Toxicologie de l'arsenic et de ses composés : importance de la spéciation

Nicole Proust* *responsable cellule Technologies propres*, **Josiane Guéry**** *pharmacienne*,
André Picot** *directeur de recherche*

Summary : ***Toxicology of arsenic and its compounds : importance of speciation***

Arsenic, well known for its toxic properties since Antiquity, is still in use under various forms. This element is full of contradictions, at the same time beneficial for life and harmful. Current industrial applications are agriculture, wood preservative, microelectronics, lead battery... Risks are related to environmental, alimentary and occupational exposure and are function of the nature of the compound, the dose and the exposure duration. Speciation is a fundamental concept to take into account and there is a need to distinguish the various arsenic based molecules. The physicochemical properties, the metabolites, the kinetics of excretion and the effects on the biological cells can be very different and are dependent on the starting chemical.

Mots clés : ***Arsenic, spéciation, toxicologie, métabolisation, biométrologie.***
Key-words : *Arsenic, speciation, toxicology, metabolisation, biometrology.*

L'arsenic est un élément plein de contradictions étant à la fois bénéfique et néfaste à la vie humaine. L'arsenic est connu depuis l'Antiquité car des composés arséniés étaient déjà à cette époque utilisés en médecine [1]. Plus tard, les alchimistes ont appris à griller les sulfures pour produire l'oxyde, qui au Moyen Age a été très largement utilisé comme poison dans les cas d'homicides volontaires et aussi comme pesticide. Selon certains documents, l'arsenic élémentaire aurait été isolé dès le XIIIe siècle, mais il le fut assurément au XVIIIe siècle. La lewisite, un composé organoarsénié chloré extrêmement toxique a été synthétisée pour être utilisée comme gaz de combat pendant la première guerre mondiale. A notre époque, les composés arséniés sont rarement utilisés comme poison ; par contre, certains ont des applications industrielles importantes [2-4], par exemple pour : lutter contre les prédateurs en agriculture, protéger le bois, faire des composants en micro-électronique, fabriquer des batteries... De nos jours, pour l'Homme les risques sont liés à l'exposition professionnelle, environnementale ou nutritionnelle [5]. L'anxiété que suscite l'arsenic est compréhensible et souvent justifiée, certains composés étant à l'origine de très sévères intoxications ou de maladies professionnelles très graves. Ses dérivés inorganiques ont des effets cancérogènes et/ou tératogènes et certains cancers humains, par exemple ceux des poumons et de la peau sont associés à une exposition de longue durée à ses composés. L'Agence Internationale pour la Recherche sur le Cancer a classé cancérogène pour l'Homme (groupe 1) l'arsenic et ses composés. L'élément arsenic à l'état pur (sans couche d'oxyde) n'est pas semble-t-il cancérogène, mais comme il s'auto-oxyde facilement à l'air, sa toxicité est souvent associée à celle du trioxyde, et le principe de précaution peut justifier cette position.

* Laboratoire technologies propres, Laboratoire central de recherches, Thomson CSF, 91404 Orsay Cedex. Tél. : 01.69.33.92.52. Fax : 01.69.33.08.66.
E-mail : nicole.proust@lcr.thomson-csf.com
** Unité de Prévention du Risque Chimique, CNRS, UPS 831, 91118 Gif-sur-Yvette. Tél. : 01.69.82.30.65. Fax : 01.69.82.39.92.
E-mail : Andre.Picot@icsn.cnrs-gif.fr
Serveur : http://www.pre.cnrs-gif.fr

L'arsenic : élément omniprésent dans la nature

En effet, on le trouve dans les roches, dans le sol, l'air, l'eau et aussi dans la matière vivante.

L'arsenic sur la Terre

C'est dans les roches qu'il est le plus abondant puisque plus de 99 % de l'arsenic naturel s'y trouve sous forme de différents minerais, le plus important étant le mispickel FeSAs, les autres étant des sulfures : le réalgar As_4S_4 et l'orpiment As_4S_6.

Il existe un cycle biogéochimique de l'arsenic qui permet d'avoir une bonne idée de la répartition de l'arsenic dans les différents compartiments du biotope et des flux échangés entre les différents réservoirs [6]. Dans la partie superficielle de l'écorce terrestre (2 mg As/kg), dans les météorites, dans les émissions volcaniques, l'arsenic est sous forme de chlorure, de sulfure ou de fluorure. L'arsenic est présent en milieu aquatique : mer, rivière, lac, source, et ceci sous diverses formes chimiques dépendantes des propriétés chimiques du milieu. Les arséniates (forme ionique la plus oxydée de valence +5) sont généralement majoritaires, mais il est possible d'y trouver aussi des arsénites (valence : +3) [7].

Les concentrations d'arsenic total dans l'eau sont très variables, elles peuvent aller de 0,5 µg/L à 2 voire 4 mg/L [8-9]. Pour l'eau de boisson, les standards internationaux appliqués aux eaux potables se situent actuellement entre 10 et 50 ppb,soit entre 0,010 et 0,050 mg d'As/L [7]. Les eaux minérales naturelles ne sont pas soumises à la même réglementation que les eaux potables et certaines devraient être considérées comme des eaux médicamenteuses.

La consommation régulière (10 à 15 ans) d'eau contenant 0,8 mg d'As/L a provoqué par exemple dans le nord du Chili, des intoxications graves telles que des troubles cardiaques et des atteintes de la circulation périphérique touchant près de 30 % de la population. La plus importante étude épidémiologique (~ 40 000 personnes) concernant l'arsenic a été réalisée à Taiwan sur une population ayant bu de l'eau riche en arsenic et qui présentait des troubles vasculaires, des lésions cutanées et parfois des cancers de la peau pour avoir consommé de l'eau riche en arsenic. D'après la dernière conférence internationale sur l'arsenic qui s'est tenue en 1998 à San Diego aux États-Unis, les problèmes de santé publique causés aujourd'hui dans le monde par l'arsenic sont impressionnants car ils concernent des millions de personnes. Les régions les plus touchées par des épidémies émergentes [10] sont situées en Asie : au Bengale ouest en Inde (un million de personnes), au Bengladesh (50 millions d'habitants), en Mongolie intérieure (600 000 personnes) et au Xinjiang en Chine. Il s'agit comme à Taiwan et en Amérique du Sud de consommation d'eau chargée en arsenic, cette eau provenant de couches géologiques particulièrement riches en arsenic minéral. Des problèmes assez récents sont évoqués aussi en Chine dans la région du Yunnan (100 000 personnes) où l'air est pollué par les fonderies de l'industrie des métaux (cuivre en particulier), à Guinzhou (200 000 habitants) où la population locale utilise pour se chauffer, pour sécher les récoltes et pour faire la cuisine du charbon très riche [9] en arsenic (9,6 g d'As/kg). Dans ce cas, il s'en suit donc une pollution importante de l'intérieur des maisons d'habitation (3 à 110 µg d'As/m^3) et une contamination très élevée [9 bis] des piments (100-800 ppm) et du maïs (5-20 ppm) qui sont séchés au-dessus du foyer sans cheminée installé au centre de la pièce principale d'habitation, ce qui a des conséquences très graves sur la santé des personnes. Toutes ces épidémies émergentes sont liées à des expositions longues, certaines d'entre elles étant terminées depuis plus de dix ans et d'autres encore existantes. L'exposition à de l'eau fortement chargée en arsenic a commencé en 1950 en Mongolie intérieure et au nord de Taiwan, en 1960 au Xinjiang et au Bengale ouest, en 1970 au Bangladesh, elle s'est achevée en 1980 au Xinjiang. Pour toutes les autres régions citées précédemment, l'exposition continuait encore en 1998. Toutes les personnes exposées ne sont pas malades et celles qui sont atteintes ne le sont pas de la même façon. La tranche d'âge concernée est très étalée : de 5 à 80 ans avec un pic pour les 40-59 ans. La période de latence des maladies est très variable : de quelques mois à plusieurs années [8].

L'arsenic et l'alimentation

Dans le monde végétal, l'arsenic est stocké généralement dans les racines et s'accumule dans les feuilles vieillies des plantes. Le taux d'arsenic dans l'alimentation et les boissons est très variable [5], il est dû par exemple en ce qui concerne les fruits, les légumes, le riz à des résidus d'herbicides ou d'insecticides. Il peut être à des concentrations très élevées (~ 5 à 50 mg/kg et parfois plus) dans les poissons d'eau de mer, les coquillages et les crustacés où l'arsenic est principalement sous des formes organométalloïdiques méthylées peu toxiques telles que l'arsénobétaïne, l'arsénocholine et les arsénoglucides ; les deux premiers composés sont triméthylés alors que les arsénoriboses sont di- ou triméthylés. Chez les animaux marins, le constituant majoritaire est l'arsénobétaïne $(CH_3)_3As^+CH_2COO^-$, alors que ceux rencontrés dans les algues sont des arsénosucres diméthylés. Il existe une exception en ce qui concerne une algue brune qui contient plus de 60 % de son arsenic sous forme minérale [11]. La concentration d'arsenic peut être très élevée dans certaines algues et la spéciation est à prendre en considération d'autant que l'on envisage de développer l'utilisation des algues dans certains domaines industriels. Les poissons d'eau douce ont une concentration en arsenic dix fois plus faible que dans les animaux marins de même espèce [12]. Le taux d'arsenic est très faible dans les viandes blanches et rouges (~ 0,001 à 0,060 mg/kg) bien que certains composés arséniés soient utilisés en supplémentation animale ; il est peu élevé dans les boissons telles que le lait, le vin ou la bière. Depuis quelques années seulement, les scientifiques essaient de déterminer la consommation journalière d'arsenic minéral par l'Homme, ce qui donne de 8 à 14 µg/jour pour la population des États-Unis et 5 à 13 µg/jour pour celle du Canada [13]. Pour la plupart des adultes un apport d'arsenic minéral par la nourriture de 1 à 20 µg/jour est prévisible. Les sources d'arsenic minéral seraient principalement le riz brut (0,070 µg/g), la farine (0,010 µg/g) et le jus de raisin (0,009 µg/g). La dose admissible journalière maximale provisoirement recommandée par WHO (World Health Organisation) pour l'arsenic inorganique est de 2 µg/kg de poids corporel avec un maximum de 150 µg/jour. Il arrive cependant que, dans certains cas, l'Homme soit exposé à divers composés arséniés de par son activité professionnelle. Les travailleurs les plus exposées sont les mineurs, les fondeurs et les personnes qui préparent ou manipulent le trioxyde d'arsenic As_2O_3, les produits de traitement du bois, les herbicides et les insecticides. Les autres industries qui utilisent des composés arséniés (domaines du verre, de la céramique, de la microélectronique...) peuvent aussi constituer des lieux d'exposition.

Divers cas d'exposition environnementale, nutritionnelle ou professionnelle ont été rapportés dans la littérature et certains ont donné lieu à des études épidémiologiques [4,14-17].

L'arsenic et ses composés

On peut classer les composés de l'arsenic en deux familles distinctes : les composés purement minéraux (inorganiques) et les composés organométalloïdiques. Ils peuvent être, à la température ambiante, sous différentes formes : gazeuse, liquide ou solide.

Composés minéraux

Parmi les dérivés inorganiques toxiques, on distingue

ceux dont la valence est :

(-3) : AsH_3 l'arsine ou arsane.

(+3) : As_2O_3 l'anhydride arsénieux ; $AsCl_3$ le trichlorure d'arsenic ; Cu $(AsO_2)_2$ l'arsénite de cuivre ou vert de Scheele ; $KAsO_2$ l'arsénite de potassium...

(+5) : As_2O_5 l'anhydride arsénique ; $Pb_3(AsO_4)_2$ l'arséniate de plomb ; $Ca_3(AsO_4)_2$ l'arséniate de calcium...

Dans ce cas précis, le composé minéral le plus toxique est l'arsine (valence : -3). Généralement les composés trivalents sont bien plus toxiques que les dérivés pentavalents. Ainsi, la toxicité décroît de l'arsine à l'arsenic élémentaire : $AsH_3 > As_2O_3 > As_2O_5 > As$.

Composés organométalloïdiques

Parmi les dérivés organiques, on peut citer ceux dont la valence est :

(- 3) : CH_3AsH_2 monométhylarsine ; $(CH_3)_2AsH$ dimé thylarsine ; $(CH_3)_3As$ triméthylarsine ; $(CH_3)_3CAsH_2$ terbutylarsine (ou TBA) ; $[N(CH_3)_2]_3As$ trisdiméthylaminoarsine (ou DMAA)...

(+ 3) : $CH_3As(OH)_2$ acide monométhylarsénieux...

(+ 5) : $CH_3AsO(OH)_2$ acide monométhylarsonique soit AMA en français (ou MMA en anglais) ; $(CH_3)_2AsOOH$ acide diméthylarsinique (ADA en français ou DMA en anglais) ; arsénobétaïne $(CH_3)_3As^+CH_2COO^-$; arsénocholine $(CH_3)_3As^+(CH_2)_2OH$...

L'arsenic et ses applications industrielles

La production mondiale annuelle d'arsenic était en 1980 [1] de l'ordre de 75 000 à 100 000 tonnes. Le premier producteur mondial était la Suède. 97 % de la production mondiale de l'arsenic entrait dans les produits finis sous forme de As_2O_3 et 80 % de l'anhydride arsénieux (As_2O_3) était destiné à des applications agricoles.

Extraction de minerais et métallurgie

L'extraction de l'arsenic à partir des minerais aurifères, le raffinage du cuivre, du plomb, du zinc, du cobalt où l'arsenic est présent comme impureté dans les produits de départ font des mines et des fonderies des industries où une exposition à l'arsenic minéral peut être observée, ce qui très souvent complique des pathologies professionnelles déjà bien handicapantes.

Agriculture

Jusqu'en 1940, des composés minéraux à base d'arsenic (As_2O_3, As_2O_5, $Pb_3(AsO_4)_2$...) ont été utilisés comme insecticide pour détruire le pou de la vigne. Depuis l'avènement des pesticides organochlorés puis organophosphorés, l'utilisation de l'arsenic comme insecticide a diminué ; cependant, l'utilisation comme herbicide demeure en particulier sous forme d'acide cacodylique (acide diméthylarsinique). Les composés à base d'arsenic sont encore utilisés comme défoliants dans les champs de coton pour permettre une récolte mécanisée.

Traitement du bois

Dans certains pays, y compris la France, l'arsenic est utilisé sous la forme d'un complexe Cu, Cr, As (CCA) pour le traitement du bois et se retrouve ainsi dans les matériaux des aires de jeux pour les enfants, ce qui n'est peut-être pas sans risque.

Applications diverses

L'industrie des batteries au plomb consomme beaucoup d'arsenic. En effet, elle utilise un alliage plomb-antimoine-arsenic. L'arsenic augmente la résistance à la corrosion électrolytique, donc la durée de vie d'une batterie.

Dans le domaine pharmaceutique, l'arsenic a été utilisé pendant des décennies pour préparer les médicaments qui permettaient de traiter : la syphilis, l'amibiase, le psoriasis, la maladie du sommeil. Certaines molécules ont été préconisées pour stimuler l'appétit et améliorer le souffle en altitude. L'utilisation de composés arsénicaux pour usage thérapeutique est de nos jours très limitée, et on ne peut que s'en féliciter car beaucoup présentaient une toxicité non négligeable, en particulier la liqueur de Fowler.

L'industrie de l'électronique utilise des semi-conducteurs tels que l'arséniure de gallium (AsGa) pour la réalisation de certains composants électroniques ou optoélectroniques. Les produits sources, permettant la synthèse de AsGa et de ses dérivés, utilisés majoritairement jusqu'à maintenant sont l'arsenic élémentaire et l'arsine dont le nom officiel est l'arsane (AsH_3 hydrure d'arsenic). L'arsine est un hémolysant puissant et depuis plusieurs années, des produits de substitution organométalloïdiques qui sont moins toxiques pour l'Homme sont mis en œuvre dans les laboratoires de recherche afin de développer de nouvelles technologies. Dans les composants réalisés à base de silicium, l'arsenic intervient comme dopant pour modifier les propriétés électriques du silicium.

Dans l'industrie du verre, l'arsenic est employé comme agent décolorant et y est ajouté en faible quantité (0,2 à 1 %) [1].

Dans l'industrie des colorants, les pigments de peinture comme le vert de Paris et le vert de Scheele (arsénite de cuivre : $Cu(AsO_2)_2$) sont des composés à base de cuivre et d'arsenic.

Un autre exemple d'alliage arsenic-plomb se retrouve dans la fabrication des plombs de chasse, la dureté étant apportée par l'arsenic.

Un composé organochloré d'arsenic a été développé pendant la première guerre mondiale pour fabriquer des armes chimiques, il s'agit de la lewisite (Agent L.), gaz vésicant mis au point par les Américains pour dissuader les Allemands d'utiliser le dichlore et les gaz moutardes (ypérite...). Cette application a permis la mise au point et le développement de l'antidote qui se nomme la British Anti-Lewisite (BAL). Cette molécule est utilisée en médecine comme agent chélateur pour le traitement des patients après une exposition aiguë.

Spéciation et toxicologie des composés de l'arsenic

La notion de spéciation commence à être bien admise dans les milieux scientifiques par les toxicologues, les ana-

lystes... ; cependant, bien des efforts restent à faire pour intégrer cette dimension dans les textes normatifs et réglementaires. La spéciation pose aux analystes des problèmes complexes mais intéressants qui vont déboucher sur une plus grande diffusion des techniques existantes et sur le développement de nouveaux instruments de mesure bien adaptés, présentant une bonne sensibilité et capables de mesurer des traces.

Toxicité et propriétés physico-chimiques

Tout d'abord, il faut rappeler que les produits chimiques peuvent pénétrer dans le corps humain par plusieurs voies (orale, cutanée, respiratoire et parfois par la muqueuse nasale). Ils passent ensuite dans le sang (où ils peuvent être transformés) et sont disséminés dans l'organisme par la circulation sanguine. Si les produits de départ auxquels l'individu a été exposé sont liposolubles, le passage dans la voie sanguine va pouvoir être rapide car les membranes des cellules biologiques sont surtout constituées de lipides. Si les produits de transformation des toxiques (métabolites) sont liposolubles, au cours de « leur voyage » dans le corps, ils vont rester dans certains organes privilégiés et y être stockés. Ils vont de ce fait entraîner des problèmes de toxicité plus ou moins graves dépendants de leurs propriétés physico-chimiques.

L'organisme, à la suite d'une exposition, essaie toujours de transformer les produits chimiques exogènes en métabolites hydrosolubles facilement éliminables en général par les urines. Ces métabolisations sont plus ou moins complexes et imparfaites, et peuvent prendre parfois beaucoup de temps, notamment dans le cas de substances liposolubles. Il est à noter que le foie est un organe très important qui agit comme un filtre, il est le siège de beaucoup de réactions de métabolisation des produits chimiques xénobiotiques, et son rôle est essentiel dans le cas des composés de l'arsenic.

Certaines des propriétés physico-chimiques des différentes espèces chimiques de l'arsenic ont beaucoup d'importance car elles fournissent des informations utiles à la compréhension des mécanismes de toxicité. L'état physique de la molécule à la température ambiante, les températures de fusion, d'ébulition... sont des paramètres permettant d'évaluer les modes de pénétration et l'importance des expositions potentielles. Il faut se souvenir que l'eau est un des constituants prépondérants des milieux biologiques (75 %), donc le comportement des produits toxiques vis-à-vis de cette molécule est à prendre particulièrement en compte. La solubilité des produits chimiques va conditionner les cinétiques de pénétration dans les cellules puis de métabolisation et d'excrétion... Les molécules toxiques peuvent être insolubles, liposolubles ou hydrosolubles. Parfois les situations ne sont pas aussi nettes et certains produits présentent un coefficient de partage entre l'eau et les lipides, ce qui ne contribue pas à simplifier le problème.

A titre d'exemple, l'absorption, la répartition et le stockage du mercure dans l'organisme sont fonction de l'espèce chimique en cause (spéciation) et des propriétés physicochimiques de ses composés [19].

Généralement, la toxicité d'ions et de molécules est fonction de leurs propriétés physico-chimiques telles que : état à la température ambiante, volatilité, solubilité dans l'eau et les lipides, réactivité avec le dioxygène, possibilité de former des composés organominéraux...

L'arsine et ses produits de substitution

L'arsine est un toxique aigu redoutable par suite de son puissant pouvoir hémolysant destructeur des globules rouges, ce qui peut entraîner de graves lésions, en particulier rénales. En conséquence, en milieu industriel, des mesures de prévention coûteuses doivent être mises en œuvre afin de garantir la sécurité des travailleurs et protéger au mieux l'environnement. Ainsi, certains États américains ont interdit l'utilisation de l'arsine dans les usines de production de composants électroniques et, de ce fait, il y a un peu moins de dix ans, des études ont démarré aux États-Unis pour rechercher des produits sources de remplacement moins toxiques et plus faciles à mettre en œuvre. La substitution des hydrogènes de la molécule d'hydrure par des groupements organiques entraîne en général une diminution de la toxicité. C'est ainsi qu'en microélectronique sont apparues deux molécules intéressantes pour leur capacité à fournir un matériau de qualité proche de celui obtenu avec l'arsine, il s'agit de la terbutylarsine TBA (substitution d'un hydrogène) et la trisdiméthylaminoarsine DMAA (substitution des trois hydrogènes, se reporter au paragraphe composés métalloïdiques en ce qui concerne les formules chimiques) .

En expérimentation animale (rats) par inhalation (4 heures), la toxicité aiguë est d'environ de 2 à 10 fois moins importante pour la TBA (CL_{50} entre 70 et 90 ppm) que pour l'arsine (CL_{50} entre 5 et 40 ppm) et autre avantage non négligeable, la TBA ne serait pas hémolysante. Une autre molécule trisubstituée a été étudiée, il s'agit de la triméthylarsine. Sa CL_{50} pour les souris est de l'ordre de 2 000 ppm ; dans ce cas, il y a un gain important en terme de toxicité par rapport à l'arsine, mais la triméthylarsine ne permet pas de faire des films d'arséniure de gallium de qualité adéquate et ne peut donc pas être utilisée comme source d'arsenic en remplacement de l'arsine.

Il faut aussi remarquer que l'arsine est un gaz conditionné sous pression tandis que la TBA est un liquide ayant une faible pression de vapeur, ce qui diminue considérablement les risques en cas d'accident majeur.

L'autre précurseur, la DMAA que l'on espérait peu toxique du fait de la substitution des trois hydrogènes par des groupements organiques, ne l'est pas. Elle présente une DL_{50} de 15 ppm comme on peut le voir dans le *tableau I* et sa toxicité est supérieure à celle de l'anhydride arsénieux (34,5 ppm). Si l'on compare sa DL_{50} à celle de la triméthylarsine (8 000 ppm), il existe une très grande différence bien que les trois hydrogène soient substitués dans les deux cas. La DMAA est le seul composé organométalloïdique du *tableau I* à avoir une toxicité importante et comparable à celle des composés minéraux tout du moins en terme de DL_{50}. *In vivo*, cette molécule [18] s'hydrolyse et conduit à deux produits toxiques, l'anhydride arsénieux As_2O_3 et la diméthylamine qui peuvent, peut-être, exercer un effet de synergie, ce qui pourrait expliquer cette DL_{50} très faible.

Tableau I - DL_{50} de certains composés de l'arsenic [18].

Composés arséniés	DL_{50} (mg/kg ou ppm en poids)	Animal/ mode d'administration
Arsénite : trioxyde d'arsenic	34,5	Souris/oral
Arsénite : arsénite de sodium	4,5	Rat/intrapéritonéal
Arséniate : arséniate de sodium	14-18	Rat/intrapéritonéal
AMA : acide monométhylarsonique	1 800	Souris/oral
ADA : acide diméthylarsinique	1 200	Souris/oral
Arsénobétaïne	10 000	Souris/oral
Oxyde de triméthylarsine	10 600	Souris/oral
Triméthylarsine	8 000	Souris/sous-cutané
Trisdiméthylaminoarsine	15	Souris/sous-cutané

Toxicité aiguë et DL_{50} de certains composés

D'après le *tableau I*, les composés de l'arsenic les plus toxiques sont principalement minéraux plutôt qu'organométalloïdiques. Dans le cas du mercure [19] et de l'étain, il n'en est pas de même, et certains de leurs composés organométalliques présentent une toxicité beaucoup plus importante que celle observée avec leurs dérivés inorganiques.

Métabolisation, excrétion et intoxication

Comme cela a été dit précédemment, selon la nature physique et les propriétés physico-chimiques des divers composés arsénicaux, les trois voies de pénétration (orale, cutanée, pulmonaire) peuvent être empruntées. Après exposition, pénétration dans l'organisme, l'arsenic et ses composés seront métabolisés, si nécessaire, en vue de leur excrétion et ceci afin d'éviter toute accumulation néfaste. Les mécanismes de détoxification mis en jeu sont complexes. Ils ont pu être décrits, en particulier, grâce aux travaux de l'équipe du professeur Lauwerys de l'Université Catholique de Louvain [20]. Des études très intéressantes concernant la modélisation de l'excrétion des composés de l'arsenic chez les animaux et l'Homme viennent d'être publiées en 1998 [21] et complètent les travaux du professeur Buchet qui seront très brièvement décrits plus loin [22-23].

Après pénétration dans l'organisme, il y a transformation par métabolisation des produits initiaux et l'excrétion se fait par plusieurs voies : les urines, les fèces et la kératine (la peau et les phanères : ongles, cheveux et poils). En règle générale, les cinétiques d'excrétion urinaire et fécale sont beaucoup plus rapides que celles correspondant à la kératine, ce qui signifie qu'une partie de l'arsenic présent dans l'organisme reste et circule un certain temps avant d'être éliminé. En conséquence, il est difficile d'apprécier avec précision si la dose est intégralement excrétée. La cinétique urinaire est la seule à être à peu près bien connue tout du moins pour certaines molécules. Elle est très dépendante de l'espèce chimique, source d'exposition comme nous le verrons plus loin dans le cadre des travaux du professeur Buchet, la demi-vie biologique est plus grande pour un composé minéral que pour un composé monométhylé, cette dernière étant elle-même plus élevée que celle d'un composé diméthylé. La répartition au niveau de l'excrétion entre les trois compartiments : urines, fèces et kératine ainsi que la nature des métabolites sont aussi fonction de la molécule de départ.

L'organisme humain peut contrôler l'apport de doses modérées d'arsenic non organique (arséniates, arsénites, anhydride arsénieux...), car il possède une capacité de transformation de cet élément tout à la fois rapide, efficace et originale. Pour se débarrasser de l'arsenic minéral, l'organisme humain comme celui de beaucoup de mammifères utilise une voie de détoxication assez inhabituelle dite de méthylation.

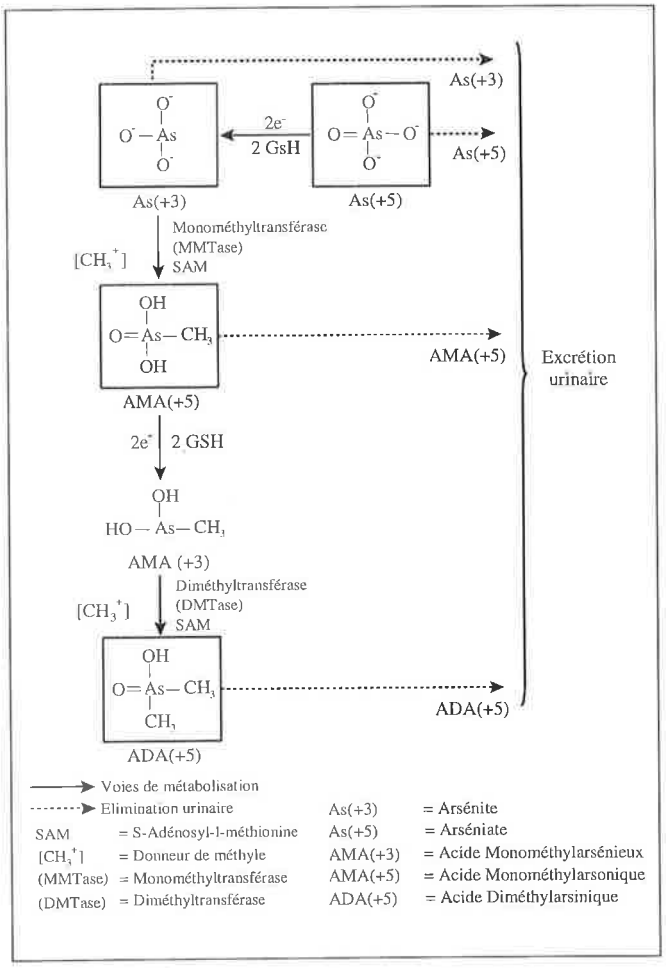

Figure 1 *- Métabolisation de composés minéraux de l'arsenic.*

Dans le cas de l'arsenic minéral, comme l'indique le schéma de la *figure 1*, il va y avoir fixation d'un premier groupement organique méthyle avec une cinétique lente puis, dans une seconde étape, une addition rapide d'un second méthyle. Cette alkylation est catalysée par une méthyltransférase qui utilise comme donneur de méthyle la S-adénosyl-méthionine ou SAM, composé soufré extrêmement efficace comme source de méthyle. La vitamine B_{12} (qui contient du cobalt) sous forme de méthylcobalamine coopère à ces réactions d'alkylation.

Dans le sang, les composés pentavalents de l'arsenic (arséniates), avant d'être méthylés, doivent subir une réduction qui les transforme en composés trivalents (arsénites) qui sont de fait beaucoup plus toxiques.

C'est au niveau du foie que vont se dérouler les deux réactions de méthylation de l'arsenic qui doit être obligatoirement sous forme trivalente.

La première étape consiste à fixer un groupement méthyle sur l'atome d'arsenic avec formation d'acide monométhylarsonique AMA dont une partie sera éliminée dans les urines.

Dans une seconde étape, ce composé organique de l'arsenic est méthylé en acide diméthylarsinique ADA, connu aussi sous le nom d'acide cacodylique, qui est généralement le métabolite majoritaire que l'on va retrouver dans les urines avec l'AMA et une quantité d'arsenic sous forme minérale de valence (+3) et (+5).

L'avantage de ces deux réactions de méthylation est de diminuer la toxicité des composés arsénicaux de départ.

Le temps nécessaire à l'élimination de l'arsenic de l'organisme humain dépend de la voie de pénétration, de la sévérité de l'intoxication et de la nature des composés auxquels l'individu peut être exposé. Des éléments de réponse concernant la cinétique d'excrétion urinaire sont fournis par les expériences réalisées par le professeur Buchet en 1981 avec des volontaires ayant ingéré une dose de 500 microgrammes d'As à partir d'un composé minéral $NaAsO_2$ (valence : +3), ou d'un composé monométhylé $CH_3AsO_3Na_2$, ou d'un composé diméthylé $(CH_3)_2AsO_2Na_2$. Après définition d'un protocole de recueil des urines, elles ont été collectées sur une période de 96 heures après l'ingestion. La spéciation des différents métabolites a été réalisée et elle a fourni de précieux renseignements sur la vitesse d'excrétion horaire de l'arsenic dans les urines et la répartition des trois types de métabolites dans les prélèvements en fonction du temps écoulé après l'exposition. L'analyse de ces informations présentées dans le *tableau II* est utile pour la détermination du moment le plus adapté pour faire les prélèvements urinaires et pour l'interprétation des résultats. Les résultats du professeur Buchet concernent une exposition orale ; dans ce cas, le toxique passe d'abord par le foie avant d'entrer dans la circulation sanguine, ce qui est différent d'une exposition par la voie respiratoire où le produit chimique ou ses métabolites arrivent directement dans le sang pour être distribué partout dans l'organisme, y compris dans le foie. Les cinétiques d'excrétion sont probablement un peu différentes selon que l'exposition est orale ou autre (respiratoire ou cutanée par exemple).

Les mécanismes impliqués dans la toxicité des composés de l'arsenic sont imparfaitement connus, surtout ceux intervenant dans les processus génotoxiques ou immunotoxiques. C'est la forte affinité des composés présentant une fonction thiol S-H (protéines) pour les composés trivalents de l'arsenic qui serait responsable de la grande cytoxicité de ces composés et ceci par inhibition de réactions enzymatiques vitales pour la cellule.

Pour les composés pentavalents de l'arsenic, comme les arséniates, beaucoup moins toxiques, c'est leur ressemblance avec les phosphates qui leur permet de se substituer à ces derniers qui sont essentiels dans la formation de l'ATP (adénosine triphosphate). L'ATP qui sert au transfert d'énergie dans la cellule est une molécule omniprésente dans toutes les cellules et joue un rôle important dans de nombreux processus biologiques indispensables à la vie.

Des recherches ont été entreprises sur des animaux, principalement au Japon, pour comprendre les mécanismes de métabolisation et d'excrétion consécutifs à des expositions à l'arséniure d'indium (AsIn) et à l'arséniure de gallium (AsGa). Si les résultats obtenus sur les animaux sont transposables à l'Homme, il semble qu'il ne soit pas possible par une biométrologie urinaire classique (spéciation des composés de l'arsenic dans les urines) de mettre en évidence une exposition à l'arséniure de gallium ou à l'arséniure d'indium. Il a été observé dans le cas d'exposition à des particules par voie respiratoire, que les macrophages dans les poumons ont beaucoup de difficulté à rompre les liaisons As-Ga et As-In. Si l'on suit l'excrétion de l'arsenic dans les urines, elle s'étale sur une grande période et il n'y a pas de pic bien marqué, la quantité excrétée (0,1 % à 0,2 % sur 3 jours) est très faible par rapport à la dose initiale donnée aux animaux [18].

Des recherches sont en cours aux États-Unis dans l'équipe du professeur Fowler pour mettre au point de nouveaux indicateurs biologiques permettant la mise en évidence d'une exposition à ces composés arséniés particuliers. En effet, ces travaux portent sur des porphyrines que l'on trouve dans les urines et dont l'excrétion serait modifiée par la présence d'arsenic.

Les mécanismes impliqués dans la cancérogénèse (cutanée ou pulmonaire) de l'arsenic et ses dérivés sont actuellement imparfaitement connus mais pourraient intervenir au niveau de l'amplification de gènes du cancer (oncogènes)

Tableau II - Métabolisation et excrétion de composés arséniés ingérés par l'Homme [20].
Dose en As : 500 µg.

Molécule ingérée	Caractéristique de l'excrétion urinaire E(As) sur 4 jours	Métabolites dans les urines et leur répartition sur 4 jours
$NaAsO_2$	E(As) = 45 % dose 0,5 E en 28 heures	As inorg. + AMA + ADA As inorg. majoritaire au début, ADA à la fin ~ 25 % As inorg. + 21 % AMA + 54 % ADA
$CH_3AsO_3Na_2$	E(As) = 78 % dose 0,5 E en 4 heures	AMA + ADA AMA majoritaire au début ADA majoritaire à la fin ~ 13 % ADA + 87 % AMA
$(CH_3)_2AsO_2Na_2$	E(As) = 75 % dose 0,5 E en 11 heures	ADA ~ 100 % ADA

impliqués dans le développement du processus tumoral. En fait, l'arsenic ne semble pas agir comme un initiateur de cancérogénèse mais plutôt comme un promoteur, peut être en interférant avec les enzymes de réparation des erreurs produites au niveau de l'ADN.

Le schéma simplifié de la *figure 2* rend compte des diffé-

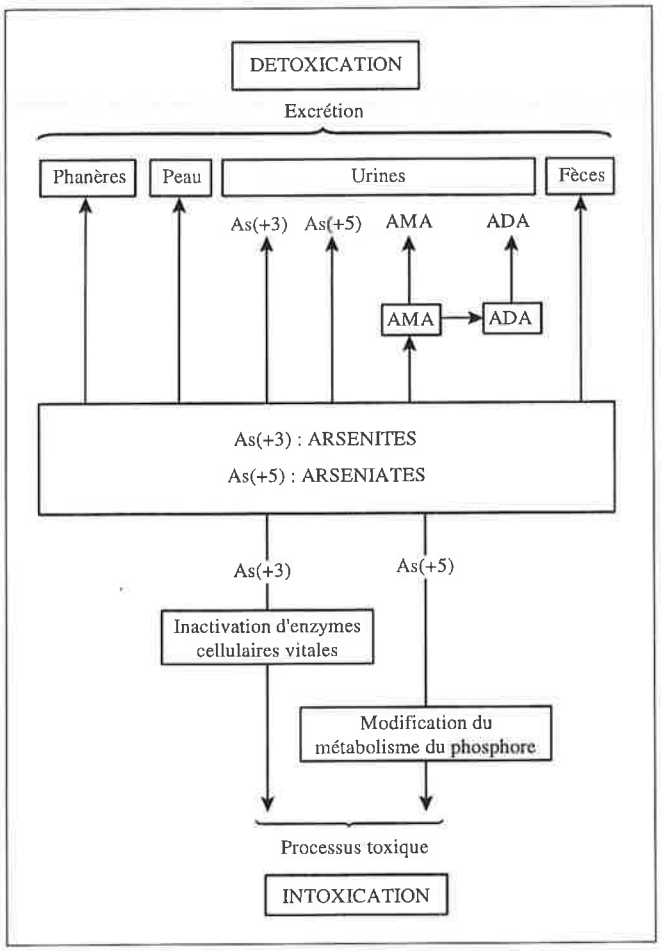

***Figure 2** - Métabolisation, excrétion, intoxication relatives aux composés minéraux de l'arsenic.*

Glossaire médical sommaire

Acrocyanose : Atteinte des extrémités (doigts et mains qui deviennent bleuâtres) qui est liée à la présence excessive dans le sang d'hémoglobine réduite à laquelle n'est plus fixée le dioxygène.
Dermite (ou dermatite) : Affection de la peau d'origine inflammatoire mais qui peut être aussi d'origine allergique (allergie de contact).
Dysphagie : Difficulté à avaler, en particulier les aliments.
Folliculite : Inflammation des follicules (structure tissulaire se présentant sous la forme de petits sacs) pileux qui constitue la lésion essentielle de l'acné.
Hépatomégalie : Augmentation du volume du foie.
Hypoplasie médullaire : Atteinte de la synthèse des globules blancs au niveau de la moelle osseuse des os.
Ictère : Coloration jaune de la peau et des muqueuses due notamment à la bilirubine, pigment biliaire résultant de la dégradation dans l'organisme de l'hémoglobine (protéine sanguine qui transporte le dioxygène).
Kératose : Épaississement de la couche cornée de l'épiderme.
Leucopénie : Diminution du nombre de globules blancs polynucléaires (leucocytes) dans le sang.
Mélanome : Tumeur des tissus (par exemple la peau) colorée par la mélanine, pigment impliqué dans la protection contre les rayons ultraviolets.
Oligurie : Diminution de la quantité d'urine excrétée par les reins.
Péricardite : Inflammation du péricarde, enveloppe de protection du cœur.
Polynévrite : Inflammation des nerfs périphériques longs, par exemple d'un membre...
Protéinurie : Présence de certaines protéines dans les urines et qui ne devraient pas s'y trouver.
Thrombocyte : Plaquettes du sang impliquées dans la coagulation.
Thrombopénie : Diminution du nombre des plaquettes du sang pouvant entraîner des hémorragies.

Tableau III - Signes cliniques d'intoxications à l'arsenic : aiguës et à long terme [24].

Organe	Toxicité aiguë	Toxicité à long terme
Peau	Rougeur, dermite de contact, folliculite. Cheveux : chute retardée Ongles : bandes de Aldrich – Mees (4 à 6 semaines après)	Mélanome, maladie de Bowen (peau marron), œdème facial, hyperkératose palmoplantaire, cancers cutanés, hyperpigmentation, desquamation.
Système nerveux	Fièvre très élevée, convulsions, tremblements, coma, perte d'équilibre.	Encéphalopathie, maux de tête, polynévrites, dégénérescence axonale.
Tractus gastro-intestinal	Douleurs abdominales, dysphagie, vomissements, diarrhées très liquides et sanguinolentes, odeur alliacée de l'haleine et des selles, glaires, dégénérescence graisseuse du foie.	Nausées, vomissements, diarrhée, anorexie, perte de poids, hépatomégalie, ictère, pancréatite, cirrhose.
Reins	Atteintes tubulaires et glomérulaires, oligurie, urémie	Néphrite, protéinurie.
Système cardio-vasculaire	Anomalies, fibrillation ventriculaire, tachycardie ventriculaire atypique.	Arythmie, péricardite, Acrocyanose, syndrome de Raynaud (tombée des extrémités), gangrène.
Système respiratoire	Œdème pulmonaire, pneumonie, trachéo-bronchite	Toux, fibrose pulmonaire, cancer du poumon.
Moelle osseuse et sang	Anémie, thrombopénie.	Hypoplasie médullaire, anémie, leucopénie, thrombopénie.

rentes voies empruntées par les composés tri- et pentavalents de l'arsenic qui une fois dans l'organisme doivent être rapidement éliminés pour éviter l'apparition des processus toxiques.

Il est à noter que la vitamine C (acide ascorbique) a une action protectrice vis-à-vis de l'anhydride arsénieux, peut-être en intervenant au niveau des processus oxydo-réducteurs.

Organotoxicité

Le *tableau III* permet d'avoir une vue d'ensemble des organes cibles de l'arsenic et de ses composés et des types de toxicités rencontrées dans les cas d'intoxications aiguës et d'intoxications à long terme [24].

Suivi biologique et spéciation. Technique analytique utilisée

En cas d'exposition professionnelle éventuelle à des composés arsénicaux, il est nécessaire de disposer d'une méthode analytique fiable et sûre permettant le dosage des trois métabolites (As inorganique (+3 et +5), AMA et ADA) dans les urines. Il ne faut pas, bien entendu, mesurer l'arsenic total, il est nécessaire d'éliminer les composés d'origine alimentaire triméthylés tels que l'arsénobétaïne. La méthode utilisée consiste à faire réagir As^{+3}, As^{+5}, AMA et ADA en solution acide avec du borohydrure de sodium, cette réduction entraîne le dégagement des arsines correspondantes qui seront mesurées par spectroscopie d'absorption atomique [25] et, dans la technique expérimentale utilisée, l'arsenic alimentaire apporté par le poisson ne réagit pas pour dégager un hydrure et, de fait, se trouve éliminé de la mesure. La contribution de chaque métabolite : As inorganique, AMA et ADA pourrait être déterminée en utilisant des moyens appropriés qui permettraient la séparation des espèces. Dans ce but, des techniques de chromatographie en phase liquide à haute performance peuvent être utilisées [26].

Interférences de type alimentaire possibles (poisson, produits de la mer et eaux de boisson)

Pour l'interprétation des résultats d'analyse consécutifs à une exposition professionnelle (ceci d'autant plus qu'elle est faible), il est important de pouvoir éliminer les interférences éventuelles d'origine alimentaire qui sont de deux types.

La consommation d'eau de boisson contenant de l'arsenic minéral (parfois quelques dizaines de microgrammes par litre) conduit au même résultat qu'une exposition professionnelle à l'arsenic minéral au niveau de l'excrétion urinaire. Les concentrations en arsenic minéral (généralement presque exclusivement sous forme d'arséniate) contenues dans diverses boissons analysées (eaux de source, minérales, du robinet et autre) sont variables, la gamme de variation observée dans nos mesures est 0,2 et 50 µg/L.

La consommation de poissons, de coquillages ou de crustacés provoque une augmentation importante et inhabituelle de la concentration de l'ADA dans les échantillons d'urines prélevés, phénomène mis en évidence dans une étude récente publiée en 1996 par le professeur Buchet et explicable par le fait que les composés triméthylés contenus dans la chair des poissons peuvent être déméthylés partiellement par la cuisson et/ou la digestion. L'élimination de composés diméthylés comme il a été présenté plus haut s'effectue rapidement et presque essentiellement sous forme d'ADA. Des études de métabolisation et de cinétique d'excrétion de l'arsénobétaïne chez l'Homme ont été réalisées et montrent que ce composé triméthylé est éliminé très rapidement (78 % de la dose en 1,5 jour), sans transformation et principalement par voie urinaire [26].

Dose admissible journalière

Au plan nutritionnel, la dose d'arsenic admissible journalière est de 0,150 mg/jour pour un adulte de 70 kg ou encore de 0,002 mg/kg de poids corporel.

Les principaux apports sont dus :

- aux poissons et produits de la mer (coquillages, crustacés et algues) ;
- aux résidus de traitement des fruits, des légumes et du riz ;
- aux œufs et à la viande de porc parfois lorsque des composés arséniés sont utilisés en supplémentation animale ;
- à l'eau de boisson.

Indicateurs biologiques d'exposition

Pour l'interprétation des résultats d'analyse d'urine, il existe des indicateurs biologiques [27] qui en fait sont des chiffres guides. Les personnes sont dites non exposées professionnellement si la somme des trois métabolites mesurés (As inorganique + AMA + ADA) dans les urines est < 10 microgrammes d'As/g de créatinine, les interférences alimentaires ayant été évitées bien entendu. Lorsqu'il y a exposition professionnelle à raison de 10 µg As/m^3 d'air, on peut s'attendre à mesurer dans les urines 30 µg As/g créatinine et 50 pour 50 µg As/m^3 d'air [27].

Une étude a été conduite en Belgique et publiée en 1996 par le professeur Buchet [22] sur une population non exposée comprenant 400 hommes et 556 femmes (villes de Charleroi et Liège) ; les résultats montrent qu'environ 80 % de la population présentent un taux inférieur ou égal à 10 µg As/g créatinine, les 20 % restants ont des valeurs supérieures et ceci s'explique par des susceptibilités individuelles et des capacités de métabolisation différentes. Ce travail illustre les variations qu'il est possible d'observer dans la réalité sur les indicateurs biologiques.

Législation française

L'arsenic et ses composés sont classés comme cancérogènes pour l'Homme (groupe 1) dans la classification du CIRC

La valeur moyenne d'exposition (VME) et la valeur limite d'exposition (VLE) de l'arsine sont respectivement 50 ppb et 200 ppb (exprimés en volume).

La VME du trioxyde de di-arsenic (As_2O_3) exprimée en arsenic est de 0,200 mg/m^3 d'air.

Conclusion

L'arsenic, comme nous venons de le voir, est un élément ubiquitaire que l'on trouve partout dans la nature et qui a de nombreuses applications industrielles. C'est un élément à la fois indispensable et nocif à la vie. Les composés les plus toxiques sont majoritairement minéraux et non organométalloïdiques. La toxicité, la cinétique de métabolisation et d'excrétion sont dépendantes de la molécule à laquelle l'Homme a été exposé et l'on voit bien que la spéciation prend ici toute son importance. Lorsque le suivi biologique après exposition est effectué, généralement l'analyse fournit des résultats qualitatifs et quantitatifs pour chacun des métabolites présents dans l'urine et il s'agit bien là encore de spéciation. Cette notion de spéciation sous ses différents aspects est de plus en plus prise en compte dans le monde industriel, pour la mise en évidence des risques, pour la biométrologie... [28].

En conclusion, on peut dire qu'il y a arsenic et arsenic, car se cachent sous ce vocable des composés dont l'action sur les organismes vivants peut être très différente. En effet c'est un constituant naturel pour certains êtres vivants comme les coquillages ou les poissons, et c'est un composé redoutable pour d'autres.

Références

[1] Eisler R., Review of arsenic hazards to plants and animals with emphasis on fishery and wildlife resources, in *Arsenic in the environment* Part 2, *Human health and ecosystem effects*, Nriagu J.O. éditeur, John Wiley and Sons, New York, **1994**, chapitre 11, p. 185-259.

[2] Woolson E.A., Emission, cycling and effect of arsenic in soil ecosystems, *Biological and environmental effects of arsenic*, Fowler B.A. éditeur, Elsevier Science, **1983**, chapitre 2, p. 51-139.

[3] OMS, *L'arsenic, critères d'hygiène et de l'environnement*, **1983**, Genève.

[4] Morovsky J.A. et co-auteurs, Transient hydride generation during III-V semiconductor processing, *Appl. Occup. Environ. Hyg.*, **1992**, *7* (6), p. 375-384.

[5] Nriagu J.O., Azcue J.M., Food contamination with arsenic in the environment, *Food contamination from environmental sources*, Nriagu J.O. and Simmons M.S. éditeurs, John Willey and Sons, **1990**, p. 146-196.

[6] a) Bhumbla D.K., Keefer R.F., Arsenic mobilization and bioavailability in soils, *Arsenic in the environment*, Part 1, Cycling and characterization, Nriagu J.O. éditeur, John Wiley and Sons, New York, **1994**, chapitre 3, p. 51-82.
b) Bourrelier P.H., Berthelin J., *Contamination des sols par les éléments en traces : les risques et leur gestion*, Rapport n°42, Académie des sciences et CADAS, août **1998**, Paris.
c) Spéciation des métaux dans le sol, *Les cahiers des clubs Crin*, Paris, **1999**.
d) Molénat N., Holeman M., Pinel R., L'arsenic, polluant de l'environnement : origines, distribution, biotransformations, *L'Actualité Chimique*, **2000**, 6, p. 12-23.

[7] Jekel M.R., Removal of arsenic in drinking water treatment, *Arsenic in the environment*, Part 1, Cycling and characterization, Nriagu J.O. éditeur, John Wiley and Sons, New York, **1994**, chapitre 6, p. 119-132.

[8] Ma H. Z. et co-auteurs, Human exposure to arsenic and health effects in Bayingnormen, inner Mongolia, *Arsenic and health effect*, Chappel W.R., Abernathy C.O. et Calderon R.L. éditeurs, Elsevier, Netherlands, **1999**, p. 127-131.

[9] Sun G.F. et co-auteurs, The present situation of chronic arsenism and research in China, *Arsenic and health effect*, Chappel W.R., Abernathy C.O. et Calderon R.L. éditeurs, Elsevier, Netherlands, **1999**, p. 123-125.

[9bis] Zheng B. et co-auteurs, The endemic arsenosis caused by indoor combustion of high arsenic coal in Guizou province, China, 6th International Symposium on metal ions in biology and medecine held in San Juan, Porto Rico, USA, 7-10 May 2000.

[10] Chen C.J. et co-auteurs, Emerging epidemics of arseniasis in Asia, *Arsenic and health effect*, Chappel W.R., Abernathy C.O. et Calderon R.L. éditeurs, Elsevier, Netherlands, **1999**, p. 113-121.

[11] Shiomi K., Arsenic in marine organisms : chemical forms and toxicological aspects, *Arsenic in the environnement*, Part 2, Human health and ecosystem effects, Nriagu J.O. éditeur, John Wiley and Sons, New York, **1994**, chapitre 12, p. 261-282.

[12] Donohue J.M., Abernathy C.O., Exposure to inorganic arsenic from fish and shellfish, *Arsenic and health effect*, Chappel W.R., Abernathy C.O. et Calderon R.L. éditeurs, Elsevier, Netherlands, **1999**, p. 89-98.

[13] Schoof R.A. et co-auteurs, Dietary exposure to inorganic arsenic, *Arsenic and health effect*, Chappel W.R., Abernathy C.O. et Calderon R.L. éditeurs, Elsevier, Netherlands, **1999**, p. 81-88.

[14) Stohrer G., Arsenic : opportunity for risk assessment, *Arch. Toxicol.*, **1991**, *65*, p. 525-531.

[15] Tsuda T. et co-auteurs, Ingested arsenic and internal cancer : a historical cohort study followed for 33 years, *Am. J. Epidemiol.*, **1995**, *141*, p. 198-209.

[16] Offergelts J.A. et co-auteurs, Relation between airbone arsenic trioxide and urinary excretion of inorganic arsenic and its methylated metabolites, *British J. Indust. Medec.*, **1992**, *49*, p. 387-393.

[17] Jarup L., Pershagen G., Arsenic exposure, smoking and lung cancer in smelter workers. A case control study., *Am. J. Epidemiol.*, **1991**, *134*, p. 545-541.

[18] Yamauchi H., Fowler B.A., Toxicity and metabolism of inorganic and methylated arsenicals, *Arsenic in the environment*, Part 2, *Human health and ecosystem effects*, Nriagu J.O. éditeur, John Wiley and Sons, New York, **1994**, chapitre 3, p. 35-53.

[19] Picot A., Proust N., Le mercure et ses composés : de la spéciation à la toxicité, *L'Actualité Chimique*, **1998**, *4*, p. 16-24.

[20] Buchet J.P., Lauwerys R.R., Comparison of the urinary excretion of arsenic metabolites after a single dose of sodium arsenite, monomethylarsonate and dimethylarsinate in man, *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, **1981**, *48*, 1, p. 71-79.

[21] Mann S. et co-auteurs, A physiologically based pharmacokinetic model for arsenic exposure. II Validation and application in humans, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **1996**, *140*, p. 471-486.

[22] Buchet J.P. et co-auteurs, Geographical and temporal difference in the urinary excretion of inorganic arsenic : a Belgian population study, *Occup. Environ. Med.*, **1996**, *53*, p. 320-327.

[23] Buchet J.P. et co-auteurs, Assessment of exposure to inorganic arsenic, a human carcinogen, due to the consumption of seafood, *Arch. Toxicol.*, **1996**, *70*, p. 773-778.

[24] Gorby M.S., Arsenic in human medecine, *Arsenic in the environment*, Part 2, *Human health and ecosystem effects*, Nriagu J.O. éditeur, John Wiley and Sons, New York, **1994**, chapitre 3, p. 1-16.

[25] Buchet J.P. et al., Comparison of several methods for the determination of arsenic compounds in water and in urine, *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, **1980**, *46*, p. 11-29.

[26] Le X.C., Ma M., Speciation of arsenic compounds by using ion-pair chromatography with atomic spectrometry and mass spectrometry detection, *J. Chromatography A*, **1997**, *764*, p. 55-64.

[27] Lauwerys R.R., Hoet P., Industrial chemical exposure. *Guidelines for biological monitoring*, Lewis, **1993**, p. 290.

[28] Proust N. et co-auteurs, Arsenic speciation : exposure and associated biometrology in a microelectronic research center. Semiconductor Safety Association Conference (SSA), **1999**, San Diego, États-Unis.