptake and distribution. *Environ. Int.*, 5, 307-311.
- U.S E.P.A. (1990).** Assessment of risks from exposure of humans, terrestrial and avian wildlife, and aquatic life to dioxins and furans from disposal and use of sludges from bleached kraft sulfite pulp and paper mills. EPA-560/5-90/013, Office of toxic substances and office of solid waste, Washington, DC.
- Union européenne (1999):** <http://europa.eu.int/comm/environment/dioxin/index.html>

- Van de Wiel J.A.G., Meuwissen M., Kooy H., Noordhoek J., Bos R.P. (1992).** Influence of long-term ethanol treatment on *in vitro* biotransformation of benzo[a]pyrene in microsomes of the liver, lung and small intestine from male and female rats. *Biochem. Pharmacol.*, 44, 1977-1984.
- Van den Berg M., Meerman L., Olie K., Hutzinger O. (1986).** Retention of PCDDs and PCDFs in the liver of rats and hamster after oral administration of a municipal incinerator fly ash extract. *Toxicol. Environ. Chem.*, 12, 267-284.
- Van den Berg M.J., de Jongh J., Poiger H., Olson J.R. (1994).** The toxicokinetics and metabolism of polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs) and dibenzofurans (PCDFs) and their relevance for toxicity. *Crit. Rev. Toxicol.*, 24, 1-74.
- Van Schooten F.J., Moonen E.J.C., van der Wal L., Kleinjans J.C.S. (1997).** Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and their metabolites in blood, feces, and urine of rats orally exposed to PAH contaminated soils. *Arch. Environ. Toxicol.*, 33, 317-322.
- Van Veld P.A. (1990).** Absorption and metabolism of dietary xenobiotics by the intestine of fish. *Aquatic Sciences*, 2, 185-203.
- Van Veld P.A., Vetter R.D., Lee R.F., Patton J.S. (1987).** Dietary fat inhibits the intestinal metabolism of the carcinogen benzo[a]pyrene in fish. *Journal of lipid research*, 28, 810-817.
- Vartainen T., Lampi P., Tuomisto J.T., Tuomisto J. (1995).** Polychlorodibenzo-p-dioxin and polychlorodibenzofurans concentrations in human fat samples in a village after a pollution of drinking water with chlorophenols. *Chemosphere*, 30, 1429-1438.
- Veerkamp W., ten Berge W.F. (1994).** The concepts og HESP. *Reference manual. Human exposure to soil pollutants*. Version 2.10a. S.I.P.M.B.V., The Hague, 1-66.
- Vetter R.D., Carey M.C., Patton J.S. (1985).** Coassimilation of dietary fat and benzo[a]pyrene in the small intestine: an absorption model using the killifish. *Journal of lipid research*, 26, 428-434.
- Vindel E., Duhem K. (1999).** Pollution du lait et des produits laitiers. Causes et conséquences. *Journées techniques de l'ADEME*. Angers les 8 et 9 juin 1999. «Dioxines, toute la vérité sur une grande peur».
- Vyskocil A., Fiala Z., Chénier V., Krajak L., Ettlerova E., Bukac J., Viau C., Emminger S. (2000).** Assessment of multipathway exposure of small children to PAH. *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, 8, 111-118.
- Wagrowiki D.M., Hites R.A. (1997).** Polycyclic aromatic hydrocarbons accumulation in urban, suburban and rural vegetation. *Environ. Sci. Technol.*, 31, 279-282.
- Wakeham S.G., Schaffner C., Giger W. (1980).** Polycyclic aromatic hydrocarbons in recent lake sediments – I. Compounds having anthropogenic origins. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 44, 403-413.
- Waldman J.M., Liroy P.J., Greenberg A., Butler J.P. (1991).** Analysis of human exposure to benzo[a]pyrene via inhalation and food ingestion in the total human environmental exposure study (THEES). *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*, 1, 193-225.
- Wang X., Santostefano M.J., Evans M.V., Richardson V.M., Diliberto J.J., Birnbaum L.S. (1997).** Determination of parameters responsible for pharmacokinetic behavior of TCDD in female Sprague-Dawley rats. *Toxicology and applied pharmacology*, 147, 151-168.
- Wattenberg L.W., Leong J.L., Strand P.J. (1962).** Benzpyrene hydroxylase activity in the gastrointestinal tract. *Cancer research*, 22, 1220-1225.
- Weissenfels W.D., Klewer H., Landhoff J. (1992).** Adsorption of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by soil particles: influence on biodegradability and biotoxicity. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 36, 689-696.

- Williams J.A., Phillips D.H. (2000).** Mammary expression of xenobiotic metabolising enzymes and their potential role in breast cancer. *Cancer res.*, 60, 4667-4677.
- Wilson S.C., Jones K.C. (1993).** Bioremediation of soils contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs): a review. *Environmental pollution*, 88, 229-249.
- Withey J.R., Law F.C.P., Endrenyi L. (1991).** Pharmacokinetics and bioavailability of pyrene in the rat. *J. Toxicol. Environ. Health*, 32, 429-447.
- Wittich R.M. (1998).** Degradation of dioxin-like compounds by microorganisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 49, 489-499.
- Wittsiepe J., Schrey P., Hack A., Selenka F., Wilhelm M. (2001).** Comparison of different digestive tract models for estimating bioaccessibility of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PCDD/F) from red slag "Kieselrot". *Int. J. Hyg. Environ. health*, 203, 263-273.
- Wroblewski V.J., Olson J.R. (1985).** Hepatic metabolism of 2378 tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in the rat and guinea pig. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 81, 231-240.
- Xu L., Li A.P., Kaminski D.L., Ruh M. (2000).** 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin induction of cytochrome P4501A in cultured rat and human hepatocytes. *Chemico-biological interactions*, 124, 173-189.
- Zhang Q-Y., Dunbar D., Ostrowska A., Zeisloft S., Yang J., Kaminsky L.S. (1999).** Characterization of human small intestinal cytochromes P-450. *Drug Metabolism and Disposition*, 27, 804-809.
- Zhang Q-Y., Wikoff J., Dunbar D., Kaminsky L.S. (1996).** Characterization of rat small intestinal cytochrome P-450 composition and inductibility. *Drug Metabolism and Disposition*, 24, 322-328.
- Zile M.H. (1992).** Vitamin A Homeostasis endangered by environmental pollutants. *Proc. Soc. Exp Biol Med.*, 201, 141-153.

Annexes

Annexe 1 : Tableau récapitulatif des propriétés physico-chimiques des HAP (IPCS, 1998)

Composés	N Cycle	P M (g/mol)	TEF	Solubilité aqueuse (mg/l à 25°C)	Log Kow	H (kPa à 25°C)	Tm (°C)	Pv (Pa à 25°C)
Naphtalène	2	128,18	0,001	31,7	3,4	$4,89.10^{-2}$	81	10,4
Acénaphthylène	3	152,20	0,001		4,07	$1,14.10^{-3}$	92 - 93	$8.9.10^{-1}$
Acénaphène	3	154,21	0,001	3,93	3,92	$1,48.10^{-2}$	95	$2,9.10^{-1}$
Fluorène	3	166,20	0,001	1,98	4,18	$1,01.10^{-2}$	114 - 115	8.10^{-2}
Phénanthrène	3	178,21	0,001	1,29	4,6	$3,98.10^{-3}$	100,5	$1,6.10^{-2}$
Anthracène	3	178,21	0,01	0,07	4,5	$7,3.10^{-2}$	216,4	8.10^{-4}
Fluorantène	4	202,24	0,001	0,26	5,22	$6,5.10^{-4}$ (20°C)	108,8	$1,2.10^{-3}$
Pyrène	4	202,24	0,001	0,135	5,18	$1,1.10^{-3}$	150,4	6.10^{-4}
Benzo(a)Anthracène	4	228,27	0,1	0,014	5,61		160,7	$2,8.10^{-5}$
Chrysène	4	228,27	0,01	0,002	5,91		253,8	$8,4.10^{-5}$ (20°C)
Benzo(b)Fluorantène	5	252,29	0,1	0,0012	6,12	$5,1.10^{-5}$	168,3	$6,7.10^{-5}$ (20°C)
Benzo(k)Fluorantène	5	252,29	0,1	0,00076	6,84	$4,4.10^{-5}$ (20°C)	215,7	$1,3.10^{-8}$ (20°C)
Benzo(a)pyrène	5	252,29	1	0,0038	6,50	$3,4.10^{-5}$ (20°C)	178,1	$7,3.10^{-7}$
Indeno(123-cd)Pyrène	6	276,31	0,1	0,062	6,58	$2,9.10^{-5}$ (20°C)	163,6	$1,3.10^{-8}$ (20°C)
Dibenzo(ah)Anthracène	5	278,32	5	0,0005	6,50	7.10^{-6}	266,6	$1,3.10^{-8}$ (20°C)
Benzo(ghi)Perylène	6	268,33	0,01	0,00026	7,10	$2,7.10^{-5}$ (20°C)	278,3	$1,4.10^{-9}$

PM : Poids Moléculaire

H : Constante d'Henry

Tm : Point de fusion

Pv : Pression de vapeur

N cycle : nombre de cycle

TEF : Facteur d'équivalent toxique

Log Kow : logarithme décimal du coefficient de partage octanol/eau

Annexe 2 : Tableau récapitulatif des propriétés physico-chimiques des dioxines (IARC, 1997 ; Govers et Krop, 1998)

Congénères	PM g/mol	TEF	Solubilité (mg/L à 25°C)	Log Kow	H (Pa m ³ /mol)	Tm (°C)	Tv (Pa à 25°C)
2,3,7,8-TCDD	321,98	1	$1,93 \cdot 10^{-5}$	6,96	3,34	305 - 306	$2 \cdot 10^{-7}$
1,2,3,7,8-PeCDD	356,42	0,5		7,50		240 - 241	$5,8 \cdot 10^{-8}$
1,2,3,4,7,8-HxCDD	390,87	0,1	$4,42 \cdot 10^{-6}$	7,94	1,8	273 - 275	$5,1 \cdot 10^{-9}$
1,2,3,7,8,9-HxCDD	390,87	0,1		7,98		243 - 244	$6,5 \cdot 10^{-9}$
1,2,3,6,7,8-HxCDD	390,87	0,1		8,02		285 - 286	$4,8 \cdot 10^{-9}$
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	425,31	0,01	$2,40 \cdot 10^{-6}$	8,40	1,27	264 - 265	$7,5 \cdot 10^{-10}$
OCDD	460,76	0,001	$0,74 \cdot 10^{-7}$	8,75	0,68	325 - 326	$1,1 \cdot 10^{-11}$
2,3,7,8-TCDF	305,98	0,1	$4,19 \cdot 10^{-4}$ (22,7°C)	7,70	1,5	227 - 228	$2 \cdot 10^{-6}$
1,2,3,7,8-PeCDF	340,42	0,05		6,99		225 - 227	$2,3 \cdot 10^{-7}$
2,3,4,7,8-PeCDF	340,42	0,5	$2,36 \cdot 10^{-4}$ (22,7°C)	7,11	0,5	196 - 196,5	$3,5 \cdot 10^{-7}$
1,2,3,4,7,8-HxCDF	374,87	0,1	$8,25 \cdot 10^{-6}$ (22,7°C)	7,53	1,43	225,5 - 226,5	$3,2 \cdot 10^{-8}$
1,2,3,6,7,8-HxCDF	374,87	0,1	$1,77 \cdot 10^{-5}$ (22,7°C)	7,57	0,6	232 - 234	$2,9 \cdot 10^{-8}$
1,2,3,7,8,9-HxCDF	374,87	0,1		7,76		246 - 249	$2,4 \cdot 10^{-8}$
2,3,4,6,7,8-HxCDF	374,87	0,1		7,65		239 - 240	$2,6 \cdot 10^{-8}$
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	409,31	0,01	$1,35 \cdot 10^{-6}$ (22,7°C)	8,01	1,4	236 - 237	$4,7 \cdot 10^{-9}$
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	409,31	0,01		8,23		221 - 223	$6,2 \cdot 10^{-9}$
OCDF	444,76	0,001	$1,16 \cdot 10^{-6}$	8,60	0,2	258 - 260	$5 \cdot 10^{-10}$

PM : Poids Moléculaire H : Constante d'Henry Tm : Point de fusion Tv : Pression de vapeur N cycle : nombre de cycle
TEF : Facteur d'équivalent toxique Log Kow : logarithme décimal du coefficient de partage octanol/eau

Annexe 3 : Contamination en dioxines des produits alimentaires

Aliment	Origine	Année	pg I-TEQ/g MG	Référence
Bacon (cru)	New York (USA)	1996	0,13	Schecter <i>et al.</i> (1998)
Bacon (cuit)	New York (USA)	1996	2,38	Schecter <i>et al.</i> (1998)
Beurre	Espagne (catalognia)	1999-2000	0,47	Abad <i>et al.</i> (2002)
Beurre	Sud du Mississippi	1994	0,87	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Beurre	Sud du Mississippi	1994	0,97	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Beurre	Sud du Mississippi	1994	0,70	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Beurre	Russie (industrie)	1990-1996	0,43	Maystrenko <i>et al.</i> (1998)
Beurre	Danemark	-	0,50	Union européenne (1999)
Bœuf (viande)	Danemark	-	2,60	Union européenne (1999)
Bœuf (viande)	Russie (industrie)	1990-1996	0,90	Maystrenko <i>et al.</i> (1998)
Cheddar	Sud du Mississippi	1994	0,86	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Cheddar	Sud du Mississippi	1994	0,76	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Cheddar	Sud du Mississippi	1994	0,74	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Crabe (corps)	Sud du Mississippi	1994	31,40	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Crabe (corps)	Sud du Mississippi	1994	35,90	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Crabe (corps)	Sud du Mississippi	1994	40,10	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Crabe (pince)	Sud du Mississippi	1994	19,70	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Crabe (pince)	Sud du Mississippi	1994	17,00	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Crabe (pince)	Sud du Mississippi	1994	18,40	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Crème	Russie (industrie)	1990-1996	1,14	Maystrenko <i>et al.</i> (1998)
Crème aigre	Russie (industrie)	1990-1996	1,33	Maystrenko <i>et al.</i> (1998)
Fromage affiné	Russie (industrie)	1990-1996	1,13	Maystrenko <i>et al.</i> (1998)
Fromage	Danemark	-	2,10	Union européenne (1999)
Graisse de canard	Russie (industrie)	1990-1996	0,80	Maystrenko <i>et al.</i> (1998)
Graisse de poulet	Russie (industrie)	1990-1996	1,46	Maystrenko <i>et al.</i> (1998)
Graisse d'oie	Russie (industrie)	1990-1996	1,10	Maystrenko <i>et al.</i> (1998)

Annexe 3 (bis) : Contamination en dioxines des produits alimentaires

Aliment	Origine	Année	pg I-TEQ/g MG	Références
Hamburger	USA	2000	0,01	Kim <i>et al.</i> (2001)
Hamburger (cru)	New York (USA)	1996	0,95	Schechter <i>et al.</i> (1998)
Hamburger (cuit)	New York (USA)	1996	0,87	Schechter <i>et al.</i> (1998)
Huile d'olive	Espagne (catalognia)	1999-2000	0,19	Abad <i>et al.</i> (2002)
Huile végétale	Russie (industrie)	1990-1996	0,18	Maystrenko <i>et al.</i> (1998)
Huître	Sud du Mississippi	1994	31,50	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Huître	Sud du Mississippi	1994	20,60	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Huître	Sud du Mississippi	1994	21,00	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Lait emballé	Russie (industrie)	1990-1996	3,32	Maystrenko <i>et al.</i> (1998)
Lait entier	Espagne (catalognia)	1999-2000	0,36	Abad <i>et al.</i> (2002)
Lait entier	Sud du Mississippi	1994	0,81	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Lait entier	Sud du Mississippi	1994	0,42	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Lait entier	Russie (industrie)	1990-1996	0,28	Maystrenko <i>et al.</i> (1998)
Lait entier	Danemark	-	2,60	Union européenne (1999)
Légumes et dérivés	Danemark	-	0,02	Union européenne (1999)
Maquereau d'Espagne	Sud du Mississippi	1994	27,80	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Moule	Espagne (catalognia)	1999-2000	3,58	Abad <i>et al.</i> (2002)
Œuf	Sud du Mississippi	1994	0,20	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Œuf	Sud du Mississippi	1994	0,18	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Œuf	Danemark	-	1,50	Union européenne (1999)
Pain	Danemark	-	0,10	Union européenne (1999)
Poisson	Russie (industrie)	1990-1996	9,20	Maystrenko <i>et al.</i> (1998)
Poisson et dérivés	Danemark	-	50,00	Union européenne (1999)
Poisson chat d'élevage	Sud du Mississippi	1994	10,20	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Poisson chat d'élevage	Sud du Mississippi	1994	27,80	Fielder <i>et al.</i> (1997)

Annexe 3 (tris) : Contamination en dioxines des produits alimentaires

Aliment	Origine	Année	pg I-TEQ/g MG	Références
Poisson chat d'élevage	Sud du Mississippi	1994	23,50	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Porc	Espagne (catalognia)	1999-2000	0,77	Abad <i>et al.</i> (2002)
Porc (viande)	Russie (industrie)	1990-1996	0,98	Maystrenko <i>et al.</i> (1998)
Poulet	Espagne (catalognia)	1999-2000	3,53	Abad <i>et al.</i> (2002)
Poulet	Russie (industrie)	1990-1996	1,54	Maystrenko <i>et al.</i> (1998)
Poulet (foie)	Sud du Mississippi	1994	0,75	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Poulet (foie)	Sud du Mississippi	1994	0,88	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Poulet (foie)	Sud du Mississippi	1994	1,31	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Poulet (viande)	Sud du Mississippi	1994	0,78	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Poulet (viande)	Sud du Mississippi	1994	0,71	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Poulet (viande)	Sud du Mississippi	1994	0,61	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Poulet frit	Corée	2000	0,34	Kim <i>et al.</i> (2001)
Saucisse	Sud du Mississippi	1994	0,56	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Saucisse	Sud du Mississippi	1994	0,80	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Saucisse	Sud du Mississippi	1994	0,87	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Saucisse	Russie (industrie)	1990-1996	1,21	Maystrenko <i>et al.</i> (1998)
Steak haché	Sud du Mississippi	1994	0,63	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Steak haché	Sud du Mississippi	1994	1,10	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Steak haché	Sud du Mississippi	1994	0,53	Fielder <i>et al.</i> (1997)
Sucre et sucreries	Danemark	-	0,02	Union européenne (1999)
Viandes et dérivés	Danemark		1,08	Union européenne (1999)
Volailles et dérivés	Danemark	-	2,20	Union européenne (1999)

Annexe 4 : Contamination des laits et des produits laitiers en dioxines de différents pays

Pays	Concentration dans le lait (pg I-TEQ/g MG)	Matrice	Référence
USA	0,68±0,23	Lait entier contenu dans des bouteilles en plastique	Ramos <i>et al.</i> (1997)
Allemagne	1,38	Lait entier	Fürst <i>et al.</i> (1992)
France	1,77	Lait entier de Seine Maritime	DGAL (1997)
France	2,13	Lait entier du Pas de Calais	DGAL (1997)
France	1,99	Lait entier cru	DGAL (1997)
Espagne	3,55	Lait en poudre	Ramos <i>et al.</i> (1999b)
Espagne	0,86	Lait pasteurisé	Ramos <i>et al.</i> (1997)
Espagne	1,17	Yaourt	Ramos <i>et al.</i> (1999c)
Espagne	8,12	Yaourt allégé	Ramos <i>et al.</i> (1999c)
Espagne	1,09	Beurre	Ramos <i>et al.</i> (1999a)
Allemagne	1,38	Beurre	Malisch <i>et al.</i> (2000)
France	0,51	Beurre	DGAL (1996)
France	0,62	Beurre de Charente	DGAL (1997)
France	0,51	Beurre du Finistère	DGAL (1997)
France	0,69	Beurre d'Ille et Vilaine	DGAL (1997)
France	0,91	Beurre de Manche	DGAL (1997)
France	0,87	Beurre de Moselle	DGAL (1997)
Allemagne	1,11	Beurre	Fürst <i>et al.</i> (1992)
Espagne	1,09	Beurre	Ramos <i>et al.</i> (1999a)
France	1,51	Crèmes, produits frais et desserts lactés de l'Aisne	DGAL (1997)
France	1,94	Crèmes, produits frais et desserts lactés du Calvados	DGAL (1997)
France	1,17	Crèmes, produits frais et desserts lactés de Gironde	DGAL (1997)
France	0,78	Crèmes, produits frais et desserts lactés de l'Isère	DGAL (1997)
France	1	Crèmes, produits frais et desserts lactés de Moselle	DGAL (1997)
France	1	Dessert lacté	DGAL (1997)
Allemagne	1,37	Crème	Fürst <i>et al.</i> (1992)
France	0,99	Fromages de l'Ain	DGAL (1997)
France	1,21	Fromages du Calvados	DGAL (1997)
France	1,01	Fromages de la Manche	DGAL (1997)
France	1,16	Fromages de la Meuse	DGAL (1997)
France	1,44	Fromages de Haute Savoie	DGAL (1997)
Allemagne	1,83	Fromages	Fürst <i>et al.</i> (1992)

**AUTORISATION DE SOUTENANCE DE THESE
DU DOCTORAT DE L'INSTITUT NATIONAL
POLYTECHNIQUE DE LORRAINE**

o0o

VU LES RAPPORTS ETABLIS PAR :

Monsieur ANDRE François, Directeur de Recherche, LABERCA, Nantes

Monsieur SIMOES NUNES Carlos, Directeur de Recherche, CRNA, Saint Louis

Le Président de l'Institut National Polytechnique de Lorraine, autorise :

Madame LAURENT Claire

à soutenir devant un jury de l'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE,
une thèse intitulée :

**" Evaluation de l'absorption et de la distribution tissulaire des micropolluants
organiques suite à l'ingestion de lait contaminé. "**

NANCY BRABOIS
2, AVENUE DE LA
FORET-DE-HAYE
BOITE POSTALE 3
F - 54501
VANCEUVRE CEDEX

en vue de l'obtention du titre de :

DOCTEUR DE L'INSTITUT NATIONAL POLYTECHNIQUE DE LORRAINE

Spécialité : « **Sciences Agronomiques** »

Fait à Vandoeuvre, le 18 août 2003

Le Président de l'I.N.P.L.

L. SCHUFFENECKER



Service Commun de la Documentation
INPL
Nancy-Brabois

Résumé

Les micropolluants organiques sont des molécules très lipophiles, persistantes, qui peuvent s'accumuler dans les produits d'origine animale. L'alimentation devient ainsi une voie d'exposition potentielle aux dioxines et aux HAP pour une population. Ces travaux de recherche ont porté sur les transferts des micropolluants organiques du lait vers le sang puis vers les tissus cibles (foie, peau, tissu adipeux). Nos résultats démontrent que, suite à l'ingestion de lait contaminé, les micropolluants organiques apparaissent dans le sang. Leur taux d'absorption apparent est dépendant des propriétés physico-chimiques des congénères et des doses ingérées : l'absorption diminue lors d'une augmentation de la lipophilicité et des poids moléculaires des molécules et lors d'une élévation de la dose administrée en 2,3,7,8-TCDD (de 1 à 5000 ng/kg de poids vif). Nos travaux ont également mis en évidence que les HAP seraient majoritairement excrétés des entérocytes dans la veine porte, contrairement aux dioxines. Suite à une ingestion chronique de lait contaminé, les PCDD/F se répartissent principalement dans le foie et le tissu adipeux et, secondairement, dans la peau (à l'exception de la 2,3,7,8-TCDD dont le taux de recouvrement dans ces trois tissus n'excède pas les 50%). La distribution tissulaire dépend des caractéristiques des molécules (lipophilicité et poids moléculaire) mais également de celles des tissus dont la teneur en matière grasse. L'augmentation du poids moléculaire et/ou de la lipophilicité des dioxines limite leur incorporation dans le tissu adipeux. De plus, dans ce tissu, les quantités des dioxines détectées sont corrélées à celles de la matière grasse. Ceci se traduit par une diminution des facteurs de bioconcentration (FBC) dans le tissu adipeux lors d'une augmentation du degré de chloration des congénères. Au niveau du foie, la fixation des dioxines apparaît indépendante des quantités de matière grasse tissulaire. Une distinction peut être faite entre les deux sous-familles : l'incorporation hépatique des PCDD semble facilitée pour les molécules fortement chlorées. Ainsi, les FBC des PCDD augmentent en fonction du nombre d'atomes de chlore. La relation inverse est observée pour les PCDF. Toutefois, pour un même niveau de chloration, les FBC des PCDF sont supérieurs à ceux des PCDD. Ce résultat suggère la présence d'un mécanisme de fixation sélectif au niveau du foie. Ce processus serait également présent au niveau de la peau.

Summary

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) and dioxins are lipophilic organic pollutants, occurring widely in the terrestrial environment. Due to their physical and chemical properties, they migrate through the food chain into hydrophobic compartments. The purposes of this study were to evaluate the transfer of organic micropollutants from milk to blood and then to tissue (liver, skin, adipose tissue). Our results demonstrate that, after ingestion of contaminated milk, PAH and dioxins are detected in the blood. The rate of apparent absorption depends on chemical and physical properties of congeners and ingested quantities: absorption decreases when lipophilicity or molecular weight increase and with increasing of administered doses of 2,3,7,8-TCDD (from 1 to 5000 ng/kg). Our work shows also that PAH would principally be excreted of the intestinal cell by the portal venous. It is not the same case with dioxins. After chronic ingestion of polluted milk, PCDD/Fs are mainly divided up in liver and adipose tissue and secondarily in skin (excepted for 2,3,7,8-TCDD which recovery rate in these tissues is below to 50%). The tissue distribution depends on the lipophilicity or molecular weight of congeners and on the tissues characteristic like the fat level. Increasing of chemical and physical properties limits the incorporation of dioxin in the adipose tissue. Moreover, the quantities of detected PCDD/Fs are bind with fat quantities. This shows a decrease of the bioconcentration factor (BCF), in the adipose tissue, correlated to the chlorination degree. In the liver, dioxins fixation seems to be independent on the quantities of dioxins. A difference should be noticed between PCDDs and PCDFs: the incorporation of PCDDs appears easier for HpCDD or OCDD. The BCF of PCDDs increase with the increasing of chlorination degree. The opposite relation was observed for PCDFs. Nevertheless, for a same level of chlorination, the BCF of PCDFs are higher than those of PCDDs. This result suggests a mechanism of selective linking in the liver. This process would also be present in the skin.