

Santé environnement

Dosage des biomarqueurs en maternité dans le cadre de l'enquête pilote Elfe (Étude longitudinale française depuis l'enfance), octobre 2007

Sommaire

Abréviations	3
Préambule	4
1. Contexte	5
1.1 Rappel sur les objectifs initiaux de l'étude Elfe et son volet biologique	5
1.2 L'étude pilote et les dosages envisagés	5
1.3 Le volet périnatal du plan national de Biosurveillance	6
2. Méthodologie	7
2.1 Réalisation des prélèvements biologiques	7
2.2 Dosage des biomarqueurs dans les matrices biologiques	7
2.3 Analyse statistique	9
3. Description générale de la population d'étude	10
4. Résultats par substance ou famille de substances	11
4.1 Le bisphénol A	11
4.2 Les phtalates	15
4.3 La cotinine	19
4.4 Les organoétains	21
4.5 Les pesticides	23
4.6 Les dioxines, furanes et PCB	29
4.7 Les retardateurs de flamme bromés et contaminants perfluorés	35
5. Discussion	40
6. Conclusion et perspectives	42
Références bibliographiques	43

Dosage des biomarqueurs en maternité dans le cadre de l'enquête pilote Elfe (Étude longitudinale française depuis l'enfance), octobre 2007

Auteurs du rapport

Coordination et rédaction

Stéphanie Vandentorren, Laurence Guldner

Contribution à la rédaction du document

Amivi Oleko, Marie-Laure Bidondo, Abdessattar Saoudi, Clémence Fillol, Nadine Frery, Florence Zeman, Jean François Focant, Philippe Marchand, Jean Philippe Antignac

Relecteurs

Agnès Lefranc, Ludwine Casteleyn

Réalisation du volet biologique du pilote de 2007

Équipe Elfe Institut de veille sanitaire (InVS)

Coordinatrice : Stéphanie Vandentorren

Monitrice d'étude : Amivi Oleko

Statisticienne : Hélène Sarter

Métrologue : Marie-Laure Bidondo

Gestionnaire : Sorya Som

Soutien financier et logistique InVS : Karine de Proft, Laurent Rivas

Partenaires Établissement français du sang (EFS)

Isabelle Desbois, Claire Gerdil

Équipe du groupe « substances chimiques » du projet Elfe

Céline Boudet, Jean Philippe Antignac, Philippe Bretin, Cécile Chevrier, Sylvaine Cordier, Adeline Floch-Barnaud, Jean François Focant, Nadine Frery, Laurence Guldner, Philippe Marchand, Sylvia Sanquer, Karine Tack, Jean Luc Volatier

Constitution de l'équipe projet Elfe en 2007

Direction du projet : Henri Leridon

Secrétaire général : Pascal Arduin

Coordination : Stéphanie Vandentorren, Corinne Bois, Marie Noelle Dufourg, Claudine Pirus, Jean-Louis Lanoë, Patrick de Colomby

Monitoring : Amivi Oleko, Ruxandra Popa, Karen Touboullic, Marie Cheminat, Karine Lautredoux

Statistiques : Hélène Sarter, Nicolas Pinkos, Lise Morin, Abdessattar Saoudi

Informatique : Arnaud Dorléans, Ando Rakotonirina, Sophie de Visme, Rui Borges-Paninho

Communication : Nathalia Baltzinger

Assistants : Christine Gonzalez, Marie Danielle Bailly, Mathieu Boivin, Sorya Som

Liste des maternités participantes

Seine Saint Denis (93) : Hôpital privé de Seine-Saint-Denis, Polyclinique Vauban, Clinique du Vert Galant, Hôpital Européen de Paris Rosaie, Maternité des Lilas, Hôpital Jean Verdier, Hôpital Robert Ballanger, CH de Saint Denis,

Ardèche (07) : Clinique Pasteur, CH Vals d'Ardèche,

Isère (38) : Clinique Saint Vincent de Paul, Clinique Saint Charles Roussillon, CH Privé de la Loire, Clinique Belledonne, CH Bourgoin-Jallieu, Clinique Mutualiste des Eaux Claires, CH de Vienne Lucien Hussel, CH Voiron, CHU Grenoble,

Loire (42) : CH Saint Chamond, CH Montbrison, CH Roanne, CH Firminy, CHU Saint Etienne Hôpital Nord,

Savoie (73) : CH d'Aix les Bains, CH Bourg Saint Maurice, CH Albertville, CH Chambéry

Remerciements

L'équipe projet Elfe remercie toutes les sages-femmes enquêtrices ayant participé à ce pilote et particulièrement les sages-femmes de bloc des maternités.
Merci à Cécile Zaros pour son aide et sa relecture attentive.

Abréviations

BPA	Bisphenol A
CHMS	Canadian Health Measures Survey
CO	Monoxyde de carbone
CMV	Cytomégalovirus
EFS	Établissement français du sang
Elfe	Étude longitudinale française depuis l'enfance
Geres	GERman Environmental Survey
HBCD	Hexabromocyclododécane
InVS	Institut de veille sanitaire
Ined	Institut national d'études démographiques
LOD	Limit Of Detection
LOQ	Limit Of Quantification
Moba	Norwegian Mother and Child Cohort Study
Nhanes	National Health and Nutrition Examination Survey
OMS	Organisation mondiale de la santé
PBDE	Polybromodiphényléther
PBB	Pentabromobiphenyl
PCB	Polychlorobiphenyle
PCDD	Polychlorodibenzo-p-dioxine
PCDF	Polychlorodibenzofuranes
Pélagie	Perturbateurs endocriniens : étude longitudinale sur les anomalies de la grossesse, l'infertilité et l'enfance
PFC	Perfluorinated Compound (contaminant perfluoré)
PNSE2	Plan national santé environnement 2
PVC	Polychlorure de vinyle
RFB	Retardateur de flamme bromé
ROS	Regression in Order Statistics

Préambule

Le présent document décrit les résultats des dosages de biomarqueurs réalisés dans du lait et des urines maternels, collectés en maternité lors de la seconde étude pilote de l'étude Elfe (Étude longitudinale française depuis l'enfance).

Ce pilote a été réalisé dans les départements de la Seine-Saint-Denis, de la Loire, de l'Isère, de la Savoie et de l'Ardèche, les 1, 2, 3 et 4 octobre 2007.

Il a permis d'obtenir des éléments concernant la faisabilité des prélèvements biologiques et des dosages de biomarqueurs par les laboratoires (techniques, seuils de quantification...), le degré d'imprégnation des mères à des polluants de l'environnement (phtalates, bisphénol A, organoétains, dioxines, furanes, PCB, retardateurs de flamme bromés, contaminants perfluorés et certains pesticides).

Les résultats obtenus ont fourni des éléments pour la mise en place du volet biologique de l'étude nationale Elfe, dont l'inclusion des sujets en maternité a été réalisée en 2011. Ces éléments ont concerné la sélection des substances pertinentes à doser et le nombre de sujets nécessaire pour l'étude des imprégnations, afin de satisfaire les objectifs de surveillance de cette population (le dosage des biomarqueurs de polluants environnementaux dans l'étude Elfe constituant le volet périnatal de la stratégie nationale de Biosurveillance).

1. Contexte

1.1. Rappel sur les objectifs initiaux de l'étude Elfe et son volet biologique

L'étude Elfe a pour objectif d'analyser le développement physique, psychologique et social de l'enfant, en prenant en compte l'impact des facteurs familiaux, sociaux, scolaires, comportementaux, environnementaux, sanitaires ou nutritionnels et leurs interactions [1]. Les inclusions des sujets dans la cohorte nationale se sont déroulées au moment de la naissance, en maternité, en 2011, sur 4 vagues (printemps, été, automne, hiver) de 4 à 8 jours.

L'étude de cohorte offre la possibilité de mesurer l'exposition individuelle des enfants aux produits chimiques et d'observer la survenue des pathologies qui pourraient y être associées (par exemple, troubles neurotoxiques, perturbations endocriniennes...). Le recrutement d'une cohorte à la naissance implique cependant de ne pas pouvoir suivre les femmes durant leur grossesse de façon prospective. Or le fœtus est particulièrement sensible durant cette période *in utero* aux substances auxquelles il est exposé (que ce soit des expositions chimiques, biologiques ou encore des nutriments) [2]. Les prélèvements biologiques à la naissance représentent donc une source d'information objective sur les expositions du fœtus pendant la vie intra-utérine. L'évaluation de l'exposition des enfants aux substances chimiques dans l'étude Elfe repose sur des prélèvements d'urine, de sang, de cheveux, de méconium, de lait maternel, ou de tissu de cordon, réalisés au moment de la naissance et à d'autres périodes clés du développement de l'enfant (3 et 6 ans notamment). La cohorte Elfe doit notamment permettre de développer et de valider des biomarqueurs d'exposition, d'effets et de susceptibilité pour appréhender les risques sanitaires associés aux expositions étudiées.

Les premières réflexions menées sur les exploitations possibles des prélèvements biologiques dans la cohorte avaient permis d'identifier différentes possibilités, et notamment :

- pour les aspects toxiques : polluants environnementaux (plomb, phtalates, bisphénol A, certains pesticides, organoétains, métaux, cotinine, dioxines, furanes, PCB, retardateurs de flamme bromés et contaminants perfluorés), et omics (metabolomics, proteomics, genomics [3]), qui peuvent être des indicateurs d'effets précoces ;
- pour les aspects nutritionnels : antioxydants, vitamine D, fer, sélénium, profil lipidique, acides gras ;
- pour les aspects infectieux : anticorps cytomégalovirus et toxoplasmose. Ces pathogènes peuvent avoir des effets sur la croissance et le développement ultérieur de l'enfant (neurotoxicité) ;
- pour les marqueurs d'inflammation : leptine et IGF-1 ; immunoglobulines E ;
- autres : polymorphismes génétiques, etc.

1.2. L'étude pilote et les dosages envisagés

Une étude pilote a été réalisée en 2007 pour évaluer la faisabilité de l'étude Elfe en termes d'organisation, d'acceptabilité de l'étude, de mise en œuvre du recueil des données (notamment pour les prélèvements biologiques), pour l'ensemble des phases de l'étude, de la collecte jusqu'à l'analyse des résultats des dosages.

Les départements pilotes, choisis essentiellement pour refléter de potentielles diversités régionales (en termes de population et d'urbanisation), étaient la Seine-Saint-Denis (93) et 4 départements de la région Rhône-Alpes : l'Ardèche (07), l'Isère (38), la Loire (42) et la Savoie (73).

L'étude a eu lieu dans des maternités publiques et privées de ces départements, chez les femmes respectant les conditions d'inclusion suivantes : enfant né à partir de 33 semaines d'aménorrhée, pour lesquels l'issue de la grossesse était une naissance vivante, unique ou gémellaire, et pour lesquels la mère et/ou le père (si le contact était possible en maternité avec ce dernier), étai(en)t capable(s) de donner un consentement éclairé. Sur 571 naissances, correspondant à ces critères et survenues entre le 1^{er} et le 4 octobre 2007, 301 familles ont accepté de participer à l'étude pilote Elfe. Parmi les femmes ayant accepté le suivi Elfe dans le cadre de l'étude pilote, 296 ont donné également leur consentement pour la réalisation et l'exploitation de prélèvements biologiques. Dans ce cadre, des prélèvements de sang de cordon, d'urine et de lait maternel (en maternité et au domicile 1 mois après la naissance) ont été effectués.

Dans le cadre du pilote, pour les analyses sur le plan nutritionnel, des dosages d'antioxydants, de vitamine D, ou des marqueurs d'inflammation ont été prévus dans le sang du cordon, afin d'évaluer l'influence du

mode de recueil et de stockage des prélèvements biologiques. Les analyses du profil en acides gras des phospholipides membranaires devaient être réalisées dans les globules rouges afin de valider la procédure de collecte, les molécules métabolomiques pour la mise en évidence des biomarqueurs précoces des maladies pertinentes à prendre en compte pour la suite. Ces analyses ne font pas l'objet du présent rapport.

Par ailleurs, des dosages de biomarqueurs de polluants environnementaux ont été effectués dans le sang, les urines et dans le lait maternel mature recueilli à domicile, afin d'estimer les seuils de détection et de quantification des techniques analytiques mises en œuvre par les laboratoires, mais également pour donner des éléments de hiérarchisation des biomarqueurs à prendre en compte dans l'étude nationale. Les polluants concernés étaient le bisphénol A, les phtalates, les organoétains, les pesticides (atrazine, glyphosate, propoxur, pyréthrinoides) dans les urines ; les retardateurs de flamme bromés, les contaminants perfluorés, les PCB et les dioxines dans le lait maternel mature, recueilli 1 mois après la naissance. Ce sont ces résultats qui sont présentés ici et qui ont permis de nourrir la réflexion sur un volet périnatal du programme national de Biosurveillance. Les résultats de l'étude des concentrations de plomb dans le sang du cordon ont été publiés précédemment [4].

Les dosages biologiques, dans le cadre de ce pilote, ont été réalisés dans un objectif méthodologique (estimation des capacités des laboratoires, hiérarchisation des substances, etc.). Les résultats individuels des dosages n'ont pas été communiqués personnellement aux participantes, exceptés ceux concernant le Cytomégalovirus (CMV) et le plomb (réalisés dans le sang du cordon). En effet, la mise en évidence d'une contamination par le CMV ou de valeurs élevées de plomb pouvait justifier une prise en charge particulière de l'enfant. Les résultats des autres dosages ont été diffusés de manière agrégée auprès des participantes sous la forme de lettres d'information, ou ont été mis en ligne sur le site grand public www.elfe-france.fr.

1.3. Le volet périnatal du plan national de Biosurveillance

À la suite du Grenelle de l'environnement, la loi n° 2009-967 du 3 août 2009 retenait la mise en place d'un programme de « Biosurveillance » pour mettre en relation la santé de la population et l'état de son environnement. L'Institut de veille sanitaire (InVS), identifié comme pilote de cette action dans le Plan national santé environnement 2 (PNSE2), a donc mené des travaux au cours des années 2009-2011 pour définir un programme national de biosurveillance, visant notamment à décrire les niveaux d'imprégnation des sujets par différents polluants, au sein de la population française.

Les dosages réalisés sur les prélèvements biologiques collectés lors de l'inclusion en maternité dans Elfe constituent le volet périnatal de cette stratégie nationale de biosurveillance. Ce volet consiste ainsi à mesurer une centaine de polluants dans l'organisme des mères, qu'il s'agisse de polluants connus de longue date (plomb, mercure, pesticides) ou plus émergents (phtalates, bisphénol A, dioxines, retardateurs de flamme,...).

Les dosages de ces composés dans les urines et le lait maternel des mères lors du pilote ont ainsi fourni quelques indications sur la distribution de certaines variables dans la population et les seuils attendus de certains biomarqueurs, nous permettant d'affiner le calcul du nombre de sujets nécessaires et pouvant aider à l'orientation des choix pour l'étude nationale (sélection des biomarqueurs les plus pertinents).

Lors de l'étude nationale, la description et le suivi de ces niveaux d'imprégnation, de même que l'analyse de certains déterminants de l'exposition, devront permettre d'orienter l'impact des politiques publiques de prévention et de réduction des risques.

2. Méthodologie

2.1. Réalisation des prélèvements biologiques

Dans le cadre de la présente étude pilote, les matrices suivantes ont été recueillies :

- à l'admission à la maternité : des urines de la mère ont été recueillies par les sages-femmes de bloc ;
- au moment de l'accouchement, en salle de naissance : du sang du cordon a été prélevé par la sage-femme présente ;
- en suite de couches, à la maternité : des cheveux de la mère et du lait maternel ont été prélevés par les sages-femmes enquêtrices (à J+2-J+3) ;
- au domicile de la mère, 1 à 2 mois après l'accouchement : du lait maternel mature a été recueilli par la maman.

Les modalités détaillées et les résultats de la collecte mise en œuvre dans l'étude pilote ont été décrits précédemment [5,6]. Les prélèvements ont été gardés au frais (+4 °C) et récupérés deux fois par jour par un transporteur spécifique à l'Établissement français du sang (EFS, partenaire de l'étude, pour être centrifugés et aliquotés en cryotubes et en paillettes puis congelés à -80 °C ou -196 °C.

La biothèque constituée pour le pilote (301 mères incluses, certains prélèvements ayant été recueillis avec un consentement spécifique pour les mères qui acceptaient le prélèvement mais pas le suivi Elfe) comprenait au final les éléments mentionnés dans le tableau 1.

Tableau 1

Constitution de la biothèque pilote

Matrice	Nombre de sujets	Conditionnement et quantité moyenne par sujet
Sang total (cordon)	240	6 aliquots de 0,5 mL
Sérum (tube sec)	248	10 aliquots de 0,5 mL
Sérum (éléments traces)	195	3 aliquots de 0,5 mL
Plasma	214	3 aliquots de 0,5 mL
Globules blancs et globules rouges	212	3 aliquots de 0,5 mL
Urines	279	10 aliquots de 10 mL
Lait maternel (en maternité)	126	10 aliquots de 0,5 mL
Lait maternel mature (1 mois)	48	15 aliquots de 10 mL

2.2. Dosage des biomarqueurs dans les matrices biologiques

2.2.1. Choix des biomarqueurs à doser

Les familles de polluants chimiques ciblées ont été sélectionnées sur la base de plusieurs critères incluant notamment :

- le volume de production et d'utilisation industrielle de ces substances ;
- leur caractère émergent en tant que contaminants environnementaux/perturbateurs endocriniens ;
- leur pouvoir de bioaccumulation dans la chaîne trophique ;
- leur potentiel toxique notamment en cas d'exposition prolongée et/ou à faibles doses ;
- le manque de données concernant leur présence dans les milieux biologiques ;
- la faisabilité de leur mesure dans les milieux biologiques.

2.2.2. Prescriptions techniques et assurance qualité des analyses de biomarqueurs

Les définitions de la limite de détection (LOD) et de la limite de quantification (LOQ) sont issues du guide COFRAC de validation des méthodes en biologie médicale.

La limite de détection est le plus petit signal exprimé en quantité ou concentration qui peut être distingué d'un blanc de réaction, avec une probabilité donnée. L'étude de la LOD est basée sur l'analyse statistique de la différence de signaux observés pour les blancs et les échantillons.

Pour l'estimer, on peut effectuer 30 mesures des blancs dans une même série, et on calcule la moyenne obtenue (m) et l'écart-type (s) exprimé en concentration de ces 30 mesures.

La limite de détection peut être calculée selon la formule suivante :

$$\text{LOD} = m + 3s$$

La limite de quantification correspond à la plus petite valeur exprimée en concentration et rendue avec une confiance acceptable et une incertitude connue. Pour le déterminer, on peut réaliser des dilutions du calibrateur ou de l'échantillon de contrôle de qualité interne le plus bas. On calcule ensuite l'écart-type, le coefficient de variation et l'écart de la moyenne à la valeur théorique, pour chaque série de mesures des différentes dilutions.

$$\text{LOQ} = \text{valeur minimale pour laquelle le coefficient de variation (CV) est supérieur à la valeur choisie (ici CV} \\ = 20 \%)$$

La limite de quantification est donc définie comme la plus petite concentration quantifiable avec une erreur de 20 %.

2.2.3. Transport, conservation, manipulation des échantillons et assurance qualité au cours des différentes phases

Pour les dosages des biomarqueurs d'exposition aux polluants de l'environnement, les différentes matrices (sang, urine, lait) ont été recueillies en cryotubes puis transportées sous conditionnement adéquat (cryoboîtes adaptées et emballages homologués) dans les sites EFS chargés de leur conservation à -80 ou -196 °C. Elles ont ensuite été acheminées vers les laboratoires en charge de l'analyse des biomarqueurs par un transporteur spécialisé, sous carboglace.

Les échantillons ont été conservés au sein des laboratoires à l'abri de la lumière et à une température de -20 °C maximum. Les laboratoires ont respecté les procédures décrivant les délais pour alerter en cas de panne et les conditions de mise en œuvre pour assurer la conservation des échantillons selon les directives reconnues au plan international et, notamment, en cas de panne (alarmes, groupe de secours, etc.).

Les laboratoires ont réalisé les analyses selon les procédures conformes à leur système de management de la qualité. Des procédures de vérification d'absence de contamination ont été mises en place durant les analyses. Un cryotube vide par lot d'échantillon a ainsi été analysé pour vérifier tout risque de contamination éventuellement inhérente au récipient. Les laboratoires se sont assurés de l'absence de contamination de tous leurs instruments, équipements et verrerie utilisés à chaque étape des dosages.

2.2.4. Laboratoires impliqués

Certains laboratoires partenaires, ayant répondu à un appel à projet de recherche Elfe publié en 2006, tels que le Laboratoire d'étude des résidus et contaminants dans les aliments (LABERCA), le Centre de recherche analytique et technologique (CART), l'Institut national de l'environnement industriel et des risques (Inéris), ont contribué activement à la mise en place de l'étude pilote, notamment dans le cadre du groupe de travail « substances chimiques ». Trois conventions ont été signées, avec le LABERCA (pour les retardateurs de flamme bromés et les contaminants perfluorés), le CART (pour les dioxines et PCB) et l'Inéris (pour les phtalates) le 15 octobre 2009. Pour les phtalates, une partie des dosages a été sélectionnée aléatoirement pour être réalisée par un laboratoire Allemand, dans le cadre d'un essai inter-laboratoire. Parallèlement, pour les autres substances d'intérêt, un appel d'offre a été lancé le 6 juillet 2009 proposant 5 lots (lot n° 1 : bisphénol A ; lot n° 2 : organoétains ; lot n° 3 : pyréthriinoïdes ; lot n° 4 : atrazine, glyphosate et propoxur ; lot n° 5 : cotinine). Les lots 1, 4 et 5 concernant respectivement le bisphénol A,

l'atrazine, le glyphosate, le propoxur et la cotinine ont été attribués au laboratoire Idhesa (le 19 février 2010), les organoétains au laboratoire UT2A (le 14 septembre 2009) et les pyréthriinoïdes au laboratoire du CHU de Limoges (le 8 janvier 2010). Le tableau suivant résume les dosages effectués par les différents laboratoires.

I Tableau 2 I

Laboratoires de dosage des biomarqueurs

Substance ou famille	Laboratoire
Retardateurs de flamme bromés	LABERCA
Contaminants perfluorés	LABERCA
Dioxines et PCB	CART
Phtalates	1/ Inéris 2/ Laboratoire de l'université d'Erlangen (Allemagne)
Bisphénol A	IDHESA
Organoétains	UT2A
Pyréthriinoïdes	CHU de Limoges
Atrazine, glyphosate et propoxur	IDHESA
Cotinine	IDHESA

2.2.5. Analyse métrologique

L'analyse métrologique des données consiste en la vérification et la validation des fichiers de données contenant les résultats des analyses chimiques et biologiques. Ce n'est qu'à l'issue de cette validation que les données sont considérées pour les analyses statistiques.

Pour chaque résultat de dosage dans chaque matrice, des vérifications sont nécessaires pour assurer l'intégrité des dosages, à savoir :

- le remplissage de tous les champs à renseigner sur le fichier de données ;
- la conformité par rapport aux LOD, LOQ (ainsi que le coefficient de variation : CV, qui est calculé par rapport aux contrôles internes de qualité) ;
- le dosage d'un blanc ;
- le dosage d'un ou plusieurs contrôles internes de qualité ;
- le dosage éventuel de contrôles inter-laboratoires de qualité ;
- l'intégrité de la série de dosage (dérive de l'appareil par exemple) ;
- la présence d'un outlier éventuel.

Lorsque tous ces contrôles sont validés et que la présence d'outliers a été écartée, les analyses sont jugées recevables et exploitables.

2.3. Analyse statistique

2.3.1. Analyse statistique descriptive de l'échantillon

L'exploitation des données issues de l'auto-questionnaire a permis de décrire l'échantillon en fonction des caractéristiques démographiques (âge des mères, département d'origine, nationalité, etc.), socio-économiques (niveau d'étude, profession actuelle, état matrimonial, etc.) et selon d'autres variables (taille et poids avant et à la fin de la grossesse, parité, âge gestationnel à la naissance et poids foetal).

Les distributions des concentrations des biomarqueurs de substances chimiques sont décrites sous forme de percentiles et de moyennes géométriques non ajustés. Ces résultats sont présentés pour la totalité de l'échantillon et, pour certains biomarqueurs, selon d'autres facteurs (exemple : le type d'accouchement pour le bisphénol A).

La normalité/log-normalité des distributions de chaque composé a été vérifiée (visualisation graphique, test de Shapiro-Wilk).

La comparaison des niveaux de biomarqueurs selon le type d'accouchement (voie basse *versus* césarienne et forceps) a été réalisée par un test de Wilcoxon.

2.3.2. Traitement des données censurées à gauche

Lorsque la sensibilité de la technique de dosage utilisée pour quantifier un biomarqueur est faible, certaines valeurs sont censurées à gauche (inférieures à la LOD ou à la LOQ). Pour traiter ce type de données, plusieurs méthodes peuvent être utilisées :

- la méthode de substitution consiste à substituer les valeurs inférieures à LOD par LOD/2 et les valeurs entre LOD et LOQ par (LOD+LOQ)/2. Cette méthode donne de bons résultats lorsque le pourcentage des valeurs censurées à gauche est relativement faible (<15 %) ;
- la méthode ROS (Regression in Order Statistics) utilise l'information fournie par la portion non censurée des données (les valeurs > LOQ) et la distribution présumée « normale » (ou transformée en distribution normale) pour calculer une moyenne et un écart-type qui tiennent compte des données situées sous la limite de détection. Cette méthode a été utilisée lorsque le pourcentage des valeurs censurées à gauche est élevé (>15%). Lorsqu'un trop grand nombre de résultats de dosage était censuré (>75 %), seul les percentiles étaient présentés.

2.3.3. Prise en compte de la dilution urinaire ou de la concentration lipidique du lait

Différentes méthodes d'ajustement existent afin de tenir compte du degré de dilution urinaire. La méthode la plus courante consiste à ajuster la concentration de biomarqueur sur la concentration urinaire de créatinine. Compte tenu de l'objectif descriptif de nos analyses, nous avons opté pour l'utilisation de la concentration du biomarqueur divisée par la valeur de la créatininurie.

Pour les substances chimiques mesurées dans le lait, nous avons aussi opté pour l'utilisation de la concentration du biomarqueur divisée par la concentration en lipides totaux (cholestérol total, cholestérol non-estérifié, triglycérides et phospholipides).

3. Description générale de la population d'étude

Les mères avaient en moyenne 30 ans lors de l'accouchement, l'âge minimal étant de 19 ans et le maximal de 42 ans. Il s'agissait du premier enfant pour 38,2 % d'entre elles, du second pour 32,3 %, du troisième pour 16,9 %, du quatrième pour 4,7 % et du cinquième ou plus pour 3 % des femmes.

Concernant le niveau d'études, 8 % avaient un niveau collège, 15 % un niveau Bac professionnel, 26 % un niveau Bac ou Bac +2 ans ; 13 % un niveau Bac ou Bac +4 ans et 10 % un niveau Bac + 5 ans et au-delà.

Près de 45 % des femmes étaient mariées, 36 % vivaient en couple hors mariage.

La durée moyenne de gestation était de 39 semaines (41 semaines d'aménorrhée), la durée minimale de 31 semaines et la maximale de 42 semaines. Les naissances prématurées (inférieures à 37 semaines) représentaient 4,72 % des naissances.

Le poids moyen des enfants était de 3,3 kg avec un minimum de 1,4 kg et un maximum de 4,5 kg.

4. Résultats par substance ou famille de substances

4.1. Le bisphénol A

4.1.1. Identification

I Tableau 3 I

Liste des biomarqueurs analysés pour le bisphénol A

Substance	Formule chimique	Numéro CAS
Bisphénol A (total + libre)	C ₁₅ H ₁₆ O ₂	80-05-7

4.1.2. Problématique

Le bisphénol A (BPA) est un monomère utilisé dans la fabrication des matières plastiques polycarbonates, des résines époxy et qui entre dans la composition des matières plastiques en polychlorure de vinyle (PVC). Ces matériaux sont utilisés non seulement pour la fabrication de dispositifs médicaux, disques compacts, équipements de sécurité résistants aux chocs mais également pour celle de bouteilles destinées à contenir des boissons (lait, eau), de biberons, de tuyaux pouvant être utilisés pour l'approvisionnement en eau potable, de films alimentaires (en particulier du film interne des conteneurs métalliques de boissons et de nourriture).

L'exposition par voie digestive est la plus fréquente, en raison de la migration du BPA à partir des conteneurs ou du film plastique dans les aliments et les boissons. La dépolymérisation des matériaux est favorisée par le chauffage, par le nettoyage répété des conteneurs, ou par le contact avec des composés acides ou alcalins [7,8] et ce plus que par l'âge des conteneurs. L'eau de boisson, comme l'eau de baignade, contaminées par lessivage des sols sont également une source d'exposition [9]. Il existe aussi une exposition par inhalation ou ingestion de poussières, particulièrement pour les professionnels aux postes de fabrication des produits en PVC.

L'absorption du BPA est supérieure à 80 % par voie orale [10] et autour de 10 % par voie cutanée.

Concernant l'élimination urinaire du BPA, il n'y aurait pas de réabsorption par voie entéro-hépatique [11]. L'élimination est diphasique avec une première phase d'élimination rapide en 4,5-8,5 heures, représentant la phase d'élimination suivant l'absorption digestive, suivie d'une phase d'élimination lente entre 8,5 et 24 heures. La détoxification du BPA se fait par conjugaison de la molécule avec un groupement glucuronide ou sulfate. Le profil d'élimination est le suivant : 33 à 70 % BPA glucuronide, 10 à 33 % BPA libre et 5 à 34 % BPA sulfate conjugué [12].

Le tableau 4 présente les niveaux de BPA libre et total (libre + conjugué) observés en population générale, d'après plusieurs études publiées.

I Tableau 4 I

Niveaux de bisphénol A urinaire observés en population générale

Biomarqueur	Étude	Population	Moyenne (µg/L)	%(>LOQ)
BPA Total	CHMS [13]	Canada n = 5476 adultes	1,16 µg/L	90,7 % (LOQ = 0,2 µg/L)
	GerES IV [14]	Allemagne n = 599 enfant 3-14 ans	2,89 µg/L	98,7 % (LOQ = 0,15 µg/L)
	MoBa [15]	Norvège n = 110 femmes enceintes	2,81 µg/L	Non précisé (LOQ = 0,26 µg/L)
	Nhanes [16]	USA n = 2517 adultes	2,64 µg/L	Non précisé (LOQ = 0,4 µg/L)
	Völkel [17]	Allemagne n = 47 enfants 1-5 ans	<LOQ	42 % (LOQ = 0,45 µg/L)
BPA libre	Völkel [17]	Allemagne n = 47 enfants 1-5 ans	<LOQ	3 % (LOQ = 0,45 µg/L)

4.1.3. Limites de détection et de quantification et techniques analytiques

Deux tubes de 10 mL d'urine étaient disponibles pour les analyses, qui ont été réalisées, après extraction liquide/liquide, par chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC/MS-MS). La limite de détection (LOD) pour le bisphénol A (total et libre) était de 0,1 µg/L et la limite de quantification (LOQ) de 0,3 µg/L.

4.1.4. Résultats des analyses

L'analyse descriptive de BPA libre et total a été réalisée sur 254 des 258 échantillons d'urine analysés (4 dosages ont été exclus en raison de valeurs aberrantes).

Le BPA total et le BPA libre étaient respectivement détectés dans 91,7 % et 74,4 % des échantillons urinaires, et quantifiés dans 88,2 % et 61,4 % des échantillons urinaires (tableau 5).

La concentration médiane de bisphénol total était de 2,5 µg/L (1,9 µg/g de créatinine), avec un maximum de 598,83 µg/L. La concentration médiane de bisphénol libre était de 0,4 µg/L (0,7 µg/g de créatinine) avec un maximum de 512,8 µg/L.

I Tableau 5 I

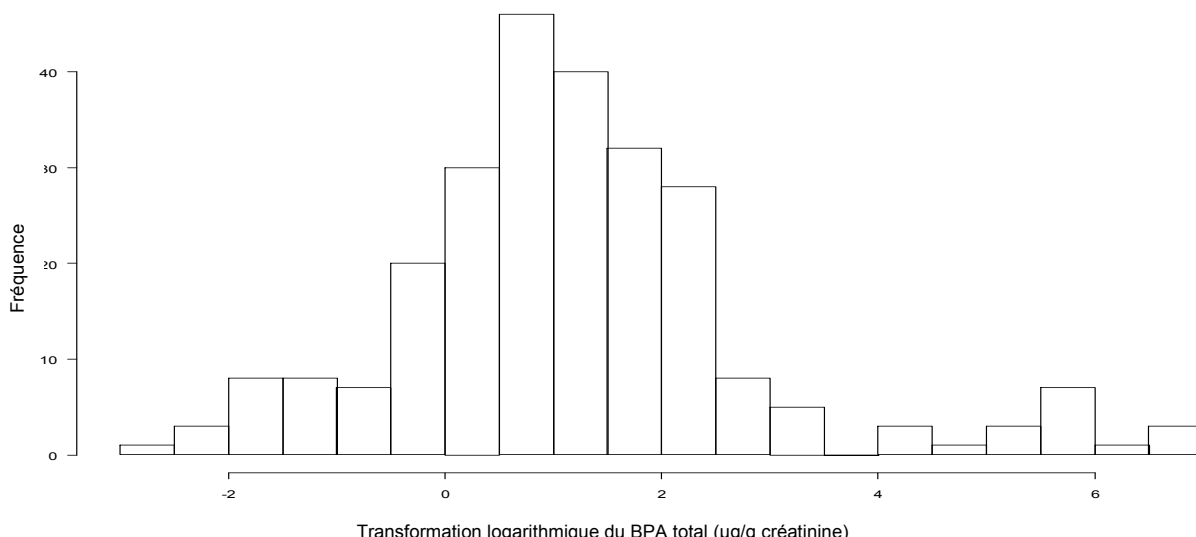
Distribution du BPA total et du BPA libre (µg/L) dans l'échantillon – Elfe pilote 2007

	%>LOQ	n	MG	IC _{95%} MG	Percentiles					
					10	25	50	75	90	95
BPA total	88,2%	254	2,6	[2,1 ; 3,2]	0,3	1,0	2,5	5,7	13,3	115,4
BPA libre	61,4%	254	0,4	[0,3 ; 0,5]	0,02	0,1	0,4	1,4	4,0	35,1

La figure 1 présente la distribution du BPA total dans les 254 échantillons analysés. La présence de valeurs élevées, en proportion relativement importantes (« queue de distribution ») a soulevé l'hypothèse d'un possible problème de contamination, soit par les perfusions, soit par les poches urinaires (contamination lors du recueil de l'urine) au moment de l'accouchement.

I Figure 1 I

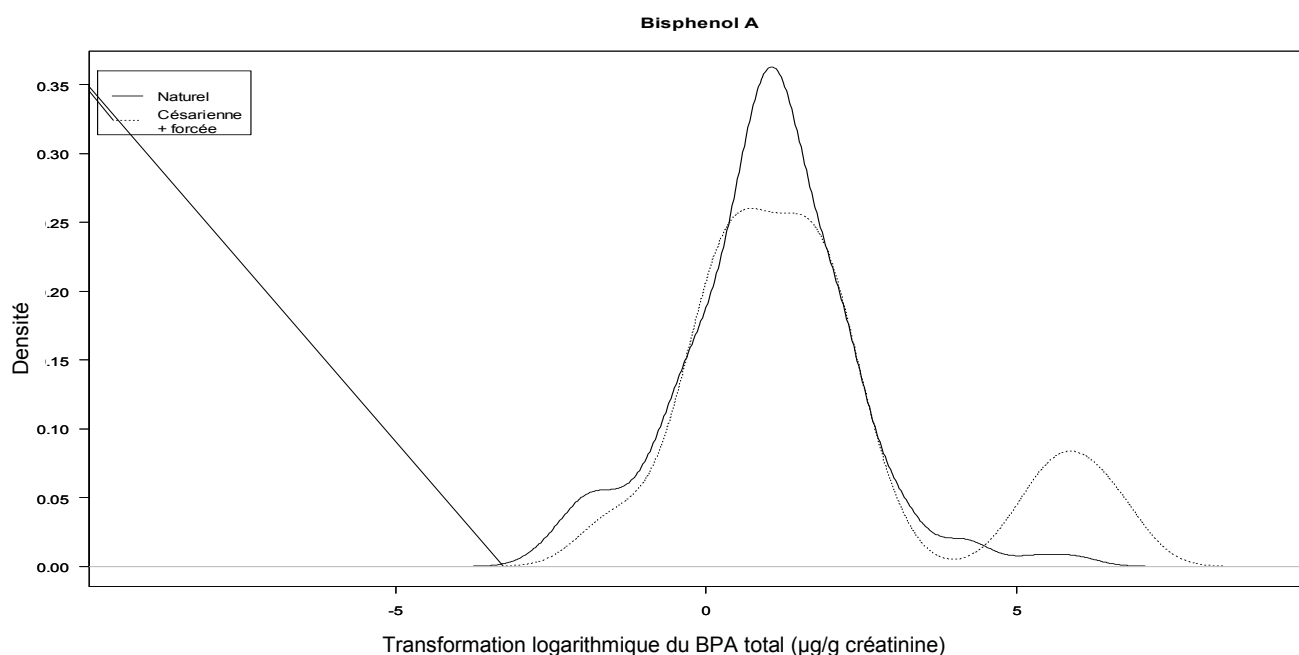
Distribution du BPA total dans les 254 échantillons.



Des analyses complémentaires ont donc été réalisées pour étayer cette hypothèse. Les poches à urines étant posées lors des accouchements par césarienne, les analyses ont été réalisées séparément par type d'accouchement. Les résultats (illustrés en figure 2) montrent que les femmes ayant accouché par césarienne ou par forceps avaient des niveaux de BPA total bien plus élevés que celles ayant accouché par voie basse. En particulier, les femmes présentant des concentrations particulièrement élevées étaient dans leur immense majorité des femmes ayant accouché par césarienne, suggérant une contamination qui pourrait survenir dans le cadre de ce type d'accouchement.

I Figure 2I

Niveaux de BPA total par type d'accouchement



En effet, comme le montre le tableau 6 les femmes ayant accouché par voie basse avaient un niveau médian de BPA total de 2,2 µg/L alors que celles ayant accouché par césarienne ou forceps avait un niveau médian de 3,3 µg/L, cette différence étant statistiquement significative ($p = 0,036$).

I Tableau 6 I

Distribution du BPA total et du BPA libre (µg/L) dans l'échantillon en fonction du type d'accouchement – Elfe pilote 2007

	n	MG	IC _{95%} MG	Percentiles					
				10	25	50	75	90	95
BPA Total									
Accouchement naturel	164	2,0	[1,6 ; 2,5]	0,2	1,0	2,2	5,1	9,1	13,5
Césarienne ou forceps	79	4,5	[2,8 ; 7,1]	0,6	1,2	3,3	7,5	162,8	292,8
BPA libre									
Accouchement naturel	164	0,2	[0,2 ; 0,3]	0,02	0,05	0,3	1,1	2,5	4,2
Césarienne ou forceps	79	0,7	[0,3 ; 1,4]	0,02	0,07	0,7	2,3	143,4	273,9

Des analyses ont également été réalisées pour étudier la contamination potentielle de l'urine par les sondes urinaires à demeure utilisées lors des césariennes et étudier ainsi le relargage du BPA au cours du temps. Pour ce faire, de l'urine a été placée dans différents types de poches, utilisées par 3 maternités différentes. Les taux de bisphénol A ont ensuite été mesurés dans ces urines à t₀, t₀+12h et t₀+24h ou à t₀ et t+12h seulement (une fois sur deux). Les résultats de ces dosages sont présentés dans le tableau 7. Les résultats varient selon les maternités, donc selon le type de sonde à demeure utilisé. Dans la première maternité, on observe un relargage de BPA progressif au cours du temps dans les deux poches étudiées.

I Tableau 7 I

Taux de BPA relargué par les sondes urinaires en fonction du type et du temps

Matériel analysé	Temps écoulé	Taux de BPA (µg/L)
(1)Poche à demeure urinaire Maternité de la Fontaine	0	8,1
(1)Poche à demeure urinaire Maternité de la Fontaine	12H	149
(1)Poche à demeure urinaire Maternité de la Fontaine	24H	281
(2)Poche à demeure urinaire Maternité de la Fontaine	0	4,8
(2)Poche à demeure urinaire Maternité de la Fontaine	12H	193
(3)Poche pré-connectée, sonde de FOLEY Maternité du vert galant	0	0,9
(3)Poche pré-connectée, sonde de FOLEY Maternité du vert galant	12H	1,1
(3)Poche pré-connectée, sonde de FOLEY Maternité du vert galant	24H	0,9
(4)Poche pré-connectée, sonde de FOLEY Maternité du vert galant	0	<0,30 (nd)
(4)Poche pré-connectée, sonde de FOLEY Maternité du vert galant	12H	<0,30 (nd)
(5)Poche à urine SAD polyclinique Vauban	0	<0,30 (nd)
(5)Poche à urine SAD polyclinique Vauban	12H	<0,30 (nd)
(5)Poche à urine SAD polyclinique Vauban	24H	<0,30 (nd)
(6)Poche à urine SAD polyclinique Vauban	0	<0,30 (nd)
(6)Poche à urine SAD polyclinique Vauban	12H	<0,30 (nd)

4.2. Les phtalates

4.2.1. Identification

Tableau 8

Liste des biomarqueurs analysés pour les phtalates

Substance mère	N° CAS	Biomarqueur	N° CAS
Di-n-butylphtalate (DnBP)	84-74-2	Mono-n-butylphtalate (MnBP)	131-70-4
Di-iso-butylphtalate (DiBP)	84-74-2	Monoisobutylphtalate (MiBP)	131-70-4
Di-2-ethylhexyl phtalate (DEHP)	117-81-7	Mono-2-ethylhexyl phtalate (MEHP)	4376-20-9
		Mono-(2-ethyl-5-oxohexyl) phtalate (5oxo-MEHP)	40321-98-0
		Mono-(2-ethyl-5-hydroxyhexyl) phtalate (5OH-MEHP)	40321-99-1
		Mono-(2-ethyl-5-carboxypentyl) phtalate (5cx-MEPP)	40809-41-4
		Mono-(2-ethyl-2-carboxypentyl) phtalate (2cx-MEPP)	-

4.2.2. Problématique

Les phtalates sont des diesters utilisés comme plastifiants, solvants et additifs dans de nombreux produits de consommation (cosmétiques, plastiques, matériaux de construction, etc.) [18]. On trouve des phtalates dans les dispositifs médicaux, les revêtements (sols et murs, habitacles de voitures, etc.), les lubrifiants et les colles, les tissus imperméables (vêtements, nappes, rideaux, chaussures, etc.) et les fils et câbles électriques, mais également les jouets pour enfants. Les adultes et les enfants peuvent donc y être exposés quotidiennement par contact avec des produits les contenant, ou par ingestion d'aliments conditionnés dans des emballages contenant des phtalates. Ceci est d'autant plus préoccupant que ces substances sont suspectées d'être à l'origine d'effets sur la reproduction et le développement, d'effets cancérogènes [19], etc.

La durée de vie des phtalates est très courte dans l'organisme (quelques heures) et ils sont rapidement métabolisés en monoesters qui subissent à leur tour des réactions d'oxydation (dérivés hydroxylés) puis de conjugaison (glucorono-conjugaison) conduisant à leur élimination dans les urines, et dans une moindre mesure dans les selles. Les métabolites ainsi formés, responsables de la toxicité des phtalates, ont également une courte durée de vie dans l'organisme (<24 heures) et sont donc essentiellement éliminés dans les urines. Chez les enfants, un plus fort métabolisme oxydatif conduirait à une plus forte élimination de dérivés oxydés que chez les adultes.

Les données de la littérature indiquent que l'imprégnation des individus par les phtalates est le plus souvent estimée par des mesures dans le sang ou le lait maternel et les mesures des métabolites dans les urines [20]. Pour la population générale, les principales sources d'exposition aux phtalates proviennent de l'alimentation et concernent particulièrement le Dibutyl phtalate (DBP), le Di(2-ethylhexyl) phtalate (DEHP), le Benzylbutyl phthalate BzBP (qui s'accumulent dans certains aliments gras comme les huiles, les produits laitiers, les viandes et poissons, avec un relargage à partir des emballages pendant le stockage). L'ingestion via la contamination alimentaire a été estimée à environ 0,25 mg/jour et s'applique aussi aux bébés et jeunes enfants susceptibles de sucer ou mordiller des jouets ou objets contenant des phtalates. Il y a également une exposition par inhalation. L'exposition par voie cutanée semble plus rare (cosmétiques) [21].

Le tableau 9 présente les niveaux de phtalates observés en population générale, d'après plusieurs études publiées.

I Tableau 9 I

Niveaux de phtalates urinaires observés en population générale

Biomarqueur		Étude	Population	Moyenne ou médiane	%(>LOQ)
Substance mère	Métabolite				
DnBP	MnBP	GerES IV[22]	Allemagne n = 599 enfants	Med = 95,6 µg/L	100 % (LOQ = 1 µg/L)
		MoBa[15]	Norvège n = 110 femmes enceintes	21,7 µg/L	(LOQ = 0,5-2 µg/L)
		Nhanes[16]	USA n = 2605 adultes	21,1 µg/L	(LOQ = 0,4 µg/L)
		Casas[23]	Espagne n = 118 femmes enceintes et enfants	27,5 µg/L 30,2 µg/L	100 % (LOQ = 0,6 µg/L)
DiBP	MiBP	GerES IV[22]	Allemagne n = 599 enfants	Med = 94,3 µg/L	100 % (LOQ = 1 µg/L)
		MoBa[15]	Norvège n = 110 femmes enceintes	22,80 µg/L	(LOQ = 0,5-2 µg/L)
		Nhanes[16]	USA n = 2605 adultes	3,80 µg/L	(LOQ = 0,3 µg/L)
		Casas[23]	Espagne n = 118 femmes enceintes et enfants	29,9 µg/L 41,9 µg/L	100 % (LOQ = 0,3 µg/L)
DEHP	MEHP	GerES IV[22]	Allemagne n = 599 enfants	Med = 6,4 µg/L	100 % (LOQ = 0,25 µg/L)
		MoBa[15]	Norvège n = 110 femmes enceintes	14,12 µg/L	(LOQ = 0,5-2 µg/L)
		Nhanes[16]	USA n = 2605 adultes	2,34 µg/L	(LOQ = 0,9 µg/L)
		Casas [23]	Espagne n = 118 femmes enceintes et enfants	4,4 µg/L 6,2 µg/L	84,9 % (LOQ = 1,2 µg/L)
	5oxo-MEHP	GerES IV[22]	Allemagne n = 599 enfants	Med = 37,0 µg/L	100 % (LOQ = 0,25 µg/L)
		MoBa [15]	Norvège n = 110 femmes enceintes	14,50 µg/L	(LOQ = 0,5-2 µg/L)
		Nhanes[16]	USA n = 2605 adultes	14,50 µg/L	(LOQ = 0,5 µg/L)
		Casas [23]	Espagne n = 118 femmes enceintes et enfants	15,7 µg/L 44,6 µg/L	100 % (LOQ = 0,7 µg/L)
	5OH-MEHP	GerES IV[22]	Allemagne n = 599 enfants	Med = 47,9 µg/L	100 % (LOQ = 0,25 µg/L)
		MoBa [15]	Norvège n = 110 femmes enceintes	15,52 µg/L	(LOQ = 0,5-2 µg/L)
		Nhanes[16]	USA n = 2605 adultes	21,7 µg/L	(LOQ = 0,3 µg/L)
		Casas [23]	Espagne n = 118 femmes enceintes et enfants	17,3 µg/L 57,4 µg/L	100 % (LOQ = 0,7 µg/L)
	5cx-MEPP	GerES IV[22]	Allemagne n = 599 enfants	Med = 62,5 µg/L	100 % (LOQ = 0,25 µg/L)
	2cx-MEPP	GerES IV[22]	Allemagne n = 599 enfants	Med = 20,8 µg/L	100 % (LOQ = 0,25 µg/L)

4.2.3. Limites de détection et de quantification et techniques analytiques

Au total, 279 sujets ont eu un dosage de phtalates. Un tube de 10 mL d'urine par sujet était disponible pour l'analyse de tous les composés. Les dosages ont été effectués par deux laboratoires, les échantillons ayant été répartis aléatoirement entre l'Inéris (140 dosages réalisés en janvier 2010) et le laboratoire de l'université d'Erlangen en Allemagne (139 dosages réalisés en décembre 2009). Les métabolites analysés par les deux laboratoires (n = 279) comprenaient : le MEHP, le 5OH-MEHP et le 5oxo-MEHP (métabolites du DEHP), le MnBP (métabolite du DnBP) et le MiBP (métabolite du DiBP). Deux métabolites supplémentaires, le 5cx-MEPP et le 2cx-MEPP (autres métabolites du DEHP) ont été dosés sur les 139 sujets analysés en Allemagne.

Les analyses ont été réalisées à l'aide d'un couplage SPE-LC/MS/MS ; le système d'extraction sur phase solide (SPE) étant installé en ligne. La préparation des échantillons, après décongélation de ceux-ci pendant la nuit, a démarré par la déglucuronidation de 1 mL d'urine à l'aide de l'enzyme β -glucuronidase à 37 °C. Les échantillons ont ensuite été centrifugés à 3500 g pendant 15 minutes. Le surnageant a été récupéré puis analysé. Les protocoles utilisés par le laboratoire de l'Inéris et par le laboratoire prestataire allemand étaient identiques. Les limites de quantification pour les composés analysés étaient de 0,5 μ g/L.

4.2.4. Résultats des analyses

La totalité des femmes pour lesquelles des échantillons ont été analysés présentaient des niveaux urinaires de phtalates détectables, ce taux ayant également pu être quantifié chez la quasi-totalité d'entre elles (à l'exception du MEHP, dont 90,7 % des valeurs étaient quantifiées, contre 99,6 à 100 % pour les autres métabolites).

Les concentrations des différents métabolites de phtalates dosés sont présentées dans le tableau 10. Parmi les différents métabolites mesurés dans les urines, le 5-OH-MEHP, le MiBP et le 5cx-MEPP étaient les plus importants en concentration.

I Tableau 10 I

Distribution des métabolites urinaires des phtalates (μ g/L) dans l'échantillon – Elfe pilote 2007

	%>LOQ	n	MG	IC _{95%} MG	Percentiles					
					10	25	50	75	90	95
MEHP	90,7 %	279	12,9	[10,4 ; 16,2]	1,4	4,4	13,7	51,3	122,0	256,5
5-OH-MEHP	99,7 %	279	51,5	[42,6 ; 62,3]	7,3	15,3	41,9	222,8	488,6	635,1
5-oxo-MEHP	99,7 %	279	38,2	[32,0 ; 45,7]	5,6	12,4	28,3	147,0	304,5	435,5
MnBP	99,7 %	279	35,8	[30,2 ; 41,3]	10,6	17,0	35,7	65,4	148,2	197,1
MiBP	99,7 %	279	55,5	[50,5 ; 60,5]	17,0	29,6	53,7	98,5	186,7	273,4
5cx-MEPP	100 %	139	57,0	[48,5 ; 65,4]	8,9	19,1	42,9	204,2	440,2	510,7
2cx-MEPP	100 %	139	13,6	[7,1 ; 20,1]	2,7	6,0	11,8	33,5	59,9	122,1

Les données présentées dans ce tableau montrent une forte variabilité dans les mesures de concentrations en métabolites. On observe la présence de valeurs élevées en proportion relativement importante (« queues de distributions »), ce qui pourrait être dû à des contaminations récentes, comme vu précédemment pour le BPA.

Afin d'expliquer ces valeurs élevées, des analyses complémentaires ont été réalisées par type d'accouchement, pour les métabolites du DEHP, sur la totalité des 279 sujets (tableau 11), afin d'étayer l'hypothèse d'une contamination récente par le matériel médical (perfusion, poches urinaires).

I Tableau 11 I

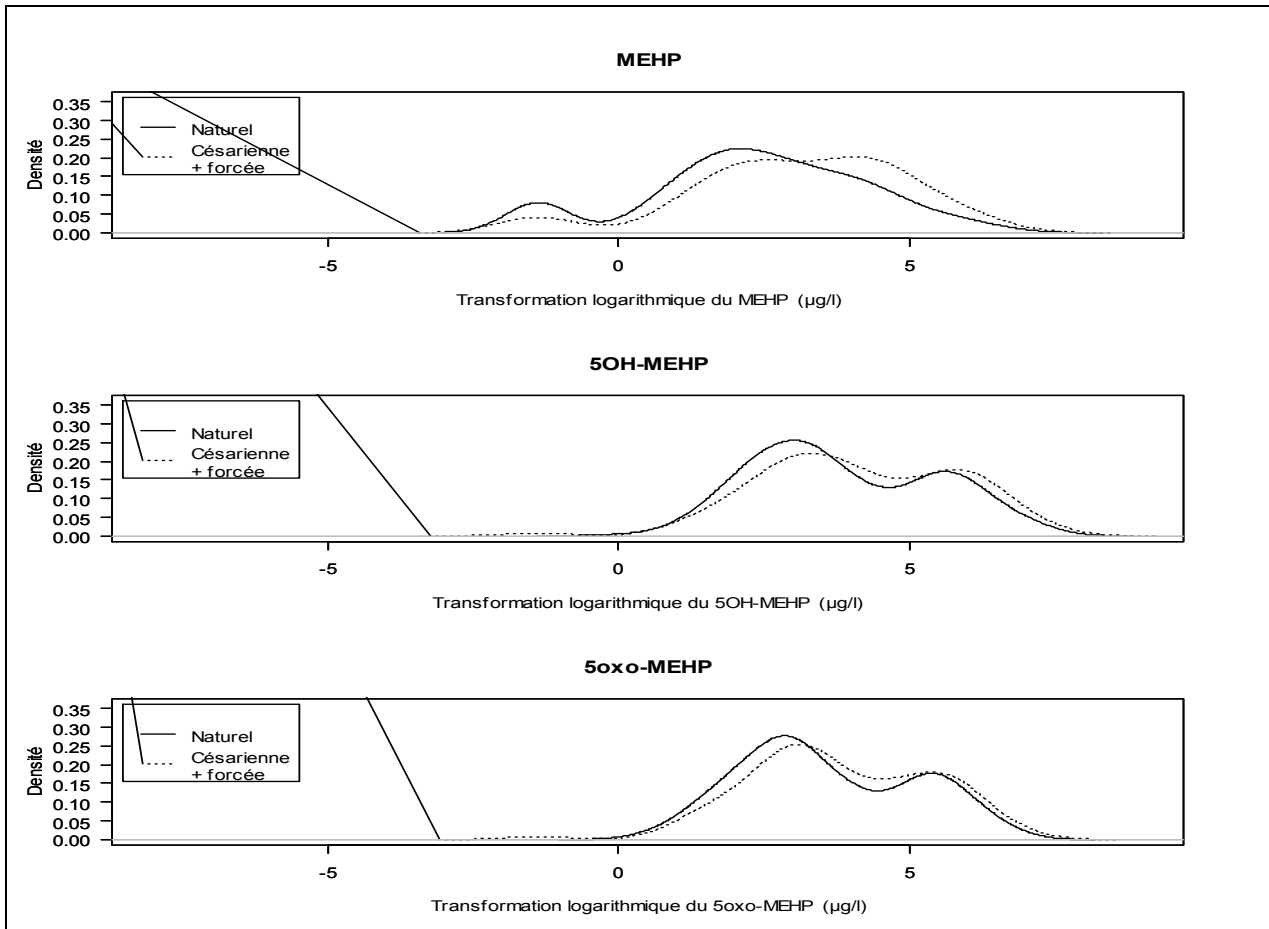
Distribution des métabolites urinaires du DEHP (μ g/L) dans l'échantillon, selon le type d'accouchement – Elfe pilote 2007

	n	MG	IC _{95%} MG	Percentiles								
				10	25	50	75	90	95			
MEHP												
Accouchement naturel	179	10,4	[7,8 ; 13,7]	0,3	3,7	10,2	37,7	101,1	181,4			
Césarienne ou forceps	86	21,1	[14,3 ; 31,1]	2,8	6,9	22,9	83,6	165,9	290,2			
5-OH-MEHP												
Accouchement naturel	179	48,2	[38,3 ; 60,8]	7,3	13,8	32,3	210,7	417,7	580,9			
Césarienne ou forceps	86	61,3	[43,0 ; 87,4]	9,6	18,2	50,7	299,6	507,0	593,6			
5-oxo-MEHP												
Accouchement naturel	179	36,0	[28,9 ; 44,8]	5,9	12,0	23,7	142,1	294,6	416,6			
Césarienne ou forceps	86	44,2	[31,8 ; 61,5]	6,8	15,3	34,0	168,9	310,9	438,9			

Les teneurs en métabolites du MEHP étaient plus importantes pour les accouchements par césariennes ou forceps que pour les accouchements par voie basse et la différence était statistiquement significative pour le MEHP ($p = 0,002$). Ces résultats sont illustrés dans la figure 3 ci-dessous.

Figure 3

Distribution de la concentration urinaire des métabolites du DEHP, en fonction du type d'accouchement dans l'étude pilote Elfe (échelle logarithmique)



4.3. La cotinine

4.3.1. Identification

I Tableau 12 I

Liste des biomarqueurs analysés pour la cotinine

Substance	Formule chimique	Numéro CAS
Cotinine	C ₁₀ H ₁₂ N ₂ O	486-56-6

4.3.2. Problématique

L'intoxication tabagique peut être évaluée par la mesure de marqueurs dans les milieux biologiques [24]. Ces marqueurs diffèrent par leur spécificité et leur sensibilité dans la distinction fumeur/non-fumeur. Il est important de distinguer les marqueurs spécifiques du tabac (nicotine, cotinine) des marqueurs non spécifiques pouvant avoir d'autres origines que la fumée de cigarette (CO, cadmium, HbCO, thiocyanates, etc.). La cotinine ou (5S) 1-méthyl-5-(3-pyridinyl)-2-pyrrolidinone, de formule brute C₁₀H₁₂N₂O, est caractérisée par une masse molaire M = 176,22g/mol, et se présente à l'état pur sous forme d'une solution huileuse. Le dosage de la cotinine libre urinaire est en relation directe avec l'imprégnation nicotinique à moyen terme chez le fumeur [25]. La demi-vie de la nicotine est brève : 2 à 3 heures en moyenne. La demi-vie de la cotinine (son métabolite principal) est plus longue, de 15 à 40 heures. Les taux de cotinine sont en moyenne 15 fois plus élevés que ceux de la nicotine pendant le tabagisme régulier ou la substitution nicotinique.

Le tableau 13 présente les niveaux de cotinine urinaire attendus en fonction du statut tabagique.

I Tableau 13 I

Niveaux de cotinine urinaire attendus en population générale

Population	Niveau
Non-fumeur non-exposé (NFNE)	< 6 µg/L
Non-fumeur exposé (NFE)	6 à 50 µg/L
Petit fumeur (PF)	50 à 150 µg/L
Fumeur (F)	150 à 600 µg/L
Gros fumeur (GF)	600 à 5 000 µg/L

4.3.3. Limites de détection et de quantification et techniques analytiques

Un tube de 10 mL d'urines par sujet était disponible pour le dosage de la cotinine. La limite de détection (LOD) était de 0,026 µg/L et la limite de quantification (LOQ) de 0,07 µg/L.

Les analyses ont été réalisées à la suite d'une extraction en phase liquide-solide sur cartouche Hysphere C18 HD, d'une élution à l'aide d'un mélange de solvants, par chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS).

4.3.4. Résultats des analyses

Au total, 210 échantillons d'urine ont été dosés. On notait un nombre important de censures (34 % < LOD et 6 % entre la LOD et la LOQ). La distribution des valeurs de cotinine urinaire dans l'échantillon est présentée dans le tableau 14.

I Tableau 14 I

Distribution de la cotinine urinaire ($\mu\text{g/L}$) dans l'échantillon – Elfe pilote 2007

	%>LOQ	n	MG	IC _{95%} MG	Percentiles					
					10	25	50	75	90	95
Cotinine	60 %	210	0,24	[0,14 ; 0,42]	0,001	0,011	0,26	3,21	28,7	466,9

La répartition des 210 sujets de l'échantillon en fonction du statut tabagique, inféré aux niveaux de cotinine, ainsi que la distribution des concentrations de cotinine dans ces différents groupes sont présentées dans le tableau 15

I Tableau 15 I

Distribution de la cotinine urinaire ($\mu\text{g/L}$) dans l'échantillon – Elfe pilote 2007 en fonction du statut tabagique attendu au vu des dosages

Niveau de cotinine et statut tabagique associé*	N	MG	IC _{95%} MG	Percentiles					
				10	25	50	75	90	95
NFNE	171	0,056	[0,035 ; 0,090]	0,0009	0,006	0,083	0,76	2,50	4,59
NFE	11	17,041	[11,63 ; 26,07]	6,66	10,53	16,93	25,92	45,11	49,52
PF	5	ND (effectif insuffisant)							
F	17	344,47	[256,72 ; 462,20]	93,17	284,69	385,56	505,84	789,10	1157,97
GF	6	ND (effectif insuffisant)							

*Non-fumeur non-exposé (NFNE), Non-fumeur exposé (NFE), Petit fumeur (PF), Fumeur (F), Gros fumeur (GF)

Lorsque l'on compare ces dosages à la consommation tabagique déclarée par les femmes dans le questionnaire administré à la maternité, on note que :

- parmi les 171 femmes considérées d'après leur niveau de cotinine urinaire comme « non fumeuse, non exposée à la fumée », 31 se déclaraient fumeuses avant la grossesse (25 déclarant avoir arrêté pendant la grossesse, 4 avoir continué à fumer et 2 n'ayant pas répondu au statut tabagique pendant la grossesse) ;

- parmi les 11 femmes considérées d'après leur niveau de cotinine urinaire comme « non fumeuse, exposée à la fumée », 6 se déclaraient fumeuses avant la grossesse (5 déclarant avoir continué à fumer pendant la grossesse et une déclarant avoir arrêté pendant la grossesse) ;

- parmi les 5 femmes considérées d'après leur niveau de cotinine urinaire comme « petite fumeuse », 4 se déclaraient fumeuses avant la grossesse (2 déclarant avoir arrêté pendant la grossesse et 2 avoir continué à fumer) ;

- parmi les 17 femmes considérées d'après leur niveau de cotinine urinaire comme « fumeuse », 15 se déclaraient fumeuses avant la grossesse (2 déclarant avoir arrêté pendant la grossesse et 13 avoir continué à fumer) ;

- enfin, parmi les 6 femmes considérées d'après leur niveau de cotinine urinaire comme « grosse fumeuse », 5 se déclaraient fumeuses avant la grossesse et les 5 déclaraient avoir continué à fumer pendant la grossesse.

À l'inverse, lorsqu'on compare les déclarations des femmes dans le questionnaire en maternité avec les dosages, on note que :

- 61 femmes se déclaraient fumeuses avant la grossesse. Parmi elles :

- 29 déclaraient avoir arrêté de fumer pendant la grossesse. Cependant 2 d'entre elles présentaient des dosages correspondant à « petite fumeuse » et 2 à « fumeuse » ;

- 28 déclaraient avoir continué à fumer pendant la grossesse. Cependant, 9 d'entre elles avaient des dosages correspondant à des « non fumeuses ».

- 126 se déclaraient non fumeuses avant la grossesse. Cependant 4 d'entre elles avaient des dosages correspondant soit à « petite fumeuse » (n = 1), « fumeuse » (n = 2), voire « grosse fumeuses » (n = 1).

4.4. Les organoétains

4.4.1. Identification

Tableau 16

Liste des biomarqueurs analysés pour les organoétains

Composés	Numéro CAS
Monobutylétain (MBT)	78763-54-9
Dibutylétain (DBT)	1002-53-5
Tributylétain (TBT)	688-73-3
Monophénylétain (MPHT)	1124-19-2
Diphénylétain (DPHT)	1135-99-5
Triphénylétain (TPHT)	5424-25-9
Monooctylétain (MOT)	15231-44-4
Dioctylétain (DOT)	3091-25-6
Trioctylétain (TOT)	869-59-0

4.4.2. Problématique

Les composés organoétains (organotin compounds, OTCs en anglais) constituent une classe importante de composés avec des propriétés très variées et sont utilisés pour de multiples usages.

Ils sont employés largement comme stabilisateurs du PVC face à la chaleur ou la lumière. On les retrouve dans les conduites d'eau en PVC, les matériaux d'emballage de nourriture en PVC (par exemple dioctylétain), les enduits en verre (par exemple trichlorure de butylétain), la mousse de polyuréthane et beaucoup d'autres produits de consommation.

Les étains tri-substitués (tributylétain (TBT) et triphénylétain (TPHT)) ont un large éventail d'utilisation, notamment pour leur activité biocide sur les organismes aquatiques, tels que les bactéries, champignons, algues, mollusques et crustacés. La concentration en organoétains dans plusieurs médias sources potentiels est rapportée régulièrement mais les données sur l'exposition humaine sont très limitées.

Une évaluation des risques réalisée par l'Union européenne [26] a identifié les enfants comme groupe d'intérêt particulier pour les organoétains, parce que les estimations réalisées suggèrent une surexposition potentielle pour une partie significative d'enfants européens. On retrouve des organoétains notamment dans des couches et divers textiles. Le modèle d'exposition des enfants peut être différent en raison d'un contact plus intensif avec des jouets, de la poussière et du plastique.

Peu de valeurs mesurées en population générale sont disponibles dans la littérature. Pour l'étain total, les concentrations urinaires sont généralement inférieures à 5 µg/L. Toutefois, dans une ancienne publication [27], une concentration moyenne jusqu'à 6,3 µg/L dans l'urine (équivalent à 5,0 µg/g de créatinine) est mentionnée en population générale. Les études sur les espèces chimiques au niveau biologique sont rares. Dans son étude, Zachariadis [28] ne détecte que rarement les organoétains, avec des valeurs moyennes pour le MBT, le DBT et le TBT respectivement de 25, 34 et 49 ng/L. Dans une population finlandaise, Rantakokko *et al* [29] rapportent des concentrations d'organoétains dans le sang généralement faibles et décrivent des variations de ces concentrations avec l'âge, le sexe et la consommation de poisson.

4.4.3. Limites de détection et de quantification et techniques analytiques

Un tube de 10 mL d'urines était disponible pour le dosage des organoétains. Les dosages ont été réalisés par couplage d'un chromatographe en phase gazeuse et d'un spectromètre de masse à plasma induit (GC-ICP-MS) suite à une extraction liquide-liquide et à une éthylation. La limite de détection de la méthode analytique était de 12 ng/L et la limite de quantification de l'ordre de 20 ng/L, variant de 5 à 24 ng/L selon les composés. Les limites de quantification (LOQ) des composés sont résumées dans le tableau 17.

I Tableau 17 I

Limites de quantification des organoétains

Substance	LOD (ng/L)	LOQ (ng/L)
MBT	6	20
DBT	8	25
TBT	2	5
MOcT	5	5
DOcT	5	24
TOcT	5	10
MPhT	2	15
DPhT	7	15
TPhT	3	15

4.4.4. Résultats des analyses

Parmi les 277 échantillons d'urine prévus pour le dosage des 9 composés stanniques, 273 dosages ont effectivement pu être réalisés (4 tubes s'étant brisés).

I Tableau 18 I

Fréquences de détection et de quantification des organoétains dans l'urine – Elfe pilote 2007

Composés	MBT	DBT	TBT	MPhT	DPhT	TPhT	MOcT	DOcT	TOcT
Nombre < LOD	88	159	246	151	197	236	146	188	196
LOD < Nombre < LOQ	120	102	27	113	68	35	61	77	77
Nombre > LOQ	65	12	0	9	8	2	66	8	0
% quantification	24	4	0	3	3	0,7	24	3	0

Les distributions des niveaux urinaires de ces composés étant très largement censurés (>75 %), aucune analyse statistique supplémentaire n'a donc été réalisée.

4.5. Les pesticides

4.5.1. Identification

Tableau 19

Liste des biomarqueurs analysés pour les pesticides

Biomarqueur	Formule chimique	Numéro CAS
Pyréthri-noïdes		
Acide 3-phénoxybenzoïque (3-BPA)	C ₁₃ H ₁₀ O ₃	3739-38-6
Acide 4-fluoro-3-phénoxybenzoïque (F-BPA)	C ₁₃ H ₉ O ₃ F	77279-89-1
Acide cis-3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-diméthylcyclopropane-carboxylique (Br2CA)	C ₈ H ₁₀ Br ₂ O ₂	63597-73-9
Acide cis- 3-(2,2 dichlorovinyl)-2,2-diméthylcyclopropane-carboxylique (cis-Cl2CA)	C ₈ H ₁₀ Cl ₂ O ₂	55701-05-8
Acide trans-3-(2,2 dichlorovinyl)-2,2-diméthylcyclopropane-carboxylique (trans-Cl2CA)	C ₈ H ₁₀ Cl ₂ O ₂	55701-03-6
Herbicides		
Atrazine	C ₈ H ₁₄ ClN ₅	1912-24-9
Atrazine mercapturate		---
Deséthyl atrazine		---
Desisopropyl atrazine		---
Deséthyl-desisopropyl atrazine		---
Hydroxy-atrazine		---
Hydroxy-deséthyl atrazine		---
Hydroxy-desisopropyl atrazine		---
Hydroxy-deséthyl-desisopropyl atrazine		---
Glyphosate	C ₃ H ₈ NO ₅ P	1071-83-6
AMPA (acide aminométhylphosphonique)	CH ₆ NO ₃ P	1066-51-9
Carbamate		
Propoxur	C ₁₁ H ₁₅ NO ₃	114-26-1
2-isopropoxyphénol	C ₉ H ₁₂ O ₂	4812-20-8

4.5.2. Problématique

Dans le cadre du pilote, les biomarqueurs de 3 substances actives pesticides (atrazine, glyphosate, propoxur) et de la famille des pyréthri-noïdes ont été dosés dans les urines.

La France est aujourd'hui le quatrième utilisateur mondial de pesticides à usage agricole. Les pesticides sont également très utilisés en milieu urbain (entretien des voies de chemin de fer, des aéroports, des voiries, et des espaces verts communaux). La population générale emploie également des pesticides à des fins domestiques pour la lutte contre les insectes (logement, animaux, traitements antipoux), le traitement des bois ou des végétaux (à l'intérieur du logement ou dans le jardin). Si l'alimentation représente la source principale d'exposition, d'autres sources, via l'inhalation d'air extérieur et intérieur, le contact avec des sols, pelouses, tapis ou des poussières contaminées à l'intérieur des habitats, sont encore insuffisamment documentées, particulièrement pour les jeunes enfants.

L'atrazine est un herbicide organoazoté interdit d'utilisation agricole depuis 2003. La persistance et le temps de demi-vie importants de ce composé ou de ses métabolites font que malgré une diminution progressive de leur présence dans les milieux en contact avec l'homme, on les retrouve toujours à l'heure actuelle dans notre environnement, principalement dans les eaux de distribution où ils peuvent encore dépasser les limites réglementaires de qualité

Le glyphosate (métabolite : AMPA) est un désherbant, deuxième substance active la plus utilisée en France, à la fois en agriculture (fruits, légumes, grandes cultures, vigne) mais également pour des usages non agricoles (entretien des espaces verts et des bordures de voiries notamment). C'est le composant actif des produits Roundup®. Il est retrouvé fréquemment dans les eaux mises en distribution, pour lequel il est le principal pesticide à l'origine du déclassement de la qualité des eaux.

Le propoxur (métabolite : 2-isopropoxyphénol) est un insecticide de la famille des carbamates, utilisé notamment comme antiparasitaire pour les animaux domestiques (colliers antipuces). Il est également l'une des principales substances actives des produits commerciaux Baygon®, employés pour lutter contre les insectes, volants ou rampants. Il n'a pas d'autorisation pour un usage agricole. Sa présence a déjà été détectée dans des études de biosurveillance réalisées en France. Il est l'un des pesticides les plus retrouvés dans l'air intérieur.

La famille des pyréthrinoïdes comprend de nombreuses substances (Cyfluthrine, Cyperméthrine, Deltaméthrine, Fenvalérate, Permethrine, etc.), parmi les plus utilisées aujourd'hui. Moins rémanents et moins toxiques pour les mammifères, ils ont en effet peu à peu remplacé les insecticides organochlorés depuis les années 1970. Les pyréthrinoïdes sont utilisés au niveau agricole (grandes cultures, vigne, fruits et légumes, antiparasitaires pour animaux d'élevage, horticulture, entrepôts, serres), dans le domaine forestier, les bâtiments publics (hôpitaux, commerces), au niveau domestique (logements, jardins, antiparasitaires pour animaux domestiques), et pour la protection des textiles (tapis, cuir) ou du bois. Ce sont des insecticides à spectre très large, utilisés contre une très grande variété d'insectes volants, rampants, acariens, puces, tiques, poux, gale, pucerons, cochenille, etc. Du fait de leur dégradation rapide (généralement quelques jours), les pyréthrinoïdes sont généralement présents à l'état de traces dans l'air, l'eau, et le sol. L'exposition à ces substances dans la population générale provient surtout de la voie alimentaire, et lors de leur utilisation domestique.

Bien que les résultats soient encore controversés, l'exposition à ces pesticides a été évoquée dans l'étiologie de certaines pathologies (cancers, effets neurotoxiques, affections respiratoires, effets sur la fertilité et la reproduction) [30,31].

Le tableau 20 présente les niveaux de pesticides attendus en population générale, d'après plusieurs études publiées en France.

I Tableau 20 I

Niveaux de pesticides attendus en population générale

Biomarqueur	Étude	Population	Moyenne géométrique	%(>LOQ)
Pyréthroïdes				
3-PBA	ENNS [32]	France (n = 396 adultes)	0,72 µg/g cr	98,5 % (LOQ = 0,1 µg/L)
F-BPA	ENNS [32]	France (n = 396 adultes)	Non calculée	29,8 % (LOQ = 0,1 µg/L)
Br ₂ CA	ENNS [32]	France (n = 396 adultes)	0,36 µg/g cr	83,1 % (LOQ = 0,1 µg/L)
cis-Cl ₂ CA	ENNS [32]	France (n = 396 adultes)	0,16 µg/g cr	56,1 % (LOQ = 0,1 µg/L)
trans-Cl ₂ CA	ENNS [32]	France (n = 396 adultes)	0,38 µg/g cr	86,1 % (LOQ = 0,1 µg/L)
3-PBA	Nhanes [16]	USA (n = 1345 femmes)	0,38 µg/g cr	(LOD = 0,1 µg/L)
F-BPA	Nhanes [16]	USA (n = 1345 femmes)	Non calculée*	(LOD = 0,2 µg/L)
Br ₂ CA	Nhanes [16]	USA (n = 1345 femmes)	Non calculée*	(LOD = 0,1 µg/L)
cis-Cl ₂ CA	Nhanes [16]	USA (n = 1345 femmes)	Non calculée*	(LOD = 0,1 µg/L)
trans-Cl ₂ CA	Nhanes [16]	USA (n = 1340 femmes)	Non calculée*	(LOD = 0,4 µg/L)
3-PBA	ECMS [13]	Canada (n = 2799 femmes)	0,36 µg/g cr	99,22 % (LOD = 0,01 µg/L)
F-BPA	ECMS [13]	Canada (n = 2690 femmes)	Non calculée*	41,71 % (LOD = 0,008 µg/L)
Br ₂ CA	ECMS [13]	Canada (n = 2584 femmes)	Non calculée*	48,98 % (LOD = 0,006 µg/L)
cis-Cl ₂ CA	ECMS [13]	Canada (n = 2790 femmes)	0,12 µg/g cr	98,25 % (LOD = 0,007 µg/L)
trans-Cl ₂ CA	ECMS [13]	Canada (n = 2802 femmes)	0,28 µg/g cr	99,50 % (LOD = 0,01 µg/L)
Herbicides				
Atrazine	Pélagie [33,34]	France (n = 546)	0,007 µg/g cr	1,65 % (LOQ = 0,05 µg/L)
Atrazine mercapturate	Pélagie [33,34]	France (n = 546)	0,004 µg/g cr	4,03 % (LOQ = 0,02 µg/L)
Atrazine deséthyl	Nhanes [16]	USA (n = 1314 femmes)	Non calculée	(LOD = 0,3 µg/L)
Atrazine-2-hydroxy	Pélagie [33,34]	France (n = 546)	Non calculée	10,62 % (LOQ = 0,003 µg/L)
Atrazine desethyl-2-hydroxy	Pélagie [33,34]	France (n = 546)	Non calculée	4,4 % (LOQ = 0,90 µg/L)
Atrazine desisopropyl-2-hydroxy	Pélagie [33,34]	France (n = 546)	Non calculée	7,14 % (LOQ = 0,50 µg/L)
Atrazine desethyldeisopropyl	Pélagie [33,34]	France (n = 546)	Non calculée	10,26 % (LOQ = 0,02 µg/L)
Atrazine desethyldeisopropyl-2-hydroxy	Pélagie [33,34]	France (n = 546)	Non calculée	4,95 % (LOQ = 0,315 µg/L)
Atrazine desisopropyl	Pélagie [33,34]	France (n = 546)	Non calculée	16,12 % (LOQ = 0,15 µg/L)
Atrazine	Pélagie [33,34]	France (n = 546)	Non calculée	14,1 % (LOQ = 0,25 µg/L)
Glyphosate	Pélagie [33,34]	France (n = 47 utilisatrices d'herbicides)	0,20 µg/L	43 % (LOQ = 0,05 µg/L)
AMPA	Pélagie [33,34]	France (n = 47 utilisatrices d'herbicides)	0,31 µg/L	36 % (LOQ = 0,05 µg/L)
Carbamate				
Propoxur	Pélagie [33,34]	France (n = 546)	Non calculée	2,9 % (LOQ = 0,065 µg/L)
2-isopropoxyphénol	Pélagie [33,34]	France (n = 546)	Non calculée	10,3 % (LOQ = 0,08 µg/L)
2-isopropoxyphénol	Nhanes [16]	USA (n = 1324 femmes)	Non calculée	(LOQ = 0,4 µg/L)

*trop de valeurs censurées

4.5.3. Limites de détection et de quantification et techniques analytiques

Un tube de 10 mL d'urine était disponible pour le dosage des métabolites urinaires des pyréthrinoïdes et 2 tubes de 10 mL d'urine étaient disponibles pour le dosage de l'atrazine, du glyphosate et du propoxur. Les LOD et LOQ effectives pour les pesticides sont récapitulées dans le tableau 21.

I Tableau 21 I

Limites de détection et de quantification pour les biomarqueurs urinaires de pesticides

Biomarqueur	LOD (µg/L)	LOQ (µg/L)
Pyréthrinoïdes		
3-BPA	0,015	0,025
F-BPA	0,015	0,025
Br2CA	0,015	0,025
cis-Cl2CA	0,015	0,021
trans-Cl2CA	0,015	0,029
Herbicides		
Atrazine	0,01	0,05
Atrazine mercapturate	0,005	0,02
Deséthyl atrazine	0,001	0,003
Desisopropyl atrazine	0,25	0,90
Deséthyl - desisopropyl atrazine	0,14	0,50
Hydroxy - atrazine	0,005	0,02
Hydroxy - deséthyl atrazine	0,095	0,315
Hydroxy - desisopropyl atrazine	0,045	0,15
Hydroxy - deséthyl- desisopropyl atrazine	0,07	0,25
Glyphosate	0,02	0,05
AMPA	0,02	0,05
Carbamate		
Propoxur	0,02	0,065
2-isopropoxyphénol	0,02	0,08

Le dosage des pyréthrinoïdes a été réalisé par chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem (HPLC-MS/MS).

Le dosage de l'atrazine avec ses dérivés, ainsi que du propoxur et son métabolite (2-IPP) a été réalisé à la suite d'une extraction en phase solide-liquide en ligne sur cartouche Hysphere C 18 HD et d'une élution à l'aide d'un mélange de solvants. L'analyse a ensuite été réalisée par chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS).

Le dosage du glyphosate et de son métabolite, l'AMPA, a été réalisé à la suite d'une dérivation par le réactif FMOC-Cl et d'une purification sur une colonne SPE. L'analyse a ensuite été réalisée par chromatographie liquide haute performance couplée à un spectromètre de masse triple quadripôle.

4.5.4. Résultats des analyses

Les niveaux de pesticides observés dans la présente étude pilote figurent dans le tableau 22.

Tableau 22 |

Distribution des pesticides ($\mu\text{g/L}$) dans l'échantillon - Elfe pilote 2007

	%>LOQ	n	MG	IC _{95%} MG	Percentiles					
					10	25	50	75	90	95
Pyréthrinoïdes										
3 PBA	96,4 %	247	0,30	[0,25 ; 0,35]	0,06	0,14	0,32	0,65	1,55	2,56
4-FPBA	4,9 %	247	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Br ₂ CA	83,0 %	247	0,09	[0,08 ; 0,11]	0,02	0,04	0,11	0,24	0,45	0,76
cis-Cl ₂ CA	90,3 %	247	0,08	[0,07 ; 0,09]	0,02	0,04	0,08	0,15	0,31	0,45
trans-Cl ₂ CA	95,5 %	247	0,21	[0,18 ; 0,24]	0,04	0,08	0,19	0,48	1,08	1,91
Atrazine et métabolites										
Atrazine	23,1 %	238	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,34	1,10
Atrazine mercapturate	17,2 %	238	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,12	0,41
Atrazine deséthyl	23,1 %	238	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,28	0,59
Atrazine-2-hydroxy	15,1 %	238	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,07	0,35
Atrazine desethyl-2-hydroxy	12,6 %	238	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,54	1,16
Atrazine desisopropyl-2-hydroxy	10,5 %	238	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,38	0,93
Atrazine desethyldeisopropyl	1,3 %	238	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Atrazine desethyldeisopropyl-2-hydroxy	3,4 %	238	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Atrazine desisopropyl	2,9 %	238	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Glyphosate et métabolite										
Glyphosate en $\mu\text{g/L}$	0 %	238	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
AMPA	0 %	238	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Propoxur et métabolite										
Propoxur en $\mu\text{g/L}$	13,0 %	238	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,14	0,45
2-isopropoxyphenol	1,7%	238	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ

* Non calculé : la proportion des données censurées est trop élevée pour fournir un résultat valide

Concernant les **pyréthrinoïdes**, 3 échantillons n'ont pas été dosés pour cause de volume insuffisant. Au total, 247 échantillons ont donc été dosés. Les pourcentages de valeurs non détectées pour ces composés sont faibles, de l'ordre de 1 % pour le trans-Cl₂CA à 13 % pour le Br₂CA. Seul le 4-FPBA présente un pourcentage de valeurs censurées autour de 94 %. Les niveaux les plus élevés de métabolites de pyréthrinoïdes sont retrouvés pour le 3-BPA, suivis du trans-Cl₂CA et dans une moindre mesure du Br₂CA puis du cis-Cl₂CA.

Environ une femme sur 4 présente des niveaux détectables d'**atrazine** ou de ses métabolites, quatre métabolites (atrazine deséthyl, atrazine mercapturate et atrazine 2 hydroxy, atrazine desethyl-2-hydroxy) étant plus fréquemment détectés.

Le **glyphosate** et son métabolite, l'acide aminométhylphosphonique **AMPA**, n'étaient détectés dans aucun des échantillons dosés.

Le **propoxur** est détecté chez moins d'une femme sur 5 dans notre échantillon, et son métabolite chez seulement 3,4 % des sujets.

Pour l'analyse des différences régionales des niveaux de biomarqueurs des pesticides, 5 sujets ont été exclus de l'analyse car ils correspondaient à des femmes pour lesquelles nous n'avions pas les informations issues des questionnaires.

Le tableau 23 décrit les niveaux des différents biomarqueurs de l'imprégnation par les pesticides observés chez les femmes de l'étude pilote ayant accouché respectivement en Seine-Saint-Denis et en Rhône-Alpes.

I Tableau 23 I

Niveaux de pesticides observés en Seine-Saint-Denis et en Rhône-Alpes- Elfe pilote 2007

	Région	N	%>LOQ	MG	IC à 95%	P50	P75	P90	P95
Pyréthroïdes en µg/L									
3 PBA	Seine Saint Denis	73	94,5 %	0,37	[0,32 ; 0,43]	0,45	0,79	1,71	2,31
	Rhône-Alpes	169	97,0 %	0,27	[0,23 ; 0,32]	0,29	0,59	1,40	2,50
BR ₂ CA	Seine Saint Denis	73	79,5 %	0,10	[0,09 ; 0,12]	0,11	0,26	0,63	0,84
	Rhône-Alpes	169	84,6 %	0,10	[0,09 ; 0,11]	0,11	0,23	0,42	0,60
cis_Cl ₂ CA	Seine Saint Denis	73	89,0 %	0,07	[0,06 ; 0,08]	0,06	0,11	0,32	0,49
	Rhône-Alpes	169	90,5%	0,08	[0,07 ; 0,10]	0,08	0,18	0,31	0,50
trans_Cl ₂ CA	Seine Saint Denis	73	95,9%	0,19	[0,16 ; 0,22]	0,17	0,53	0,90	1,39
	Rhône-Alpes	169	95,3 %	0,21	[0,18 ; 0,25]	0,19	0,46	1,10	2,42
4-FPBA	Seine Saint Denis	73	4,1 %	*	*	<LOQ	<LOQ		<LOQ
	Rhône-Alpes	169	5,3 %	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,03
Atrazine et métabolites en µg/L									
Atrazine	Seine Saint Denis	75	13,3 %	*	*	<LOQ	<LOQ	0,32	1,17
	Rhône-Alpes	158	27,2 %	*	*	<LOQ	0,07	0,33	0,75
Atrazine deséthyl	Seine Saint Denis	75	20,0 %	*	*	<LOQ	<LOQ	0,45	0,78
	Rhône-Alpes	158	25,3 %	*	*	<LOQ	0,01	0,23	0,50
Atrazine desethyl-2-hydroxy	Seine Saint Denis	75	8,0 %	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,79
	Rhône-Alpes	158	15,2 %	*	*	<LOQ	<LOQ	0,62	1,37
Atrazine desethyl-desisopropyl	Seine Saint Denis	75	6,7 %	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,77
	Rhône-Alpes	158	1,3 %	*	*	<LOQ	<LOQ		
Atrazine desethyl-desisopropyl-2-hydroxy	Seine Saint Denis	75	10,7 %	*	*	<LOQ	<LOQ	0,09	1,03
	Rhône-Alpes	158	0,0 %	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Atrazine desisopropyl	Seine Saint Denis	75	0,0 %	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	Rhône-Alpes	158	1,9 %	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Atrazine desisopropyl-2-hydroxy	Seine Saint Denis	75	9,3 %	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,49
	Rhône-Alpes	158	11,4 %	*	*	<LOQ	<LOQ	0,42	1,94
Atrazine mercapturate	Seine Saint Denis	75	8,0 %	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,46
	Rhône-Alpes	158	22,2 %	*	*	<LOQ	<LOQ	0,18	0,41
Atrazine-2-hydroxy	Seine Saint Denis	75	16,0 %	*	*	<LOQ	<LOQ	0,13	0,27
	Rhône-Alpes	158	15,2 %	*	*	<LOQ	<LOQ	0,06	0,36
Propoxur et métabolite en µg/L									
Propoxur	Seine Saint Denis	75	9,3 %	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,53
	Rhône-Alpes	158	14,6 %	*	*	<LOQ	<LOQ	0,19	0,45
2-isopropoxyphenol	Seine Saint Denis	75	2,7 %	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
	Rhône-Alpes	158	0,6 %	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ

* Non calculé : la proportion des données censurées est trop élevée pour fournir un résultat valide

La fréquence de détection des biomarqueurs des pyrèthroïdes semble en moyenne plus élevée en Rhône-Alpes qu'en région parisienne, la répartition des différents métabolites étant comparable (prépondérance du 3-PBA, métabolite commun à de nombreux pyrèthroïdes).

L'atrazine, le propoxur et leurs métabolites semblent également globalement plus fréquemment détectés en Rhône-Alpes.

4.6. Les dioxines, furanes et PCB

4.6.1. Identification

Tableau 24

Liste des substances analysées pour les dioxines, furanes et PCB

Substance	Formule chimique	Numéro CAS
Polychlorodibenzo-<i>p</i>-dioxines		
2, 3, 7, 8 - tetraCDD	C ₁₂ H ₄ Cl ₄ O ₂	1746-01-6
1, 2, 3, 7, 8 - pentaCDD	C ₁₂ H ₃ Cl ₅ O ₂	40321-76-4
1, 2, 3, 4, 7, 8 - hexaCDD	C ₁₂ H ₂ Cl ₆ O ₂	39227-28-6
1, 2, 3, 6, 7, 8 - hexaCDD	C ₁₂ H ₂ Cl ₆ O ₂	57653-85-7
1, 2, 3, 7, 8, 9 - hexaCDD	C ₁₂ H ₂ Cl ₆ O ₂	19408-74-3
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8 - heptaCDD	C ₁₂ HCl ₇ O ₂	35822-46-9
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9 - octaCDD (OCDD)	C ₁₂ Cl ₈ O ₂	3268-87-9
Polychlorodibenzofuranes		
2, 3, 7, 8 - tetraCDF	C ₁₂ H ₄ Cl ₄ O	51207-31-9
1, 2, 3, 7, 8 - pentaCDF	C ₁₂ H ₃ Cl ₅ O	57117-41-6
2, 3, 4, 7, 8 - pentaCDF	C ₁₂ H ₃ Cl ₅ O	57117-31-4
1, 2, 3, 4, 7, 8 - hexaCDF	C ₁₂ H ₂ Cl ₆ O	70648-26-9
1, 2, 3, 6, 7, 8 - hexaCDF	C ₁₂ H ₂ Cl ₆ O	57117-44-9
1, 2, 3, 7, 8, 9 - hexaCDF	C ₁₂ H ₂ Cl ₆ O	72918-21-9
2, 3, 4, 6, 7, 8 - hexaCDF	C ₁₂ H ₂ Cl ₆ O	60851-34-5
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8 - heptaCDF	C ₁₂ HCl ₇ O	67562-39-4
1, 2, 3, 4, 7, 8, 9 - heptaCDF	C ₁₂ HCl ₇ O	55679-89-7
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9 - octaCDF (OCDF)	C ₁₂ Cl ₈ O	39001-02-0
PCB de type dioxine		
3,3',4,4' - tetraCB (PCB 77)	C ₁₂ H ₆ Cl ₄	32598-13-3
3,4,4',5 - tetraCB (PCB 81)	C ₁₂ H ₆ Cl ₄	70362-50-4
3,3',4,4',5 - pentaCB (PCB 126)	C ₁₂ H ₅ Cl ₅	57465-28-8
3,3',4,4',5,5' - hexaCB (PCB 169)	C ₁₂ H ₄ Cl ₆	32774-16-6
2,3,3',4,4' - pentaCB (PCB 105)	C ₁₂ H ₅ Cl ₅	32598-14-4
2,3,4,4',5 - pentaCB (PCB 114)	C ₁₂ H ₅ Cl ₅	74472-37-0
2,3',4,4',5 - pentaCB (PCB 118)	C ₁₂ H ₅ Cl ₅	31508-00-6
2,3',4,4',5' - pentaCB (PCB 123)	C ₁₂ H ₅ Cl ₅	65510-44-3
2,3,3',4,4',5 - hexaCB (PCB 156)	C ₁₂ H ₄ Cl ₆	38380-08-4
2,3,3',4,4',5' - hexaCB (PCB 157)	C ₁₂ H ₄ Cl ₆	69782-90-7
2,3',4,4',5,5' - hexaCB (PCB 167)	C ₁₂ H ₄ Cl ₆	52663-72-6
2,3,3',4,4',5,5' - heptaCB (PCB 189)	C ₁₂ H ₃ Cl ₇	39635-31-9
PCB indicateurs		
2,4,4'-triCB (PCB 28)	C ₁₂ H ₇ Cl ₃	7012-37-5
2,2,5,5-tetraCB (PCB 52)	C ₁₂ H ₆ Cl ₄	35693-99-3
2,2',4,5,5'-pentaCB (PCB 101)	C ₁₂ H ₅ Cl ₅	37680-73-2
2,2',3,4,4',5-hexaCB (PCB 138)	C ₁₂ H ₄ Cl ₆	35056-28-2
2,2',4,4',5,5'-hexaCB (PCB 153)	C ₁₂ H ₄ Cl ₆	35065-27-1
2,2',3,4,4',5,5'-heptaCB (PCB 180)	C ₁₂ H ₃ Cl ₇	35065-29-3

4.6.2. Problématique

Les Polluants organiques persistants (POPs) font l'objet d'une attention particulière des Nations Unies [35] car ils se bioaccumulent dans la chaîne alimentaire et posent un risque non négligeable en terme de santé publique. Au sein de cette famille de POPs, les polychlorodibenzo-*p*-dioxines (PCDDs), les polychlorodibenzofuranes (PCDFs) ainsi que les polychlorobiphényles (PCB) sont parmi les plus suivis en termes de santé environnementale car ils ont été identifiés comme hautement toxiques [36]. Les PCDDs/Fs sont des produits de sous-réaction lors de divers processus anthropogéniques de combustion ou de synthèse chimique, alors que les PCB ont été synthétisés de manière industrielle jusqu'à la fin des années 1970. L'étude des mécanismes de formation des PCDDs/Fs et la mise en place de normes d'émission sévères ont permis de réduire les émissions et d'observer une diminution de l'imprégnation chez l'homme de manière constante depuis la fin des années 1970 [37,38]. Il en est de même pour les PCB qui sont interdits

de production depuis la même époque. Cependant, la persistance et les temps de demi-vie importants de ces composés (en moyenne de 7 ans pour les PCB ; allant de 6 mois à plus de 23 ans selon les composés) font qu'on les retrouve toujours à l'heure actuelle dans notre environnement. De plus, certains « réservoirs » résultant de l'élimination incontrôlée de déchets contaminés persistent et présentent un risque sérieux de contamination.

Les PCB, de même que les dioxines et les furanes, sont des composés très lipophiles, faiblement éliminés par l'organisme et qui, par conséquent, s'accumulent et se stockent en particulier dans le foie et le tissu adipeux. Lors de l'allaitement, ils sont mobilisés et excrétés dans le lait maternel, essentiellement dans les graisses du lait. Ainsi, leurs teneurs dans le lait représentent qualitativement et quantitativement davantage le contenu des tissus adipeux de la mère que ce qui a été ingéré durant la lactation et traduisent donc surtout l'exposition passée [39,40].

En 1998-1999, une étude d'imprégnation aux dioxines dans le lait maternel a été réalisée en France [40]. Cette étude, coordonnée par l'InVS, visait à déterminer les teneurs en dioxines et furanes dans le lait maternel, dans 244 échantillons de lait provenant de mères primipares. Une teneur moyenne de 16,5 pg I-TEQ/g de lipide a été estimée. Cette étude a apporté les premiers résultats publiés en France et a constitué un premier repère. La moyenne des teneurs françaises se situait dans la moyenne européenne, en comparaison avec les résultats publiés par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) en 1993. Par contre, elle se situait dans la partie supérieure en comparaison avec les derniers résultats publiés par l'OMS en 2002. La tendance observée en Europe, mais également dans la plupart des pays industrialisés, montre une diminution des teneurs en dioxines au cours de ces 20 dernières années. Le niveau moyen européen se situait aux alentours de 10 pg OMS-TEQ/g de lipides en 2002 (données OMS 2002). Le tableau 25 synthétise les résultats d'études similaires publiées ces dernières années. Dans le volet national de l'étude Elfe, les PCDDs/Fs et PCB (de type dioxine ou non et PCB indicateurs) seront dosés dans le sérum maternel et non dans le lait, par soucis de comparabilité avec les résultats des autres études publiées en France et à l'étranger.

I Tableau 25 I

Niveaux de dioxines, furanes et PCB attendus en population générale

Étude	Matrice	Population	Composés	Niveau moyen
Frery (1999) [40]	Lait	France (n = 244)	17 PCDDs/Fs	16,5 pg-TEQ/g de lipides
Li <i>et al.</i> [41]	Lait	Chine (n = 1237)	17 PCDDs/Fs et 12 DL-PCB	5,42 pg-TEQ/ g de lipides
Abballe <i>et al.</i> (2008) [42]	Lait	Italie	17 PCDDs/Fs et 12 DL-PCB	28,15 pg-TEQ/ g de lipides
Todaka <i>et al.</i> (2008) [43]	Lait	Japon (n = 60)	17 PCDDs/Fs et 12 DL-PCB	12,3 pg-TEQ/ g de lipides
Hedley <i>et al.</i> (2006) [44]	Lait	Chine (n = 316)	17 PCDDs/Fs et 12 DL-PCB	12,9 pg-TEQ/ g de lipides
Focant <i>et al.</i> (2002) [45]	Lait	Belgique (n = 20)	17 PCDDs/Fs et 4 DL-PCB	70,2 pg-TEQ/ g de lipides
Schuhmacher <i>et al.</i> (2004) [46]	Lait	Espagne (n = 15)	17 PCDDs/Fs	9,05 pg-TEQ/ g de lipides
Glynn <i>et al.</i> [47]	Lait	Suede (n = 77)	17 PCDDs/Fs et 12 DL-PCB	18,2 pg-TEQ/ g de lipides
Calheiros <i>et al.</i> [48]	Lait	Portugal (n = 19)	17 PCDDs/Fs	12,4 pg-TEQ/ g de lipides
Furst et Papke [49]	Lait	Allemagne (n = 69)	17 PCDDs/Fs et 12 DL-PCB	28,6 pg-TEQ/ g de lipides
Uehara <i>et al.</i> (1997-2002) [50]	Lait	Japon (n = 839)	17 PCDDs/Fs et 12 DL-PCB	24,1 pg-TEQ/ g de lipides

4.6.3. Limites de détection et de quantification et techniques analytiques

Cinq tubes de 10 mL de lait mature étaient disponibles pour réaliser l'ensemble des analyses. Les limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) sont résumées dans le tableau 26.

Tableau 26 |

Limites de détection et de quantification pour les dioxines, furanes et PCB dans le lait

Substance	LOD (pg/g de graisse)	LOQ (pg/g de graisse)
2, 3, 7, 8 – TetraCDD	0,01	0,02
1, 2, 3, 7, 8 – PentaCDD	0,01	0,02
1, 2, 3, 4, 7, 8 – HexaCDD	0,01	0,02
1, 2, 3, 6, 7, 8 – HexaCDD	0,03	0,04
1, 2, 3, 7, 8, 9 – HexaCDD	0,02	0,03
1, 2, 3, 4, 6, 7, 8 – HeptaCDD	0,23	0,28
OctaCDD (OCDD)	0,75	0,93
Somme des PCDDs (TEQ)	0,03	0,05
2,3,7,8-TetraCDF	0,06	0,08
1,2,3,7,8-PentaCDF	0,01	0,02
2,3,4,7,8-PentaCDF	0,01	0,02
1,2,3,4,7,8-HexaCDF	0,03	0,04
1,2,3,6,7,8-HexaCDF	0,01	0,02
1,2,3,7,8,9-HexaCDF	0,01	0,02
2,3,4,6,7,8-HexaCDF	0,01	0,02
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDF	0,26	0,33
1,2,3,4,7,8,9-HeptaCDF	0,01	0,02
OctaCDF (OCDF)	0,18	0,21
Somme des PCDFs (TEQ)	0,02	0,03
PCB 77 (non-ortho)	45,76	56,32
PCB 81 (non-ortho)	2,04	2,35
PCB 126 (non-ortho)	1,39	1,75
PCB 169 (non-ortho)	0,18	0,23
PCB 105 (ortho)	458,7	581,1
PCB 114 (ortho)	40,57	53,42
PCB 118 (ortho)	1440,7	1829,6
PCB 123 (ortho)	25,29	32,54
PCB 156 (ortho)	40,46	51,90
PCB 157 (ortho)	5,21	6,84
PCB 167 (ortho)	20,02	26,67
PCB 189 (ortho)	1,11	1,33
Somme des DL-PCB (TEQ)	0,38	0,48
Somme totale PCDDs/FS + DL-PCB	0,40	0,51
PCB 28	2794	3761
PCB 52	9646	13041
PCB 101	4599	6278
PCB 138	699	976
PCB 153	885	1237
PCB 180	137	190

La méthode développée au CART pour le dosage des PCDDs/Fs et PCB pour le lait repose sur une étape d'extraction de la matière grasse par extraction liquide-liquide. Ensuite, la purification doit permettre l'élimination de la matière grasse ainsi que d'autres familles de contaminants susceptibles d'interférer avec la mesure des composés cibles. La chromatographie d'adsorption liquide-solide basée sur l'utilisation des réactifs comme la silice (acide, base, neutre), l'alumine et le charbon actif est utilisée dans ce cas-ci. Ces trois étapes successives de purification sont automatisées. Les extraits purifiés sont alors analysés par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse haute résolution (GC-HRMS). Les deux ions les plus intenses du massif moléculaire sont scrutés en mode SIM (Selected Ion Monitoring). La quantification est réalisée par la technique dite de dilution isotopique. Elle consiste en l'addition d'étalons internes marqués au ¹³C permettant une quantification précise et non ambiguë des analytes cibles. On utilise une solution standard contenant les 35 congénères toxiques marqués au ¹³C. Les performances obtenues permettent la recherche des analytes à des concentrations supérieures ou égales à environ 1 pg-TEQ/g de matière grasse pour la somme des PCDDs/Fs et des PCB de type dioxine.

Les résultats dans le lait sont exprimés par rapport à la matière grasse. Cette dernière est extraite à partir d'un volume minimal de 50 mL fortifié par les composés marqués au ^{13}C . On ajoute successivement à notre échantillon de l'ammoniaque (précipitation des protéines), de l'éthanol, de l'éther diéthylique et enfin de l'hexane. Après évaporation des solvants, la matière grasse extraite est déterminée par gravimétrie.

4.6.4. Résultats des analyses

Au total, les échantillons de 44 des 48 mères ayant effectué un recueil de lait mature à domicile (le taux de retour concernant les prélèvements de lait maternel à domicile ayant été très faibles et 4 des 48 échantillons n'ayant pas été recueillis dans des quantités suffisantes), ont été analysés.

Les femmes de ce sous-échantillon étaient âgées de 24 à 41 ans (âge médian : 32 ans) et 25 % (n = 11) étaient primipares, 25 % accouchaient de leur second enfant (n = 11) et 50 % de leur troisième ou plus (n = 22). Leur indice de masse corporelle en fin de grossesse s'étendait de 22 à 34 (médiane : 27), 77 % avaient un index <30 et 23 % >30.

La distribution brute des différents congénères de dioxines et PCB est présentée dans le tableau 27. La grande majorité des composés dosés a été détectée à plus de 90 %. Parmi les PCDDs, l'OCDD, et dans une moindre mesure la 1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDD et la 1,2,3,6,7,8-HexaCDD ont été retrouvés en plus fortes concentrations. Parmi les PCDFs, le 2,3,4,7,8-PentaCDF est le composé présentant les concentrations les plus élevées. Pour les PCB, le PCB₁₁₈ et dans une moindre mesure le PCB₁₅₆ ont les concentrations les plus élevées ; et parmi les PCB indicateurs, ce sont les PCB₁₅₃ et PCB₁₈₀ qui ont les concentrations les plus importantes.

I Tableau 27 I

Distribution des différents congénères de dioxines, furanes et PCB dans le lait maternel – Elfe pilote 2007

	%>LOQ	n	MG	IC _{95%} MG	Percentiles					
					10	25	50	75	90	95
Polychlorodibenzo-p-dioxines (en pg/g de graisse)										
2,3,7,8-TetraCDD	95,5 %	44	0,8	[0,54 ; 1,16]	0,53	0,82	1	1,29	1,64	2,01
1,2,3,7,8-PentaCDD	97,7 %	44	3,28	[2,31 ; 4,65]	2,12	3,17	3,73	4,49	7,16	8,26
1,2,3,4,7,8-HexaCDD*	100,0 %	44	1,53	[1,28 ; 1,81]	0,83	1,06	1,43	2,14	3,56	3,84
1,2,3,6,7,8-HexaCDD	100,0 %	44	11,8	[9,48 ; 14,71]	6,85	8,71	11,67	16,37	23,78	28,4
1,2,3,7,8,9-HexaCDD*	100,0 %	44	1,88	[1,56 ; 2,25]	1,04	1,41	1,69	2,65	3,7	5,28
1,2,3,4,6,7,8-HeptaCDD	100,0 %	44	12,08	[9,88 ; 14,79]	5,91	7,76	10,94	19,33	26,69	36,79
OctaCDD (OCDD)*	100,0 %	44	62,93	[52,86 ; 74,92]	32,73	44,65	58,74	95,6	158,07	161,19
Polychlorodibenzofuranes (en pg/g de graisse)										
2,3,7,8-tetraCDF*	97,7 %	44	0,47	[0,39 ; 0,58]	0,26	0,34	0,45	0,69	0,94	1,33
1,2,3,7,8-pentaCDF	90,9 %	44	0,23	[0,15 ; 0,35]	0,17	0,23	0,3	0,41	0,66	0,75
2,3,4,7,8-pentaCDF	100,0 %	44	8,71	[7,30 ; 10,40]	4,36	7,29	10,11	11,89	13,7	16,38
1,2,3,4,7,8-hexaCDF*	100,0 %	44	2,05	[1,74 ; 2,40]	1,11	1,67	2,02	2,86	3,62	3,95
1,2,3,6,7,8-hexaCDF*	100,0 %	44	2,32	[1,97 ; 2,72]	1,25	1,8	2,36	3,21	4,21	4,85
1,2,3,7,8,9-hexaCDF	43,2 %	44	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,36	0,44	0,51
2,3,4,6,7,8-hexaCDF*	100,0 %	44	1,02	[0,85 ; 1,22]	0,49	0,69	1,07	1,47	1,97	2,67
1,2,3,4,6,7,8-heptaCDF	93,2 %	44	1,53	[1,18 ; 1,99]	0,48	0,91	1,86	2,85	3,66	4,95
1,2,3,4,7,8,9-heptaCDF	6,8 %	44	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,043
OctaCDF (OCDF)	27,3 %	44	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,24	0,62	1,08
PCB de type dioxine (en ng/g de graisse)										
PCB ₇₇	22,7 %	44	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,12	0,18
PCB ₈₁	54,5 %	44	0,003	[0,002 ; 0,005]	0,001	0,002	0,003	0,01	0,02	0,02
PCB ₁₂₆	100,0 %	44	0,06	[0,05 ; 0,07]	0,03	0,04	0,06	0,07	0,11	0,16
PCB ₁₆₉	97,7 %	44	0,03	[0,02 ; 0,04]	0,02	0,02	0,03	0,04	0,05	0,07
PCB ₁₀₅	100,0 %	44	3,19	[2,63 ; 3,87]	1,47	2,15	3,45	4,56	6,96	8,05
PCB ₁₁₄	97,7 %	44	0,79	[0,65 ; 0,97]	0,46	0,65	0,80	1,26	1,66	2,08
PCB ₁₁₈	97,7 %	44	14,17	[11,74 ; 17,11]	6,38	10,89	14,21	20,51	28,37	39,46
PCB ₁₂₃	100,0 %	44	0,16	[0,14 ; 0,19]	0,08	0,12	0,17	0,23	0,35	0,43
PCB ₁₅₆	100,0 %	44	6,36	[5,24 ; 7,70]	3,41	4,88	7,11	9,34	11,94	13,77
PCB ₁₅₇	100,0 %	44	1,03	[0,86 ; 1,24]	0,55	0,81	1,11	1,45	1,88	2,56
PCB ₁₆₇	100,0 %	44	1,65	[1,36 ; 2,00]	0,68	1,31	1,78	2,53	3,19	3,33
PCB ₁₈₉	97,7 %	44	0,58	[0,40 ; 0,84]	0,35	0,48	0,69	1,03	1,23	1,49
PCB indicateurs (en ng/g de graisse)										
PCB ₂₈	100,0 %	44	5,65	[4,45 ; 71,59]	2,06	3,28	5,48	9,77	14,28	15,67
PCB ₅₂	93,2 %	44	8,37	[5,90 ; 11,86]	1,67	3,85	9,81	18,82	27,78	36,65
PCB ₁₀₁	100,0 %	44	4,74	[3,46 ; 6,50]	1,35	2,24	5,56	10,53	16,41	17,61
PCB ₁₃₈	100,0 %	44	34,61	[29,30 ; 40,89]	16,91	25,17	36,48	48,46	63,97	76,39
PCB ₁₅₃	100,0 %	44	72,04	[60,87 ; 85,27]	38,85	53,13	76,58	103,56	139,57	150,01
PCB ₁₈₀	100,0 %	44	40,86	[33,591 ; 49,71]	21,79	30,97	45,38	64,74	78,42	91,50

* Non calculé : la proportion des données censurées est trop élevée pour fournir un résultat valide

Le tableau 28 décrit les valeurs mesurées des PCDDs, des PCDFs et des PCB. Ces composés sont étudiés grâce à un indice (I-TEQ équivalent toxique international) qui résume en une seule valeur la contamination par le mélange des substances, pour chacune desquelles est appliqué un coefficient de toxicité (TEF) [36,51].

La teneur en graisse dans le lait maternel s'étendait de 6,0 à 46,7 g/L (avec une médiane de 25,1 g/L). La moyenne géométrique de la somme des 6 marqueurs de PCB NDL était de 176,3 pg/g lipides. Pour les sommes PCDDs/Fs et DL-PCB, elle était de 24,29 pg TEQ/g de lipides exprimée en WHO1998-TEQ et 17,81 pg TEQ/g de lipides exprimée en WHO2005-TEQ. Les PCDDs représentaient 78 % de la quantité totale de PCDDs/Fs en WHO2005-TEQ versus 50 % en WHO1998-TEQ.

I Tableau 28 I

Distribution des PCDDs, PCDFs et DL-PCB en pg TEQ/g lipids (TEQ 1998 et 2005) et de la somme des 6 marqueurs NDL-PCB en pg TEQ/g lipids – Elfe pilote 2007

Substance	n	MG	IC _{95%} MG	P10	P25	P50	P75	P90	P95
PCDDs ₉₈	44	6,23	[5,02 ; 7,73]	3,59	5,08	6,47	8,27	12,65	14,45
PCDFs ₉₈	44	5,05	[4,24 ; 6,03]	2,56	4,15	5,76	6,83	7,88	9,28
PCDDs/Fs ₉₈	44	11,36	[9,52 ; 13,55]	6,64	9,38	11,13	14,12	21,93	25,00
DL-PCB ₉₈	44	12,43	[10,62 ; 14,54]	6,42	9,83	13,30	16,97	21,33	31,07
Σ PCDDs/Fs + DL- PCB₉₈	44	24,29	[20,76 ; 28,41]	13,37	18,97	26,48	30,55	43,10	55,03
PCDDs ₂₀₀₅	44	6,23	[5,02; 7,73]	3,60	5,09	6,47	8,30	12,68	14,48
PCDFs ₂₀₀₅	44	3,29	[2,81 ; 3,85]	1,68	2,73	3,72	4,46	5,14	6,00
PCDDs/Fs ₂₀₀₅	44	9,58	[7,88 ; 11,66]	5,60	7,98	9,24	11,62	18,68	20,94
DL-PCB ₂₀₀₅	44	7,69	[6,57 ; 9,00]	3,77	5,84	8,31	9,50	13,21	20,63
Σ PCDDs/Fs + DL-PCB₂₀₀₅	44	17,81	[15,23 ; 20,84]	9,30	13,96	19,17	22,28	33,77	41,23
Σ NDL- PCB	44	176,31	[150,72 ; 206,24]	101,50	130,90	183,11	249,74	299,29	402,53

4.7. Les retardateurs de flamme bromés et contaminants perfluorés

4.7.1. Identification

I Tableau 29 I

Liste des substances à analyser pour les polybromodiphényléthers (PBDEs), les pentabromobiphenyls (PBBs) et l'hexabromocyclododécane (HBCD)

Substance	Formule chimique	Numéro CAS
Tri-BDE 28	C ₁₂ H ₇ Br ₃ O	49690-94-0
Tétra-BDE 47	C ₁₂ H ₆ Br ₄ O	40088-47-9
Penta-BDE 99	C ₁₂ H ₅ Br ₅ O	32534-81-9
Penta-BDE 100	C ₁₂ H ₅ Br ₅ O	32534-81-9
Hexa-BDE 153	C ₁₂ H ₄ Br ₆ O	36483-60-0
Hexa-BDE 154	C ₁₂ H ₄ Br ₆ O	36483-60-0
Hepta-BDE 183	C ₁₂ H ₃ Br ₇ O	68928-80-3
Deca-BDE 209	C ₁₂ Br ₁₀ O	1163-19-5
PBB 52	C ₁₂ H ₆ Br ₄	59080-37-4
PBB 101	C ₁₂ H ₅ Br ₅	67888-96-4
PBB 153	C ₁₂ H ₄ Br ₆	59080-40-9
HBCD, isomères $\alpha/\beta/\gamma$	C ₁₂ H ₁₈ Br ₆	25637-99-4

I Tableau 30 I

Liste des substances à analyser pour les contaminants perfluorés (acides perfluorocarboxyliques et perfluorosulfonates)

Substance	Formule chimique	Numéro CAS
Acides perfluorocarboxyliques		
PFBA (Acide perfluorobutanoïque)	CF ₃ (CF ₂) ₂ COOH	375-22-4
PFPA (Acide perfluoropentanoïque)	CF ₃ (CF ₂) ₃ COOH	376-72-7
PFHxA (Acide perfluorohexanoïque)	CF ₃ (CF ₂) ₄ COOH	307-24-4
PFHpA (Acide perfluoroheptanoïque)	CF ₃ (CF ₂) ₅ COOH	375-85-9
PFOA (Acide perfluorooctanoïque)	CF ₃ (CF ₂) ₆ COOH	335-67-1
PFNA (Acide perfluorononanoïque)	CF ₃ (CF ₂) ₇ COOH	375-95-1
PFDeA (Acide perfluorodécanoïque)	CF ₃ (CF ₂) ₈ COOH	335-76-2
PFUnA (Acide perfluoroundécanoïque)	CF ₃ (CF ₂) ₉ COOH	2058-94-8
PFDoA (Acide perfluorododécanoïque)	CF ₃ (CF ₂) ₁₀ COOH	307-55-1
Perfluorosulfonates		
PFBuS (perfluorobutanesulfonate de sodium)	C ₄ F ₉ SO ₃ Na	29420-49-3
PFHxS (perfluorohexanesulfonate de sodium)	C ₆ F ₁₃ SO ₃ Na	355-46-4
PFHpS (perfluoroheptanesulfonate de sodium)	C ₇ F ₁₅ SO ₃ Na	375-92-8
PFOS (perfluorooctanesulfonate de sodium)	C ₈ F ₁₇ SO ₃ Na	2795-39-3
PFDeS (perfluorodécanesulfonate de sodium)	C ₁₀ F ₂₁ SO ₃ Na	335-77-3

4.7.2. Problématique

L'utilisation de composés retardateurs de flamme (RF) dans la fabrication de certains matériaux combustibles permet de limiter leur inflammabilité. Les retardateurs de flamme bromés (RFB) sont une famille particulière de RF connus pour leur efficacité dans la protection des polymères synthétiques. Les polybromodiphényléthers (PBDE), l'hexabromocyclododécane (HBCD) et le tétrabromobisphénol-A (TBBPA) sont les principaux représentants des RFB. Parmi les PBDE, le penta-BDE a été le plus souvent utilisé dans la fabrication du polyuréthane composant des mousses de rembourrage à applications domestiques ou automobiles, mais également dans les tissus, les fluides hydrauliques ou des composants électroniques. L'octa-BDE a été utilisé à 95 % dans les polymères d'acrylonitrile butadiène styrène (ABS) avec le trioxyde d'antimoine, mais également dans d'autres matières plastiques, appareils électroménagers, divers équipements, ou des jouets. Le déca-BDE a été utilisé dans la fabrication du High Impact Polystyrene (HIPS), ou des appareils électroniques ou électriques tels que les télévisions.

Les RFB sont retrouvés en quantités relativement importantes dans l'air, à partir de diverses sources de pollution : industries utilisant ces composés, ou incendies les libérant de manière ponctuelle, mais aussi

lieux où se trouve un nombre élevé d'objets électroniques ou électriques. La voie alimentaire reste toutefois la voie d'exposition majeure pour l'homme à ces composés en population générale, notamment via les denrées d'origine animale présentant un taux de lipides important, favorisant la présence de ces contaminants lipophiles, et via le lait maternel, en particulier dans le cas des nourrissons. Leur toxicité est avérée ou fortement suspectée, notamment en termes de neurotoxicité, d'interaction avec le système thyroïdien et de perturbations métaboliques. Les composés penta et octa ont été bannis officiellement par l'Union européenne, respectivement en 2004 et 2008.

Les contaminants perfluorés (PerFluorinated Compound : PFC) sont considérés comme des polluants émergents qui suscitent un intérêt croissant de la part de la communauté scientifique internationale. Ces molécules, synthétisées par l'homme depuis plus d'un demi-siècle, sont présentes dans de nombreux produits commercialisés, notamment pour exploiter leurs propriétés antiadhésives et leur fonction de résistance thermique (utilisation comme isolant dans les installations électriques). Ce sont aussi des agents actifs présents dans les pesticides. La plupart de ces composés sont retrouvés dans l'environnement et tout au long de la chaîne alimentaire jusqu'à l'homme. Depuis quelques années, la communauté scientifique se préoccupe de leur rémanence et de leur impact sur l'environnement et la santé. Des études relativement complètes ont été publiées par des agences sanitaires et environnementales de nombreux pays (Canada, États-Unis, Royaume-Uni, Union européenne). Le constat qui est fait confirme que ces polluants sont bien persistants, bioaccumulables et largement répandus. Leurs effets sur la santé et l'environnement seraient aussi néfastes que d'autres polluants organiques persistants reconnus et répertoriés dans la convention de Stockholm (<http://chm.pops.int/>).

S'agissant de l'évaluation des taux d'imprégnation chez l'homme, diverses matrices biologiques peuvent être analysées afin de déterminer le degré d'exposition d'une population. Le sang (et plus particulièrement le sérum) ainsi que le lait maternel sont les fluides biologiques les plus couramment étudiés. Cependant, dans le cas des PBDE, le tissu adipeux et des organes (tels que le foie) sont également des matrices utilisées.

Les tableaux 31 et 32 présentent les niveaux de composés bromés et perfluorés retrouvés dans les populations de divers pays.

I Tableau 31 I

Niveaux de contaminants bromés observés en population générale, dans le lait maternel

Étude	Matrice	Population	Composés	Niveau
Schechter [52]	Lait	USA (n = 47)	13 PBDE	Moyenne : 73,9 ng/g de lipides
Lignell [38]	Lait	Suède (n = 276)	5 PBDE (47, 99, 100, 153, 154) HBCD	Moyenne 3,5 +/- 2,7 ng/g de lipides
Guvenius [53]	Lait	Suède	9 PBDE	Moyenne : 75,0 pg/g de lipides
Meironyte [54]	Lait	Suède	9 PBDE (17, 28, 47, 66, 85, 99, 100, 153, 154)	Moyenne : 4,2 pg/g de lipides
Inoue [55]	Lait	Chine (n = 27)	PBDE (28,47,99,100,153,154,183)	Étendue : 1,5 à 17 ng/g de lipides
Li [56]	Lait	Chine (n = 205)	6 PBDE (47, 99, 100, 153, 154, 183)	Moyenne : 1,12 ng/g de lipides
Kalantzi [57]	Lait	UK (n = 54)	15 PBDE	Moyenne : 6,6 ng/g de lipides
Inoue [55]	Lait	Japon (n = 89)	13 PBDE	Moyenne géo : 1,56 ng/g de lipides
Eslami [58]	Lait	Japon (n = 105)	6 PBDE (28, 47, 99, 100, 153, 154)	Moyenne géo : 1,34 ng/g de lipides
Jaraczewska [59]	Lait	Pologne (n = 22)	11 PBDE	Moyenne : 2,0 ng/g de lipides
Toms [60]	Lait	Australie (n = 157)	18 PBDE	Moyenne : 11,1 + 3,2 ng/g de lipides
Tsydenova [61]	Lait	Russie	14 PBDE	Étendue : 0,46-1,7 ng/g de lipides
Gomara [62]	Lait	Espagne	Total PBDE	Médiane : 6,1 ng/g de lipides
Raab [63]	Lait	Allemagne (n = 43)	19 PBDE	Moyenne : 2,03 ng/g de lipides

Plusieurs études ont été menées dans le cadre d'une évaluation de l'exposition de l'homme aux contaminants perfluorés dans différents pays. Le lait maternel constitue une source potentielle d'exposition du nourrisson à ces composés. En effet, ils se lient préférentiellement à l'albumine, protéine présente dans le lait et donc susceptible d'être transférée de la mère au nourrisson.

I Tableau 32 I

Niveaux de contaminants perfluorés observés en population générale, dans le lait maternel

Étude	Population	Composés	Niveau
Karrmann [64]	Suède (n = 12)	8 PFCs	Moy total : 0,32 ng/mL Moy PFOA : 0,201 ng/mL Moy PFHxS : 0,085 ng/ml
Volkel [65]	Allemagne et Hongrie (n = 70)	PFOS PFOA	Étendue : 28 à 639 ng/L Médiane : 119 ng/L Étendue : 201 to 460 ng/L.
So [66]	Chine (n = 19)	PFOS PFOA PFHxS PFNA PFDA PFUnA	Étendue: 45 à 360 ng/L Étendue: 47 à 210 ng/L Max: 100 ng/L Max : 62 ng/L Max : 15 ng/L Max : 56 ng/L
Tao [67]	Asie (n = 184)	9 PFCs	Moyenne: 6,45 ng/L (Malaisie) à 15,8 (Philippines)
Tao [68]	USA (n = 45)	9 PFCs	Moyennes : PFOS : 131 ng/L PFOA : 43,8 pg/mL

4.7.3. Limites de détection et de quantification et techniques analytiques

Dans cette étude, les retardateurs de flamme bromés et les contaminants perfluorés ont chacun été dosés dans un tube de 10ml de lait maternel mature.

Les tableaux 33 et 34 présentent les limites de détection et de quantification des composés bromés et perfluorés.

I Tableau 33 I

Limites de détection pour les polybromodiphényléthers (PBDEs), les pentabromobiphenyls (PBBs) et l'hexabromocyclododécane (HBCD) dans le lait maternel (en ng/g de MG)

Substance	LOD	LOQ
PBDEs, PBBs	0,03 ng/mL/0,001 ng/g MG	0,09 ng/mL/0,003 ng/g MG
HBCDs	0,5 ng/mL/0,02 ng/g MG	0,15 ng/mL/0,06 ng/g MG

I Tableau 34 I

Limites de détection et de quantification pour les contaminants perfluorés dans le lait maternel (ng/mL)

Substance	LOD (ng/mL)	LOQ (ng/mL)
PFBA	0,07	0,07
PFPA	0,05	0,09
PFHxA	0,05	0,05
PFHpA	0,07	0,07
PFOA	0,03	0,03
PFNA	0,05	0,05
PFDeA	0,05	0,15
PFUnA	0,1	0,3
PFDoA	0,05	0,15
PFBS	0,05	0,15
PFHxS	0,03	0,03
PFHpS	0,05	0,1
PFOS	0,02	0,02
PFDeS	0,1	0,3

La méthode développée pour la mesure des retardateurs de flamme bromés dans le lait repose sur une étape d'extraction de la matière grasse par « Accelerated Solvent Extraction », trois étapes successives de purification sur colonne de silice activée, de silicate de magnésium (florisil) et de florisil/charbon/célite. Les extraits sont alors analysés par chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse haute résolution (GC-HRMS). Deux signaux diagnostiques (acquisition en mode SIM) spécifiques sont suivis pour chaque analyte après ionisation par impact électronique (EI). Des étalons internes marqués au ^{13}C permettent une quantification précise et non ambiguë des analytes cibles par la méthode de la dilution isotopique. Huit composés indicateurs de type polybromodiphényléthers (congénères PBDE majoritaires), 3 pentabromobiphényles et les trois isomères de l'hexabromocyclododécane $\alpha/\beta/\gamma$ -HBCD) sont recherchés dans cette méthode.

La méthode d'analyse développée pour la mesure des contaminants perfluorés dans le lait repose, premièrement, sur une précipitation préalable des protéines. L'extrait est ensuite purifié sur 2 cartouches SPE successives : une colonne en phase inverse permettant d'éliminer les impuretés polaires, puis une colonne constituée de phase graphite capturant les interférents matricielles. Les extraits sont alors analysés par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS). Deux signaux diagnostiques (transitions MRM) spécifiques sont suivis pour chaque analyte après ionisation par électrospray dans le mode négatif. Deux étalons internes marqués au ^{13}C permettent une quantification précise et non ambiguë des analytes cibles par la méthode de la dilution isotopique. Quatorze composés sont recherchés dans cette méthode, incluant 9 acides perfluorocarboxyliques (dont le PFOA) et 5 perfluoroalkylsulfonates (dont le PFOS). Les performances obtenues permettent la recherche des analytes à des concentrations supérieures ou égales à environ 0,01 ng/mL de lait (limite de détection).

Les résultats dans le lait sont exprimés par rapport à la matière grasse. Cette dernière est extraite à partir d'un volume minimal de 10 mL fortifié par les composés marqués au ^{13}C . On ajoute successivement à l'échantillon de l'oxalate d'ammonium (précipitation des protéines), de l'éthanol absolu, du diéthyléther et enfin du pentane. Après évaporation des solvants l'échantillon est placé à 105°C pendant 12h puis laissé à température ambiante pour déterminer par gravimétrie la masse de matière grasse extraite.

4.7.4. Résultats des analyses

Au total, les 48 échantillons de lait mature recueillis à domicile par les mères ont pu être dosés pour 14 composés bromés et 14 composés perfluorés.

Parmi les composés bromés, 12 ont été quantifiés à 100 %, 1 composé (HBCD- β) était censuré à 83 % et 1 composé (HBCD- γ) était censuré à 35 % (tableau 35). Concernant les contaminants perfluorés, les dosages ont mis en évidence des traces de PFOA et PFOS (principalement inférieures à 0,5 ng/mL) ont été retrouvées, ainsi que la présence de PFHxS. Les concentrations des autres congénères étaient inférieures aux limites de détection.

I Tableau 35 I

Distribution des composés polybromés (en ng/g de matière grasse) et perfluorés (en ng/mL) dans le lait maternel - Elfe pilote 2007

	%>	n	MG	IC MG	Percentiles					
					10	25	50	75	90	95
En ng/g de matière grasse										
PBDE 28	100,0 %	48	0,07	[0,05 ; 0,08]	0,03	0,04	0,06	0,09	0,23	0,43
PBDE 47	100,0 %	48	0,75	[0,58 ; 0,97]	0,26	0,40	0,63	1,34	2,66	3,90
PBDE 99	100,0 %	48	0,19	[0,14 ; 0,25]	0,05	0,10	0,17	0,40	0,72	1,03
PBDE 100	100,0 %	48	0,17	[0,14 ; 0,22]	0,08	0,10	0,16	0,29	0,47	0,53
PBDE 153	100,0 %	48	0,58	[0,51 ; 0,67]	0,35	0,40	0,58	0,75	0,94	1,41
PBDE 154	100,0 %	48	0,03	[0,02 ; 0,4]	0,01	0,02	0,03	0,04	0,7	0,09
PBDE 183	100,0 %	48	0,08	[0,07 ; 0,10]	0,04	0,05	0,09	0,12	0,21	0,29
PBDE 209	100,0 %	48	0,28	[0,20 ; 0,41]	0,04	0,12	0,33	0,74	1,34	1,83
PBB 52	100,0 %	48	0,019	[0,016 ; 0,023]	0,008	0,01	0,02	0,03	0,04	0,06
PBB 101	100,0 %	48	0,07	[0,06 ; 0,08]	0,04	0,05	0,07	0,09	0,15	0,18
PBB 153	100,0 %	48	0,20	[0,15 ; 0,27]	0,10	0,13	0,16	0,26	0,65	0,87
HBCD α	100,0 %	48	1,33	[0,99 ; 1,79]	0,43	0,65	1,12	2,60	6,62	12,44
HBCD β	16,7 %	48	*	*		<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,04	0,08
HBCD γ	64,6 %	48	0,05	[0,03 ; 0,07]	0,01	0,02	0,03	0,13	0,50	0,84
En ng/ml										
PFBA	12,5 %	48	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0,075	0,086
PFPA	0,0 %	48	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
PFHxA	2,1 %	48	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
PFHpA	2,01 %	48	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
PFOA	97,9 %	48	0,07	[0,06 ; 0,08]	0,04	0,06	0,08	0,09	0,13	0,15
PFNA	4,2 %	48	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
PFDeA	0,0 %	48	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
PFUnA	0,0 %	48	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
PFDoA	0,0 %	48	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
PFBS	0,0 %	48	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
PFHxS	100,0 %	48	0,049	[0,047 ; 0,051]	0,042	0,044	0,050	0,053	0,056	0,057
PFHpS	0,0 %	48	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
PFOS	89,6 %	48	0,07	[0,05 ; 0,08]	0,01	0,06	0,07	0,09	0,11	0,24
PFDeS	0,0 %	48	*	*	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ

* Non calculé : la proportion des données censurées est trop élevée pour fournir un résultat valide

5. Discussion

Le dosage de différents biomarqueurs sur un échantillon aléatoire de femmes enceintes de deux régions a permis de fournir une première estimation des niveaux d'imprégnation à différents polluants et d'en tirer des enseignements, notamment pour mieux dimensionner l'étude au niveau national. À titre d'exemple, ces différents niveaux nous ont permis de calculer plus précisément le nombre de sujets nécessaires pour le volet périnatal du programme national de Biosurveillance en maternité au niveau national, ce qui était particulièrement utile pour les substances émergentes pour lesquelles nous ne disposons pas de données françaises jusqu'alors. Par ailleurs, les résultats obtenus nous ont permis d'adapter les consignes de prélèvements pour l'étude nationale (BPA et phtalates).

Le **BPA et les phtalates** ont été retrouvés chez plus de 90 % des sujets, ce qui concorde avec le caractère ubiquitaire de l'exposition à ces substances dans la population. La distribution des concentrations montre une grande variabilité des valeurs au sein de l'échantillon étudié, suggérant différentes sources potentielles et divers facteurs pouvant influencer les concentrations. La médiane du BPA total observée dans notre étude (2,5 µg/L) est similaire à celle retrouvée dans la littérature (l'étude NHANES a montré une médiane de 2,8 µg/L [16]). Concernant les phtalates, les résultats montrent que, parmi les différents métabolites mesurés dans les urines, les métabolites du DEHP sont les plus importants. Dans la plupart des études, le MEHP est le métabolite le plus important en concentration. Les valeurs des métabolites (5-OH-MEHP et 5oxo-MEHP) du MEHP, ainsi que ceux du métabolite primaire MEHP sont supérieures aux valeurs observées dans la littérature [69]. Du fait de la demi-vie assez courte du MEHP, cette concentration importante de MEHP dans les urines pourrait suggérer une exposition potentielle au DEHP à l'hôpital quelques heures avant les prélèvements urinaires. Globalement, les valeurs les plus hautes du bisphénol A et des phtalates sont bien plus élevées qu'attendues. Le bisphénol A libre (détecté dans cette étude dans près de 75 % des échantillons dosés) exprime la proportion de bisphénol non métabolisé et biologiquement actif : on peut penser que, plus il est élevé, plus l'échantillon contient du bisphénol n'ayant pas subi les étapes hépatiques et rénales de métabolisation (hypothèse de contamination). Afin d'expliquer ces valeurs élevées, des analyses complémentaires ont été réalisées par type d'accouchement, et corroborent l'hypothèse d'une possible contamination récente par le matériel médical (perfusion, poches urinaires). En effet, pour le BPA, une contamination des échantillons est possible via les poches urinaires, compte tenu du relargage potentiel du BPA dans ces poches. Les problèmes de contamination par le biais des dispositifs médicaux que nous avons mis en évidence, pour les phtalates et le BPA, ont été pris en compte lors des études de biosurveillance dans cette population, en particulier dans l'étude nationale Elfe. Les consignes aux sages-femmes en maternité ont été adaptées et la collecte biologique des urines a été recommandée avant tout geste médical (pose de perfusion, etc.) [70]. Par ailleurs, ces résultats ont justifié la nécessité, dans l'étude nationale, de doser à la fois le BPA total et le BPA libre afin de rendre compte d'éventuelles contaminations récentes.

Concernant la **cotinine** et la consommation de tabac, 16 % des résultats n'étaient pas concordants entre les réponses aux questionnaires concernant le tabagisme pendant la grossesse et les résultats des dosages de cotinine urinaire à la naissance. D'autres études [71,72] qui ont vérifié les déclarations sur le tabagisme des femmes enceintes par une analyse biochimique ont révélé des pourcentages plus élevés de déclarations inexactes, sans doute en raison de l'importance de la pression sociale qui pèse sur les femmes enceintes et les incite à sous-déclarer leur tabagisme. Les résultats présentés ici peuvent s'expliquer par le fait que le dosage de la cotinine urinaire a lieu au moment de l'accouchement, et que les dernières 48h sont sans doute particulièrement peu propices à la consommation tabagique (ce qui peut expliquer qu'on ne retrouve pas de cotinine urinaire chez certaines des femmes se déclarant pourtant fumeuses pendant la grossesse). Nous avons donc utilisé les résultats des dosages essentiellement pour imputer les données manquantes au questionnaire et ainsi donner une estimation plus fiable de la prévalence du tabagisme pendant la grossesse. La prévalence du tabagisme dans cette étude est ainsi estimée à 23 % de l'ensemble des femmes accouchées ou 35 % des femmes répondantes, dont 8 % fumaient plus de 10 cigarettes par jour. Si l'on fait l'hypothèse que les non-réponses sont vraisemblablement en partie liées à la consommation de tabac, nos résultats dénombrent que près d'une femme enceinte sur 3 fume régulièrement pendant sa grossesse dans notre étude. Ce résultat est cohérent avec les dernières études épidémiologiques sur le tabagisme des femmes enceintes [73]. Il a par ailleurs confirmé l'utilité du dosage de la cotinine urinaire pour la phase nationale.

Dans notre étude, nous ne retrouvons pas d'**organoétains**. Ce résultat a apporté un éclairage pour la stratégie de hiérarchisation des biomarqueurs à doser dans l'enquête nationale, remettant en cause la pertinence de ce dosage.

L'analyse des **pesticides** montre que les pyréthrinoides sont détectés chez presque tous les sujets inclus pour ces analyses. Ceci est en accord avec l'usage massif et croissant de ces substances depuis les

années 1970, tant au niveau agricole que domestique (insecticide, antiparasitaire), cette famille de pesticides ayant remplacé peu à peu les insecticides plus anciens, dont l'usage a été interdit ou a diminué en raison de leur toxicité (organochlorés et organophosphorés). Les pyréthrinoïdes représentent d'ailleurs aujourd'hui la famille de pesticides la plus fréquemment retrouvée dans l'air des logements [33]. Cette étude montre également que l'atrazine (ou ses métabolites) est encore détectée chez une femme sur cinq dans notre échantillon. L'usage de l'atrazine est interdit en France depuis 2003. Ce pesticide était auparavant utilisé au niveau agricole pour la culture du maïs et comme herbicide dans les parcs, jardins, voies publiques ou voies de chemin de fer. Cette présence d'atrazine malgré son interdiction peut s'expliquer par sa biopersistance dans l'environnement, particulièrement dans l'eau. En effet, en raison d'une demi-vie courte dans l'organisme (quelques jours), l'atrazine ne se bioaccumule pas chez l'humain. Le propoxur est détecté chez près de 20 % des sujets, ce qui est cohérent avec sa présence très fréquente dans l'air intérieur des logements, en raison de son utilisation en tant qu'insecticide et antiparasitaire [33]. Aucune des femmes incluses dans ce pilote ne présentait de niveau détectable de glyphosate ou de son métabolite, l'AMPA. Malgré les demi-vies relativement courtes de ces composés dans les matrices biologiques (les dosages reflétant donc une exposition récente), le glyphosate est pourtant parmi les herbicides les plus utilisés en agriculture, mais aussi par les professionnels en charge de l'entretien des voiries, parcs, ou encore les particuliers pour le désherbage des pelouses, potagers, ou allées dans les jardins. Une seule étude française avait réalisé des dosages du glyphosate et de l'AMPA, l'enquête Pélagie en Bretagne, chez 47 femmes enceintes ayant déclaré un usage d'herbicides sur les pelouses ou allées de leur habitation en début de grossesse. Chez ces utilisatrices, le pourcentage de valeurs quantifiées ne dépassait cependant pas 43 %. D'autres différences dans les deux enquêtes Pélagie et Elfe pilote, comme la région d'étude (Bretagne par rapport à Rhône-Alpes ou Seine-Saint-Denis), ou la période d'étude (octobre pour le pilote Elfe, où les usages de pesticides sont réduits, par rapport aux mois de mai-juin-juillet dans Pélagie où l'utilisation est la plus fréquente) peuvent expliquer les différences de résultats. Peu d'autres données sur les dosages urinaires de glyphosate sont disponibles dans la littérature malgré un potentiel d'exposition non négligeable de la population à cet herbicide. Les résultats ont permis aussi d'apporter des éléments pour le choix des pesticides à doser dans l'étude Elfe nationale. Ainsi, il peut être intéressant de continuer à surveiller l'exposition de la population à ces pesticides : l'atrazine et ses métabolites du fait de leur caractère rémanent et de leurs effets potentiels, les pyréthrinoïdes de par les niveaux retrouvés, le propoxur et le glyphosate en raison de leur utilisation massive et de la faible quantité de données disponibles dans la littérature sur les niveaux de biomarqueurs pour ces composés.

Les premières données pour les mères allaitantes participant à l'étude pilote montrent des niveaux de **dioxines, PCB, retardateurs de flamme bromés et contaminants perfluorés** comparables à ceux de la littérature. Concernant les dioxines, pour les TEQ total (PCDDs/Fs et DL-PCB), la moyenne géométrique était égale à 24,29 pg TEQ/g de lipides exprimés en TEQ-OMS1998 et 17,81 en TEQ-OMS 2005. Les PCDDs représentaient 78 % des PCDDs/Fs en 2005 *versus* 50 % en 1998. Pour la somme des 6 NDL-PCB, la moyenne géométrique dans le lait était de 176,31 ng/g de lipides. La comparaison de nos résultats avec les niveaux de PCDDs/Fs et PCB dans le lait maternel observés en 1998 (244 échantillons provenant des lactariums français) [40] a montré une diminution de 40 % de ces niveaux entre les deux études. La moyenne des niveaux de PCDDs a diminué davantage que celle des niveaux de PCDFs.

6. Conclusion et perspectives

Ces premières données concernant les niveaux d'imprégnation d'un échantillon de femmes à différents biomarqueurs : phtalates, BPA, propoxur, glyphosate, atrazine, pyréthrinoïdes, retardateurs de flamme bromés, contaminants perfluorés, cotinine, dioxines et PCB ont permis :

- de disposer d'une première estimation de ces niveaux, utile pour dimensionner et sélectionner les analyses à mettre en œuvre dans le cadre du volet périnatal de la stratégie nationale de biosurveillance, que ce soit en termes de nombre de sujets nécessaires pour les dosages à réaliser, ou encore pour la hiérarchisation des biomarqueurs à analyser. Lorsque des données antérieures étaient disponibles (dioxines), les résultats obtenus ici ont permis de donner une première appréciation de l'évolution temporelle de ces biomarqueurs (diminution de 40 % des niveaux de dioxines par exemple) ;
- de mettre en évidence des problèmes de contamination par des dispositifs médicaux. Ce résultat a été pris en compte lors de la mise en place du volet biologique de l'étude nationale Elfe. Les consignes aux sages-femmes en maternité ont ainsi été adaptées et la collecte biologique des urines recommandée avant tout geste médical (pose de perfusion, etc.). Toutefois, ces résultats soulèvent des interrogations préoccupantes sur l'importance et les conséquences de l'exposition des femmes enceintes et de leurs nouveau-nés à ces perturbateurs endocriniens, via les dispositifs médicaux, lors de longs séjours hospitaliers (grossesses pathologiques, soins intensifs dans les unités de néonatalogie). Cette question, déjà soulevée par d'autres publications [74], nécessiterait des efforts pour soutenir la recherche sur cette thématique.

L'étude nationale Elfe a démarré en 2011 et les résultats des dosages de biomarqueurs (métaux, dioxines, furanes, PCB, retardateurs de flamme bromés, contaminants perfluorés, pesticides, phtalates, bisphénol A, cotinine) dans les échantillons biologiques recueillis en maternité seront disponibles d'ici 2014-2015. Ils devraient permettre d'estimer les niveaux de références pour l'imprégnation par différents polluants dans cette population mais aussi de mieux décrire les sources d'exposition (alimentaires, prise médicamenteuse, cosmétiques, description de l'habitat, etc.), notamment par le croisement avec les données recueillies dans les questionnaires et les mesures environnementales et ainsi de mieux comprendre la variabilité observée.

Bibliographie

- [1] Vandentorren S, Bois C, Pirus C, Sarter H, Salines G, Leridon H. Rationales, design and recruitment for the Elfe longitudinal study. *BMC Pediatr* 2009;9:58.
- [2] Olsen J. Prenatal exposures and long-term health effects. *Epidemiol Rev* 2000;22(1):76-81.
- [3] Seminara D, Khoury MJ, O'Brien TR, Manolio T, Gwinn ML, Little J, *et al.* The emergence of networks in human genome epidemiology: challenges and opportunities. *Epidemiology* 2007;18(1):1-8.
- [4] Vandentorren S, Etchevers A, Bretin P. Étude longitudinale française depuis l'enfance (Elfe) : phase pilote (2007). Principaux résultats pour le plomb. Saint Maurice: InVS; 2011. 4 p. [consulté le 03/01/2013]. Disponible à partir de l'URL : <http://www.invs.sante.fr/fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Environnement-et-sante/2011/Etude-longitudinale-francaise-depuis-l-enfance-Elfe-phase-pilote-20072>
- [5] Oleko A, Betsou F, Sarter H, Gerdil C, Desbois I, Charles MA, *et al.* A Pilot Study of the ELFE Longitudinal Cohort: Feasibility and Preliminary Evaluation of Biological Collection. *Biopreserv Biobank* 2011;9(3):223-7.
- [6] Vandentorren S, Oleko A. Enseignements de la collecte biologique en maternité de l'étude pilote Elfe. Saint Maurice: Institut de Veille Sanitaire; 2007. 56 p. [consulté le 03/01/2013]. Disponible à partir de l'URL : http://opac.invs.sante.fr/doc_num.php?explnum_id=21
- [7] Howdeshell KL, Peterman PH, Judy BM, Taylor JA, Orazio CE, Ruhlen RL, *et al.* Bisphenol A is released from used polycarbonate animal cages into water at room temperature. *Environ Health Perspect* 2003;111(9):1180-7. Disponible à partir de l'URL : <http://ehp03.niehs.nih.gov/home.action>
- [8] Kang JH, Kondo F, Katayama Y. Human exposure to bisphenol A. *Toxicology* 2006;226(2-3):79-89.
- [9] Coors A, Jones PD, Giesy JP, Ratte HT. Removal of estrogenic activity from municipal waste landfill leachate assessed with a bioassay based on reporter gene expression. *Environ Sci Technol* 2003;37(15):3430-4.
- [10] Volkel W, Bittner N, Dekant W. Quantitation of bisphenol A and bisphenol A glucuronide in biological samples by high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Drug Metab Dispos* 2005;33(11):1748-57.
- [11] Volkel W, Alvarez-Sanchez R, Weick I, Mally A, Dekant W, Pahler A. Glutathione conjugates of 4-hydroxy-2(E)-nonenal as biomarkers of hepatic oxidative stress-induced lipid peroxidation in rats. *Free Radic Biol Med* 2005;38(11):1526-36.
- [12] Volkel W, Colnot T, Csanady GA, Filser JG, Dekant W. Metabolism and kinetics of bisphenol a in humans at low doses following oral administration. *Chem Res Toxicol* 2002;15(10):1281-7.
- [13] Santé Canada. Rapport sur la biosurveillance humaine des substances chimiques de l'environnement au Canada. Résultats de l'Enquête canadienne sur les mesures de la santé Cycle 1 (2007 à 2009). Ottawa: Santé Canada; 2010. 300 p. [consulté le 01/06/2012]. Disponible à partir de l'URL : <http://www.santecanada.gc.ca>
- [14] Federal Environment Agency. German Environmental Survey for Children 2003/06 (GerES IV). Human Biomonitoring. Levels of selected substances in blood and urine of children in Germany. Berlin: Federal Environment Agency (Umweltbundesamt); 2008. 93 p. [consulté le 01/06/2012]. Disponible à partir de l'URL : <http://www.umweltbundesamt.de>
- [15] Ye X, Pierik FH, Angerer J, Meltzer HM, Jaddoe VW, Tiemeier H, *et al.* Levels of metabolites of organophosphate pesticides, phthalates, and bisphenol A in pooled urine specimens from pregnant women participating in the Norwegian Mother and Child Cohort Study (MoBa). *Int J Hyg Environ Health* 2009;212(5):481-91.

- [16] Centers for Disease Control and Prevention. Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention; 2009. 529 p.[consulté le 01/06/2012]. Disponible à partir de l'URL : <http://www.cdc.gov/exposurereport>
- [17] Volkel W, Kiranoglu M, Fromme H. Determination of free and total bisphenol A in urine of infants. *Environ Res* 2011;111(1):143-8.
- [18] Diamanti-Kandarakis E, Bourguignon JP, Giudice LC, Hauser R, Prins GS, Soto AM, *et al.* Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr Rev* 2009;30(4):293-342.
- [19] Swan SH, Main KM, Liu F, Stewart SL, Kruse RL, Calafat AM, *et al.* Decrease in anogenital distance among male infants with prenatal phthalate exposure. *Environ Health Perspect* 2005;113(8):1056-61. Disponible à partir de l'URL : <http://ehp03.niehs.nih.gov/home.action>
- [20] Koch HM, Rossbach B, Drexler H, Angerer J. Internal exposure of the general population to DEHP and other phthalates--determination of secondary and primary phthalate monoester metabolites in urine. *Environ Res* 2003;93(2):177-85.
- [21] Wittassek M, Koch HM, Angerer J, Bruning T. Assessing exposure to phthalates - the human biomonitoring approach. *Mol Nutr Food Res* 2011;55(1):7-31.
- [22] Becker K, Goen T, Seiwert M, Conrad A, Pick-Fuss H, Muller J, *et al.* GerES IV: phthalate metabolites and bisphenol A in urine of German children. *Int J Hyg Environ Health* 2009;212(6):685-92.
- [23] Casas L, Fernandez MF, Llop S, Guxens M, Ballester F, Olea N, *et al.* Urinary concentrations of phthalates and phenols in a population of Spanish pregnant women and children. *Environ Int* 2011;37(5):858-66.
- [24] Marrone GF, Shakleya DM, Scheidweiler KB, Singleton EG, Huestis MA, Heishman SJ. Relative performance of common biochemical indicators in detecting cigarette smoking. *Addiction* 2011;106(7):1325-34.
- [25] Galanti C. Cotinine urinaire : dosages et applications. *La revue de médecine générale* 2008;251
- [26] European Food Safety Agency. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission to assess the health risks in consumers associated with exposure to organotins in foodstuffs. *The EFSA Journal* 2004;102:-119. Disponible à partir de l'URL : <http://www.efsa.europa.eu/en/publications/efsajournal.htm>
- [27] Paschal DC, Ting BG, Morrow JC, Pirkle JL, Jackson RJ, Sampson EJ, *et al.* Trace metals in urine of United States residents: reference range concentrations. *Environ Res* 1998;76(1):53-9.
- [28] Zachariadis GA, Rosenberg E. Determination of butyl- and phenyltin compounds in human urine by HS-SPME after derivatization with tetraethylborate and subsequent determination by capillary GC with microwave-induced plasma atomic emission and mass spectrometric detection. *Talanta* 2009;78(2):570-6.
- [29] Rantakokko P, Turunen A, Verkasalo PK, Kiviranta H, Mannisto S, Vartiainen T. Blood levels of organotin compounds and their relation to fish consumption in Finland. *Sci Total Environ* 2008;399(1-3):90-5.
- [30] Baldi I, Mohammed-Brahim B, Brochard P, Dartigues JF, Salamon R. [Delayed health effects of pesticides: review of current epidemiological knowledge]. *Rev Epidemiol Sante Publique* 1998;46(2):134-42.
- [31] Multigner L. Effets retardés des pesticides sur la santé humaine. *Environnement, Risques & Santé* 2005;4(3):187-94. Disponible à partir de l'URL : <http://www.revue-ers.fr/>
- [32] Frery N, Saoudi A, Garnier R, Zeghnoun A, Falq G, Guldner L. Exposition de la population française aux polluants de l'environnement – Volet environnemental de l'Étude nationale nutrition santé –

- Premiers résultats. Saint-Maurice (Fra) : Institut de veille sanitaire. Saint Maurice: InVS; 2010. 12 p. [consulté le 01/06/2012]. Disponible à partir de l'URL : <http://www.invs.sante.fr>
- [33] Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail. Exposition de la population générale aux résidus de pesticides en France. Synthèse des données d'utilisation, de contamination des milieux et d'imprégnation de la population [Internet]. Maison Alfort: Anses; 2010. 365 p. Disponible à partir de l'URL : <http://www.observatoire-pesticides.fr/>
- [34] Chevrier C, Petit C, Limon G, Monfort C, Durand G, Cordier S. Biomarqueurs d'exposition urinaire aux pesticides des femmes enceintes de la cohorte Pelagie réalisée en Bretagne, France (2002-2006) [Internet]. Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire 2009;Hors-Série:23-7. Disponible à partir de l'URL : <http://www.invs.sante.fr/beh/>
- [35] United Nations Environment Programme. Ridding the world of POPs : a guide to Stockholm convention on persistent organic pollutants. Genève: UNEP; 2001. 24 p. [consulté le 20/06/2012]. Disponible à partir de l'URL : http://www.pops.int/documents/guidance/beg_guide.pdf
- [36] Van den Berg M, Birnbaum L, Bosveld AT, Brunstrom B, Cook P, Feeley M, *et al.* Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife. Environ Health Perspect 1998;106(12):775-92.
- [37] Wittsiepe J, Schrey P, Ewers U, Selenka F, Wilhelm M. Decrease of PCDD/F levels in human blood from Germany over the past ten years (1989-1998). Chemosphere 2000;40(9-11):1103-9.
- [38] Lignell S, Aune M, Darnerud PO, Cnattingius S, Glynn A. Persistent organochlorine and organobromine compounds in mother's milk from Sweden 1996-2006: compound-specific temporal trends. Environ Res 2009;109(6):760-7.
- [39] Kodama H, Ota H. Transfer of polychlorinated biphenyls to infants from their mothers. Arch Environ Health 1980;35(2):95-100.
- [40] Frery N, Deloraine A, Zeghnoun A, Rouvière F. Étude sur les dioxines et les furanes dans le lait maternel en France. Saint Maurice: InVS; 2000. 181 p. [consulté le 01/06/2012]. Disponible à partir de l'URL : <http://www.invs.sante.fr>
- [41] Li J, Zhang L, Wu Y, Liu Y, Zhou P, Wen S, *et al.* A national survey of polychlorinated dioxins, furans (PCDD/Fs) and dioxin-like polychlorinated biphenyls (dl-PCBs) in human milk in China. Chemosphere 2009;75(9):1236-42.
- [42] Abballe A, Ballard TJ, Dellatte E, di DA, Ferri F, Fulgenzi AR, *et al.* Persistent environmental contaminants in human milk: concentrations and time trends in Italy. Chemosphere 2008;73(1 Suppl):S220-S227.
- [43] Todaka T, Hirakawa H, Kajiwara J, Hori T, Tobiishi K, Onozuka D, *et al.* Concentrations of polychlorinated dibenzo-p-dioxins, polychlorinated dibenzofurans, and dioxin-like polychlorinated biphenyls in blood and breast milk collected from 60 mothers in Sapporo City, Japan. Chemosphere 2008;72(8):1152-8.
- [44] Hedley AJ, Wong TW, Hui LL, Malisch R, Nelson EA. Breast milk dioxins in Hong Kong and Pearl River Delta. Environ Health Perspect 2006;114(2):202-8.
- [45] Focant JF, Pirard C, Thielen C, De PE. Levels and profiles of PCDDs, PCDFs and cPCBs in Belgian breast milk. Estimation of infant intake. Chemosphere 2002;48(8):763-70.
- [46] Schuhmacher M, Domingo JL, Kiviranta H, Vartiainen T. Monitoring dioxins and furans in a population living near a hazardous waste incinerator: levels in breast milk. Chemosphere 2004;57(1):43-9.
- [47] Glynn A, Darnerud PO, Aune M, Bjerselius R, Baumann B, Cnattingius S. PCBs and dioxins in breast milk. Levels and trends in Sweden 1996-2001. Organohalogen Compd 64, 21-24. 2003.
- [48] Calheiros J, Coutinho M, Borrego C, Santos R, Pöpke O. PCDD/PCDF levels in human blood and breast milk in the region of Oporto, Portugal. Organohalogen Compd 55, 279-282. 2002.

- [49] Furst P, Papke O. PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs in human milk and blood from Germany. *Organohalogen Compd* 55, 251-254. 2002.
- [50] Uehara R, Peng G, Nakamura Y, Matsuura N, Kondo N, Tada H. Human milk survey for dioxins in the general population in Japan. *Chemosphere* 2006;62(7):1135-41.
- [51] Van den Berg M, Birnbaum LS, Denison M, De VM, Farland W, Feeley M, *et al.* The 2005 World Health Organization reevaluation of human and Mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicol Sci* 2006;93(2):223-41.
- [52] Schecter A, Pavuk M, Papke O, Ryan JJ, Birnbaum L, Rosen R. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in U.S. mothers' milk. *Environ Health Perspect* 2003;111(14):1723-9.
- [53] Guvenius DM, Aronsson A, Ekman-Ordeberg G, Bergman A, Noren K. Human prenatal and postnatal exposure to polybrominated diphenyl ethers, polychlorinated biphenyls, polychlorobiphenyls, and pentachlorophenol. *Environ Health Perspect* 2003;111(9):1235-41.
- [54] Meironyte D, Noren K, Bergman A. Analysis of polybrominated diphenyl ethers in Swedish human milk. A time-related trend study, 1972-1997. *J Toxicol Environ Health A* 1999;58(6):329-41.
- [55] Inoue K, Harada K, Takenaka K, Uehara S, Kono M, Shimizu T, *et al.* Levels and concentration ratios of polychlorinated biphenyls and polybrominated diphenyl ethers in serum and breast milk in Japanese mothers. *Environ Health Perspect* 2006;114(8):1179-85.
- [56] Li J, Yu H, Zhao Y, Zhang G, Wu Y. Levels of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in breast milk from Beijing, China. *Chemosphere* 2008;73(2):182-6.
- [57] Kalantzi OI, Martin FL, Thomas GO, Alcock RE, Tang HR, Drury SC, *et al.* Different levels of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and chlorinated compounds in breast milk from two U.K. Regions. *Environ Health Perspect* 2004;112(10):1085-91.
- [58] Eslami B, Koizumi A, Ohta S, Inoue K, Aozasa O, Harada K, *et al.* Large-scale evaluation of the current level of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in breast milk from 13 regions of Japan. *Chemosphere* 2006;63(4):554-61.
- [59] Jaraczewska K, Lulek J, Covaci A, Voorspoels S, Kaluba-Skotarczak A, Drews K, *et al.* Distribution of polychlorinated biphenyls, organochlorine pesticides and polybrominated diphenyl ethers in human umbilical cord serum, maternal serum and milk from Wielkopolska region, Poland. *Sci Total Environ* 2006;372(1):20-31.
- [60] Toms LM, Harden FA, Symons RK, Burniston D, Furst P, Muller JF. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in human milk from Australia. *Chemosphere* 2007;68(5):797-803.
- [61] Tsydenova OV, Sudaryanto A, Kajiwara N, Kunisue T, Batoev VB, Tanabe S. Organohalogen compounds in human breast milk from Republic of Buryatia, Russia. *Environ Pollut* 2007;146(1):225-32.
- [62] Gomara B, Herrero L, Ramos JJ, Mateo JR, Fernandez MA, Garcia JF, *et al.* Distribution of polybrominated diphenyl ethers in human umbilical cord serum, paternal serum, maternal serum, placentas, and breast milk from Madrid population, Spain. *Environ Sci Technol* 2007;41(20):6961-8.
- [63] Raab U, Preiss U, Albrecht M, Shahin N, Parlar H, Fromme H. Concentrations of polybrominated diphenyl ethers, organochlorine compounds and nitro musks in mother's milk from Germany (Bavaria). *Chemosphere* 2008;72(1):87-94.
- [64] Karrman A, Ericson I, van BB, Darnerud PO, Aune M, Glynn A, *et al.* Exposure of perfluorinated chemicals through lactation: levels of matched human milk and serum and a temporal trend, 1996-2004, in Sweden. *Environ Health Perspect* 2007;115(2):226-30.
- [65] Volkel W, Genzel-Boroviczeny O, Demmelmair H, Gebauer C, Koletzko B, Twardella D, *et al.* Perfluorooctane sulphonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) in human breast milk: results of a pilot study. *Int J Hyg Environ Health* 2008;211(3-4):440-6.

- [66] So MK, Yamashita N, Taniyasu S, Jiang Q, Giesy JP, Chen K, *et al.* Health risks in infants associated with exposure to perfluorinated compounds in human breast milk from Zhoushan, China. *Environ Sci Technol* 2006;40(9):2924-9.
- [67] Tao L, Ma J, Kunisue T, Libelo EL, Tanabe S, Kannan K. Perfluorinated compounds in human breast milk from several Asian countries, and in infant formula and dairy milk from the United States. *Environ Sci Technol* 2008;42(22):8597-602.
- [68] Tao L, Kannan K, Wong CM, Arcaro KF, Butenhoff JL. Perfluorinated compounds in human milk from Massachusetts, U.S.A. *Environ Sci Technol* 2008;42(8):3096-101.
- [69] Peck JD, Sweeney AM, Symanski E, Gardiner J, Silva MJ, Calafat AM, *et al.* Intra- and inter-individual variability of urinary phthalate metabolite concentrations in Hmong women of reproductive age. *J Expo Sci Environ Epidemiol* 2010;20(1):90-100.
- [70] Vandentorren S, Zeman F, Morin L, Sarter H, Bidondo ML, Oleko A, *et al.* Bisphenol-A and phthalates contamination of urine samples by catheters in the Elfe pilot study: implications for large-scale biomonitoring studies. *Environ Res* 2011;111(6):761-4.
- [71] Windsor RA, Woodby LL, Miller TM, Hardin JM, Crawford MA, DiClemente CC. Effectiveness of Agency for Health Care Policy and Research clinical practice guideline and patient education methods for pregnant smokers in medicaid maternity care. *Am J Obstet Gynecol* 2000;182(1 Pt 1):68-75.
- [72] Boyd NR, Windsor RA, Perkins LL, Lowe JB. Quality of measurement of smoking status by self-report and saliva cotinine among pregnant women. *Matern Child Health J* 1998;2(2):77-83.
- [73] Delcroix M. *La grossesse et le tabac*. 1 éd. Paris PUF. Collection Que sais-je?; 2011. 128 p.
- [74] Calafat AM, Weuve J, Ye X, Jia LT, Hu H, Ringer S, *et al.* Exposure to bisphenol A and other phenols in neonatal intensive care unit premature infants. *Environ Health Perspect* 2009;117(4):639-44.

Dosage des biomarqueurs en maternité dans le cadre de l'enquête pilote Elfe (Étude longitudinale française depuis l'enfance), octobre 2007

L'un des modes d'évaluation de l'exposition in-utero de l'enfant à des polluants chimiques environnementaux est la mesure de niveaux de biomarqueurs de ces substances, dans des matrices biologiques prélevées à la naissance, chez la mère ou l'enfant. Menée à des fins de surveillance dans le cadre du volet périnatal du programme national de biosurveillance, cette approche est mise en œuvre au sein du volet biologique de l'étude Elfe.

En octobre 2007, une étude pilote incluant 296 femmes a été conduite afin de tester la faisabilité du volet biologique de la cohorte Elfe, dont l'inclusion au niveau national s'est déroulée en 2011. Ce rapport présente les résultats des dosages de biomarqueurs effectués dans les urines maternelles recueillies à la naissance (cotinine, bisphénol A, phtalates, les organoétains, et certains pesticides) et le lait maternel mature recueilli un mois après la naissance (dioxines, furanes, PCB, retardateurs de flamme bromés et composés perfluorés).

Cette étude pilote a permis de produire des premiers résultats sur l'exposition des femmes enceintes aux polluants environnementaux, en France, en 2007. Ces résultats ont pu être exploités lors de la priorisation des biomarqueurs à doser dans le volet biosurveillance de l'étude nationale. Par ailleurs, ils ont conduit à la mise en place, pour cette phase nationale, de mesures de précaution visant à prévenir une part de la contamination potentielle des échantillons biologiques, par des sources externes, au moment de la réalisation des prélèvements.

Mots clés : biosurveillance, grossesse, enfant, environnement, cohorte, population française, biomarqueur, polluant, exposition, retardateur de flamme bromé, dioxine, perfluoré, cotinine, organoétain, PCB, pesticides, phtalates, bisphenol A

Biomarker analysis in samples collected at the maternity Elfe Pilot Study, october 2007

One of the methods for assessing in-utero exposure of children to environmental chemical pollutants is to measure the levels of biomarkers substances in the biological matrixes collected at birth from the mother or the infant. This method has been implemented in the Elfe study (French longitudinal study from childhood), to complete the perinatal part of the French national biomonitoring program.

In October 2007, a pilot study including 296 women was set up in order to test the feasibility of the analytical aspects in the Elfe cohort, which inclusion at national level was conducted in 2011. This report presents the results of biomarker analysis performed in maternal urine collected at the maternity (cotinine, bisphenol A, phthalates, organotins, and some pesticides) and in mature breast milk collected one month following birth (dioxins, furans, PCBs, brominated fire retardants and perfluorinated compounds). This pilot study contributed to produce the first results on the exposure of pregnant women to environmental pollutants in France in 2007. These results could be used in the prioritization of biomarker analysis in the perinatal part of the French biomonitoring program conducted in the national Elfe study. Moreover, they have led to the introduction of precautionary measures to prevent part of the potential contamination from biological samples by external sources during sampling.

Citation suggérée :

Vandentorren S, Guldner L. Dosage des biomarqueurs en maternité dans le cadre de l'enquête pilote Elfe (Étude longitudinale française depuis l'enfance), octobre 2007. Saint-Maurice : Institut de veille sanitaire ; 2013. 47 p. Disponible à partir de l'URL : <http://www.invs.sante.fr>

INSTITUT DE VEILLE SANITAIRE

12 rue du Val d'Osne

94415 Saint-Maurice Cedex France

Tél. : 33 (0)1 41 79 67 00

Fax : 33 (0)1 41 79 67 67

www.invs.sante.fr

ISSN: 1958-9719

ISBN-NET: 978-2-11-131139-8

Réalisé par Service communication - InVS

Dépôt légal : avril 2013