

Santé environnement

Utilisation des biomarqueurs dans les situations de pollution locale

Aide méthodologique

Sommaire

Abréviations	2
Pourquoi une aide méthodologique ?	3
1. Une demande sociale forte d'analyse par biomarqueurs	3
2. Situations de pollution locales et exposition des populations	3
2.1 L'apport des études locales avec biomarqueurs depuis 30 ans	3
2.2 Les écueils et réserves aujourd'hui	4
3. La nécessité d'une aide méthodologique	5
3.1 Les objectifs	5
3.2 Le champ d'application	5
Premier temps : les étapes de la démarche décisionnelle	6
Étape 1 - Quels sont les éléments clés de la situation environnementale et sanitaire ?	7
Étape 2 - Qu'apporterait une étude avec biomarqueur(s) à la gestion de la situation locale ?	10
Étape 3 - À quels objectifs scientifiques devrait répondre une étude avec biomarqueur(s) pour être utile à la définition d'actions de gestion ?	13
Étape 4 - Existe-t-il un (ou plusieurs) biomarqueur(s) pertinent(s) dans le contexte local ?	14
Étape 5 - Une étude avec biomarqueurs à l'échelle locale est-elle faisable ?	15
Deuxième temps - Mise en œuvre de l'étude	17
Fiche pratique 1 - Bibliographie d'études françaises locales	18
Fiche pratique 2 - Relation avec les populations	19
Fiche pratique 3 - Critères d'inclusion et d'exclusion des personnes	21
Fiche pratique 4 - Aspects réglementaires	23
Fiche pratique 5 - Recrutement de la population d'étude et déroulement du monitoring	25
Fiche pratique 6 - Questionnaire	29
Fiche pratique 7 - Statistiques : recrutement et exploitation des données	33
Fiche pratique 8 - Organisation de la collecte des prélèvements et du transport au laboratoire	39
Fiche pratique 9 - Cahier des charges pour la réalisation des analyses biologiques et choix du laboratoire	46
Fiche pratique 10 - Contrôle et archivage des résultats de biomarqueurs	47
Fiche pratique 11 - Interprétation des résultats de biomarqueurs	48
Fiche pratique 12 - Communication	54
Fiche pratique 13 - Informations sur quelques études nationales étrangères de biosurveillance	57

Utilisation des biomarqueurs dans les situations de pollution locale

Aide méthodologique

Coordonnateurs

Frédéric Dor, Nadine Fréry, Département santé environnement, Institut de veille sanitaire

Ont contribué à la rédaction de la version finale de ce document

Mathilde Pascal, Clémence Fillol, Nicolas Sauthier, Christophe Heyman, Marie-Laure Bidondo, Clémentine Dereumeaux

Relecteurs principaux

Sophie Raguét, Stéphanie Loyer

Autres relecteurs

Clément Bassi, François Clinard, Côme Daniau, Cécile Forgeot, François Ganiayre, Yvonnick Guillois-Becel, Claire Janin, Dominique Jeannel, Jean-Luc Lasalle, Céline Legout, Ursula Noury, Caroline Obert, Christine Ricoux, Marielle Schmitt, Caroline Six, Emmanuelle Vaissière

Remerciements

Pour leur contribution à certaines des fiches pratiques : Bénédicte Bérat, Amivi Oleko, Abdelkrim Zeghnoun, Marie-Odile Rambourg

Et Agnès Lefranc pour sa relecture attentive

Abréviations

ARS	Agence régionale de santé
BAT	Biologischer Arbeitsstoff Toleranzwert
BE	Biomonitoring Equivalent
BEI	Biological Exposure Indices
CCTIRS	Comité consultatif sur le traitement de l'information en matière de recherche dans le domaine de la santé
CCTP	Cahier des clauses techniques particulières
CDC	Center for Disease Control
CES	Centre d'examen de santé
Cire	Cellule interrégionale d'épidémiologie
Cnil	Commission nationale de l'informatique et des libertés
CnamTS	Caisse nationale de l'Assurance maladie des travailleurs salariés
COPHES	Consortium to Perform Human Biomonitoring at European Scale
CPP	Comité de protection des personnes
Dcar	Département de coordination des alertes et des régions (InVS)
DGS	Direction générale de la santé
DJT	Dose journalière tolérable
DSE	Département santé environnement (InVS)
ECMS	Étude canadienne sur les mesures de la santé
EFS	Établissement français du sang
EFSA	European Food Safety Authority, autorité européenne de sécurité des aliments
EGB	Échantillon généraliste des bénéficiaires
ENNS	Enquête nationale nutrition santé
GerES	German Environmental Survey
GHIES	German Health Interview and Examination Survey
HBM	Human Biomonitoring Values (HBM-I et HBM II)
ICPE	Installation classée pour la protection de l'environnement
Insee	Institut national de la statistique et des études économiques
InVS	Institut de veille sanitaire
INRS	Institut national de recherche et de sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles
IPCS	International Programme on Chemical Safety
JECFA	Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires)
LOD	Limite de détection (Limit Of Detection)
LOQ	Limite de quantification (Limit Of Quantification)
MRL	Minimal Risk Level
NHANES	National Health and Nutrition Examination Survey
OMS	Organisation mondiale de la santé
ONG	Organisation non gouvernementale
POS	Procédure opérationnelle standardisée
PP	Polypropylène
RNIAM	Répertoire national interrégimes des bénéficiaires de l'Assurance maladie
SFLE	Service financier, logistique et économique (InVS)
TAS	Tirage au sort
UBA	Umweltbundesamt (Agence fédérale allemande de l'environnement)
VLB	Valeurs limites biologiques

Pourquoi une aide méthodologique ?

1. UNE DEMANDE SOCIALE FORTE D'ANALYSE PAR BIOMARQUEURS

Aujourd'hui, il est très fréquent que des populations riveraines d'un site soumis (ou suspecté d'être soumis) à une pollution chimique demandent la réalisation de mesures de biomarqueurs car, non seulement elles souhaitent disposer d'une mesure réelle, objectivable de leur exposition, mais elles ont également l'impression que les résultats sont une réponse fiable et définitive sur les conséquences sanitaires des pollutions auxquelles elles sont soumises.

Toutefois, il n'est pas systématiquement opportun de se lancer dans la mise en œuvre d'une étude sanitaire utilisant un ou plusieurs biomarqueurs. L'opportunité d'une telle étude doit être évaluée au cours d'une réflexion qui assure le bien fondé de ce choix et une réalisation encadrée. En effet, si de telles études permettent de répondre à la question de la réalité de l'exposition de la population, elles ne doivent pas apparaître comme une modalité d'intervention systématique dans la gestion sanitaire d'une pollution locale.

2. SITUATIONS DE POLLUTION LOCALES ET EXPOSITION DES POPULATIONS

Dans le domaine des pollutions locales, et notamment des sites et sols pollués, les premières alertes ont pour nom Love Canal, Woburn, Montchanin où des effets sanitaires ont été décrits ; plus récemment, on peut citer Vincennes où il n'a pas été possible de mettre en lien des effets sanitaires observés tels que des cancers de l'enfant par exemple avec la pollution détectée sur ces sites.

La difficulté majeure porte sur l'estimation de l'exposition des personnes concernées. Dans quelle mesure peut-on déterminer la quantité de polluant présent dans les milieux qui pénètre dans l'organisme humain ? Ce passage des milieux à l'homme est une inconnue forte sur laquelle la littérature existante n'apporte pas aujourd'hui de réponse solide.

Or, la connaissance des niveaux d'exposition est indispensable pour mieux comprendre et caractériser le risque pour la santé humaine. Les approches fondées sur des questionnaires ou des scénarii d'exposition combinant les comportements des personnes, la durée de fréquentation des lieux et les concentrations de polluants dans les milieux de l'environnement (air, eau, sols, aliments...) sont soit trop sommaires, soit ne permettent pas de connaître la quantité de contaminant qui a effectivement pénétré dans l'organisme par l'ensemble des voies et vecteurs d'exposition possibles (dose absorbée), ni *a fortiori* la dose "biologiquement active", responsable d'une réponse sanitaire potentielle.

2.1 L'apport des études locales avec biomarqueurs depuis 30 ans

La mesure de l'exposition à l'aide de biomarqueur(s) est une aide indéniable à l'évaluation et la gestion des situations environnementales posant problème.

Globalement, les études d'exposition ou études d'imprégnation par biomarqueur permettent d'une part de repérer des sous-populations présentant des niveaux d'exposition élevés et éventuellement d'identifier les principaux facteurs expliquant ces niveaux à l'aide d'un questionnaire administré à chacune des personnes pour lesquelles des dosages de biomarqueurs sont réalisés. Le bénéfice individuel attendu porte alors sur une réduction des surexpositions par des actions sur les facteurs identifiés ; les autorités sanitaires seront amenées à s'interroger sur l'impact du ou des polluants au sein de la population et éventuellement à proposer des mesures pour réduire cette exposition en fonction des facteurs identifiés.

D'autre part dans certains cas, elles peuvent apporter une réponse sanitaire, le plus souvent au niveau collectif, mais parfois aussi au niveau individuel ; cette dernière réponse peut s'inscrire ou non dans le cadre d'un dépistage (encadré 1). Les mesures du biomarqueur ne sont pas toujours suffisantes en elles-mêmes pour atteindre cet objectif et peuvent être complétées par un ensemble de tests cliniques et biologiques destinés à établir l'état de santé de la personne.

En effet, le dosage du contaminant et/ou de ses métabolites dans certains milieux biologiques (sang, urines, cheveux...) permet d'approcher la "dose interne".

L'utilisation de ces biomarqueurs dans de nombreuses situations ces dernières années a permis d'apporter des arguments parfois décisifs aux décideurs et des directions d'action aux gestionnaires. La mesure de la plombémie à Métaleurop et à Saint-Laurent-le-Minier a ainsi permis d'appréhender l'ampleur du saturnisme et d'engager les actions de réhabilitation des sols, l'évitement de l'exposition et la prise en charge médicale des enfants les plus exposés ; à Salsigne, la mesure de l'arsenic urinaire a permis d'identifier les populations concernées, notamment celles cultivant et consommant des produits de leur jardin permettant ainsi de formuler des recommandations adaptées ; à Neuves-Maisons, cette même mesure d'arsenic urinaire a montré que des sols naturellement riches en arsenic ne contribuaient pas ou très peu à l'exposition des populations ; à Viviez, la mesure du cadmium dans les urines a révélé qu'une partie importante de la population était exposée à des niveaux supérieurs aux repères signifiant un risque d'atteinte rénale et l'analyse a également permis d'identifier la contribution substantielle des produits cultivés localement.

D'autres situations à l'étranger, telles que l'étude Cadmibel en Belgique sur l'exposition au cadmium et au Montana aux États-Unis d'Amérique sur l'exposition à l'arsenic, ont abouti à des résultats de même nature.

Il faut noter dès à présent que toutes ces études ont révélé la nécessité d'être préparées avec rigueur et patience car comme tout projet qui sollicite une participation active de la population, les durées de préparation et de réalisation sont longues avec de multiples étapes scientifiques, relationnelles et administratives.

Encadré 1 - Le dépistage et les missions de l'InVS

Définition du dépistage par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) : Il " consiste à identifier de manière présomptive (i.e. précoce), à l'aide de tests appliqués de façon systématique et standardisée, les sujets atteints d'une maladie ou d'une anomalie passée jusque-là inaperçue. Les tests de dépistage doivent permettre de faire le partage entre les personnes apparemment en bonne santé mais qui sont probablement atteintes de la maladie ou de l'anomalie donnée et celles qui en sont probablement exemptes ". Il permet donc de proposer à chaque personne concernée au sein de la population, des compléments diagnostics et une prise en charge thérapeutique si cela s'avère nécessaire. Ce sont ces deux aspects, l'identification des "cas" et leur prise en charge sanitaire, qui, notamment, permettent de parler de dépistage.

Le dépistage est une action de santé publique dont la mise en place relève des Agences régionales de santé (ARS) et non pas des missions de l'InVS, qui peut néanmoins évaluer ces actions. Par ailleurs, le renseignement des 10 critères de l'OMS justifiant d'un dépistage ne relève pas pour tous des missions de l'InVS. Il ne lui appartient donc pas non plus de définir et déterminer les biomarqueurs et les pathologies qui pourraient s'inscrire dans une telle action.

Cependant, il convient de **ne pas opposer dépistage et étude d'imprégnation**. En effet, la situation demande peut-être une compréhension des facteurs d'exposition, au-delà du seul dépistage des personnes concernées. Seule une étude épidémiologique à caractère analytique permettra d'appréhender ces facteurs.

Aussi, la suite de ce document ne traite pas de la question du dépistage. Elle ne décrit des raisonnements que pour statuer sur le bien fondé scientifique de mettre en place une étude d'exposition ou d'imprégnation avec biomarqueurs et des éléments pratiques facilitant cette mise en œuvre dans le but d'une exploitation populationnelle des résultats.

2.2 Les écueils et réserves aujourd'hui

Si l'utilisation de biomarqueurs peut être utile, il n'en demeure pas moins certaines limites.

Un des premiers écueils concerne le nombre restreint de polluants pour lesquels un biomarqueur existe et est utilisable dans un contexte d'exposition à une pollution locale.

L'utilisation de biomarqueurs ne renseigne pas toujours sur l'origine ni sur les modalités d'exposition car le polluant peut être présent dans de nombreux milieux, et la mesure du biomarqueur intègre l'ensemble des voies et sources d'exposition. L'identification de la (les) source(s) et voie(s) d'exposition peut être facilitée par le recours à un questionnaire accompagnant le dosage du biomarqueur, mais l'identification n'est pas toujours garantie.

L'analyse des résultats en termes sanitaires n'est pas toujours possible en raison des lacunes scientifiques qui persistent sur la connaissance précise des niveaux d'imprégnation susceptibles d'engendrer des effets sur la santé. En effet, la présence dans l'organisme humain d'une substance chimique ou de son (ses) métabolite(s) en concentration(s) mesurable(s) dans le sang, l'urine ou une autre matrice biologique, n'implique pas nécessairement qu'il y a un risque pour la santé. Pour quelques biomarqueurs d'exposition, une interprétation sanitaire au niveau individuel est possible (relation dose-réponse connue), mais le plus souvent l'interprétation du risque sanitaire reste au niveau collectif ou n'est même pas possible (fiche pratique 11).

De manière générale, les limites d'interprétation des niveaux de biomarqueurs sont liées au nombre réduit de valeurs repères d'imprégnation ou sanitaire. Des travaux de construction de ce type de valeurs sont en train d'aboutir. Il existe par ailleurs des valeurs seuils proposées dans le cadre de la médecine professionnelle mais elles doivent être utilisées avec prudence dans la mesure où ces valeurs ne sont pas appropriées pour la population générale ; elles correspondent à des populations, des conditions, des voies d'exposition (le plus souvent inhalation, contact cutané) et des niveaux et durées d'exposition différentes de celles de la population générale. L'approche basée sur les risques sanitaires doit être régulièrement mise à jour, en fonction des nouvelles connaissances toxicologiques et épidémiologiques.

3. LA NÉCESSITÉ D'UNE AIDE MÉTHODOLOGIQUE

3.1 Les objectifs

La demande sociale forte et le contexte scientifique autour des biomarqueurs utilisés dans le cadre de la pollution des sols rapportés ci-dessus montrent bien la nécessité de structurer un raisonnement afin d'argumenter la décision de mettre en place ou non une étude avec biomarqueur.

Cette aide méthodologique a donc pour vocation d'apporter les moyens de faire face aux demandes locales sollicitant l'utilisation d'un biomarqueur dans le cadre d'une pollution des milieux et notamment des sols. Elle ne peut en aucun cas se substituer à l'expertise. Des transpositions et adaptations sont possibles dans le cadre de sollicitations locales portant sur d'autres situations que celles de la pollution des sols.

Dans ce document, on parlera indifféremment d'étude d'exposition (notamment quand le polluant s'élimine rapidement de l'organisme) ou d'étude d'imprégnation pour signifier une étude avec biomarqueur (en particulier quand le polluant s'élimine lentement de l'organisme). Il sera précisé étude d'exposition environnementale si les propos portent sur une étude estimant une dose externe de polluant susceptible de pénétrer dans l'organisme humain.

3.2 Le champ d'application

Cette aide méthodologique peut être mise en œuvre dans les cas suivants :

1. une étude avec biomarqueurs est demandée par la population ou les autorités locales. Il est nécessaire d'énumérer les arguments en faveur et défaveur d'une telle étude ;
2. l'analyse de la situation montre qu'on n'en sait pas assez pour avoir une action de gestion complète et efficiente pour régler la situation, même si des premières mesures d'urgence ou conservatoires peuvent être prises. Se pose alors, entre autres, la question de la mise en œuvre d'une étude utilisant un biomarqueur afin d'acquérir des connaissances complémentaires concernant la situation.

Dans les deux cas, l'objectif est de statuer sur le bien-fondé de conduire une étude de santé utilisant un biomarqueur.

Premier temps : les étapes de la démarche décisionnelle

La décision de mettre en place une étude à une échelle locale utilisant un ou plusieurs biomarqueurs doit se prendre en discernant l'utilité que cette étude aura dans la décision et la gestion de la situation, en dégagant la pertinence de ce type d'étude pour répondre à la question posée et enfin en s'attachant à clarifier la faisabilité de cette étude, notamment en identifiant le ou les biomarqueur(s) adapté(s). Elle est précédée de l'analyse de la situation effectuée à partir d'un certain nombre d'éléments de natures très diverses.

Le choix d'une étude de santé publique à mettre en œuvre dans un contexte donné est toujours délicat. Il faut pouvoir identifier le ou les avantage(s) de cette méthode d'investigation par rapport aux autres design possibles (à titre d'exemples : évaluation quantitative des risques, étude épidémiologique basée sur des événements de santé...); ces avantages seront argumentés au regard de la question posée, des caractéristiques de la situation et des caractéristiques de la méthode elle-même, notamment ses conditions d'utilisation. Il est à noter qu'ici ne sont pas traités explicitement les sujets de comparaison entre les études avec biomarqueurs et d'autres types d'études épidémiologiques. Ce choix doit en outre prendre en compte que l'étude peut être :

- un préalable à une étude plus conséquente ;
- une étude en elle-même ;
- ou une étude plus vaste.

Les cinq étapes qui sont décrites dans ce guide ne s'inscrivent cependant pas dans une séquence dont l'ordre doit être respecté. Non seulement il n'est pas toujours possible de répondre à ces questions dans cet ordre, mais la réalité montre plutôt que c'est par une succession d'allers-retours et d'analyses en parallèle, que les réponses s'affinent et entrent en complète cohérence et complémentarité. Les différentes parties de cette aide méthodologique peuvent donc se lire indépendamment les unes des autres.

Étape 1 - Quels sont les éléments clés de la situation environnementale et sanitaire ?

L'analyse, par les services sanitaires, d'une situation environnementale dégradée doit apporter des éléments de réponse aux populations riveraines sur leur niveau d'exposition et les risques pour leur santé. Cette analyse a pour objectif de déterminer les caractéristiques de la situation afin d'appréhender les actions à engager telles les mesures de gestion et les éventuelles études complémentaires à mener.

Dans le cadre d'une pollution locale, la description de la situation conduit à s'interroger sur les différents points suivants. Pour chacun de ces points, les questionnements ne sont pas exhaustifs. Ils sont pour la plupart orientés sur la problématique des sols pollués et peuvent être transposés aisément à d'autres problématiques locales.

1. QUEL EST LE SIGNAL DÉCLENCHEUR ?

Il convient de déterminer si l'une et/ou l'autre de ces propositions est renseignée :

- des plaintes sont rapportées par les associations de riverains ou tout autre type d'associations ;
- un signalement de pathologies inhabituelles ou d'une fréquence inhabituelle d'une pathologie est mis en avant ;
- des résultats d'analyses font suspecter une pollution des milieux environnementaux (air, eau, sols, aliments) ;
- une création d'activités industrielles nouvelles ou la connaissance d'un ancien site qui a pu contaminer l'environnement déclenche une inquiétude.

Ces premiers éléments doivent être validés afin de déterminer si le signal mis en avant est un vrai signal d'alerte¹. Les renseignements doivent être pris auprès de ceux qui ont délivré l'information ; ils sont ensuite recoupés avec d'autres sources d'informations si nécessaire. En aucun cas, il ne faut prendre à la lettre un signalement quelle que soit la source d'où il provient.

À cette étape, il est également nécessaire de s'intéresser aux éventuelles actions de gestion qui auraient été mises en œuvre antérieurement ou qui sont déjà projetées. Par exemple y a-t-il une réhabilitation programmée ou bien une surveillance d'un ou plusieurs milieux de l'environnement en cours ou envisagée ?

2. QUELLES SONT LES CARACTÉRISTIQUES DE LA ZONE GÉOGRAPHIQUE CONCERNÉE ?

Les questions suivantes permettent de cerner la zone et ses caractéristiques :

- Est-on en zone urbaine ? En habitat rural dispersé ?...
- Quelle est l'occupation du sol ? Y a-t-il des activités agricoles (cultures, élevages...) ?
- Où la population vit-elle ?
- Quels sont les types d'habitat ?
 - Maisons particulières ? Logements collectifs ?
 - Présence de jardins potagers ? Présence de puits privés ?
 - Âge des logements ?
- Y a-t-il des établissements recevant du public : collectivités d'enfants (crèches, écoles, collèges, lycées...) ; maisons de retraite ; hôpitaux, cliniques ?
- Y a-t-il des aires de jeux ?
- Où sont situées les ressources en eau ?

1. Pour la validation du signal, on se reportera au guide intitulé : *La veille et l'alerte sanitaires en France*. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2011. 60 p. Disponible à partir de l'URL : <http://www.invs.sante.fr>.

3. QUELS SONT LES ÉLÉMENTS DE CONNAISSANCES ENVIRONNEMENTALES DE LA SITUATION ?

De manière générale, les questions suivantes vont permettre de renseigner sur la contamination de l'environnement :

- Depuis quand la source de pollution existe-t-elle ? Peut-on retracer son historique (passé, récent, actuel) ? Sait-on si l'activité à la source des émissions va se poursuivre ?
- Connaît-on la nature des polluants émis ? L'historique des émissions le cas échéant (activité passée) ?
- Dispose-t-on de données sur les concentrations ambiantes, environnementales, alimentaires des polluants émis ? La zone contaminée est-elle définie ? Il est nécessaire de disposer de données sur la contamination des milieux (description qualitative et quantitative spatialisée, variabilité dans le temps le cas échéant) afin de s'intéresser aux seuls polluants réellement présents dans l'environnement. En effet, il n'y a pas lieu de raisonner sur les biomarqueurs en absence de certitude de présence du polluant dans l'environnement.
- Dispose-t-on de données météorologiques, hydrographiques, d'occupation des sols (exemple : activités agricoles) ?

Lorsqu'il s'agit de la pollution du sol, on cherchera à savoir à quel type de situation de sol pollué on est confronté :

- un sol suspect dans lequel on retrouve des polluants sans forcément les relier à une activité industrielle ou manufacturée ;
- un sol sur lequel est installée une activité industrielle – Installation classée pour la protection de l'environnement (ICPE) – ou non qui cesse son activité ;
- un sol sur lequel une activité industrielle est en pleine activité.

Dans le cadre des activités industrielles actuelles ou passées, il est important de distinguer le site industriel à proprement parler et qui relève d'un code juridique établi, de la partie extérieure à ce site et que l'activité industrielle impacte ou a impacté : dans le premier cas, il s'agit de la partie "sur site" ; dans le deuxième il s'agit de la partie "hors site".

4. QUELS SONT LES ÉLÉMENTS DE CONNAISSANCES POPULATIONNELLES DE LA SITUATION ?

En termes de caractérisation de la population, il convient de renseigner :

- l'effectif de population concernée par une éventuelle exposition ; il s'agit de décrire la taille et les différentes catégories de personnes habitant ou fréquentant la zone d'étude. Il peut être important d'apprécier ces catégories en fonction des saisons, notamment dans les zones où le tourisme est fort (population sédentaire d'un côté, population occasionnelle de l'autre) ;
- les populations sensibles ou vulnérables qui méritent une attention supplémentaire :
 - femmes enceintes,
 - personnes âgées,
 - enfants car ils présentent les caractéristiques suivantes :
 - différences physiologiques et comportementales avec les adultes,
 - prise journalière de nourriture, d'eau, et d'air (donc prise de toxiques le cas échéant) plus importante par rapport à leur masse corporelle que les adultes,
 - comportement mains-bouche : augmentation de l'exposition aux polluants environnementaux présents dans l'eau, le sol, la poussière des domiciles,
 - éventuelles différences de métabolisme : activité enzymatique et notamment mécanismes de détoxification.

Lorsqu'on sera en présence d'une pollution des sols, on pourra également renseigner si :

- la population réside sur le sol suspect ;
- la population utilise le sol à des seules fins récréatives ;
- la population ne peut accéder au sol du site.

Cette détermination s'appuiera sur les données géographiques, les cadastres municipaux, les plans d'occupation des sols, le recensement de la population. Il peut être utile de recourir aux outils tels que les systèmes d'information géographique pour cette étape. Enfin, il sera nécessaire d'approfondir les habitudes de la population, notamment pour connaître les lieux fréquentés, la présence de jardins d'agrément et potagers...

5. QUELS SONT LES ÉLÉMENTS DE CONNAISSANCES DE L'EXPOSITION DE LA POPULATION DANS LA SITUATION ?

Il s'agit ici de rassembler les éléments qui permettent d'élaborer un schéma du potentiel d'exposition de la population présente dans la zone étudiée. Les questions à se poser sont notamment :

- Quelles sont les voies d'exposition de la population aux polluants suspects ?
- Quels sont les milieux, vecteurs d'exposition ?
- Quels sont les lieux de la zone étudiée où le contact avec les polluants peut être effectif ?
- L'exposition des populations est-elle passée, actuelle et/ou future ?
- Peut-on apprécier la fréquence des contacts ?
- A-t-on connaissance de niveaux d'imprégnation dans la population professionnelle de l'entreprise éventuellement émettrice ? Ces niveaux peuvent-ils être considérés *a priori* comme "acceptables" ou excessifs ?

6. QUELS SONT LES ÉLÉMENTS DE CONNAISSANCES SANITAIRES ET TOXICOLOGIQUES DE LA SITUATION ?

Concernant les effets sanitaires ou toxicologiques, les interrogations seront :

- Quelle est la toxicité attendue des polluants présents ? Il convient ici de rechercher les effets sanitaires décrits expérimentalement et/ou épidémiologiquement des différents polluants détectés sur le site. Ce sont le plus souvent les effets d'une exposition chronique à des niveaux relativement faibles qui sont recherchés sauf si la situation conduit à s'intéresser aussi aux effets immédiats ou différés d'une exposition aiguë. Par exemple, parce que des concentrations mesurées sont très élevées.
- Existe-t-il une ou plusieurs pathologies identifiées et rapportées au sein de la population concernée ?
- Quel est le degré de perception de ces pathologies par la population ? Par les médecins ?
- Dispose-t-on de signaux sanitaires pouvant déterminer le choix d'un indicateur de santé ?
- Les risques potentiels ou perçus sont-ils des risques liés aux expositions aiguës ou chroniques, à court, moyens ou à long terme ?

7. QUEL BILAN TIRER ?

Les éléments rassemblés à travers les questionnements précédents vont contribuer aux réponses des étapes suivantes. Ils permettent cependant de statuer sur un certain nombre de points, dont :

- le potentiel d'exposition de la population concernée ; on sera non seulement en capacité de déterminer si on est en présence d'une exposition passée, actuelle, future, ou d'une combinaison de tout ou partie de ces possibilités d'exposition, mais aussi d'identifier les lieux et les milieux avec lesquels la population a été, est ou sera en contact, associés aux vecteurs (air, eau, sol, aliments) et voies d'exposition (inhalation, ingestion et contact cutané) ;
- la problématique de santé et éventuellement une première appréciation du degré de préoccupation sanitaire ;
- les éventuelles études complémentaires à conduire pour évaluer ou renforcer l'évaluation de l'exposition et/ou de la préoccupation sanitaire.

Ces premières réponses sur l'évaluation de la situation orienteront la recherche des biomarqueurs des polluants qui auront été estimés les plus préoccupants par cette première analyse. Elles fourniront des éléments sur l'utilité, la pertinence et la faisabilité d'éventuelles études utilisant un biomarqueur qui sont les questionnements des étapes suivantes de la démarche.

Étape 2 - Qu'apporterait une étude avec biomarqueur(s) à la gestion de la situation locale ?

Les attentes de la population et des autorités sanitaires sont nombreuses en matière de gestion. Elles portent sur les décisions que les autorités prendront au regard d'une situation que ce soient des premières décisions et mesures à mettre en œuvre rapidement au regard d'une première analyse de la situation ou des mesures résultant d'une analyse approfondie s'appuyant notamment sur des études d'exposition et d'imprégnation avec un biomarqueur.

Sans ordre d'importance, les mesures de gestion de la situation portent sur (i) la réduction des expositions par des mesures d'hygiène ; (ii) la réduction des expositions par des mesures d'évitement de la source ; (iii) la réduction des expositions en agissant sur les sources, voies et vecteurs d'exposition qui semblent à première vue contribuer le plus à l'exposition des populations ; (iv) l'information de la population réellement concernée par le problème de la pollution et (v) la prise en charge médicale des personnes.

1. QUELS SERAIENT LES BÉNÉFICES INDIVIDUELS ET/OU COLLECTIFS POUR LA POPULATION ?

Individuellement, le bénéfice est lié d'une part à la capacité de réduire l'exposition de l'individu en prenant en compte un ensemble de caractéristiques individuelles ; d'autre part, à la capacité de prendre en charge médicalement la personne développant ou susceptible de développer une pathologie en lien avec la pollution. La prise en charge médicale sera plus ou moins substantielle selon la nature et la gravité des symptômes ou de la maladie et les possibilités de traitement. Cette prise en charge sanitaire est aujourd'hui peu développée en raison du nombre restreint de polluants pour lesquels elle est possible.

Collectivement, le bénéfice est lié à l'amélioration globale du niveau d'exposition et de l'état de santé de la population concernée ; cet état de santé est lui-même lié à de nombreux paramètres sanitaires, environnementaux, sociaux, culturels, éthiques, politiques, économiques et psychologiques.

À cette étape, la réflexion est donc ciblée sur la question suivante : les biomarqueurs permettent-ils de connaître l'exposition des populations, les facteurs la déterminant, et enfin peuvent-ils traduire un possible effet sanitaire (encadré 2) ?

Encadré 2 - Les différents types de biomarqueurs

Un biomarqueur est défini comme toute substance, métabolite, indicateur de l'activité d'un processus biologique ou de l'état d'une structure, qui peut être dosé dans l'organisme et qui peut être révélateur d'expositions environnementales, d'effets précoces ou de pathologies proprement dites, ou encore d'une prédisposition génétique (rapport SCALE²). Il existe trois types de biomarqueurs.

Les biomarqueurs d'exposition : ils peuvent être la substance exogène elle-même, un de ses métabolites, ou son association avec des molécules cibles comme l'ADN ou des protéines. Ils peuvent représenter (i) un marqueur de dose interne, c'est-à-dire un indicateur de la présence du polluant dans l'organisme et/ou (ii) un marqueur de la dose efficace, dose qui entrera en contact avec la molécule, la cellule ou l'organe cible. Leur détection et/ou quantification confirme que le composé est entré dans l'organisme, quelle que soit la voie de pénétration.

Exemples : cadmium urinaire, dioxines sériques.

Les biomarqueurs d'effet : ils reflètent l'interaction entre le polluant et le corps humain. Cette interaction est exprimée par la mesure d'un changement biochimique ou d'un désordre physiologique, avec ou sans expression clinique. Ils contribuent à comprendre les processus qui mènent à l'apparition d'un désordre ou d'un effet secondaire indésirable. Il est important de déterminer la spécificité de ce biomarqueur d'effet par rapport au polluant.

Exemples : modifications du métabolisme (diminution du taux d'hémoglobine), de l'excrétion de certaines protéines (B2-microglobuline) ou certains effets génotoxiques (aberrations chromosomiques).

Les biomarqueurs de susceptibilité : ils sont des indicateurs du degré de sensibilité d'un individu. En particulier, ils expliquent (mais seulement en partie) la variabilité des réponses entre des individus pour un niveau d'exposition semblable.

Exemples : variations de réponse d'enzymes oxydatives (mono-oxygénases à cytochrome P450), ou des mécanismes de réparation de l'ADN.

Dans le domaine de la santé environnementale, les biomarqueurs d'exposition sont les plus employés tandis que ceux d'effet et de susceptibilité restent encore peu utilisés dans la pratique.

2. QUELS SERAIENT LES APPORTS POUR LA PRISE DE DÉCISIONS EN MATIÈRE DE DÉPOLLUTION ET/OU DE PRISE EN CHARGE DE LA POPULATION ?

Il n'y a pas lieu, ici, de décrire et de lister l'ensemble des modalités possibles de gestion d'une situation. En revanche, il est nécessaire que ces mesures portent sur les éléments essentiels que sont les populations, les milieux, les lieux, les voies et vecteurs d'exposition, les habitudes de vie des personnes. Les études d'exposition et d'imprégnation peuvent permettre de renseigner ces éléments essentiels. Ainsi, on s'interrogera sur la capacité d'une éventuelle étude à répondre aux questions suivantes :

- quelles sont les populations et sous-populations concernées ?
 - identifier des sous-groupes de population particulièrement imprégnés,
 - détecter si cette imprégnation est distribuée uniformément dans l'espace et/ou selon des caractéristiques individuelles, ou s'il y a des différences,
 - décrire les caractéristiques des personnes ayant des concentrations élevées afin d'identifier des facteurs explicatifs communs ;
- quelles sont les modalités d'exposition de ces populations sur lesquelles il faudra agir ?
 - identifier la part contributive de différentes voies ou sources d'exposition : eau, alimentation...
 - déterminer les facteurs susceptibles d'expliquer les variations des niveaux observés ;

² Rapport SCALE du Groupe européen d'experts en biosurveillance (COM(2003)338 final.) http://opac.invs.sante.fr/index.php?lvl=notice_display&id=10033

- quels sont les lieux et milieux au sein du territoire sur lesquels il faudra agir ?
 - identifier les zones dans lesquelles les contacts entre la population et la pollution sont les plus conséquents,
 - identifier les milieux de l'environnement les plus impactés par la pollution,
 - identifier les lieux les plus fréquentés par la population.

Au final, conduire une étude utilisant un biomarqueurs aura une utilité pour :

- **le décideur** s'il y a un apport d'éléments nécessaires pour prendre la décision adaptée. Par exemple, choisir entre plusieurs options de gestion ;
- **la population** s'il y a la réponse à ses attentes et la mise en place d'actions de prévention du risque ou de prise en charge individuelle. En fonction de la population concernée, du polluant incriminé et de l'effet sanitaire attendu, les capacités d'action et de prise en charge de la population sont plus ou moins établies et possibles.

Étape 3 - À quels objectifs scientifiques devrait répondre une étude avec biomarqueur(s) pour être utile à la définition d'actions de gestion ?

La déclinaison en objectifs scientifiques des éléments présentés ci-dessus amène à la liste suivante. Il est à noter qu'elle n'est pas exhaustive, et que selon le type d'étude avec biomarqueurs envisagée, seuls certains peuvent être atteignables.

1. IDENTIFIER ET QUANTIFIER LA PRÉSENCE DES SUBSTANCES CHIMIQUES DANS L'ORGANISME

- Identifier la présence de certaines substances de l'environnement dans l'organisme (liquides ou tissus biologiques).
- Estimer la distribution, les niveaux moyens, les valeurs extrêmes de biomarqueurs dans la population considérée.
- Les comparer à ceux d'une population de référence (population d'une zone non exposée, de zones à contrastes d'exposition, données nationales ou régionales en population générale).
- Estimer la proportion de sujets pour lesquels le niveau de biomarqueur dépasse une valeur de référence (quand celle-ci existe).

Une fois recueillis, les résultats des dosages des biomarqueurs peuvent s'interpréter de plusieurs manières selon les connaissances disponibles par ailleurs. En termes d'exposition des personnes et de la population, des valeurs de référence ont été établies à partir des enquêtes en population générale. En France, on s'appuie sur l'Enquête nationale nutrition santé (ENNS). Par exemple pour l'arsenic, cette valeur a été fixée à 10 µg/g de créatinine. En termes de risque sanitaire, les résultats sont confrontés à des valeurs de seuil sanitaire quand elles existent (provenant d'organismes internationaux comme l'OMS, les valeurs biologiques fixées en Allemagne (Human Biomonitoring Value (HBM)), ou encore les Biomonitoring Equivalent (BE)). Pour le cadmium urinaire, ces deux types de repères (valeur de référence et seuil sanitaire) sont connus. Un développement plus conséquent de l'interprétation des biomarqueurs est proposé dans la fiche pratique 11. Par ailleurs, la fiche pratique 1 permet d'accéder à des listes de biomarqueurs et d'études avec biomarqueurs.

2. IDENTIFIER DES SOUS-GROUPES DE POPULATION PARTICULIÈREMENT IMPRÉGNÉS

- Identifier des groupes de populations.
- Détecter si cette imprégnation est distribuée uniformément dans l'espace ou s'il y a des différences entre zones géographiques.
- Décrire les caractéristiques des personnes ayant des concentrations élevées afin d'identifier des facteurs communs.

3. DÉTERMINER QUELS FACTEURS SONT SUSCEPTIBLES D'EXPLIQUER LES VARIATIONS DES CONCENTRATIONS OBSERVÉES DES BIOMARQUEURS

4. IDENTIFIER SI POSSIBLE LA PART CONTRIBUTIVE DE DIFFÉRENTES VOIES OU SOURCES D'EXPOSITION (EAU, ALIMENTATION,...) DANS LES NIVEAUX D'IMPRÉGNATION OBSERVÉS (FACTEURS DE RISQUE)

5. COMPARER LA FRÉQUENCE DES SYMPTÔMES ET PATHOLOGIES ENTRE LE GROUPE EXPOSÉ ET LE GROUPE NON EXPOSÉ (OU ÉTUDE DE RELATION ENTRE EXPOSITION ET EFFETS)

Il est important d'identifier les objectifs auxquels une étude pourra répondre et ceux auxquels elle ne pourra pas répondre et d'en informer localement les parties prenantes au plus tôt.

Étape 4 - Existe-t-il un (ou plusieurs) biomarqueur(s) pertinent(s) dans le contexte local ?

Pour rappel, le choix d'une étude avec biomarqueurs doit se faire au regard :

1. de la nécessité de l'utilisation de biomarqueurs pour l'atteinte des objectifs de l'étude ;
2. de la faisabilité d'une telle étude (incluant la disponibilité d'au moins un biomarqueur pertinent).

Il existe de nombreux biomarqueurs décrits dans la littérature. Cependant, tous ne sont pas adaptés pour pouvoir être utilisé dans la situation étudiée. La question de la pertinence demande de répondre aux questions suivantes :

- La réponse globale en termes d'exposition apportée par ces biomarqueurs présente-t-elle un intérêt (sensibilité, spécificité, variations intra et interindividuelle du biomarqueur, cinétique et métabolisme du polluant...) ? Par exemple, si la spécificité de ces biomarqueurs par rapport aux polluants est faible, cela présente-t-il quand même un intérêt de les doser ?
- Y a-t-il des facteurs qui peuvent apporter de la confusion à l'interprétation tels que des apports conséquents par d'autres voies et milieux d'exposition qui ne permettraient pas de dégager la part attribuable à la voie et au vecteur impliqué dans la situation ?

Ces différentes questions sur l'existence d'un biomarqueur adapté à la situation relèvent de la connaissance des caractéristiques intrinsèques des biomarqueurs. De manière plus complète, il est nécessaire de rassembler les éléments publiés dans la littérature scientifique portant sur :

- La nature de l'exposition mesurée par le biomarqueur considéré : actuelle, récente ou cumulative du passé – la connaissance de la demi-vie du biomarqueur notamment oriente la nature de l'exposition mesurée ;
- La spécificité par rapport au polluant (d'autres substances ont-elles aussi ce biomarqueur ?) ;
- Les variabilités intra-individuelle et interindividuelle afin de pouvoir statuer sur la capacité à mettre en évidence des différences d'exposition, si elles existent ;
- La disponibilité de niveaux de référence, en population générale ou dans des situations de même nature : permet de confronter les résultats de l'étude menée.

Étape 5 - Une étude avec biomarqueurs à l'échelle locale est-elle faisable ?

Il n'est pas question ici d'analyser la faisabilité d'une étude épidémiologique en général, mais plutôt de mettre en avant les éléments spécifiques d'une étude utilisant des biomarqueurs. Les critères de cette faisabilité portent sur des champs très différents :

- les caractéristiques analytiques du ou des biomarqueur(s) pertinent(s), et les contraintes afférentes en termes de prélèvement, de préparation et de stockage ;
- la capacité à disposer d'une puissance satisfaisante, qui est conditionnée par la taille de l'échantillon au sein duquel les niveaux de biomarqueurs seront dosés. Cette taille doit être appréciée au regard de l'effectif total présent dans la zone d'étude ;
- la disponibilité de moyens humains qualitativement et quantitativement adaptés, c'est-à-dire l'ensemble des forces nécessaires pour permettre une enquête de terrain toujours lourde et longue ;
- la disponibilité de ressources financières suffisantes, car le coût de ces études atteint rapidement des montants importants (du fait des coûts de prélèvement et d'analyse, notamment) ;
- l'acceptabilité par la population d'une telle étude sollicitant des prélèvements biologiques, parfois invasifs.

De façon plus détaillée, l'analyse de la faisabilité conduit ainsi à répondre aux interrogations suivantes.

1. QUELLES SONT LES CARACTÉRISTIQUES ANALYTIQUES DU BIOMARQUEUR ?

Elles portent sur :

- la nature du prélèvement (urine, sang...) ;
- les contraintes du prélèvement (conditions de prélèvement, délais maximum pour la prise en charge du prélèvement, opérations techniques nécessaires à sa préparation en vue du dosage...) ;
- le recueil (notamment invasif ou non) ;
- les conditions de conservation des prélèvements ;
- les moyens à mettre en œuvre pour prévenir la contamination du prélèvement ;
- la simplicité de la méthode de dosage ;
- la disponibilité "en routine" de la méthode de dosage (par opposition aux méthodes mises en œuvre de façon expérimentale dans le cadre de recherches spécifiques) ;
- les limites de détection et de quantification de la méthode ;
- la spécificité de la méthode ;
- la répétabilité et reproductibilité de la méthode ;
- le contrôle qualité de la méthode.

Remarque : ces caractéristiques analytiques sont importantes. Les laboratoires qui seront chargés des dosages doivent avoir les compétences et les performances permettant d'atteindre des niveaux prédéfinis en fonction des besoins de l'étude pour chacune de ces caractéristiques. On veillera donc tout particulièrement dans le cahier des charges pour la réalisation des dosages à exprimer clairement les besoins en matière analytique (fiche pratique 9).

2. QUEL EST L'ORDRE DE GRANDEUR DE L'EFFECTIF DE POPULATION QUI PERMETTRAIT DE CONDUIRE L'ÉTUDE DANS DE BONNES CONDITIONS ? CET EFFECTIF PEUT-IL ÊTRE ATTEINT DANS DES CONDITIONS RAISONNABLES ?

Mettre en œuvre une étude d'exposition ou d'imprégnation n'a de sens que si les résultats ont une chance d'être conclusifs. En termes statistiques, il est nécessaire d'avoir pu inclure dans l'étude un nombre suffisant de personnes pour que les résultats aient une signification (nécessité d'une puissance statistique suffisante). Une première appréciation d'un effectif, même grossière, permettra de juger si ce nombre est atteignable ou non en comparaison de l'effectif total de population présent dans la zone délimitée pour les besoins de l'étude.

3. QUEL EST LE DIMENSIONNEMENT NÉCESSAIRE EN MOYEN HUMAIN ?

La faisabilité en termes de ressources humaines est indispensable à apprécier. La mise en œuvre d'une étude avec des biomarqueurs demande de préparer plusieurs phases dont :

- la phase de préparation du protocole ;
- la phase d'enquête de terrain ;
- la phase d'analyse des résultats ;
- la phase d'interprétation des résultats ;
- la phase de communication.

Toutes ces phases nécessitent du personnel tant les facettes sont diverses et les spécialités sollicitées nombreuses. Le responsable de l'étude devra animer une telle équipe. La phase de l'enquête de terrain est à bien préparer : lorsqu'il faut recruter des centaines de personnes et leur faire passer un questionnaire et procéder à des prélèvements biologiques, le temps à consacrer est très conséquent et nécessite généralement du personnel spécialisé. L'expérience montre que de telles études nécessitent de mobiliser un effectif de personnes relativement important pour qu'elles se réalisent dans des conditions et des délais appropriés.

4. QUEL EST LE BUDGET NÉCESSAIRE ?

Ces études utilisant un biomarqueur sont coûteuses. À l'instar des moyens humains, chacune des phases d'une telle étude est génératrice de coûts. On met souvent en avant les analyses au laboratoire qui sont plus ou moins onéreuses mais dont le nombre fait vite grimper le montant global. Cependant, la phase d'enquête peut nécessiter le recrutement spécifique d'une équipe d'enquêteurs dont le nombre de personnes à inclure dans l'étude détermine le volume de travail et le dimensionnement. Ces deux spécificités sont à considérer lors de l'élaboration de l'étude, sous peine d'avoir de mauvaises surprises avec un budget qui augmente au fur et à mesure de l'avancée de l'étude. Une planification rigoureuse des dépenses doit être anticipée.

5. QUEL EST LE DEGRÉ D'ADHÉSION DE LA POPULATION ?

L'adhésion de la population à la démarche proposée est une étape importante pour la réussite de l'étude. Son implication repose sur une bonne connaissance du cadre de l'étude, de ses objectifs et des modalités de restitution des résultats y compris des conclusions environnementales et sanitaires, communautaires et individuelles. Il est important que la population, les associations et les élus soient conscients au préalable des questions auxquelles pourra répondre l'étude et de ses limites. Leur implication, dès la phase d'analyse de la situation, est un atout majeur dans la réussite de la mise en œuvre de l'étude sur le terrain d'autant que les effets ou les expositions considérées ne sont pas toujours symptomatiques, la population ne se sentant pas alors obligatoirement concernée.

6. QUEL EST LE CALENDRIER POSSIBLE ?

L'analyse de la faisabilité passe aussi par l'établissement d'un calendrier qui permet de visualiser le déroulement des événements. C'est en même temps un moyen pour l'ensemble des acteurs de comprendre la temporalité dans laquelle l'étude s'inscrit et de savoir quels sont les temps d'attente, les temps de décision et les temps d'action.

Deuxième temps - Mise en œuvre de l'étude

Cette partie décline très concrètement la façon dont l'investigateur doit s'y prendre pour qu'une étude locale utilisant un ou plusieurs biomarqueurs se déroule, sur un plan technique, dans les meilleures conditions.

Il n'a cependant pas été retenu de présenter tous les éléments constitutifs de la mise en œuvre d'une telle étude, ni de détailler tous les éléments possibles pour chacune des fiches, mais plutôt de focaliser sur ceux spécifiques aux études utilisant un ou plusieurs biomarqueurs. Des compléments seront trouvés en se référant à des rapports d'études menées en France et listés dans une fiche dédiée.

L'attention de l'investigateur est donc portée sur les critères d'inclusion et exclusion des personnes, les aspects éthiques, l'organisation des prélèvements et de leur transfert au laboratoire, les analyses biologiques, statistiques, les interprétations et la communication des résultats. Chacun de ces points fait l'objet d'une fiche séparée.

Il n'a pas été oublié la relation avec les populations pour appréhender l'acceptation et l'adhésion de la population ; elle fait l'objet d'un développement spécifique dans une fiche *ad hoc*.

Fiche pratique 1 - Bibliographie d'études françaises locales

Il a paru utile de proposer au lecteur de cette aide méthodologique, une liste de rapports d'études menées en France ; ils peuvent compléter utilement, parce que ce sont des exemples concrets, l'expérience acquise valorisée dans les autres fiches pratiques.

Il est vivement conseillé au lecteur de construire sa connaissance et sa compétence en se référant autant qu'il le faudra à ces rapports. Par son approche locale, cette fiche complète la fiche pratique¹³ qui porte sur les enquêtes nationales conduites de par le monde.

- Durand C, Sauthier N, Schwoebel V. Évaluation de l'exposition à des sols pollués au plomb, au cadmium et à l'arsenic en Aveyron. Étude Cassiopée (cadmium et arsenic dans les sols : impact observé sur une population exposée). Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2011. 186 p. Disponible à partir de l'URL : <http://www.invs.sante.fr>
- Heyman C, Haeghebaert S, Farvacques C, Kalache N. Pertinence d'un dépistage du saturnisme et de mesures de l'imprégnation de la population en cadmium sur le secteur de Mortagne-du-Nord. Rapport final. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2008. 39 p. Disponible à partir de l'URL : <http://www.invs.sante.fr>
- Lasalle JL. Présence de plomb et d'arsenic sur le littoral sud de Marseille : une étude de santé. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2005. 41 p. Disponible à partir de l'URL : <http://www.invs.sante.fr>
- Exposition au plomb des enfants fréquentant le quartier de la Poudrette aux Pavillons-sous-Bois (Seine-Saint-Denis) – Résultats du dépistage du saturnisme – Juin 2004 – Résultats de l'étude des facteurs d'exposition au plomb selon des méthodes d'analyse de "données censurées à gauche". Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2009. 35 p. Disponible à partir de l'URL : <http://www.invs.sante.fr>
- ORS Provence Alpes Côte d'Azur, Institut de veille sanitaire. Évaluation des conséquences sanitaires et environnementales de la pollution d'origine industrielle au cadmium autour du site TLM dans le 15^e arrondissement de Marseille. Marseille: Observatoire régional de la santé Provence-Alpes-Côte d'Azur; 2001. 146 p. Disponible à partir de l'URL http://opac.invs.sante.fr/index.php?lvl=notice_display&id=9906

Par ailleurs, les dossiers thématiques de l'InVS portant pour l'un sur la biosurveillance et pour l'autre sur les sols pollués sont sources de compléments à consulter.

- Le dossier "biosurveillance" fournit l'ensemble des références bibliographiques des études de biosurveillance InVS quelle que soit leur nature : locale, régionale, nationale ciblée, nationale multipolluants, européenne et internationale ; on y trouve notamment le rapport sur l'étude d'imprégnation par les dioxines des personnes vivant autour d'incinérateurs. Il fournit également les distributions de référence françaises pour les biomarqueurs issus de l'étude ENNS (métaux, pesticides, PCB-NDL). Il est disponible à l'adresse suivante : <http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Environnement-et-sante/Biosurveillance>
- Le dossier "sols pollués" rassemble un certain nombre d'études avec biomarqueurs menées à un niveau local. Les composés sont des métaux : plomb, cadmium et arsenic. Ce dossier est disponible à l'adresse suivante : <http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Environnement-et-sante/Sols-pollues-et-sante>

Fiche pratique 2 - Relation avec les populations

1. OBJECTIFS POURSUIVIS

Le développement de cette partie concerne l'implication de la population concernée, en tant que citoyen avec ou sans représentation associative, et non de tous les acteurs (État, industriels, bureaux d'études, organismes institutionnels). Il a en effet paru plus logique de se focaliser sur les personnes qui seront sollicitées pour participer à l'étude. Par extension, les élus locaux et le corps médical local sont aussi concernés car ils seront notamment des relais sur le terrain. Cette fiche traite des relations de l'InVS avec la population.

De manière générale, l'intérêt devient de plus en plus manifeste d'établir des relations avec les populations concernées par la situation analysée. On peut exprimer les objectifs de la manière suivante.

Objectifs principaux

- Faire partager notre action, ses buts, ses modalités...
- Prendre en compte les attentes de la population.

Objectifs secondaires

1. Éviter la crise.
2. Favoriser l'adhésion, la mobilisation, la participation.
3. Mesurer l'écart entre les objectifs et les attentes des populations et comprendre l'éventuel décalage.
4. Adapter notre action par le développement d'outils nécessaires et appropriés.
5. Apporter des réponses à des questions individuelles et populationnelles.
6. Proposer éventuellement un suivi individuel sanitaire.
7. Engager des actions de gestion environnementales.

Ces relations avec les populations vont s'exprimer à tous les moments de l'étude mais avec des modalités différentes selon le temps de l'étude. Il convient donc de développer ce qui se passe avant la mise en place d'étude, pendant son déroulement sur le terrain, pendant sa phase d'exploitation scientifique et enfin sa phase de restitution des résultats.

2. QUEL CHEMINEMENT POUR LA MISE EN ŒUVRE ?

Cette relation avec les populations est proposée sous forme d'aide-mémoire pour chacune des étapes de l'étude. Pour des compléments, on peut se reporter utilement au document publié par l'InVS et intitulé : "Grille de questionnement sur l'implication de la population dans le cadre de sollicitations à un niveau local en santé environnementale"³.

2.1 Avant la mise en œuvre de l'étude

Objectifs :

- partager les objectifs et le protocole, voire le cas échéant la décision de ne pas mettre en œuvre d'étude avec biomarqueurs ;
- construire des points du protocole :
 - délimiter la zone d'étude,
 - définir la population d'étude,
 - déterminer le choix des biomarqueurs et d'éventuelles mesures environnementales (les sites de mesures),
 - déterminer l'emplacement des capteurs,
 - l'implication des médecins,
 - les modalités de mise en œuvre,
 - le plan de communication ;
- valider le protocole et les objectifs ;
- mobiliser toute la population.

³ Dor F, Schneider T, Boucher A, Chiron M, Coutureau F, Hazebrouch B et al. Grille de questionnement sur l'implication de la population dans le cadre de sollicitations à un niveau local en santé environnementale. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2010. 27 p. Disponible à partir de l'URL : <http://www.invs.sante.fr>

Méthodes :

- s'appuyer sur les connaissances locales de terrain ;
- informer sur les points clés de l'étude (ce à quoi répond l'étude et ce à quoi elle ne répond pas en particulier sur ce qui concerne l'exposition passée, la question sanitaire) ;
- communiquer :
 - téléphone, numéro vert,
 - plaquette, courrier d'information,
 - réunion publique,
 - forum Internet.

2.2 Pendant le déroulement de l'étude sur le terrain

- Favoriser la mobilisation des participants : se montrer/ rappeler les participants.
- Dialoguer avec les enquêtés au cours du questionnaire :
 - formation des enquêteurs ;
 - rôle de relais, d'écoute/conseil ;
 - rôle d'information.
- Suivre la perception de la mise en œuvre de l'étude : pour une adaptation continue de la mobilisation :
 - avec des entretiens ;
 - en analysant les retours *via* Internet/numéro vert ;
 - analyse sociologique pour une amélioration des études futures ;
 - pour la restitution des résultats.
- Informer sur l'état d'avancement : communication

2.3 Pendant la phase d'exploitation des résultats

Garder le contact avec la population concernée par l'étude :

- bilan de la phase de terrain ;
- informer sur les modalités de l'exploitation des résultats ;
- donner un échéancier/des délais ;
- rester à l'écoute de la population.

2.4 Pendant la phase de restitution des résultats

- D'un point de vue scientifique : faire comprendre et s'appropriier les résultats :
 - au niveau collectif :
 - édition et diffusion d'une synthèse ;
 - réunion publique ;
 - information sur le site Internet ;
 - au niveau individuel :
 - information sur les niveaux observés, les sources, les voies d'exposition ;
 - mise en regard des niveaux de référence associés ;
 - méthode : courrier, relais médecins, médecins toxicologues mandatés, consultation de pathologies environnementales et professionnelles...
- D'un point de vue d'interprétation sanitaire : faire comprendre le bien-fondé de mettre en place ou non des actions de santé publique proportionnées à la préoccupation de la situation. Il sera éclairé par l'objectif à atteindre et la faisabilité des modalités à mettre en place :
 - une prise en charge sanitaire = orienter individuellement les personnes ;
 - une surveillance sanitaire ou environnementale ;
 - un dépistage systématique ou non ;
 - ...

Fiche pratique 3 - Critères d'inclusion et d'exclusion des personnes

Il est important de bien définir la population d'étude qui permettra, après exploitation des données recueillies, d'atteindre l'objectif annoncé. L'utilisation d'un ou plusieurs biomarqueurs peut conditionner la sélection de cette population qui repose sur des critères dits d'inclusion et/ou d'exclusion. Il convient de les distinguer des caractéristiques qui permettront d'identifier, au sein de cette population des groupes restreints de population présentant des contrastes d'exposition.

Cette fiche ne détaille que les critères d'inclusion et d'exclusion en lien avec l'utilisation d'un biomarqueur.

1. CRITÈRES D'INCLUSION

- **La tranche d'âge** : elle sera fonction de l'objectif annoncé, par exemple, s'il porte sur les enfants ou les femmes en âge de procréer. Un âge minimum ou maximum peut être déterminé pour des raisons éthiques et médicales. La nature du polluant, cumulatif ou non, peut aussi influencer la tranche d'âge à retenir.
- **Le sexe** : l'éventuel choix sera aussi fonction de l'objectif.
- **Résidence dans la zone d'étude** : la zone d'étude peut être définie par les concentrations mesurées ou modélisées ("panache" par exemple) dans l'environnement, la délimitation d'une commune...
- **Le temps de résidence** minimum à la même adresse (ou au moins dans la zone exposée) est à définir afin d'appréhender la durée d'exposition des personnes. Ce temps sera très variable en fonction du polluant étudié. Un polluant cumulatif imposera un temps de résidence long pour observer un retentissement visible au niveau de l'imprégnation ; un polluant non cumulatif, au contraire, ne nécessitera pas une longue durée de présence dans la zone concernée. Il est important de s'assurer que les temps de résidence des sujets exposés et non exposés soient similaires. Un assouplissement de ce critère peut parfois être envisagé afin de favoriser la participation.

D'autres critères d'inclusion peuvent être ajoutés en fonction des objectifs poursuivis.

Exemple : dioxines et lait maternel

Caractéristiques du biomarqueur : substance cumulative – élimination notamment par le lait maternel, d'autant plus avec le nombre d'enfants et d'allaitements successifs.

Critères d'inclusion : femmes allaitantes – primipares pour éviter l'influence des maternités successives – tranche d'âge 20-35 ans pour une certaine homogénéité de l'accumulation de la substance dans l'organisme et de la physiologie.

Exemple : arsenic et sol pollué

Caractéristiques du biomarqueur : substance non cumulative – élimination urinaire rapide – apport important par la consommation de poisson et produits de la mer.

Critères d'inclusion : être présent dans la zone d'étude les quatre jours précédents le prélèvement – être âgé de plus de 2 ans pour la faisabilité du recueil urinaire – ne pas consommer de poisson et produits de la mer dans la semaine précédant le prélèvement.

2. CRITÈRES D'EXCLUSION

Ces critères définissent des caractéristiques des personnes qui viendraient interférer sur les niveaux d'exposition que l'on souhaite mesurer. Certains critères viennent naturellement en contrepoint des critères d'inclusion. On peut citer en complément :

- **l'exposition professionnelle** : il sera très difficile voire impossible de faire la part de l'exposition à la substance qui est attribuable à l'environnement général et celle provenant de l'activité professionnelle ;
- **les personnes qui ne sont pas aptes d'un point de vue médical** à subir le prélèvement nécessaire pour l'étude : lors de recueil de prélèvement invasif, comme le sang, un médecin exclura toutes les personnes non aptes au

prélèvement sanguin. Par exemple, les personnes diabétiques peuvent être exclues en raison du risque d'hypoglycémie lié à un prélèvement à jeun ;

- **les personnes ayant une pathologie particulière** qui viendrait interférer dans l'exploitation des données ;
- **les personnes ne maîtrisant pas suffisamment la langue** pour comprendre les tenants et les aboutissants de l'étude et répondre de façon éclairée au questionnaire (à moins qu'une aide dans la compréhension de la langue ne soit apportée) ;
- **la toxicocinétique de la substance étudiée** : par exemple, dans l'étude dioxines et incinérateurs avec dosage sérique des dioxines, les femmes enceintes ou allaitantes au cours de la dernière année ou ayant allaité plus de trois mois au cours des 15 dernières années ont été exclues. En effet, les dioxines sont lipophiles et se concentrent notamment dans le lait maternel. Or, l'allaitement est une voie naturelle d'excrétion de ces substances qui est susceptible d'entraîner une diminution de l'imprégnation. Ainsi, l'imprégnation des femmes ayant allaité n'est pas interprétable simplement : elle varie en fonction de la variation importante de poids, du nombre et de la durée d'allaitement ;
- **les personnes suivant un régime entraînant des modifications métaboliques préjudiciables à l'analyse des données** : par exemple, une variation de poids récente et importante entraîne une perturbation des échanges lipidiques et une redistribution de certaines substances lipophiles au sein de l'organisme.

Exemple : dioxines et incinérateurs

Caractéristiques du biomarqueur et de la substance : substance cumulative – émissions dans de nombreuses activités.

Critères d'exclusion : être employé dans une activité générant des dioxines (incinération, métallurgie, fonderie, pompier).

Exemple : cadmium et sol pollué

Caractéristiques du biomarqueur et de la substance : substance cumulative – élimination urinaire – émissions industrielles importantes.

Critères d'exclusion : être employé dans une industrie générant une pollution au cadmium – être présent dans la zone d'étude depuis moins de deux ans.

Remarque : dans le cas de la recherche de plusieurs biomarqueurs, on peut envisager d'inclure des personnes présentant des expositions professionnelles pour un seul des biomarqueurs étudiés. Dans ce cas, l'information concernant les personnes susceptibles d'être exposées de par leur profession à certaines substances dosées et pas à d'autres doit être recueillie afin de les exclure ultérieurement d'une partie des analyses (toxicologiques et statistiques).

3. BILAN

L'examen des critères d'inclusion et d'exclusion est nécessaire comme dans toute étude épidémiologique et de santé publique. La réflexion sur ces critères entraîne inévitablement celle sur les facteurs de variation et de confusion. Ne pas retenir une caractéristique comme critère d'inclusion ou d'exclusion mérite de s'interroger sur sa considération en tant que facteur de variation ou de confusion. Dans le cas des biomarqueurs, l'alimentation, les expositions professionnelles, la consommation de tabac et d'alcool sont autant d'exemples montrant cette importance.

Fiche pratique 4 - Aspects réglementaires

La mise en œuvre d'une étude utilisant un ou plusieurs biomarqueurs demande la constitution de plusieurs dossiers pour obtenir les avis favorables ou les autorisations de différents comités ou commissions dans le cadre juridique de la loi du 9 août 2004, complété par le décret du 26 avril 2006 (<http://www.recherche-biomedicale.sante.gouv.fr/> [1]).

1. DEMANDE D'AVIS DU CCTIRS ET DEMANDE D'AUTORISATION AUPRÈS DE LA CNIL

Les traitements de données ayant pour fin la recherche dans le domaine de la santé font l'objet d'une procédure spécifique d'autorisation de la Commission nationale de l'informatique et des libertés (Cnil, <http://www.cnil.fr/>) [2]) après avis du Comité consultatif sur le traitement de l'information en matière de recherche dans le domaine de la santé (CCTIRS).

Le silence du CCTIRS vaut avis favorable au terme d'un délai d'un mois.

La Cnil se prononce dans un délai de deux mois renouvelable une fois. À défaut, la demande est réputée rejetée.

Au sein de l'InVS, le dossier CCTIRS est rédigé par le département scientifique ou la Cire concernée et adressé directement au CCTIRS après signature du responsable du département ou du coordonnateur de Cire. Le dossier CCTIRS des Cire devra être au préalable validé par le Département de coordination des alertes et des régions (Dcar, InVS).

Un référent Cnil a été désigné au Service financier, logistique et économique (SFLE, InVS) pour assurer l'interface institutionnelle avec la Cnil et aider à la constitution des dossiers. Il apporte, en collaboration avec la Direction scientifique, son soutien au montage des dossiers Cnil. Une procédure a ainsi été rédigée afin de définir les principes d'organisation de l'InVS pour le traitement des dossiers Cnil (procédure n° : DG/ORG/006).

2. DEMANDE D'AUTORISATION AUPRÈS DU COMITÉ DE PROTECTION DES PERSONNES (CPP)

Le CPP est une instance officielle chargée d'analyser et de donner une autorisation sur les protocoles de recherche impliquant des personnes et la constitution de collections d'échantillons biologiques.

L'article L.1123-6 du Code de la santé publique (introduit par la loi du 9 août 2004 [3]) précise ainsi qu'" avant de réaliser une recherche biomédicale sur l'être humain, le promoteur est tenu d'en soumettre le projet à l'avis de l'un des comités de protection des personnes compétents pour le lieu où l'investigateur ou, le cas échéant, l'investigateur coordonnateur, exerce son activité. Il ne peut solliciter qu'un seul avis par projet de recherche."

Avant de demander l'autorisation au CPP, il est nécessaire d'entreprendre deux autres démarches :

- l'inscription de l'étude : le promoteur obtient un numéro d'enregistrement sur le site Internet de l'Afssaps/DGS qui identifie chaque recherche biomédicale réalisée en France. Au sein de l'InVS, cette démarche est effectuée par le SFLE ;
- la demande d'attestation d'assurance. Au sein de l'InVS, pour pouvoir demander une attestation d'assurance, il faut adresser au SFLE, le protocole complet pour qu'il le fasse parvenir à l'assureur qui définira si l'étude rentre dans les contrats de l'InVS. Le délai d'obtention de cette attestation est d'environ un mois.

En plus du protocole pour le dossier CCTIRS et pour le CPP, tous les dossiers doivent comprendre le modèle de la lettre d'information et du formulaire de recueil du consentement.

3. LA LETTRE D'INFORMATION

Les personnes auprès desquelles sont recueillies des données nominatives ou à propos desquelles de telles données sont transmises, doivent, avant le début du traitement de ces données, être individuellement informées :

- de la nature des informations transmises (les objectifs, le déroulement et les contraintes éventuelles de l'étude, les incidents susceptibles de survenir lors du prélèvement, les moyens de communication des résultats) ;
- de la finalité du traitement des données ;

- des personnes physiques ou morales destinataires des données ;
- du droit d'accès et de rectification des données ;
- du droit d'opposition et dans le cas où le projet nécessite le recueil de prélèvements biologiques identifiants, le consentement de la personne sous forme écrite.

La lettre d'information a pour objectif d'informer les participants potentiels à la recherche de façon à leur permettre d'exercer au mieux leur liberté de décision. Il s'agit d'un support écrit qui vient en complément de l'information orale qui doit toujours être donnée par l'investigateur.

Le fait que les résultats globaux de la recherche seront communiqués à chaque participant doit être abordé et les modalités sont à préciser.

4. LE FORMULAIRE DE CONSENTEMENT

Le formulaire de consentement a pour objectif de formaliser pour chacune des parties (participant, investigateur, promoteur) l'accord de participation et ses conditions.

Le formulaire de consentement doit être un document distinct de la lettre d'information même s'il reprend nécessairement certaines informations présentes dans la lettre.

En pratique, des conseils de rédaction pour la lettre d'information et le formulaire de consentement sont mentionnés sur les sites Internet des CPP (exemple : <http://www.cpp-sudmed2.fr/> [4]).

5. DEMANDE D'AUTORISATION À LA DGS

Parallèlement à l'envoi du dossier au CPP, une demande d'autorisation de recherche biomédicale doit être adressée au ministre chargé de la Santé (DGS).

Références bibliographiques

[1] Loi du 9 août 2004, complétée par le décret du 26 avril 2006. Consultable sur : <http://www.recherche-biomedicale.sante.gouv.fr/>.

[2] Cnil : informations complémentaires disponibles sur le site internet : <http://www.cnil.fr/>.

[3] Article L.1123-6 du code de la santé publique : <http://www.recherche-biomedicale.sante.gouv.fr/pro/comites/accueil.htm>.

[4] Lettres d'information et formulaire de consentement. Site internet fournissant des conseils de rédaction : <http://www.cpp-sudmed2.fr/>.

Fiche pratique 5 - Recrutement de la population d'étude et déroulement du monitoring

1. PRÉ-INCLUSION

Une fois la population cible définie (fiche pratique 2), la sélection des sujets à inclure dans l'échantillon d'étude s'effectue à partir d'une base de sondage (listes téléphoniques, listes électorales...) préalablement choisie. La constitution de la base de sondage est une phase fastidieuse dont il ne faut pas sous-estimer la durée. L'obtention des coordonnées téléphoniques des participants est un préalable important qui sera ensuite particulièrement utile au cours des différentes phases d'inclusion. Un prestataire de service est souvent nécessaire afin de les obtenir.

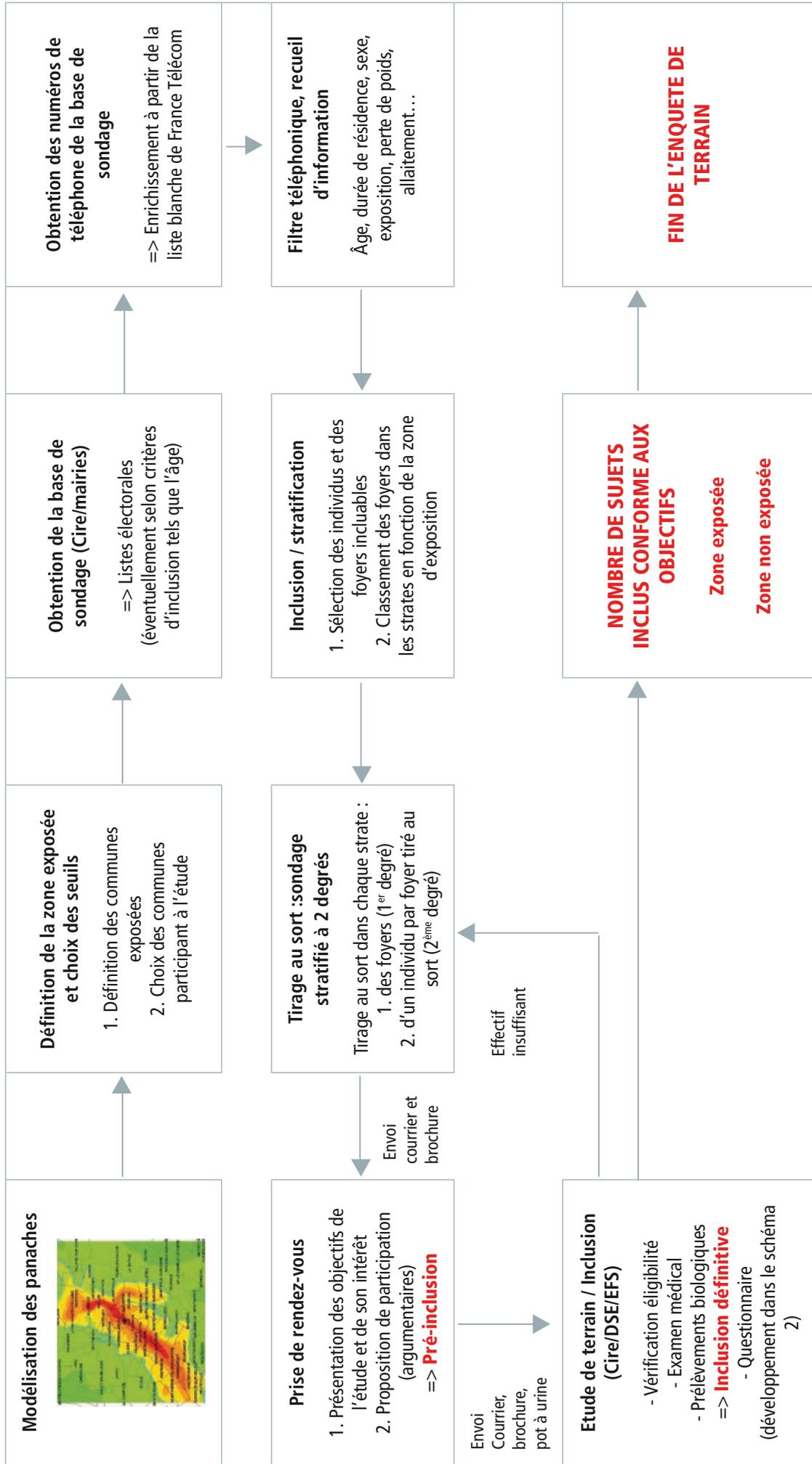
L'inclusion des personnes sélectionnées se fait au regard des critères d'inclusion et d'exclusion déterminés au préalable. Le recours à un filtre téléphonique (petit questionnaire court) peut être envisagé dans un premier temps pour s'assurer que ces critères sont respectés (par exemple, pour vérifier la tranche d'âge et la durée de résidence retenues pour l'étude). Un des critères peut consister à s'assurer que la personne réside bien dans la zone d'étude, par exemple au moyen d'une carte ou en faisant appel à un prestataire de service spécialisé dans la géolocalisation.

En cas de présence d'au moins un critère d'exclusion, la personne sera exclue de l'étude et ne sera pas prélevée par la suite. Des informations sur les individus exclus pourront être toutefois recueillies afin de comparer les caractéristiques des sujets inclus de ceux exclus de l'étude. Il peut en être de même pour les sujets refusant de participer à l'étude, afin là encore de comparer leurs caractéristiques avec celles des sujets acceptant la participation.

Cette étape ne présente pas de spécificité particulière dans le cadre d'une étude utilisant un ou plusieurs biomarqueurs par rapport à d'autres types d'études épidémiologiques. Cependant, pour clarifier la sélection et l'inclusion des personnes, le schéma 1 – les différentes phases conduisant à l'inclusion des sujets : l'exemple de l'étude dioxines – qui prend appui sur l'exemple de l'étude "dioxines et incinérateurs", est proposé pour visualiser les différentes phases possibles.

ISCHÉMA 1 I

Les différentes phases conduisant à l'inclusion des sujets : l'exemple de l'étude dioxines et incinérateurs*



* Fréry N, Volatier JL, Zeghoun A et al. Etude d'imprégnation par les dioxines des populations vivant à proximité d'usines d'incinération d'ordures ménagères – Rapport d'étude. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2009. 228 p. Disponible à partir de l'URL : www.invs.sante.fr, Dossier Incinérateurs et santé ou Dossier biosurveillance/étude nationale ciblée.

2. INCLUSION DÉFINITIVE ET ENREGISTREMENT DES PERSONNES

Une fois que la personne a accepté de participer à l'étude et que les critères d'éligibilité sont vérifiés, le plus souvent par téléphone, un rendez-vous est pris pour effectuer le prélèvement.

2.1 Gestion des rendez-vous

2.1.1 Définir si besoin une structure et un personnel qualifié pour accueillir les personnes et effectuer les prélèvements

Lors de l'enquête sur le terrain, si les participants se rendent dans une structure pour apporter ou effectuer les prélèvements nécessaires, la gestion des rendez-vous doit prendre en compte des contraintes liées au prélèvement, notamment pour les prélèvements sanguins. Ceux-ci doivent notamment être réalisés par une équipe spécialisée, ce qui peut nécessiter une certaine organisation et donc des contraintes d'horaires et de lieux. Par ailleurs, si la structure n'est pas une structure sanitaire classique (hôpital, centre d'examen de santé...), il faut s'assurer que les locaux répondent aux conditions optimales pour la réalisation des prélèvements (assurance des locaux, surface, point d'eau, toilettes, prises électriques, possibilité de stocker au froid les prélèvements).

2.1.2 Déterminer le moment approprié pour le prélèvement

Du fait de la source alimentaire de nombreux polluants, les prélèvements sanguins sont souvent obtenus auprès de personnes à jeun. Dans ce cas, tous les rendez-vous seront fixés le matin assez tôt. Il est important de téléphoner la veille du rendez-vous aux participants pour rappeler les consignes liées aux prélèvements, qui auront déjà été envoyées par courrier (exemple : être à jeun les 12 heures précédant l'horaire de prélèvement, ne pas fumer au cours des deux dernières heures, apporter vos lunettes, la liste ou les boîtes de médicaments...). Si une personne ne s'est pas présentée à jeun, il faut convenir d'un autre rendez-vous dans la mesure du possible. L'exclusion des personnes diabétiques pourra être envisagée si le prélèvement à jeun ne peut être réalisé suffisamment tôt, pour éviter tout risque d'hypoglycémie. Lors d'une prise de sang importante, un médecin doit s'assurer que la personne est apte au prélèvement. Par ailleurs, il sera alors nécessaire de prévoir une collation après le prélèvement.

Concernant les prélèvements urinaires, il est le plus souvent préféré le recueil des premières urines du matin aux urines de 24H, en raison de la variation circadienne de certains biomarqueurs et de la difficulté d'obtention du recueil complet du volume de l'échantillon dans une population non hospitalisée et non entraînée. La première miction présente en effet moins de variabilité qu'un échantillon au cours de la journée (en termes de niveau d'activité, d'effets de l'alimentation, d'état d'hydratation...). Cependant, pour certains biomarqueurs, au vu de leur demi-vie et de leur métabolisme, le rythme circadien peut influencer les niveaux obtenus.

2.1.3 La nécessité d'un circuit de transmission de l'information

Le circuit de transmission de l'information est crucial ; ainsi toutes les informations sur les prises de rendez-vous, les reports, les exclusions (pour raisons médicales...), les refus (effectifs, causes, caractéristiques sociodémographiques, si possible recueil de facteurs associés au biomarqueur) doivent être communiquées et échangées entre les équipes de préleveurs et d'enquêteurs et consignées dans un fichier informatique mis à jour très régulièrement.

Toutes les informations concernant la participation, les refus (nombre et causes, caractéristiques), les exclusions aux différentes étapes seront utiles pour le calcul du taux de participation à l'étude, le calcul de pondération des individus recrutés nécessaire à une bonne estimation des niveaux de biomarqueurs dans la population d'étude et comprendre les biais éventuels observés ultérieurement. Elles doivent être consignées dans un document permettant leur traçabilité (fichier Excel ou autre).

2.2 Recueil des données et vérification de l'inclusion définitive

2.2.1 Examen médical

Cet examen est obligatoire avant tout prélèvement sanguin et comporte un entretien et un examen clinique du sujet (mesure de la pression artérielle et mesures anthropométriques : poids et taille), dont les informations seront consignées dans un questionnaire. En effet, la corpulence (exprimée par l'indice de Quételet (poids/taille²) doit être prise en compte pour l'analyse des niveaux de biomarqueurs, notamment pour ceux qui sont lipophiles.

2.2.2 Prélèvements biologiques

La personne enquêtée pourra fournir des échantillons biologiques prélevés au domicile comme par exemple les urines obtenues le matin au réveil (ou le lait maternel), conditionnés dans un flacon fourni dans le cadre de l'enquête, avec l'aide d'un guide ou d'un document explicatif concernant les conditions de recueil au domicile. Lors de la présentation au lieu d'enquête, le flacon sera recueilli par l'enquêteur, étiqueté, stocké au froid et l'information le concernant sera consignée.

2.3 Enregistrement et anonymisation

Les prélèvements et les questionnaires associés seront anonymisés.

Fiche pratique 6 - Questionnaire

La plupart des caractéristiques des participants et des données d'exposition dans les études de santé avec biomarqueurs sont collectées par le biais de questionnaires. La validité des résultats de ces études dépend ainsi de la qualité de cet outil. Or, la construction d'un "bon" questionnaire est difficile et comprend de nombreuses étapes. L'objectif de cette fiche est de fournir les éléments de construction et d'utilisation d'un questionnaire dans le cadre des études de santé faisant appel à des biomarqueurs.

1. ÉLABORATION D'UN QUESTIONNAIRE

1.1 Liste des données à recueillir

Avant toute collecte d'informations, il est nécessaire d'établir la liste précise des données qualitatives ou quantitatives à recueillir à partir du questionnaire. Ce questionnaire doit permettre de vérifier l'éligibilité de l'individu interrogé pour l'étude et de recueillir les données sociodémographiques et environnementales nécessaires aux analyses.

Aussi, ces données doivent :

- répondre à la problématique et aux objectifs de l'étude ;
- décrire la population cible (données démographiques et critères d'inclusion ou d'exclusion) ;
- permettre de tenir le plan d'analyse statistique défini (rôle de chaque donnée).

En particulier, pour les études de santé incluant des biomarqueurs, l'exposition aux différentes substances chimiques de l'environnement doit être décrite. Les données suivantes devront ainsi être renseignées :

- les données sociodémographiques (âge, sexe) et socio-économiques qui influencent souvent l'exposition ;
- les caractéristiques physiologiques pouvant être associées au biomarqueur étudié comme la corpulence (poids/taille²), une perte récente de poids, le fait d'être enceinte, d'allaiter ;
- certaines pathologies (par exemple hépatiques, rénales) ;
- l'existence d'expositions professionnelles actuelles ou antérieures possibles au polluant étudié ;
- la pratique d'activités de loisirs pouvant être une source d'exposition au polluant étudié telles que dans l'exemple du plomb : chasse, tir, travaux dans habitat ancien ;
- les habitudes et mode de vie :
 - la consommation de tabac (fréquence, quantité, tabagisme passif, consommation passée ou présente, nombre d'années d'exposition cumulées),
 - la consommation d'alcool,
 - l'utilisation de produits particuliers (exemple pour le plomb : produits cosmétiques traditionnels tels que le khôl ou surma),
 - éventuellement la prise de certains médicaments ;
- l'habitat : type de logement, année de construction, réalisation de rénovation récente, type de chauffage de l'habitat (poêle, foyer ouvert, etc.) ;
- les habitudes de consommation alimentaire qui peuvent interférer avec l'exposition (exemple : végétarien, produits labellisés "bio", alimentation pauvre en fer, etc.) ou être une source d'exposition :
 - consommation (fruits et légumes, produits animaux (viande, poissons, fruits de mer abats, produits laitiers, œufs)),
 - consommation de produits locaux,
 - type d'eau consommé : eau du robinet, eau embouteillée, puits, etc. ;
- la présence d'un jardin : superficie, présence d'un potager et/ou arbres fruitiers, utilisation de pesticides, engrais, traitement des déchets ;
- d'autres facteurs d'exposition environnementaux spécifiques aux polluants étudiés.

1.2 Définition des variables

Chaque donnée recueillie correspond à une variable dont le rôle, l'unité, entre autres, sont définis par l'équipe projet. Le nom, le rôle, le type de variables devront être décrits ainsi que l'unité de mesure, l'étendue des valeurs attendues et les valeurs aberrantes.

Il est également nécessaire de réfléchir, dès cette étape, aux liens que peuvent avoir les variables entre elles afin, notamment, d'identifier les critères d'incohérence qui seront utilisés lors du contrôle de validité du questionnaire. Par exemple, un non-fumeur ne peut avoir une consommation journalière de cigarettes non nulle.

1.3 Rédaction du questionnaire

1.3.1 Rédaction des questions

La rédaction des questions est une étape délicate car celle-ci doit être suffisamment soignée et précise pour permettre une collecte fiable des informations recherchées. Chaque mot peut, en effet, influencer la perception d'une question et ainsi fragiliser la validité et la reproductibilité des réponses obtenues.

Ainsi, il est nécessaire de retenir que :

- les questions doivent être simples, claires, sans ambiguïté, et encourager des réponses honnêtes qui ne sont pas susceptibles d'embarrasser ou d'offenser le répondant ;
- les termes et concepts utilisés doivent être familiers et facilement compréhensibles pour l'individu interrogé ;
- lors de l'utilisation de questions fermées, les réponses présélectionnées doivent faire l'objet d'une réflexion suffisamment poussée pour assurer leur cohérence avec la question posée ;
- pour stimuler les réponses faisant appel à la mémoire, il est bon de poser des séries de questions reliées entre elles et de choisir un pas de temps de mémoire relativement court (exemple : durant les sept derniers jours).

Le tableau 1 présente l'ensemble des principes à respecter lors de la rédaction des questions, illustrés par des exemples d'erreurs à éviter.

Principes de rédaction des questions et exemples

	☹	☺
Clarté	Quelle est votre consommation de fruits de mer habituelle ?	Au cours d'un mois, combien de plats de fruits de mer consommez-vous ?
Simplicité	Avez-vous dans votre entourage (famille, ami, voisin), une personne (adulte ou enfant) atteinte de saturnisme ?	Avez-vous dans votre entourage (famille, ami, voisin), une personne (adulte ou enfant) pour qui on a trouvé un taux élevé de plomb dans le sang ?
Neutralité	Au cours du dernier mois, combien de fois avez-vous bu de l'alcool en excès ?	Au cours du dernier mois, combien de fois avez-vous bu plus de 5 verres d'alcool au cours d'une journée ?
Concept unique par question	Utilisez-vous le chauffage au bois, fuel ou électrique ?	Utilisez-vous les moyens de chauffage suivant ? Cheminée : __ nombre(s) de pièce(s) Chaudière : __ nombre(s) de pièce(s) Radiateur : __ nombre(s) de pièce(s)
Hypothèses non vérifiées	Vous consommez uniquement des fruits ou des légumes de votre production ?	Produisez-vous des fruits et légumes? oui/non Si oui, consommez vous uniquement des fruits et légumes de votre production ?
Questions et réponses non cohérentes	Prenez-vous votre véhicule pour votre trajet domicile-travail ? Jamais/Parfois/Souvent/Très souvent	Prenez-vous votre véhicule ou un autre véhicule particulier pour votre trajet domicile-travail ? Oui/Non Si oui : Quelle durée passez-vous en moyenne par jour dans un véhicule particulier ? __ heures __ minutes
	J'utilise parfois un barbecue D'accord / Pas d'accord	Une personne répondant "pas d'accord" peut ne jamais utiliser un barbecue ou très souvent en utiliser J'utilise un barbecue : au moins 1 fois par semaine ; 2 à 3 fois par mois ; 1 fois par mois ; moins d'1 fois par mois

1.3.2 Construction du questionnaire

Réfléchir au type de questionnaire à élaborer et à son mode de transmission :

- type de questionnaire élaboré : autoquestionnaire individuel ? Questionnaire par interview ?
- quelle modalité de transmission et collecte de l'information :
 - S'il s'agit d'un auto-questionnaire, celui-ci sera envoyé par courrier postal ? e-mail ? ou rempli par Internet ?
 - S'il s'agit d'un questionnaire par interview, comment seront interrogées ces personnes : en face-à-face ou par téléphone ?

Selon le mode d'administration du questionnaire, les questions pourront être posées différemment.

- Préparer une notice d'accompagnement du questionnaire. Cette notice permet de présenter brièvement le contexte et l'objectif de l'étude et d'expliquer la façon dont vont être utilisées les données recueillies. Elle mentionne également le caractère confidentiel des résultats collectés et le droit des participants de refuser de répondre aux questions.
- S'assurer que l'ensemble des informations sont demandées. L'ensemble des variables identifiées doivent pouvoir être renseignées par le questionnaire. Chaque point du questionnaire doit avoir du sens pour répondre à l'objectif visé.
- Réduire le plus possible le nombre de questions. Les questions non essentielles augmentent la durée qui va être consacrée à y répondre et l'effort à fournir pour les vérifier et les analyser. Résister à la tentation d'ajouter des questions "juste au cas où" et définir clairement la durée du questionnaire.

2. RECUEIL DES DONNÉES

Il est important de préparer un guide de recueil des données quand le questionnaire est posé en face-à-face par un enquêteur. Le codage des variables qualitatives (genre, catégorie socio-professionnelle...) et des données manquantes ou "sans objet" doit également être pensé avant le recueil des données. Exemple : Données manquantes = "-" et données sans objet = "999".

Remarque : le recodage des "sans objet" permet de bien distinguer les vrais manquants des données "sans objet" qui ne sont pas renseignées car dépendantes du résultat d'une autre variable. Exemple : les questions sur la grossesse ne concernent pas les hommes.

Le recueil des données doit être pensé en fonction de l'analyse statistique qui suit. La réussite de l'analyse statistique dépend de la qualité de la base de données. Le recueil des données nécessite l'élaboration de l'outil de saisie qui, selon la complexité, pourra être :

- un simple tableau Excel, avec les individus en ligne et variables en colonnes en ayant pris soin de bien définir les formats de chaque variable ;
- un masque de saisie élaboré sous un logiciel de gestion de données (Access, Epi Info, SAS...), avec définition des formats, codages des variables et mise en place des contrôles à la saisie (valeurs aberrantes, incohérences...) ;
- le masque de saisie doit avoir un aspect convivial...

Par ailleurs, le nom des sujets ou tout caractère identifiant ne doit pas être contenu dans la base de données destinée à l'analyse statistique. Créer un fichier séparé qui relie les informations identifiantes des sujets et leur numéro d'identification.

3. VALIDATION

La validation des données est nécessaire afin de détecter les données manquantes, les valeurs aberrantes, les éventuels doublons et de vérifier la cohérence entre les variables.

- La programmation des contrôles peut être réalisée sur un logiciel statistique capable de détecter les données manquantes, les valeurs aberrantes et les incohérences.
- Deux fichiers de contrôle sont alors obtenus : comptage des problèmes détectés par individu et par variable et listings des problèmes détectés (le listing pouvant être par individu ou par variable).
- Les corrections possibles aux problèmes détectés sont proposées par l'équipe projet et, une fois les corrections apportées, l'opération de contrôle doit être renouvelée.
- Un nouveau fichier comptant les problèmes restant par individu et par variables sur les données corrigées (certains problèmes ne pouvant pas être corrigés) est alors obtenu et conservé.
- Une synthèse de l'étape de validation est écrite, le but étant de disposer d'une traçabilité précise sur l'historique de la démarche de validation.

Fiche pratique 7 - Statistiques : recrutement et exploitation des données

Les aspects statistiques sont très importants à prendre en compte dès le début d'une étude d'imprégnation afin de s'assurer de pouvoir :

1. estimer le niveau d'imprégnation de la population d'étude sans biais, avec une précision suffisante ;
2. étudier les facteurs de risque associés à l'exposition et permettre des comparaisons de groupes d'exposition ;
3. éventuellement comparer la fréquence des symptômes et pathologies entre des groupes d'exposition.

1. LE RECRUTEMENT

Au préalable, on se sera assuré du calcul de la taille minimale de l'échantillon de la population d'étude en vue d'estimer le niveau d'imprégnation de manière suffisamment précise et de permettre éventuellement la comparaison de moyennes d'imprégnation : fonction de la variabilité du biomarqueur dans la population, de la différence attendue de la concentration de biomarqueur entre deux situations d'exposition, etc. Plus la taille de l'échantillon augmente, plus la précision de l'estimation croît. Cette taille d'échantillon conditionne la puissance des tests qui seront effectués ultérieurement.

La méthode d'échantillonnage permet de constituer un échantillon à partir d'une population source (population accessible durant l'enquête issue de la population cible). L'échantillonnage (et les caractéristiques de l'échantillon qui en résultent) détermine le caractère généralisable ou non des résultats de l'étude à la population cible. L'échantillon doit être représentatif de la population cible. Pour un exposé détaillé des méthodes d'échantillonnage, se référer au livre de Pascal Ardilly (http://www.insee.fr/fr/ffc/docs_ffc/cs121q.pdf [1]).

1.1 Méthode probabiliste d'échantillonnage

On utilise généralement la méthode probabiliste d'échantillonnage qui consiste à tirer au sort (TAS) l'échantillon dans la population à étudier, donnant à chacun des éléments de celle-ci une probabilité connue non nulle, d'être sélectionnée. Elle permet d'éviter les biais liés à la participation et de calculer la marge d'erreur de l'estimation (variance). Elle nécessite une **base de sondage**, c'est-à-dire une liste exhaustive des éléments constituant la population : individu, éléments ou unité de sondages (grappe, zone géographique, etc.).

On peut effectuer différents types de sondage.

1.1.1 Aléatoire simple

Les deux méthodes du tirage au sort les plus utilisées sont :

- l'utilisation de nombres au hasard (logiciels, tables) ;
- le tirage systématique :
 - celui-ci est simple puisqu'on retient chaque Nième individus de la base de sondage (suite arithmétique dont le pas est égal à N/n),
 - chaque individu a une probabilité égale d'être inclus dans l'échantillon,
 - un des écueils de ce type de TAS est le biais éventuel en cas de classement des individus dans le fichier, où le facteur de classement serait lié à l'exposition.

1.1.2 En grappes

- TAS d'unités de sondage appelées grappes et interrogation de tous les individus.
- permet de réduire les coûts d'enquête liés à la dispersion des personnes interrogées.
- peut générer un effet de grappe (variance intragrappe faible) si les individus d'une même grappe sont similaires.
- exemple : écoles pour étude chez les enfants.

1.1.3 À plusieurs degrés

- TAS à différents niveaux successifs.
- Exemple : TAS communes, puis foyers, puis individus.

1.1.4 Stratifié

- Unités regroupées par strates censées être plus homogènes que la population dans son ensemble, par rapport au caractère étudié.
- La population est divisée en sous-ensembles appelés strates et un sondage est réalisé dans chacune d'elles.
- Proportionnel ou non (la fraction de sondage peut être variable ou non d'une strate à l'autre du moment qu'elle est connue afin de la prendre en compte dans l'analyse par des pondérations).
- Exemple : strates selon type de commune (zone urbaine / zone rurale).

1.2 Méthode non probabiliste d'échantillonnage

La méthode non probabiliste repose sur un choix raisonné d'individus de la population en respectant des règles fixées à l'avance, concernant les caractéristiques individuelles (**quotas**) et/ou les lieux d'enquête et/ou le moment d'enquête, etc. Il peut y avoir une probabilité nulle d'être inclus dans l'échantillon pour certains individus. Le volontariat est également une méthode non probabiliste d'échantillonnage.

Si l'avantage de ce type de méthode réside dans un recrutement facilité (faible dispersion géographique) et donc d'un moindre coût de mise en place et d'un gain de temps, en revanche la représentativité de l'échantillon n'est pas assurée et ne permet pas de calculer la marge d'erreur de l'estimation. Elle n'est donc pas recommandée.

1.3 Taille d'échantillon

La détermination du nombre de sujets nécessaire est une étape importante de la **phase de conception d'une étude** et doit faire l'objet d'un chapitre du protocole et des rapports d'étude détaillant les hypothèses, la méthode de calcul, les résultats et le choix final du nombre de sujets. Le calcul de nombre de sujets nécessaire repose ainsi sur des hypothèses faites *a priori* lors de la planification de l'étude. Une fois les objectifs de l'étude clairement établis, le calcul se fait sur la base de **l'objectif principal** pour lequel on aura défini le **critère de jugement** qui permettra de conclure. Les méthodes de calcul sont nombreuses et dépendent de la situation, notamment du type d'étude et des méthodes statistiques mises en œuvre. Plusieurs approches sont possibles. Le calcul peut tout d'abord être basé sur la largeur d'un intervalle de confiance, notamment lorsque l'on cherche à estimer un paramètre (une moyenne, une prévalence etc.). Le plus souvent, le calcul repose sur la puissance associée à un test d'hypothèse. La puissance, qui traduit la capacité de l'étude à mettre en évidence un effet (une différence par exemple) lorsqu'il existe réellement, est en effet directement liée au nombre de sujet et augmente lorsque le nombre de sujets augmente. Le calcul de nombre de sujets nécessaire permet ainsi d'augmenter les chances de vérifier les hypothèses à l'origine de l'étude.

Pour un exposé détaillé sur le calcul de la taille d'échantillon se référer au " Guide méthodologique pour le calcul de nombre de sujets nécessaire " d'Hélène Sarter au DSE (en cours de publication).

1.4 Bases de sondage

La base de sondage est une liste comprenant l'ensemble de la population étudiée et au sein de laquelle sont prélevés par tirage au sort les individus interrogés (échantillon). Elle comprend les éléments constituant la population : individu, éléments ou unité de sondages (grappe, zone géographique, etc.). La constitution d'une base de sondage est souvent longue et fastidieuse. Elle peut être construite à partir de listes téléphoniques, électorales, de l'échantillon maître de l'Institut national de la statistique et des études économiques (Insee) issu du recensement de la population, de l'Échantillon généraliste des bénéficiaires (EGB) de l'Assurance maladie, du Répertoire national interrégimes des bénéficiaires de l'Assurance maladie (RNIAM), etc.

Une base de sondage doit avoir trois qualités principales [1] :

- elle doit permettre de repérer l'unité d'échantillonnage sans aucune ambiguïté. Ceci est possible grâce à un identifiant affecté à chaque unité ;
- elle doit être exhaustive pour éviter un défaut de couverture ;
- elle doit être sans double compte.

L'obtention des noms et adresses devra être complétée par les coordonnées téléphoniques (facilitant le contact des participants aux différentes phases d'enquête) dans les cas où la base n'est pas téléphonique (utilisation des annuaires).

Le recours à un prestataire de service peut être envisagé pour l'obtention des coordonnées téléphoniques ou pour s'assurer que les personnes figurant sur une liste répondent bien aux critères d'inclusion et d'exclusion. Il est en effet indispensable de vérifier ces critères (possibilité d'un filtre téléphonique). On vérifiera par exemple que la résidence est dans la zone d'étude définie par les retombées d'un panache, le fait de résider à cet endroit depuis un certain nombre d'années, que les personnes appartiennent bien à la tranche d'âge retenue pour l'étude.

1.5 Refus et pondération

La présence de non-réponse dans les enquêtes est un problème inévitable malgré toutes les précautions que l'on peut apporter à la préparation de l'enquête. Un organigramme résumant l'inclusion et les refus aux différentes étapes doit être réalisé.

Il est important de recueillir des informations sur les refus (nombre, caractéristiques sociodémographiques, causes, etc.) ; elles ont des conséquences sur le calcul du taux de participation et sur la représentativité de l'échantillon. Le taux de réponse est défini comme le nombre de sujets réellement inclus divisé par le nombre de sujets éligibles. Si les caractéristiques des personnes ayant refusé diffèrent de celles des participants sur des facteurs associés au niveau de biomarqueur, un biais de l'estimation de l'exposition peut survenir.

On distingue deux types de non-réponse : la non-réponse totale qui survient lorsque l'unité échantillonnée, ici l'individu, ne répond à aucune des questions posées et la non-réponse partielle qui survient lorsque le manque d'information est limité à certaines variables.

Little et Rubin [2] proposent de distinguer **trois mécanismes d'observation des données manquantes**. On parle de données :

- manquant complètement au hasard (MCA) lorsque la probabilité de réponse pour la variable d'intérêt "y" est la même pour toutes les unités de la population et ne dépend donc ni des variables explicatives ni de la variable d'intérêt "y" ;
- manquant au hasard (MA) lorsque la probabilité de réponse pour la variable d'intérêt "y" dépend des variables explicatives ;
- manquant non aléatoirement (MNA) lorsque la probabilité de réponse pour la variable d'intérêt "y" dépend de "y" ou d'autres variables non étudiées.

Plusieurs approches sont utilisées **pour traiter la non-réponse**.

- La modélisation des données complètes est la stratégie la plus courante. Elle consiste à inclure uniquement les répondants pour lesquels les renseignements sont complets. Cette méthode présente néanmoins certains inconvénients. En effet, l'échantillon des répondants dont les renseignements sont complets peut être réduit considérablement conduisant ainsi à une diminution de la puissance et de la précision. Il peut également devenir non représentatif de la population étudiée et fournir ainsi des estimateurs fortement biaisés à moins que les non-réponses surviennent complètement au hasard (MCA).
- Les deux autres méthodes généralement utilisées pour corriger le biais induit par la non-réponse sont la repondération et l'imputation.

• **Lorsque la non-réponse est totale**, on utilise en général, la méthode de repondération. Cette technique consiste à faire augmenter le poids des répondants pour compenser la non-réponse.

• **Lorsque celle-ci est partielle**, on utilise en général des méthodes d'imputation qui consistent à remplacer les valeurs manquantes par des données "plausibles", en général estimées à partir de celles des répondants. La repondération peut également être utilisée dans le cas de non-réponse partielle mais l'inconvénient est qu'il faut créer un nouveau poids de sondage pour chaque variable d'intérêt contenant des données manquantes. Par rapport aux méthodes de repondération, les méthodes d'imputation simple (et multiple) ont donc l'avantage de créer une (ou plusieurs) bases de données complètes avec un jeu de pondérations unique, ce qui donne plus de cohérence aux résultats des différentes analyses réalisées. Différentes méthodes peuvent être utilisées pour faire de l'imputation : imputation par la moyenne, le ratio, la régression, hot-deck aléatoire, l'imputation multiple...

2 CONSIDÉRATIONS SPÉCIFIQUES AUX BIOMARQUEURS

2.1 Censures à gauche : limites de détection et quantification

Des résultats de dosage inférieurs à la limite de détection (LOD) ou la limite de quantification (LOQ) peuvent parfois être obtenus et nécessitent un traitement particulier. La LOD est la plus petite concentration détectable dans l'échantillon. La LOQ correspond à la plus petite concentration qui peut être déterminée avec un niveau acceptable de fidélité, de justesse, et donc d'incertitude associée au résultat à un niveau de confiance fixé. La proportion des valeurs non détectées ou non quantifiées peut être élevée, et atteindre plus de 50 % pour certaines des substances étudiées (pesticides).

- Quand le pourcentage de ces valeurs est faible (<5-10 %), la méthode de substitution peut être utilisée. Les valeurs non quantifiées sont alors substituées par :
 - LOD/2 pour les valeurs inférieures à la LOD ;
 - (LOD+LOQ)/2 pour les valeurs entre la LOD et la LOQ.
- En revanche, lorsque la proportion de ces valeurs censurées est élevée (>10 %), il est préférable d'utiliser la méthode d'imputation multiple ou des méthodes de régression pour données censurées à gauche (régression Tobit) [3]. La méthode d'imputation multiple a l'avantage de prendre en compte l'incertitude liée aux données censurées. Elle consiste à remplacer chaque donnée manquante par M valeurs plausibles estimées à partir de celles des répondants.
- Lorsque le niveau de censure est vraiment très important (>60 %), une régression logistique est également envisageable pour la recherche d'association au détriment d'une perte d'information.

2.2 Cas particulier des échantillons urinaires : prise en compte de la créatinine

Pour les échantillons urinaires prélevés sous forme de spot (de préférence les premières urines du matin) et non sur 24 h (difficilement faisable dans le cadre d'une étude épidémiologique), il importe de tenir compte du degré de dilution urinaire. Différentes méthodes d'ajustement existent mais la méthode la plus courante consiste à ajuster la concentration de biomarqueur (arsenic, cadmium...) sur la concentration urinaire de créatinine. Les résultats pour lesquels la créatinine est inférieure à 0,3 g/L (urine trop diluée) ou supérieure à 3 g/L (urine trop concentrée) sont exclus de l'analyse (recommandations de l'OMS [4]).

Ainsi, pour les substances chimiques mesurées dans l'urine (comme l'arsenic, le cadmium, les pesticides urinaires), on présente généralement les résultats de deux façons :

- la concentration chimique exprimée par volume d'urine ;
- la concentration chimique exprimée par gramme de créatinine urinaire.

La créatinine étant liée à différents facteurs, si l'on utilise un modèle de régression avec pour variable de réponse (Y, variable expliquée) la concentration du biomarqueur (arsenic, cadmium...) divisée par la créatinine, une variable indépendante (X, dite variable explicative) identifiée comme significative dans le modèle peut être reliée à la créatinine et non à la concentration du biomarqueur. Pour traiter ce problème, on adopte la solution proposée par Barr *et al.* [5] qui consiste à séparer la concentration de biomarqueur et la créatinine dans le modèle. La créatinine est introduite dans le modèle comme variable explicative après transformation logarithmique.

3. L'EXPLOITATION DES DONNÉES

Pour atteindre les objectifs de l'étude, différentes analyses statistiques descriptives et multivariées sont à réaliser.

3.1 Vérification des données (fiche pratique 6)

Il faut bien préparer l'enquête en amont (questionnaire, recueil, formation des enquêteurs...) pour éviter au maximum les problèmes liés à la qualité des données. Ensuite, une vérification des données s'impose. Les variables utilisées pour l'analyse (issues directement du questionnaire ou recrées) doivent être définies. Il s'agit ici de :

- vérifier le codage des variables ;
- recoder certaines variables qualitatives (regroupement de classes lorsque les effectifs sont faibles...) ;
- créer de nouvelles variables si nécessaire ;
- traiter les valeurs aberrantes (variables quantitatives et semi-quantitatives) ;

- analyser la non-réponse à des facteurs de risque potentiels et, si nécessaire, imputer les valeurs manquantes ; si les facteurs sont très importants, il faut essayer de récupérer les non-réponses en revenant auprès des individus ;
- analyser de façon descriptive l'échantillon (sans prendre en compte le plan de sondage).

3.2 Analyse des données

L'analyse des données sera réalisée en plusieurs étapes.

3.2.1 Calcul des poids d'inclusion de l'échantillon

Tous les critères du plan d'échantillonnage (stratification, degrés et poids d'inclusion) doivent être pris en compte afin d'obtenir des estimations sans biais des paramètres d'intérêt. Pour que l'échantillon soit représentatif de la population cible selon certains critères que l'on connaît de cette population, un redressement peut être envisagé. Une fois les poids calculés, il faut analyser ces poids, les comparer et voir leur influence sur les estimations.

3.2.2 Analyse descriptive de la population d'étude

La description de la population d'étude sera réalisée en fonction des :

- caractéristiques sociodémographiques et socio-économiques ;
- caractéristiques physiologiques et médicales ;
- facteurs de risque identifiés comme étant potentiellement liés aux biomarqueurs (facteurs alimentaires, d'expositions spécifiques professionnelles ou de loisirs...).

3.2.3 Analyse descriptive des biomarqueurs

Au niveau descriptif, les distributions des concentrations biologiques des différentes substances chimiques sont généralement décrites sous forme de percentiles (10, 25, 50, 75, 90 et 95) et de moyennes géométriques (ajustées ou non ajustées), comme indiqué dans le tableau 2.

Les concentrations de biomarqueur suivent le plus souvent une distribution lognormale et sont alors transformées en données logarithmiques afin d'obtenir une distribution normale. La moyenne géométrique ou la médiane est préférée à la moyenne arithmétique pour éviter l'influence des valeurs extrêmes.

Les résultats sont présentés pour la population totale, ou par sous-groupe : par tranche d'âge, par sexe et selon certains facteurs de risque pour certains biomarqueurs (exemple : le statut tabagique pour le cadmium).

I TABLEAU 2 I

Exemple de tableau présentant la distribution d'un biomarqueur (résultats pondérés)

	Nombre d'observation (n)	Moyenne géométrique pondérée	IC 95 % de la moyenne géométrique	Percentiles pondérés						IC 95 % du P95
				10	25	50	75	90	95	
Population totale										
Sexe										
Femmes										
Hommes										
...										
Nom du biomarqueur LOD = LOQ = % de valeurs <LOD % de valeurs <LOQ										

3.2.4 Facteurs associés aux concentrations du biomarqueur

Au niveau multivarié, les modèles prévus doivent prendre en compte les facteurs de variation, de confusion et de risque des biomarqueurs.

Les facteurs associés à l'imprégnation par un biomarqueur seront identifiés en utilisant un modèle de régression dans lequel le biomarqueur ou une transformation de celui-ci est la variable dépendante et les variables issues des questionnaires sont les variables explicatives. La liste des variables à analyser, la constitution des groupes homogènes de variables (cf. infra) et la définition des interactions pertinentes doivent être réalisées dans le cadre d'un groupe de travail constitué d'épidémiologistes et statisticiens impliqués dans l'étude. La sélection de ces variables peut être réalisée en utilisant la procédure décrite ci-dessous.

1) Pour les facteurs de confusion : identifier les facteurs de confusion potentiels pour le biomarqueur jugés pertinents au vue de la littérature (âge, sexe, facteurs sociodémographiques, physiologiques...) et les forcer dans le modèle qu'ils soient statistiquement significatifs ou non.

2) Pour les facteurs de risque connus :

- identifier les facteurs de risque connus pour le biomarqueur au vue de la littérature (par exemple, consommation de poisson et amalgames dentaires pour le mercure, tabagisme pour le cadmium et l'arsenic, zone d'exposition...) et les forcer dans le modèle qu'ils soient statistiquement significatifs ou non ;
- obtention du modèle 1 contenant toutes les variables forcées.

3) Pour les autres facteurs de risque :

- répartir l'ensemble des autres variables explicatives sur n groupes homogènes. Par exemple, construire des groupes de variables décrivant l'exposition par voie alimentaire, l'exposition de loisirs... ;
- inclure dans le modèle 1i les variables pertinentes du groupe homogène i (i=1 à n), et sélectionner une ou deux variables en se basant sur des critères statistiques tels que le critère d'information d'Akaike (Aic). D'autres critères peuvent être utilisés, par exemple, choisir la variable la plus pertinente au vu de la question posée et éventuellement celle contenant le moins de données manquantes ;
- inclure l'ensemble des variables sélectionnées dans les étapes précédentes dans le modèle 2 (modèle final) et présenter les résultats pour les variables qu'elles soient significatives et non.

Références bibliographiques

[1] Pascal Ardilly. Les techniques de sondage, Édition Technip, 2006 ; consultable à l'adresse suivante :

http://www.insee.fr/fr/ffc/docs_ffc/cs121q.pdf.

[2] Little RJ, Rubin DB. Statistical Data, Missing. Intern. Encycl. Social Behav. Sci. 2001:15019-25.

[3] Lubin JH, Colt JS, Camann D, Davis S, Cerhan JR, Severson RK *et al.* Epidemiologic Evaluation of Measurement Data in the Presence of Detection Limits. Environ. Health Perspect. 2004;112(17):1691-6.

[4] OMS/WHO. Biological monitoring of chemical exposure in the workplace. Volume 1, Geneva, World Health Organization, 1996.

[5] Barr DB, Wilder LC, Caudill SP, Gonzalez AJ, Needham LL, Pirkle JL. Urinary creatinine concentrations in the US population: Implication for urinary biologic monitoring measurements. Environ. Health Perspect. 2005;113(2):192-200.

Fiche pratique 8 - Organisation de la collecte des prélèvements et du transport au laboratoire

1 ORGANISATION DE LA COLLECTE DES PRÉLÈVEMENTS

L'organisation des moyens à mettre en œuvre pour la constitution d'une "collection biologique" dépend de la nature des prélèvements. Le choix du matériel de collecte, d'aliquotage et de stockage, les procédures de traitement et d'aliquotage, et les conditions de transport et de stockage ont une importance primordiale permettant de garantir la qualité des résultats de dosages. Aussi, il est important de connaître les caractéristiques des marqueurs biologiques à doser (volatilité, thermolabilité, dénaturation au cours du temps, demi-vie, métabolisme...) et la présence éventuelle de ces marqueurs dans le matériel de recueil (plastique contenant des phtalates ou du bisphénol A par exemple). Dans l'organisation de la collecte, il est important de mettre en place des procédures opérationnelles standardisées (POS) surtout lors des études multicentriques, à tous les niveaux de réalisation de la collecte. Selon le biomarqueur à doser, le choix de la matrice biologique est aussi important. Pour certains biomarqueurs l'urine s'y prête mieux et pour d'autres c'est le sang par exemple.

1.1 Sang veineux

Il s'agit du type de prélèvement le plus contraignant pour les personnes participant à l'étude ; il doit être réalisé par du personnel médical diplômé (médecin, infirmier, technicien de laboratoire ou professionnel de santé possédant un certificat de prélèvement).

Cet examen médical est effectué lorsque la quantité de sang à prélever est importante. Il peut constituer un intérêt individuel pour le participant. Il aura pour but de vérifier l'aptitude du participant vis-à-vis des risques qu'il peut encourir (malaise vagal, anémie...) et permettra :

- d'apprécier l'état général du participant ;
- de réaliser la mesure de la pression artérielle ;
- de rechercher des signes cliniques d'anémie chronique (asthénie, pâleur cutanéomuqueuse, tachycardie, souffle systolique) et des causes fréquentes d'anémie chronique (saignements d'origine digestive ou gynécologique, donneurs de sang réguliers) ;
- et de vérifier l'aspect de la peau au point de prélèvement.

Des prélèvements de sang veineux ont été réalisés lors de l'étude autour des incinérateurs d'ordure ménagères (Fréry *et al.* 2009 ; Exemple de questionnaire médical issu de l'étude Dioxines et incinérateurs : http://www.invs.sante.fr/publications/2009/impregnation_dioxines_uiom/annexe_10.pdf [1])

Pour les prélèvements de sang avec des manipulations particulières de préparation de cellules, d'extraction ou une procédure d'aliquotage complexe, plusieurs interlocuteurs sont possibles :

- pour la collecte, l'Établissement français du sang (EFS), qui est expérimenté dans le traitement d'un grand nombre d'échantillons ; il possède un personnel compétent, est présent sur tout le territoire métropolitain ce qui pourra faire de lui un partenaire privilégié.
- toutefois, l'investigateur pourra faire appel à d'autres structures existantes telles que :
 - les Centres d'examen de santé (CES) de la Caisse nationale de l'Assurance maladie des travailleurs salariés (CnamTS) ;
 - des infirmiers mandatés ;
 - un laboratoire d'analyse médicale de ville ;
 - les structures hospitalières ;
 - des prestataires privés...

Les éléments à prendre en compte pour définir l'organisation de la collecte des prélèvements sont :

- la nature et le volume d'échantillon biologique à prélever (sang, urine, cheveux, lait maternel...) ;
- le nombre et la répartition géographique des participants ;
- l'organisation logistique ;
- et les contraintes analytiques des biomarqueurs ;
- d'autres contraintes pourront être dépendantes des spécificités de réalisation de l'étude (http://opac.invs.sante.fr/doc_num.php?explnum_id=21, [2]).

Précautions et recommandations

Concernant les participants, certaines consignes doivent être rappelées avant le prélèvement pour assurer la validité des dosages telles que le jeûne (ne rien manger ni boire dans les 8 - 12 heures précédant la prise de sang hormis de l'eau).

Concernant les organisateurs ou préleveurs, il convient de porter une attention particulière à propos :

- du choix du matériel de prélèvement, comme : le type d'aiguille et de tube (sec ou non) avec ou sans anticoagulant, aiguille et tube spécial utilisé pour le dosage des métaux (plomb, nickel, cobalt, chrome...);
- du choix d'un anticoagulant spécifique pour l'obtention du plasma. Ce choix devra être étudié au regard du biomarqueur : type d'anticoagulant (EDTA, héparine, citrate), avec ou sans gel séparateur ;
- lors du prélèvement sanguin, des consignes devront être respectées pour éviter les problèmes d'hémolyse ou de coagulation du sang (retournement lent des tubes, les remplir complètement pour éviter le vide, etc.).

1.2 Urines

C'est un prélèvement urinaire non invasif, très utilisé dans les études de biosurveillance environnementale humaine. Il est généralement réalisé directement par le sujet lui-même au domicile (ou dans un centre dédié à l'étude). Des systèmes spéciaux sont parfois prévus chez les jeunes enfants. La méthode harmonisée au niveau européen préconise un recueil des premières urines du matin au réveil. Elles ont l'avantage d'être plus concentrées et donc plus utiles pour déterminer les niveaux de la plupart des polluants en population générale. De plus, cela permet une standardisation par rapport aux variations circadiennes de certains biomarqueurs.

Si les urines n'ont pas pu être recueillies dans les conditions précitées, envisager un autre jour de recueil d'urine ; à défaut, il est indispensable de préciser pour le prélèvement qu'il ne s'agit pas des premières urines du matin, et si possible de préciser l'heure du prélèvement.

Dans le cas où le sujet réalise le prélèvement lui-même, un flacon de prélèvement et un sachet opaque sombre ainsi qu'une note explicative sur les conditions du recueil lui sont fournis. Le sachet opaque permet de stocker le prélèvement à l'abri de la lumière. Le flacon de prélèvement est en général en polypropylène (PP) de préférence haute densité et à vis pour assurer l'étanchéité lors du transport. Il faut faire attention aux problèmes de relargage ou d'adsorption liés au contact contenant/contenu.

Dans certaines situations, le prélèvement urinaire peut être envoyé par voie postale dans une enveloppe protégeant des chocs (type enveloppe à bulles).

Précautions et recommandations

Le recueil direct des urines dans le flacon prévu à cet effet doit se faire sans transvasements pour éviter tout problème de contamination de l'échantillon (indispensable dans tous les cas).

Il convient de rappeler aux participants certaines recommandations alimentaires, d'hygiène ou pratiques avant le prélèvement (dépend du type de dosage). Par exemple :

- ne pas consommer de poissons, coquillages et crustacés dans les trois jours précédant l'examen (pour le dosage des métaux principalement) ;
- être à jeun (pour les examens de santé et bilan glucidique) ;
- bien se laver les mains avant le prélèvement urinaire ;
- ne pas fumer dans les deux heures précédant le recueil des urines du matin (cotinine, arsenic et cadmium).

Une procédure de recueil des urines doit systématiquement être remise aux participants.

1.3 Cheveux

Ce type de prélèvement est simple à réaliser et non invasif. Il peut être réalisé par un personnel non médical ou par l'entourage du participant lui-même, mais nécessite néanmoins des précautions relatives au matériel de prélèvement et aux instructions (lavage des cheveux avec un shampooing doux, coloration ou non des cheveux, etc.).

Il s'agit de la matrice biologique utilisée depuis très longtemps pour le dosage du mercure organique ; elle est explorée actuellement en recherche pour mettre au point des méthodes de dosages de biomarqueurs tels que les pesticides.

1.4 Autres matrices

En dehors des trois matrices fréquemment utilisées pour les dosages environnementaux, il en existe d'autres moins utilisées comme :

- le lait maternel utilisé notamment pour la recherche des polluants organiques persistants (voir études Elfe, dioxines) ;
- le prélèvement salivaire.

NB : certains biomarqueurs ou leurs métabolites peuvent se retrouver dans certaines matières plastiques. Pour pouvoir justifier l'absence de phénomène de "relargage" des biomarqueurs ou de leurs métabolites ou l'absence de phénomène d'adsorption de ces mêmes biomarqueurs, il est important d'accorder une importance primordiale aux choix du matériel de collecte, d'aliquotage et de stockage et aussi de réaliser des tests de "blancs" lors des dosages. Une possibilité serait de stocker dans les mêmes conditions quelques cryotubes en remplaçant la matrice biologique, en l'occurrence l'urine, par une solution neutre (eau distillée) afin de les analyser au moment des dosages.

2. PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON ET STOCKAGE

Les échantillons biologiques devront être gardés au frais (+4 °C maximum + 10 °C) et à l'abri de la lumière dans l'attente de leur traitement au laboratoire. Ils devront être préparés, étiquetés puis stockés aussi rapidement que possible à une température qui dépend du type de prélèvement et du temps de conservation avant le dosage.

2.1 Sang

Selon le type de dosage envisagé, une préparation des échantillons de sang (centrifugation et aliquotage) peut être spécifiquement demandée pour récupérer le sérum, le plasma, les globules rouges ou les globules blancs.

Si la logistique le permet, les échantillons de sang doivent être traités dans les heures qui suivent le prélèvement. Le stockage doit être effectué dans les meilleurs délais (quelques heures à 24 heures selon l'expérience des études déjà réalisées) ; ce délai doit être raccourci pour le dosage de certaines substances, d'où la nécessité d'une bonne connaissance du biomarqueur à doser et de son métabolisme. Les conditions de traitement des échantillons seront à préciser (exemple : vitesse de centrifugation et température) ; en général, une vitesse de centrifugation de 2 000 à 3 000 g à +4 °C est utilisée.

2.2 Urines

Pour la collecte d'échantillons d'urine, aucune étape particulière n'est nécessaire avant le stockage, hormis un possible aliquotage. Le délai maximum entre un prélèvement d'urine et son stockage à une température de -20 °C ou -80 °C ne doit pas excéder 36 heures.

Ce délai pourra être raccourci pour le dosage de certaines substances.

2.3 Cheveux (mèche)

Il n'y a pas de contraintes particulières pour le stockage des cheveux. Un stockage à température ambiante à l'abri de l'humidité est suffisant.

3. TRANSPORT AU LABORATOIRE DE DOSAGES

3.1 Transport des échantillons biologiques prélevés à domicile

Pour les échantillons biologiques (**comme le sang, l'urine, le lait maternel**) prélevés au domicile des participants un transport à lieu en général à environ 4 °C (température du réfrigérateur) vers le lieu de traitement et de stockage des échantillons. Ce transport très peu contraignant a lieu en général dans des délais courts de quelques heures.

3.2 Transport des échantillons cryocongelés

Le prestataire devra appliquer les recommandations de bonnes pratiques de transport (BPT) dans le respect de la législation en vigueur (ADR – Accord européen relatif au transport international des marchandises dangereuses par la route [3], ou IATA – Association du transport aérien international [4]).

Étant donné leur nature, les prélèvements doivent être considérés comme "Spécimen diagnostic". Le prestataire devra fournir l'emballage (type diagnobag), l'étiquetage ainsi que les documents de transport nécessaires. L'étiquetage et les caractéristiques des emballages doivent être conformes à la réglementation en vigueur concernant le transport des prélèvements biologiques (emballage 650 – n° UN 3373).

Un cahier des charges doit être rédigé pour définir les critères techniques que devra respecter le transporteur. Les éléments suivants pourront en faire partie.

Lieu d'enlèvement et lieu de livraison des échantillons

Les bordereaux ou formulaires de commande de prestation doivent donner des indications précises sur les lieux d'enlèvements et de livraisons des échantillons biologiques, les horaires et les coordonnées des personnes contacts.

Température de transport

Les conditions de transport des échantillons doivent s'approcher des conditions de stockage. En général pour les prélèvements traités et stockés à très basse température (-20 °C ou -80 °C), les échantillons sont à transporter sous carboglace (-78 °C) si possible en camion frigorifié avec une traçabilité de la courbe de température qui sera remise au donneur d'ordre.

Pour des échantillons qui sont en attente d'un traitement, un transport à 4 °C est suffisant.

Le prestataire s'engage à respecter la chaîne du froid.

Délais impartis

Le prestataire s'engage à débiter la prestation de transport dans un délai de 48 heures maximum après avoir reçu la demande de l'InVS. La durée du transport ne doit pas excéder 24 heures maximum entre la prise en charge des échantillons au lieu de collecte et la livraison au laboratoire.

Incident majeur ou perte des prélèvements

Le prestataire engage sa responsabilité en cas de perte des prélèvements ou de non-respect du délai sauf en cas de force majeure (accident, grèves, neige) ou tout autre événement extérieur imprévisible et échappant à son contrôle. Tout incident survenant lors du transport (délai non respecté, rupture de la chaîne du froid, bris de tubes, perte de colis...) devra être noté et transmis au donneur d'ordre.

4. TRAÇABILITÉ

Les conditions générales de traçabilité lors de la réalisation d'une collection biologique sont assurées par :

- des étiquettes d'identification des échantillons comportant au minimum le numéro d'identifiant et le nom de l'étude ; les étiquettes "identifiant primaire" avec un code-barre si possible ;
- les fiches de suivi ou de transmission des prélèvements ; lors du transport des échantillons, des feuilles de suivi doivent être jointes aux échantillons ;
- les bordereaux de transport des échantillons d'un lieu à un autre ;
- les formulaires de demande ou d'attestation de sortie et d'envoi des échantillons ;
- les formulaires de demande et d'attestation de destruction des échantillons ;
- la constitution d'une base de données informatique et anonymisée de la collection biologique.

NB : la date (et l'heure) de prélèvement sont deux informations importantes pour la réalisation du dosage et l'interprétation des résultats. Ces informations doivent être notées dans les bases de données relatives à la collecte des échantillons. Il est fortement recommandé que les étiquettes soient pré-imprimées. Les étiquettes et l'encre utilisées doivent être résistantes à l'eau, aux solvants et à de basses températures. La lecture optique des codes-barres assure une meilleure traçabilité.

5. GESTION INFORMATIQUE DES DONNÉES DE LA COLLECTE BIOLOGIQUE

Une base de données contenant toutes les informations relatives à la collecte doit être constituée avec tous les commentaires pouvant permettre une meilleure interprétation des résultats. Elle ne doit comporter aucune information pouvant permettre l'identification du participant, même lorsqu'il est prévu un retour des résultats auprès des participants. Cette base permet d'optimiser l'utilisation des échantillons lors des dosages de plusieurs biomarqueurs et lorsque plusieurs laboratoires sont sollicités pour les dosages. Un exemple est proposé dans le tableau 3.

I TABLEAU 3 I

Exemple de tableau pour la gestion des prélèvements

Type d'étude / investigateur														
Identification – Prélèvement / Réception				Traitement				Sortie d'échantillons laboratoire						
N° Identifiant	Type prélèvement/matrice	Date/heure prélèvement	Date/heure réception	Aspects	Date aliquotage	Conditionnement	Nombre aliquots	Numéro boîte	Date sortie	Nombre tube	Type de dosage	Date envoi laboratoire	Nom laboratoire	Résultat dosage
14589	Urines	17/10/2010	Bon	jaune clair	17/10/2010	Cryotube 10 ml	4		25/05/2011	1	Phtalates	30/05/2010		
14589	Sérum										Dioxines			
	Cheveux													

6. MODALITÉ DE STOCKAGE ET DESCRIPTION DE LA SÉCURISATION DES CONDITIONS DE STOCKAGE

Il est nécessaire d'effectuer le choix d'une structure pour le stockage de prélèvements à température contrôlée. Un cahier des charges doit alors être rédigé pour définir les critères techniques que devra respecter la structure qui aura en charge le stockage et la gestion des échantillons. Les éléments suivants pourront faire partie du cahier des charges :

- présentation et description des tâches ;
- organisation / traçabilité ;
- quantité d'échantillons à stocker ;
- date d'arrivée des échantillons - durée de stockage ;
- conditions de température - système de sécurisation ;
- cession des échantillons stockés ;
- destruction des échantillons stockés.

Les enceintes de stockage (congélateur) devront disposer d'une alimentation électrique de secours qui prendra le relais en cas de panne, d'un système de refroidissement par CO₂ (ou équivalent) de façon à garantir une température inférieure à -60 °C en cas de défaillance technique du congélateur. L'enceinte de stockage devra être climatisée. L'ensemble du dispositif de collecte devra posséder un système d'alarme 24h/24 signalant les dysfonctionnements. Le système de stockage devra être entièrement informatisé avec des précisions sur l'emplacement de chaque cryotube. Si les échantillons sont destinés à être stockés sur le moyen ou le long terme, mieux vaut opter pour une température de -80 °C.

7. HYGIÈNE ET SÉCURITÉ

Selon la nature des prélèvements biologiques, le prestataire ou partenaire responsable de la collecte doit prendre et faire appliquer toutes les précautions d'hygiène nécessaires afin d'éviter tout risque sanitaire pour son personnel. Le promoteur de l'étude ne pourra être tenu responsable en cas de contamination (quel que soit le type de contamination) du personnel du laboratoire. **Ces éléments sont valables pour l'ensemble de la collecte biologique.**

Références bibliographiques

[1] Fréry N, Volatier JL, Zeghnoun A *et al.* Étude d'imprégnation par les dioxines des populations vivant à proximité d'usines d'incinération d'ordures ménagères – Rapport d'étude. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2009. 228 p. Disponible à partir de l'URL : www.invs.sante.fr, Dossier incinérateurs et santé.

Questionnaire environnemental et médical, consultable à l'adresse suivante : http://opac.invs.sante.fr/index.php?lvl=notice_display&id=1031.

[2] Vandentorren S, Oleko A. Enseignements de la collecte biologique en maternité de l'étude pilote Elfe, octobre 2007 - Rapport final. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2011. 56 p. Disponible à partir de l'URL : http://opac.invs.sante.fr/doc_num.php?explnum_id=21.

[3] ADR : Accord Européen relatif au transport international des marchandises dangereuses par route ; en vigueur le 1^{er} janvier 2003. <http://www.unece.org/trans/danger/publi/adr/adr2003/ContentsF.html>.

[4] IATA ou Association du transport aérien International : Réglementation pour le transport des marchandises dangereuses, 40^{ème} édition, entrée en vigueur le 1 janvier 1999. <http://www1.iata.org/index.htm>.

[5] Loi n° 92-1477 du 31 décembre 1992 relative aux produits soumis à certaines restrictions de circulation et à la complémentarité entre les services de police, de gendarmerie et de douane.

Fiche pratique 9 - Cahier des charges pour la réalisation des analyses biologiques et choix du laboratoire

Bien que les techniques analytiques se soient très largement développées au cours des dernières années, la mesure des biomarqueurs en population générale reste un exercice délicat. Cela tient aux faibles concentrations mesurées, qui en fonction de la substance d'intérêt sont de l'ordre du $\mu\text{g/L}$, ng/L et même du pg/L , à la complexité des matrices étudiées et au risque important de contamination des échantillons. Ainsi, la prestation réalisée par le laboratoire doit faire l'objet d'un suivi régulier et des critères de qualité doivent être établis en amont de l'étude.

Le choix d'un laboratoire se fait généralement par un appel d'offres conforme à la réglementation des marchés publics. Pour cela, il faut élaborer un cahier des clauses techniques particulières (CCTP) qui contient tous les éléments de la prestation ainsi qu'un cahier pour les clauses administratives et financières. Les laboratoires candidats adresseront une offre technique plus ou moins conforme au CCTP. Après analyse des offres (en général 60 % de la note totale attribuée pour les critères techniques et 40 % de la note totale pour le prix des analyses), un laboratoire sera choisi pour assurer la prestation.

Dans le but de faciliter la rédaction d'un CCTP pour des études de biomarqueurs, un guide a été rédigé au sein du DSE de l'InVS et contient une liste de critères à prendre en compte ainsi qu'un exemple de plan détaillé de CCTP (document à paraître).

On notera que le choix d'un laboratoire par la réglementation des marchés publics ne peut favoriser un laboratoire ayant de l'expérience dans les dosages. Ce critère ne doit pas être pris en compte dans la notation.

Fiche pratique 10 - Contrôle et archivage des résultats de biomarqueurs

Préambule : cette fiche reste peu développée car elle renvoie à un guide qui est en cours d'élaboration au DSE. Il détaillera notamment toutes les étapes de validation des données.

1. CONTRÔLE DES RÉSULTATS

Lors de la réception des résultats, plusieurs actions de contrôles doivent être entreprises avant de pouvoir valider les données, par exemple :

- vérifier l'intégrité des fichiers reçus ;
- vérifier qu'il n'y a pas d'erreurs de calculs lors des changements d'unités, sommation... ;
- vérifier qu'il n'y a pas d'erreur de saisie des résultats (valeurs répétées, tendances, résultats aberrants...) ;
- vérifier que les limites de détection et de quantification sont respectées ;
- vérifier que les blancs réalisés pour chaque série ne sont pas contaminés (on se sera assuré, préalable à toute analyse, que le laboratoire aura procédé à un blanc sur le matériel qui sera utilisé pour le prélèvement et le stockage des échantillons. Cela permet de s'assurer que le matériel n'introduit aucun biais dans l'analyse) ;
- vérifier que les contrôles internes réalisés pour chaque série sont corrects (choix du (des) matériel(s) de référence, certifié ou non, etc.) ;
- vérifier que les coefficients de variation calculés à partir des contrôles internes sont conformes aux exigences du cahier des charges ;
- vérifier que les résultats aux contrôles interlaboratoires sont corrects ;

Cette liste est non exhaustive et doit être adaptée au cas par cas. Par ailleurs, le respect de toutes ces conditions permet d'avoir une bonne confiance dans les résultats mais n'assure pas l'absence absolue de toute erreur. Il est en effet possible d'avoir des erreurs qui ne seraient pas détectées par les différents contrôles mis en place.

La comparaison des résultats avec ceux obtenus dans d'autres études est donc un élément important : en cas de divergence marquée, il pourra être intéressant de revenir vers le laboratoire pour vérifier que toutes les sources d'erreurs ont été éliminées. Il faut cependant être prudent car les différences entre études peuvent avoir plusieurs causes : population, protocole...

2. ARCHIVAGE DES RÉSULTATS

Tous les fichiers de résultats doivent être archivés de manière à être facilement accessibles et compréhensibles. Ainsi, il faut donner des noms de variables explicites. L'ensemble des actions de contrôles, validation et éventuelles corrections apportées aux données doit être consigné dans un manuel de gestion des données. Le fichier contenant les données validées, utilisé pour l'analyse et pour le rendu des résultats, doit être clairement identifié.

Un archivage complémentaire sur CD est indispensable.

Fiche pratique 11 - Interprétation des résultats de biomarqueurs

L'interprétation des résultats de biosurveillance dépend des informations disponibles concernant l'exposition, la toxicocinétique des substances chimiques étudiées, leur toxicité (les effets attendus) et les relations dose-effet et dose-réponse. La présence d'une quantité mesurable d'une substance chimique dans l'organisme peut être un indicateur d'exposition à cette substance, mais ne signifie pas qu'il en résultera nécessairement des effets nocifs pour la santé. En conséquence, deux niveaux d'interprétation et donc de réponse sont possibles :

- en matière d'exposition : "les concentrations se situent-elles dans les valeurs habituelles de la population générale ?"
Dit simplement : "Est-ce beaucoup ?" ;
- en termes de risque sanitaire : "les résultats indiquent-ils un risque pour la santé ?" .

C'est d'autant plus important que les progrès réalisés au niveau des méthodes analytiques permettent de mesurer des concentrations biologiques de plus en plus faibles des substances chimiques de l'environnement dans les liquides biologiques et les tissus humains. D'autres questions pertinentes, mais qui ne sont pas détaillées ici, peuvent porter sur la manière dont l'exposition a eu lieu (déterminants de l'exposition) et les moyens disponibles pour réduire cette exposition.

Remarque : l'absence de données ou des informations limitées sur les effets et les relations dose-effet (dose-réponse) limite l'interprétation en termes de risque, alors que l'absence d'information sur l'exposition (ses sources et l'importance de chacune d'entre elles) ne permet pas de déterminer ce qui a conduit aux concentrations de biomarqueurs observées et de proposer des mesures correctives adaptées. Selon la cinétique du biomarqueur dans l'échantillon analysé (sang, sérum ou urine), la concentration mesurée peut informer sur la quantité de substance récemment absorbée et/ou sur la dose accumulée dans l'organisme, ou sur la fraction de dose biologiquement active (responsable des effets).

1. INTERPRÉTATION DU NIVEAU D'EXPOSITION : EST-CE BEAUCOUP ?

Plusieurs niveaux de référence peuvent être utiles pour aider à situer l'exposition des personnes concernées à une substance par rapport à d'autres populations. Ces comparaisons pourront être établies avec des niveaux de référence en population générale à une échelle nationale voire régionale, ou avec des populations étudiées dans des situations d'exposition similaires.

Ce premier temps d'analyse est purement descriptif. Il est basé sur une présentation statistique des données de distribution du biomarqueur, avec la moyenne et les percentiles dans la population. Il ne traduit pas des considérations sanitaires. Dans un deuxième temps, il peut être possible en fonction du design de l'étude, d'identifier les caractéristiques des groupes ou individus en fonction de leur niveau d'exposition.

1.1 Données disponibles pour une comparaison

1.1.1 Modalités de la comparaison

A partir de la concentration biologique d'une substance chimique (ou de son métabolite) dans une population de référence, il est possible d'établir une comparaison avec un groupe d'individus ou un individu et de déterminer si leur exposition est anormalement élevée.

Généralement, on compare le résultat du dosage au 95^e percentile du biomarqueur ou son arrondi obtenu dans la population générale, qui définit la valeur de référence d'un biomarqueur. Le percentile est la valeur de concentration de la substance en dessous de laquelle se retrouvent 10 % (P10), 25 % (P25), 50 % (P50, médiane), 75 % (P75), 95 % (P95) de la population.

- Lorsque la concentration observée du biomarqueur est inférieure au 95^e percentile, cela signifie que le résultat du dosage se situe dans les valeurs retrouvées pour 95 % de la population française.
- Lorsque le résultat de dosage est au-dessus du 95^e percentile, cette valeur de dosage peut être considérée comme plus élevée que pour la plus grande partie de la population française et traduit probablement une surexposition.

Que la comparaison porte sur un groupe de population ou sur un individu en particulier, il est nécessaire de **nuancer le résultat** au regard de facteurs pouvant augmenter le niveau de biomarqueurs indépendamment de toute exposition présente dans l'environnement (caractéristiques personnelles des individus comme l'âge, la corpulence, une forte

consommation d'un aliment fortement contributeur du toxique étudié, la profession, le loisir et/ou les habitudes de vie favorisant une exposition à la substance étudiée...).

Lorsqu'on souhaite comparer les niveaux de biomarqueurs de deux populations en termes d'exposition environnementale, idéalement, ces populations devraient être semblables pour les caractéristiques d'âge, de sexe et si possible, pour les facteurs sociodémographiques. La définition, les caractéristiques et l'obtention de la population de référence sont donc des points particulièrement importants. Il est souhaitable qu'elle soit obtenue à partir d'un échantillon tiré au sort dans la population générale selon un protocole rigoureux. La valeur de référence peut être obtenue à partir d'études dans une population de référence, qui peut être représentative de la totalité ou de sous-groupes spécifiques de la population.

Il convient de souligner que le seuil du 95^e percentile ne représente pas une ligne de fracture entre les personnes qui présenteraient une exposition normale et les autres très exposées ; c'est plutôt une valeur guide qui doit permettre d'attirer l'attention sur l'exposition, ses sources et ses possibles risques sur la santé.

Les distributions et valeurs de référence sont établies à un moment particulier. Or, l'exposition de la population peut changer au cours du temps, par exemple suite à un changement de la réglementation. Il est alors important de vérifier si les données retenues pour la comparaison ont été obtenues dans un délai temporel approprié et sinon d'étudier l'influence de l'évolution quelle qu'en soit sa nature. Si c'est possible et opportun, il sera nécessaire de pouvoir mettre à jour ces valeurs de référence par la mise en œuvre de nouvelles études.

1.1.2 Données nationales françaises en population générale

Il faut s'assurer qu'on dispose de données de référence au niveau national dans la population générale pour le milieu biologique retenu pour l'étude.

En France, le volet environnemental de l'Étude nationale nutrition santé (ENNS) fournit les premières données françaises de biomarqueurs pour certains métaux, des familles de pesticides (organochlorés, organophosphorés et pyréthrinoides) et les PCB-NDL (polychlorobiphényles – non dioxine like). Ces résultats, en fonction des polluants, ont été obtenus au niveau sanguin ou urinaire (www.invs.sante.fr dossier biosurveillance, Études nationales multipolluants, [1]). Ils sont généralement présentés pour l'ensemble de la population et par sous-groupes (tranches d'âge, sexe, facteurs pouvant influencer l'imprégnation).

On pourra aussi utiliser des résultats d'études spécifiques de biosurveillance de portée nationale à condition qu'il n'y ait pas l'influence forte de l'exposition au toxique étudié. Ainsi, à ce jour, les données sériques de dioxines et PCB-DL sont disponibles à partir de l'étude "Dioxines et incinérateurs" [2].

Il est souhaitable de disposer de la distribution du biomarqueur avec les valeurs moyennes (préférence pour la moyenne géométrique peu influencée par les valeurs extrêmes) et médianes et différents percentiles.

1.1.3 Données nationales d'études étrangères (voir fiche pratique 13)

Si on ne dispose pas de données nationales françaises, on pourra comparer à des distributions de biomarqueurs obtenues à l'étranger en population générale, tout en sachant que les habitudes de vie peuvent différer avec la population française. Aujourd'hui, les études américaines NHANES (National Health and Nutrition Examination Survey), allemandes GerES (German Environmental Survey) et canadienne ECMS (Étude canadienne sur les mesures de la santé) fournissent de bons éléments de comparaison en tant qu'études réalisées en population générale.

Cependant, la comparaison directe des résultats de biosurveillance obtenus en France avec ceux obtenus dans d'autres pays peut s'avérer parfois difficile en raison d'une éventuelle non représentativité, ou non correspondance entre la population étudiée et la population support de l'établissement de la référence. En effet, les données ont pu être obtenues :

1. à une échelle régionale ne permettant pas l'extrapolation à une autre échelle ou une autre région ;
2. pour un groupe de population différent de celui étudié (enfants *versus* adulte) ;
3. à une date trop ancienne qui ne permet pas de tenir compte des évolutions réglementaires et analytiques notamment.

1.1.4 Données d'exposition spécifiques à des situations d'exposition

1.1.4.1 Comparaison à la population exposée professionnellement

On peut parfois être amené à comparer les dosages à des valeurs de référence de biomarqueurs établies en milieu professionnel. Ces valeurs, telles que les BEI (Biological Exposure Indices) aux États-Unis, les BAT (Biologischer Arbeitsstoff Toleranzwert) en Allemagne ou les VLB (valeurs limites biologiques) en France [2] fournissent un repère qui permet de situer le niveau d'exposition observé en population générale et vérifier s'il se situe à des niveaux qui sont déjà considérés comme élevés pour des travailleurs.

Néanmoins, cette comparaison doit être faite avec prudence dans la mesure où ces valeurs ne sont pas appropriées pour la population générale. D'une part, elles correspondent à des conditions, des voies d'exposition (le plus souvent inhalation, contact cutané) et des durées d'exposition différentes. D'autre part, toutes les populations ne sont pas incluses, en particulier les enfants, les personnes âgées et celles présentant des pathologies telles que l'asthme.

1.1.4.2 Comparaison à une population générale dans une situation d'exposition environnementale similaire
Des études menées en France et à l'étranger portent sur des situations d'exposition environnementale similaires. Il peut être envisagé de comparer les résultats de l'étude proposée avec les résultats de ces études, en s'assurant d'une concordance des populations et des conditions d'exposition. Cette comparaison permet seulement de situer les niveaux d'exposition obtenus. Elle ne permet pas de conclure sur une éventuelle gravité du niveau d'exposition même si celui-ci est inférieur à ceux mesurés dans ces situations similaires.

Dans le domaine de la pollution des sols ou de populations résidant aux alentours d'incinérateurs, de décharges, de fonderie, etc., ces comparaisons sont utiles.

2 INTERPRÉTATION SANITAIRE DU NIVEAU D'EXPOSITION : "LES RÉSULTATS INDIQUENT-ILS UN RISQUE POUR LA SANTÉ ?"

Ce niveau d'analyse porte sur le risque sanitaire correspondant au niveau du biomarqueur observé. En effet, la présence dans l'organisme d'une substance chimique de l'environnement ou de son (ses) métabolite(s) en concentration(s) mesurable(s) dans le sang, l'urine ou une autre matrice biologique n'implique pas nécessairement qu'il y a un risque pour la santé.

Ce niveau de réponse est beaucoup plus complexe et fait appel à un ensemble d'informations provenant de différentes sources incluant la toxicologie, l'épidémiologie, les études d'exposition, de pharmacocinétiques et d'évaluation de risques. Mais cette interprétation sanitaire des données de biosurveillance reste difficile en raison de lacunes et d'incertitudes scientifiques. Elle doit être régulièrement mise à jour, en fonction des nouvelles connaissances toxicologiques et épidémiologiques.

2.1 Élaboration des valeurs de référence sanitaire de biomarqueurs

L'élaboration de valeurs de référence sanitaire de biomarqueur relève de groupes d'experts nationaux et internationaux. Il n'est pas question pour un investigateur de se lancer dans une telle expertise si le ou les polluant(s) qu'il a choisi de mesurer, ne disposent pas de repères établis.

Trois approches sont possibles.

2.1.1 Approche issue de l'épidémiologie

Idéalement, les concentrations de biomarqueurs qui traduisent un niveau de risque pour la santé sont établies à la suite d'un nombre importants d'études sanitaires (épidémiologiques) basées sur la mesure directe de la substance chimique dans un milieu biologique spécifique (par exemple, sang ou urine). Or, ces relations entre le niveau de biomarqueur et l'effet sanitaire sont encore mal connues pour la plupart des substances chimiques et nécessitent des recherches complémentaires ; de telles relations existent néanmoins pour quelques polluants comme le plomb sanguin ou le cadmium urinaire.

Cette approche épidémiologique a permis d'établir des valeurs de référence sanitaire de biomarqueur non seulement pour la population générale mais aussi pour les populations spécifiques de travailleurs dans certains domaines d'activité. Ces repères peuvent aider à l'interprétation des résultats de l'étude menée.

2.1.2 Approche issue des données toxicologiques animales

En l'absence de données épidémiologiques, il est possible de s'appuyer sur les données animales qui permettent de faire le lien entre une exposition externe et une concentration du polluant dans un des milieux biologiques. Si ces doses respectives externes et biologiques ont été mises en lien avec la survenue d'effets toxicologiques chez l'animal, alors il est possible qu'une valeur de référence puisse être fixée par les groupes d'experts pertinents.

2.1.3 Approche utilisant les modèles pharmacocinétiques

Cette approche permet d'évaluer si les concentrations de biomarqueurs sont compatibles avec des valeurs de référence existantes (RfD ou RfC pour les effets à seuil) en ayant recours à des modèles pharmacocinétiques. C'est la méthode utilisée en particulier pour les valeurs de biomonitoring équivalent.

2.2 Où trouver les valeurs de référence sanitaire de biomarqueur ?

Différentes sources de données sont disponibles, basées sur ces différentes approches. Elles sont issues d'organisations internationales ou nationales étrangères.

2.2.1 Les organismes internationaux (OMS, JECFA, EFSA...)

Malgré les écueils et les limites décrits ci-dessus, il existe néanmoins quelques valeurs seuils proposées pour les biomarqueurs par des instances internationales, comme l'OMS ou les Nations-Unies, notamment dans le cadre du programme IPCS (International Programme on Chemical Safety), ou le comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires, appelé JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives).

Le choix de ces valeurs repose sur les résultats de la recherche scientifique et le jugement d'experts à partir des connaissances toxicologiques et épidémiologiques. Ainsi, par exemple, le groupe d'experts européens a proposé une valeur seuil de 2 µg/g de créatinine pour le cadmium urinaire en-deçà de laquelle la concentration urinaire de cadmium doit être maintenue pour protéger la fonction rénale.

Pratiquement, il s'agit de vérifier l'existence d'un document sur le ou les polluant(s) concerné(s) sur les sites de l'OMS, l'IPCS, JECFA, EFSA, etc. Il n'y a pas de bases de données établies rassemblant l'ensemble des valeurs de référence fixées à ce jour.

2.2.2 Les valeurs allemandes : la Human Biomonitoring Value (HBM)

En Allemagne, la Commission nationale de biosurveillance, qui réunit divers experts, a proposé des valeurs seuils appliquées à la biosurveillance, dénommées HBM-I et HBM-II pour un certain nombre de substances chimiques, comme le cadmium, le mercure, le pentachlorophénol dans le sang et l'urine ainsi que certains métabolites urinaires des phtalates.

HBM-I

La valeur HBM-I représente la concentration d'un biomarqueur d'exposition en dessous de laquelle (selon la connaissance du moment) il n'y a aucun risque d'effets défavorables sur la santé et, par conséquent, aucun besoin d'action.

Pour des concentrations de biomarqueur comprises entre les valeurs d'HBM-I et d'HBM-II, le résultat du dosage doit être vérifié. S'il est confirmé, une démarche doit être entreprise pour identifier les sources potentielles d'exposition.

L'exposition à la nuisance chimique correspondante devrait être éliminée ou réduite. La valeur HBM-I doit être considérée ainsi comme une valeur de vérification, de contrôle.

HBM-II

La valeur HBM-II représente la concentration d'un biomarqueur d'exposition au-dessus de laquelle (selon les connaissances) il y a un risque accru d'effets défavorables sur la santé chez les individus sensibles de la population générale et, par conséquent, un besoin aigu de mesures de réduction d'exposition et le recours à des soins ou conseils sanitaires. La valeur HBM-II doit donc être considérée comme un niveau d'intervention ou d'action.

En pratique

Pour connaître les substances qui ont fait l'objet de la fixation d'une valeur de référence sanitaire de biomarqueur, il convient de visiter le site Internet de l'Agence fédérale allemande de l'environnement (UBA, Umweltbundesamt [3]) à l'adresse suivante : <http://www.umweltbundesamt.de/gesundheit-e/monitor/index.htm>.

Au 20 mars 2012, les substances suivantes étaient référencées sur le site (en gras, lien hypertexte) :

- **perfluorinated compounds** in human plasma ;
- métabolites of DEHP (**5oxo-MEHP, 5OH-MEHP**) in urine ;
- **antimony, arsenic, and metals (lead, cadmium, mercury, nickel, platinum, thallium and uranium** in blood and urine ;
- **chlorophenol** in urine and **pentachlorophenol** in serum ;
- métabolites of organophosphorus (**DMP, DMTP, DEP**) ;
- métabolites of pyrethroid (**cis-Cl2CA, trans-Cl2CA, 3-PBA**) ;
- métabolites of **polycyclic aromatic hydrocarbons** in urine ;
- polychlorinated biphenyls (**PCBs**), β-hexachlorocyclohexane (**β-HCH**), hexachlorobenzene (**HCB**), and dichlorodiphenyltrichloroethane (**DDE**) in blood ;
- PCBs and organochlorine pesticides (β-HCH, HCB, total DDT) in **human milk**.

2.2.3 Les Biomonitoring Equivalent (BE)

La valeur de BE est définie par la concentration d'un biomarqueur d'exposition qui est en accord avec une valeur de référence sanitaire établie par ailleurs (RfC (dose de référence par inhalation), RfD (dose de référence par ingestion), MRL (exposition quotidienne pour un niveau de risque minimum), DJT (dose journalière tolérable par ingestion)). Elle est obtenue à partir de modèles pharmacocinétiques ; la concentration du biomarqueur (dans le sang, l'urine ou autre matrice biologique) est convertie en dose externe absorbée de la substance chimique (en g/jour par exemple) et comparée avec les valeurs de référence sanitaires existantes établies en fonction de l'exposition (DJT, RfC, RfD...). Des guides sur l'établissement et la communication des BE ont été publiés récemment par Hays et Lakind [4-7].

Les valeurs BE ont été élaborées pour être utilisées comme des valeurs de gestion et d'intervention à un niveau populationnel et non individuel. Elles ne peuvent être considérées qu'à titre indicatif dans le cadre de dosages individuels réalisés sur demande de particuliers. Il n'y a en effet aucune conduite à tenir particulière définie en termes de prise en charge médicale qui serait à recommander dès lors que ces valeurs seuils seraient dépassées. Pour toutes informations médicales complémentaires, il est toutefois possible de contacter son médecin traitant ou un médecin toxicologue (Centres antipoison et de toxicovigilance [4]).

En revanche, à titre préventif, le dépassement de ces valeurs doit inciter à réduire l'exposition aux substances étudiées, notamment en suivant des recommandations d'hygiène ou alimentaires et en réduisant l'exposition présente dans l'environnement.

En pratique, une liste des substances disposant de ces valeurs est accessible à l'adresse suivante [8] :

- <http://www.biomonitoringequivalents.net/> ;
- http://www.biomonitoringequivalents.net/html/chemical_specific_bes.html.

2.2.4 Les valeurs en milieu professionnel ([1] annexe 7, [9], [10])

On peut les trouver notamment sur le site de l'Institut national de recherche et sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles (INRS). Bien qu'elles n'aient pas été élaborées pour la population générale, elles peuvent servir utilement de repère, notamment pour les individus ou groupe d'individus dont les concentrations seraient élevées. Il convient donc de les utiliser avec discernement.

En pratique, le document intitulé "Biotox – guide biotoxicologique pour les médecins du travail" [10] publié par l'INRS est disponible à l'adresse suivante :

<http://www.inrs.fr/accueil/produits/mediatheque/doc/publications.html?refINRS=ED%20791>.

Il permet de disposer d'une liste conséquente de substances pour lesquelles on a connaissance de l'existence ou non d'une telle valeur. Un récapitulatif en fin de chaque fiche de polluant reprend les valeurs de référence fixées par de nombreuses instances nationales et internationales.

Références bibliographiques

[1] Fréry N, Saoudi A, Garnier R, Zeghnoun A, Falq G. Exposition de la population française aux substances chimiques de l'environnement. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2011. 151 p. Disponible à partir de l'URL :

http://opac.invs.sante.fr/doc_num.php?explnum_id=6864.

Disponible à partir de l'URL : http://www.invs.sante.fr/dossier_biosurveillance, Études nationales multipolluants

[2] Fréry N, Volatier JL, Zeghnoun A, Sarter H, Falq G, Thébault A, Pascal M, Bérat B, De Crouy-Chanel P. Étude d'imprégnation par les dioxines des populations vivant à proximité d'usines d'incinération d'ordures ménagères – Rapport d'étude. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2009. 228 p. Disponible à partir de l'URL :

http://opac.invs.sante.fr/index.php?lvl=notice_display&id=1031

Disponible aussi sur : www.invs.sante.fr, dossier "incinérateurs et santé" ou dossier biosurveillance / Études nationales ciblées

[3] Agence fédérale allemande de l'environnement (UBA, Umweltbundesamt) :

<http://www.umweltbundesamt.de/gesundheit-e/publikationen/index.htm>.

[4] Hays SM, Becker RA, Leung HW, Aylward LL, Pyatt DW. Biomonitoring equivalents: A screening approach for interpreting biomonitoring results from a public health risk perspective. *Regulatory Toxicol Pharmacol* 2007;47:96-109.

[5] Hays SM, Aylward LL, Lakind JS. Introduction to biomonitoring equivalents pilot projects: development of guidelines for the derivation and communication biomonitoring equivalents. *Regulatory Toxicol Pharmacol* 2008;51:S1-S2.

[6] Hays SM, Aylward LL. Using biomonitoring equivalents to interpret human biomonitoring data in a public health risk context. *J Applied Toxicol* 2009;29(4):275-88.

[7] Lakind JS, Aylward LL, Brunk C, DiZio S, Dourson M, Goldstein DA *et al.* Guidelines for the communication of Biomonitoring Equivalents: Report from the Biomonitoring Equivalents Expert Workshop. *Regulatory Toxicol Pharmacol* 2008;51:S16-S26.

[8] Site internet sur les Biomonitoring Equivalents :

<http://www.biomonitoringequivalents.net/> ;

http://www.biomonitoringequivalents.net/html/chemical_specific_bes.html.

[9] CAP-TV (Centre antipoison et de toxicovigilance). <http://www.centres-antipoison.net/>.

[10] INRS. Biotox - Guide biotoxicologique pour les médecins du travail :

<http://www.inrs.fr/accueil/produits/mediatheque/doc/publications.html?refINRS=ED%20791>.

Fiche pratique 12 - Communication

Comme pour toute étude, la stratégie de communication est une dimension essentielle. En effet une bonne communication est la condition d'une interprétation et d'un usage appropriés des données générées, de la gestion des incertitudes et de la complexité du sujet et de la confiance des participants et des parties prenantes dans l'étude.

Les **objectifs principaux** de la stratégie de communication sont les suivants :

- favoriser le recrutement ;
- communiquer des messages clairs. Par exemple : dire à quoi répond l'étude et à quoi elle ne pourra pas répondre ;
- assurer la transparence avec les parties prenantes ;
- permettre la traduction des résultats en politique de précaution et prévention.

La stratégie de communication sera **adaptée en fonction des différents cibles**, que l'on peut recenser ainsi :

- les participants de l'étude ;
- parties prenantes : décideurs, agences sanitaires, scientifiques impliqués dans l'étude, structures associées au recrutement et au prélèvement (sociétés de service...), industriels, associations, organisations non gouvernementales... ;
- relais de communication vers les participants : medias, professionnels de santé, éventuellement enseignants ;
- public (population générale et professionnels de santé) ;
- communauté scientifique.

Trois périodes clés sont identifiées :

- élaboration du plan de communication avant son lancement ;
- campagne de recrutement ;
- diffusion des résultats.

La stratégie et l'ensemble des outils de communication peuvent être élaborés ou non selon l'importance de l'étude avec l'aide d'un service ou d'une agence de communication qui sera mobilisé principalement durant les deux premières périodes. Un groupe projet spécifique de l'étude sera son interface durant toutes les étapes, en lien avec les instances de gouvernance et les scientifiques.

Des informations sur l'étude seront diffusées et actualisées durant toute sa durée.

1. AVANT LE DÉBUT DE L'ÉTUDE

1.1 Communication à destination du grand public, des décideurs et des scientifiques

Les éléments suivants seront au minimum mis en place :

- travail de relation avec la presse (en amont avec identification des services de presse/journaux/journalistes appropriés), communiqués de presse, événement de presse annonçant la période de recrutement pour assurer la publicité et le démarrage de l'étude ;
- site ou pages Internet dédiés: il peut être envisagé même dans le cas d'une étude locale en fonction des moyens dédiés. Il peut alors représenter un outil de communication stratégique sur la durée de l'étude car il participe de façon cruciale à la diffusion de l'information, la médiatisation de l'étude et il assure la transparence avec l'ensemble des parties prenantes. Son élaboration et sa maintenance doivent mobiliser suffisamment de moyens pour permettre une accessibilité, une interface compréhensible à tous et une mise à jour périodique ;
- matériel d'information (brochures, affiches, support PowerPoint) ;
- brochure spécifique pour les décideurs (selon l'ampleur et le contexte local) ;
- affiches ou posters pour les scientifiques ;
- articles dans des revues spécialisées pour les professionnels de santé, dans les revues de mairie... ;
- matériel pour les structures associées au recrutement et au prélèvement et autres sociétés de service ;
- information spécifique à destination des enfants éventuellement ;
- interventions scientifiques dans diverses réunions et conférences précédant l'étude avec présentations disponibles sur le site Internet.

D'autres outils de communication seront choisis en fonction de la stratégie préconisée par le service ou l'agence de communication et les possibilités financières et humaines tels que :

- campagne radio/TV ;
- gadget (pour les enfants...);
- site Internet ;

Un site Internet dédié à l'étude permet de fournir de l'information au public et professionnels de santé sur l'étude, son état d'avancement *via* des points d'information (bulletin), foire aux questions (FAQ), contact. Il peut permettre éventuellement aux participants de visionner *via* un petit film les étapes lors du recrutement (exemple : prélèvement de cheveux) ou de renseigner un questionnaire court. Il peut être fait *a minima* selon les moyens disponibles. Il peut comprendre notamment les éléments suivants :

- inscription possible pour recevoir un bulletin d'actualité sur l'étude pour suivre l'avancement du programme. Un bulletin spécial de lancement peut être mis en ligne à l'ouverture du site ;
- description de l'étude et de sa gouvernance ;
- informations légales sur le financement ;
- foire aux questions (FAQ) ;
- fiches concernant les différents polluants dosés ;
- clips vidéo ;
- présentations scientifiques en ligne ;
- mises à jour et nouvelles ;
- documents officiels de l'étude à télécharger (protocole, questionnaires, consentement...);
- enquête d'utilisateur du site pour améliorer sa qualité ;
- renvoi au site biosurveillance de l'InVS sur d'autres aspects concernant la biosurveillance en dehors de l'enquête, renvoi au site avec les valeurs de référence d'ENNS ;
- liens avec d'autres sites partenaires ou d'information : ministère chargé de la Santé, de l'Environnement, autres agences sanitaires, sites internationaux, à discuter lien avec réseaux sociaux ;
- témoignages de participants (vidéos, photos) ;
- échos de la presse parlant de l'étude.

1.2 Communication vers les futurs participants au moment du recrutement

Trois éléments clés seront élaborés en direction des futurs participants : une lettre de pré-contact accompagnée d'une brochure détaillée et un argumentaire téléphonique qui sera utilisé par les enquêteurs qui prendront contact avec les participants potentiels ayant reçu le courrier préalablement.

La lettre de "pré-contact" comporte une description brève de l'étude et les arguments clés pour y participer, avec les précisions concrètes sur la façon dont les personnes vont être contactées par téléphone, ainsi que les coordonnées des membres responsables (nom et établissement).

La brochure détaillée comporte de façon plus extensive tous les éléments descriptifs de l'étude et décrira concrètement ce qu'implique la participation, les critères d'éligibilité, les objectifs, ce que la participation implique, ce que deviennent les résultats, les modalités de leur communication aux participants.

2. COMMUNICATION PENDANT L'ÉTUDE

Un numéro vert ou un contact *via* le site Internet (page "nous contacter") peuvent être mis à disposition des participants de l'étude pour répondre à des questions précises.

Le site Internet peut constituer un outil privilégié durant cette étape. Des mises à jour sur l'état d'avancement peuvent être éditées sur le site Internet, et peuvent ainsi donner des informations sur le recrutement des participants et un retour sur l'étude (actualités et événements liés à l'étude, information sur l'étude éventuellement sous forme de bulletin).

3. COMMUNICATION À LA DIFFUSION DES RÉSULTATS

Elle comprend la restitution des résultats au niveau individuel et collectif. Le calendrier de communication est un élément important à prendre en compte.

3.1 Communication à destination des participants

Les participants peuvent recevoir les résultats individuels simultanément ou avant les résultats collectifs, en fonction de la complexité et des délais d'analyse des données. Cette stratégie sera étudiée par des experts qui statueront sur les modalités de restitution à travers un arbre de décision élaboré pour l'occasion : rendu polluant par polluant ; rendu collectif ou individuel, calendrier, préconisations dans le cas où les résultats dépasseraient les valeurs de référence disponibles, invitations à consulter un toxicologue ou un médecin, etc. Cette stratégie sera transparente et les critères de décision seront disponibles sur le site interne. La confidentialité des résultats personnels sera garantie.

3.1.1 Résultats individuels

Les participants recevront par courrier les résultats individuels de biosurveillance des polluants mesurés dans le sang, les cheveux ou l'urine, ainsi qu'une information sur les limites de leur interprétation sanitaire et la notion d'incertitude (fiche pratique 11 - Interprétation des résultats).

En cas de dépassement de seuils (concentration supérieure au 95^e percentile ou dépassement de seuil sanitaire), il est recommandé d'accompagner le résultat du dosage par un entretien avec un médecin toxicologue. Celui-ci sera annoncé dans le courrier de restitution du dosage avec les coordonnées du médecin toxicologue. L'échange pourra s'effectuer lors d'un entretien téléphonique. Les facteurs de risques relevés dans le questionnaire seront transmis par l'organisateur de l'étude au médecin toxicologue afin de favoriser une bonne compréhension de l'exposition et des risques et de proposer les recommandations les mieux adaptées.

Ils recevront également par courrier les résultats des examens de santé usuels s'il y en a eu pendant l'étude, les invitant au besoin à une consultation médicale si ces résultats le nécessitent.

3.1.2 Résultats collectifs

Il est par ailleurs souhaitable qu'en plus de leur résultat individuel, les participants de l'étude puissent recevoir un résumé des résultats de l'ensemble de l'étude. Le calendrier de restitution des résultats individuels et collectifs aux participants peut être simultané ou différé selon les cas ; par exemple : réception dans un premier temps des dosages individuels, puis ultérieurement, réception des résultats collectifs, qui peuvent se présenter sous forme d'une plaquette de quelques pages.

3.2 Communication à destination des décideurs et du public

La communication aux décideurs politiques et au public sera faite au niveau communautaire, local, et si besoin au niveau national et d'une manière coordonnée. Elle concerne les résultats sur l'ensemble de l'étude et non sur les résultats individuels qui ne sont pas communicables à des tiers (cf. Cnil à propos de la protection des données).

Les résultats de l'étude feront l'objet d'un plan de communication de l'InVS-Cire en concertation avec l'ARS (événement de presse ou communiqué, dossier de presse, BEH, support Power Point, messages clés vis-à-vis des médias, etc.).

Ils seront simultanément rendus disponibles sur le site Internet dédié.

Des messages adaptés pour chaque audience (dont les médias) seront élaborés. Le recours à des experts notamment en communication pourra être envisagé si nécessaire afin de mieux appréhender la perception du public sur la biosurveillance humaine et donc de mieux communiquer les résultats.

3.3 Communication scientifique

Les résultats seront valorisés sous formes d'articles ou de communications scientifiques. L'ensemble de ces documents sera disponible sur le site Internet dédié.

Fiche pratique 13 - Informations sur quelques études nationales étrangères de biosurveillance

A titre d'information, trois grands programmes de biosurveillance internationaux sont détaillés dans cette fiche ; elles fournissent des données de référence en population générale pour plusieurs biomarqueurs. Ce travail a été réalisé avec l'appui des éléments fournis lors de la conférence européenne de biosurveillance qui s'est tenue à Paris en 2008 sous la présidence française de l'Europe, du programme européen de COPHES (Consortium to Perform Human biomonitoring at European Scale, www.eu-hbm.info/cophes [1]), et dans le cadre d'un bilan fait à l'international sur les programmes de biosurveillance existants sur demande de l'InVS au bureau d'étude d'Ernst & Young.

1. LA BIOSURVEILLANCE AUX ÉTATS-UNIS : NATIONAL HEALTH AND NUTRITION EXAMINATION SURVEY (NHANES)

1.1 Données et dates clés du projet

Les enquêtes "NHANES, www.cdc.gov/nchs/nhanes.htm, [2])" ont été conçues pour évaluer la santé, le statut alimentaire et l'exposition à divers polluants des adultes et des enfants aux États-Unis. Un volet biosurveillance a été introduit dans ces enquêtes en 1976. Ce programme est conduit par le National Center for Health Statistics (NCHS), sous la responsabilité des United States Centers for Disease Control and Prevention (CDC).

NHANES I, II et III ont été réalisées sous forme d'enquêtes périodiques séparées (orientées vers des populations spécifiques) par des intervalles de quelques années. Depuis 1999, NHANES est une enquête continue réalisée à l'aide de véhicules qui se déplacent à travers les États-Unis pour réaliser les examens de santé et les prélèvements.

Au cours de chaque période d'enquête (de 2 ans), la plupart des substances chimiques et leurs métabolites sont dosées auprès d'environ 2 500 personnes représentatives de la population américaine.

Au départ, l'enquête NHANES s'est concentrée sur les "grands polluants". Elle intègre aujourd'hui les pesticides et autres polluants émergents. Près de 300 substances sont suivies aujourd'hui. Lors de la dernière vague d'enquête, des échantillons de sang (totale et serum) et d'urine ont été prélevés et stockés pour de futurs projets de recherche.

1.2 Finalités de l'enquête

- Déterminer la prévalence d'affections majeures et leurs facteurs de risque.
- Évaluer le statut nutritionnel et son association avec des actions de promotion de la santé et de prévention.
- Établir les valeurs nationales de référence en termes de biomarqueur d'exposition.
- Établir les valeurs nationales de référence en termes de taille, poids, tension artérielle.
- Fournir des données pour des études épidémiologiques et de la recherche en santé.
- Permettre d'établir des politiques publiques cohérentes en matière de santé.
- Alimenter la connaissance du grand public en matière de santé.

1.3 Sélection des biomarqueurs

La procédure de sélection des biomarqueurs est participative et se fait en plusieurs étapes :

- production d'un registre fédéral (federal register) que chacun peut alimenter en proposant des substances à suivre ;
- classement par un comité scientifique des polluants en catégories au regard de critères tels que risques d'exposition, effets sur la santé, capacité d'analyse.

La suppression des polluants de ce registre implique une procédure complexe et de répondre à de multiples conditions telles que par exemple la stabilité du biomarqueur dans la population ou sa présence dans moins de 5 % de la population.

1.4 Mode de recrutement et administration de l'enquête

Les personnes de plus de 60 ans, les afro-américains, et les hispaniques sont surreprésentés dans l'échantillon NHANES.

L'enquête combine des entretiens (questions démographiques, socio-économiques, diététiques, d'expositions environnementales et d'ordre sanitaire), des examens de santé de nature clinique, dentaires et physiologiques et des dosages biologiques (sang et urines). Les instructions de prélèvement et de traitement sont détaillées dans le NHANES Laboratory/Medical Technologists Procedures Manual (LPM) afin d'assurer des pratiques harmonisées.

L'entretien est mené au domicile du répondant. Les prélèvements et mesures sont réalisés dans des unités mobiles adaptées et équipées.

Lien vers le rapport 2009 : <http://www.cdc.gov/exposurereport/>

2. LA BIOSURVEILLANCE EN ALLEMAGNE : GERMAN ENVIRONMENTAL SURVEY (GERES) ET GERMAN HEALTH INTERVIEW AND EXAMINATION SURVEY (GHIES)

2.1 Données et dates clés du projet

La German Environmental Survey (GerES, www.umweltbundesamt.de/gesundheits-e/survey/, [3]) est une étude réalisée à intervalles réguliers par l'Agence fédérale allemande de l'environnement (Umweltbundesamt – UBA) sur un échantillon représentatif de la population allemande (enquête répétée) : entre 2 000 et 5 000 participants par enquête.

L'Allemagne a mis en place depuis 1992 une Commission nationale de biosurveillance qui a pour but de clarifier les difficultés conceptuelles, scientifiques et pratiques liées à la biosurveillance, et de développer des critères pour définir des valeurs guides. Les premiers volets du programme ont eu lieu avant même la mise en place de la Commission nationale de biosurveillance.

Le programme de biosurveillance inclut la caractérisation de l'environnement domestique, la collecte d'informations concernant les facteurs d'exposition à l'aide de questionnaires ainsi que la mesure du bruit et les altérations de l'audition.

La GerES I a été menée en 1985-86 sur 2 700 adultes de l'Allemagne de l'Ouest, la GerES II entre 1990 et 1992 sur 4 000 adultes et 730 enfants (IIa : Allemagne de l'Ouest et IIb : Allemagne de l'Est) et la GerES III sur 4 800 adultes âgés de 18 à 69 ans des deux Allemagnes entre 1997 et 1999. La campagne 2003-2006 de la GerES IV a porté sur 1 790 enfants âgés de 3 à 14 ans en collaboration avec la GHIES chez les enfants et adolescents (KIGGS).

Toutes les phases de la GerES sont menées en parallèle avec le GHIES, une enquête transversale menée à intervalle périodique auprès d'échantillons de la population allemande, qui comporte des questionnaires, des examens médicaux et des analyses de sang et d'urine. Elle est conduite en Allemagne depuis 1991 par le Robert Koch Institute. La dernière vague de la GHIES a été réalisée de mai 2003 à mai 2006 sur un échantillon représentatif de 17 641 enfants et adolescents âgés de 0 à 17 ans. La GerES IV a ainsi été réalisée sur un sous-échantillon de la GHIES : 1 790 enfants âgés de 3 à 14 ans ont fait l'objet d'observations spécifiques par questionnaires, d'analyses de biomarqueurs et de mesures environnementales, notamment dans l'air intérieur. Dans cette enquête, une audiométrie a également été réalisée sur 982 enfants âgés de 8 à 14 ans.

Au début des années 1980, le programme de biosurveillance était concentré sur les métaux lourds et portait sur les adultes, puis il a intégré progressivement les enfants. Parallèlement, l'Environmental Specimen Bank (ESB) permet d'investiguer, documenter et archiver les expositions environnementales et humaines aux polluants en Allemagne à un moment donné. Elle permet le stockage de prélèvements environnementaux (Fraunhofer Institute for Molecular Biology and Applied Ecology in Schmallenberg) et humains (Westfälische Wilhelms University in Muenster). La ESB est sous la responsabilité du German Federal Ministry of the Environment, Nature Conservation and Nuclear Safety et est coordonnée par UBA.

2.2 Finalités de l'enquête

- Analyser et documenter la distribution et les déterminants de l'exposition de la population allemande aux polluants de l'environnement et leurs impacts sur la santé.
- Fournir de l'information au niveau national permettant la mise en place d'actions de prévention, d'intervention et de contrôle en matière de santé et d'environnement.
- Permettre l'identification de valeurs de référence.

2.3 Sélection des biomarqueurs

Le choix des biomarqueurs est effectué par un comité scientifique au regard de critères (non hiérarchisés) tels que le niveau de toxicité, le risque sur la santé, la pertinence liée à la politique environnementale, le risque d'exposition de la population, l'existence de procédures d'échantillonnage fiables, l'existence de capacités analytiques, la pertinence en matière de politique publique et les coûts.

2.4 Mode de recrutement et administration de l'enquête

Un échantillon représentatif est constitué au regard de critères tels que l'âge, le sexe, la taille de la communauté d'appartenance et la région.

Trois équipes mobiles sont composées d'un médecin et d'enquêteurs. Les enquêteurs se déplacent au domicile des participants et ceux-ci se font prélever (prélèvements sanguins) dans un centre d'examen. Le modèle allemand n'a pas de camion de collecte. Les lieux de prélèvement sont choisis au hasard pour éviter des biais régionaux ou saisonniers.

Publications sur le site d'UBA : <http://www.umweltbundesamt.de/gesundheit-e/publikationen/index.htm>

3. LA BIOSURVEILLANCE AU CANADA : ENQUÊTE CANADIENNE DES MESURES DE SANTÉ (ECMS) / CANADIAN HEALTH MEASURES SURVEY (CHMS)

3.1 Données et dates clés du projet

L'ECMS, www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/contaminants/human-humaine/chms-ecms-fra.php, [4] est une étude nationale représentative de la population canadienne réalisée par Statistique Canada. Sur la période 2007-2009, elle a recueilli des informations de santé générale auprès d'environ 5 000 Canadiens âgés de 6 à 79 ans au moyen d'entretiens (questionnaire) et d'examen cliniques.

Une étude portant sur des paires mère-enfant relatives à un ensemble de composés chimiques de l'environnement est développée en parallèle (2007-2010) à l'ECMS : Maternal-Infant Research on Environmental Chemicals (MIREC).

Le volet biosurveillance de l'ECMS a permis le recueil de 1 200 à 5 200 échantillons biologiques selon les substances dosées (les prélèvements biologiques étant réalisés de manière variable d'une catégorie d'âge à une autre).

3.2 Finalités de l'enquête

Santé Canada a inclus un volet de biosurveillance afin de fournir des données d'exposition nationales pour une série de substances chimiques de l'environnement. L'ECMS est donc une partie d'un programme de surveillance plus large. Les objectifs de l'ECMS sont :

- l'analyse et la documentation de la distribution et des déterminants de l'exposition de la population canadienne aux polluants de l'environnement et leurs impacts sur la santé ;
- la production d'une information au niveau national permettant la mise en place d'actions de prévention, d'intervention et de contrôle en matière de santé et d'environnement ;
- l'identification de valeurs de référence ;
- l'identification des facteurs de risque d'une exposition ;
- la mise en place d'une base de données physiques et sanitaires sur la population canadienne, et en particulier sur des sujets de santé tels que l'obésité, l'hypertension, les maladies cardiovasculaires, l'exposition à des maladies infectieuses, et l'exposition à des polluants environnementaux.

3.3 Sélection des biomarqueurs

Pour l'enquête ECMS, 137 biomarqueurs ont été retenus, dont l'intégration de biomarqueurs "dits émergents" (phtalates et bisphénol A notamment).

Pour optimiser les coûts des analyses biologiques à réaliser sur les prélèvements, Statistique Canada, éclairé par les comités consultatifs des experts, des médecins et des laboratoires, a appliqué deux principes :

- une rotation des biomarqueurs au cours des différentes phases d'analyses permet une périodicité différenciée, tenant compte du suivi attendu. Ainsi, certaines familles seront observées systématiquement (métaux lourds notamment), alors que d'autres ne le seront que tous les quatre ans ;
- une différenciation des tailles d'échantillon selon les familles de biomarqueurs.

3.4 Mode de recrutement et administration de l'enquête

Les personnes sélectionnées étaient informées au préalable par un courrier, précisant qu'elles seraient contactées par un enquêteur de Statistique Canada. L'enquête s'est déroulée en deux étapes, sur 15 sites d'une durée totale d'environ 20 mois (juillet 2007 à mars 2009) avec une présence sur chaque site pendant six à sept semaines :

1. administration d'un questionnaire de santé (46 modules contenant 722 questions) à l'aide d'un ordinateur au domicile du participant (80 minutes maximum) ;
2. puis, entre 1 jour à 6 semaines plus tard, l'examen de santé et les prélèvements (sang, urine, ADN) sont effectués dans une des cliniques mobiles.

Références bibliographiques

[1] Cophes, Consortium to Perform Human biomonitoring at European Scale. <http://www.eu-hbm.info/cophes>.

[2] National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). <http://www.cdc.gov/nchs/nhanes.htm>.

Lien vers le rapport 2009 : <http://www.cdc.gov/exposurereport/>.

[3] German Environmental Survey (GerES) et German Health Interview and Examination Survey (GHIES). <http://www.umweltbundesamt.de/gesundheit-e/survey/>.

Publications sur le site de l'Agence fédérale de l'environnement (UBA) : <http://www.umweltbundesamt.de/gesundheit-e/publikationen/index.htm>

[4] Enquête canadienne des mesures de santé (ECMS) / Canadian Health Measures Survey (CHMS).

<http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/contaminants/human-humaine/chms-ecms-fra.php>

Rapport ECMS, août 2010:

http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/alt_formats/hecs-sesc/pdf/pubs/contaminants/chms-ecms/report-rapport-fra.pdf

Tableau récapitulatif des trois programmes de biosurveillance

	USA - NHANES	Allemagne - GerES	Canada - ECMS
Date de lancement du premier programme	1960	1985	2007
Type d'enquête	Initialement répétées - Continue depuis 1999.	Répétée	Répétée, à intervalle rapprochée
Population	Tous les âges. Échantillon représentatif. Dépend de la vague d'enquête. Depuis 1999, à partir de 1 an.	Tous les âges. Échantillon représentatif. Dépend de la vague d'enquête. GerES IV s'est concentré sur les enfants (3-14 ans)	6-79 ans 2 ^e phase intégrera les 3 à 6 ans
Échantillon pour les dosages de biomarqueurs	2 500 personnes tous les deux ans (plus pour certains biomarqueurs)	2 000 – 5 000 personnes	5 660 personnes
Mode de l'enquête	Questionnaire (à domicile) Clinique mobile pour la collecte Examen de santé	Équipe mobile pour les questionnaires (à domicile) Réseau de centres de collecte Examen de santé	Clinique mobile Questionnaire (à domicile) Examen de santé
Nombre de biomarqueurs	300	150-250	137
Couplage	Couplage avec des études spécifiques	Couplage avec la German Health Interview and Examination Survey (GHIES) Health Survey for Children and Adolescents (KiGGS)	Couplage avec examen de santé
Plateforme analytique	National Center for Environmental Health (NCEH) + 28 laboratoires accrédités	Université d'Erlangen + réseau de laboratoires accrédités	Institut national de santé publique
Institution responsable	Centers for Disease Control and Prevention (CDC)	Agence Fédérale pour l'Environnement (UBA)	Statistique Canada
Budget	Entre 15 et 30 millions d'euros/ an	Entre 5 et 9 m€ / projet	Environ 11 millions d'euros/ an

Utilisation des biomarqueurs dans les situations de pollution locale

Aide méthodologique

Face à une pollution locale par des substances chimiques, la décision de mettre en place une étude utilisant un ou plusieurs biomarqueurs se pose, ainsi que les modalités de sa réalisation. Ce guide, élaboré par l'Institut de veille sanitaire, constitue une aide méthodologique précieuse pour évaluer la pertinence d'une étude locale utilisant des biomarqueurs, et le cas échéant procéder à sa mise en œuvre.

Destiné aux professionnels de santé publique, il se présente en deux parties : la première présente les cinq étapes permettant de statuer sur la pertinence et la faisabilité d'une étude avec biomarqueurs dans le contexte d'une pollution locale. La seconde apporte des conseils pratiques pour la réalisation d'une étude locale avec biomarqueurs au travers de 13 fiches pratiques.

L'examen des éléments permettant de statuer sur la mise en œuvre d'une étude locale avec biomarqueurs est ainsi décliné dans la première partie sous forme de questions-réponses :

- quels sont les éléments clés de la situation environnementale et sanitaire ?
- qu'apporterait une étude avec biomarqueurs à la gestion de la situation locale ?
- à quels objectifs scientifiques devrait répondre une étude avec biomarqueurs pour être utile à la définition d'actions de gestion ?
- existe-t-il un ou plusieurs biomarqueurs pertinents dans le contexte local ?
- une étude avec biomarqueurs à l'échelle locale est-elle faisable ?

Dans la seconde partie, les fiches pratiques portent sur l'ensemble des points auxquels l'investigateur va être confronté lors de la mise en œuvre d'une étude locale avec biomarqueurs, de la relation avec les populations à l'interprétation et la communication des résultats, en passant par les critères d'inclusion et d'exclusion des participants, les aspects éthiques et réglementaires, la conception du questionnaire, l'organisation de la collecte et du dosage des prélèvements, les aspects statistiques, etc.

Mots clés : pollution locale, biomarqueurs, méthodologie, population, imprégnation, interprétation, communication

Use of biomarkers in case of local pollution

Methodological support

In case of local pollution by chemicals, the decision to conduct a study using one or more biomarkers is raised, as well as the manner to implement it. This guideline, developed by the French Institute for Public Health Surveillance, represents a valuable methodological support to assess the relevance of setting up local studies including biomarkers, and if necessary, to proceed with the implementation of such a study.

Designed for public health professionals, this guide line is divided in two parts: the first part presents the five steps that determine the relevance and feasibility of a study with biomarkers in the context of a local pollution event. The second part provides practical advice for conducting a local study with biomarkers through 13 practical data sheets.

The evaluation of information which will contribute to the decision of implementing a local study with biomarkers is thus presented in a question-and-answer format in the first part:

- *What are the key elements of the environmental and health situation?*
- *What would be the benefit of a study with biomarkers in the management of the local situation?*
- *Which scientific objectives a study with biomarkers should reach in order to contribute to identify management actions?*
- *Are there one or more relevant biomarkers in the local context?*
- *Is a study with biomarkers locally feasible?*

In the second part, the practical data sheets cover all the questions which the investigator will face during the implementation phase of a local study with biomarkers, the relationship with the people regarding the interpretation and the dissemination of the results, through the participant's inclusion and exclusion criteria, the ethical and administrative issues, the questionnaire design, the organization of the collection and the measurement of samples, the statistical considerations, etc.

Keywords: local pollution, biomarkers, methodology, population, interpretation, communication

Citation suggérée :

Dor F, Fréry N et al. Utilisation des biomarqueurs dans les situations de pollution locale. Aide méthodologique. Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire; 2012. 61 p. Disponible à partir de l'URL : <http://www.invs.sante.fr>