

SANTÉ
ENVIRONNEMENT

OCTOBRE 2022

ÉTUDES ET ENQUÊTES

**IMPRÉGNATION DE LA POPULATION
FRANÇAISE PAR L'AMITRAZE,
LE FIPRONIL, LE MÉTHOMYL,
LE BROMOXYNIL ET LA CARBENDAZIME**

Programme national de biosurveillance, Esteban 2014-2016

Résumé

Imprégnation de la population française par l'amitrazé, le fipronil, le méthomyl, le bromoxynil et la carbendazime

Programme national de biosurveillance, Esteban 2014-2016

Les pesticides sériques analysés dans ce rapport sont issus de la priorisation débutée pour l'élaboration du programme national de biosurveillance (1).

Le laboratoire d'étude et de recherche en environnement et santé (Leres) et Santé publique France ont signé un contrat de recherche et développement pour le développement analytique et le dosage de ces substances.

Peu de données d'exposition sont disponibles dans la littérature scientifique sur les pesticides que l'on souhaitait mesurer : amitrazé, fipronil, méthomyl, bromoxynil et carbendazime. Une fois les développements analytiques réalisés par le Leres, une première série d'analyses a permis de consolider la liste des métabolites et substances dont les résultats pourraient être interprétés : il s'agissait du 5 HBC (métabolite du carbendazime et du bénomyl), du méthomyl, du bromoxynil, du fipronil et de ses deux métabolites : fipronil-désulfinyl et fipronil-sulfone.

En France, il n'existe pas de données portant sur les niveaux d'imprégnation en population générale par ces pesticides. L'étude Esteban a permis pour la première fois de décrire la distribution des niveaux de ces pesticides sériques ou de leurs métabolites chez les adultes âgés de 18 à 74 ans vivant en France métropolitaine, à partir d'un échantillon de 1 000 adultes. L'échantillon d'enfants de l'étude Esteban n'a pas pu bénéficier de ce dosage en raison d'une insuffisance de matrice sérique nécessaire dans cet échantillon.

Parmi les pesticides ou leurs métabolites sériques analysés dans ce rapport, seul le bromoxynil était quantifié chez tous les adultes qui disposaient d'un volume de sérum suffisant pour ce dosage. L'un des deux métabolites du fipronil, le fipronil-sulfone, était également quantifié dans plus de la moitié de la population. Les autres pesticides ou métabolites étaient peu ou pas quantifiés mais n'étaient plus autorisés (pour un usage phytopharmaceutique) en France entre 2014 et 2016, période d'enquête Esteban. À cette date, par rapport à la réglementation, seuls le bromoxynil et le fipronil étaient encore autorisés pour cet usage.

Les déterminants de l'exposition n'ont pu être recherchés que pour le bromoxynil, seule substance quantifiée à plus de 60% dans l'échantillon. Cette recherche a permis de mettre en évidence des associations entre l'imprégnation et l'environnement résidentiel, la saison de prélèvement sanguin et la consommation des légumes de son potager (appelée par la suite autoconsommation de légumes).

La répétition du dosage du fipronil et de ses métabolites ainsi que du bromoxynil dans de prochaines études de biosurveillance pourrait permettre d'observer si l'interdiction de ces substances en usage phytopharmaceutique a eu une incidence sur l'évolution des niveaux mesurés dans la population des adultes âgés de 18 à 74 ans et vivant en France métropolitaine.

MOTS CLÉS : PESTICIDES ; BIOSURVEILLANCE ; ESTEBAN ;
POPULATION GÉNÉRALE ; IMPRÉGNATION ; EXPOSITION ;
DÉTERMINANTS ; SUBSTANCES CHIMIQUES ; ADULTES ;
ENVIRONNEMENT ; VALEURS DE RÉFÉRENCE D'EXPOSITION (VRE)

Citation suggérée : Imprégnation de la population française par l'amitrazé, le fipronil, le méthomyl, le bromoxynil et la carbendazime. Programme national de biosurveillance, Esteban 2014-2016. Saint-Maurice : Santé publique France, septembre 2022. 26 p. Disponible à partir de l'URL : www.santepubliquefrance.fr

Abstract

Exposure Levels of amitraz, fipronil, methomyl, bromoxynil and carbendazim in the French population

National biomonitoring program, Esteban 2014-2016

The serum pesticides analysed in this report result from the prioritization initiated for the development of the national biomonitoring program (1).

A research and development contract has been developed between the environment and health research laboratory (Leres) and Public Health France for the analytical development and the determination of these substances.

Few data are available in the literature on exposure to the pesticides that we wanted to measure: amitraz, fipronil, methomyl, bromoxynil, and carbendazim. Once the analytical developments had been carried out by Leres, a first series of analyses made it possible to consolidate the list of metabolites and substances whose results could be interpreted: these were 5 HBC (metabolite of carbendazim), methomyl, bromoxynil, and fipronil and its two metabolites: fipronil-desulfinyl and fipronil-sulfone.

In France, there are no studies providing data on the levels of impregnation by these pesticides in the general population. The Esteban study made it possible for the first time to describe the distribution of the levels of these serum pesticides or their metabolites in adults aged 18 to 74 living in metropolitan France from a sample of 1000 adults.

Of the pesticides or their serum metabolites analysed in this report, only bromoxynil was quantified in all adults who participated in the Esteban study. The fipronil metabolite: fipronil-sulfone was also quantified in more than half of the population. The other pesticides or metabolites were little or not quantified but were no longer authorized for phytopharmaceutical use in the 2014 – 2016 period when the Esteban study was carried out. At that period, according to the regulations, only bromoxynil and fipronil were still authorized for this use.

The determinants of exposure could only be sought for bromoxynil, the only substance quantified in more than 60% in the sample. This research has made it possible to highlight associations between impregnation, the residential environment, the harvesting season, and consumption of vegetables.

Repeating the assay of fipronil and its metabolites as well as bromoxynil in future biomonitoring studies could make it possible to observe whether the banning of these substances in phytopharmaceutical use has had an impact on the evolution of the levels measured in the population of adults aged 18 to 74 and living in metropolitan France compared to the Esteban study.

KEY WORDS: PESTICIDES; BIOMONITORING; ESTEBAN; GENERAL POPULATION; IMPREGNATION; EXPOSURE; DETERMINANTS; CHEMICAL SUBSTANCES; ADULTS; ENVIRONMENT; EXPOSURE REFERENCE VALUES (ERV)

ISSN : 2609-2174 / ISBN-NET : 979-10-289-0795-2 / RÉALISÉ PAR LA DIRECTION DE LA COMMUNICATION, SANTÉ PUBLIQUE FRANCE / DÉPÔT LÉGAL : OCTOBRE 2022

Auteurs

Laura Chaperon, Clémence Fillol, Amivi Oleko, Marie Pécheux, Abdessattar Saoudi, Abdelkrim Zeghnoun

Santé publique France, Direction santé environnement Travail, Saint Maurice, France
Santé publique France, Direction appui, traitements et analyses des données, Saint-Maurice, France

Ce rapport a été réalisé avec la participation financière de la phytopharmacovigilance de l'Anses.

L'étude a été réalisée avec la participation des ministères des Solidarités et de la Santé et de la Transition écologique et solidaire, des centres d'examens de santé de l'Assurance maladie et du Cetaf (Centre technique d'appui et de formation des centres d'examen de santé).

Sommaire

Résumé.....	2
Abstract.....	3
Auteurs.....	4
Sommaire.....	5
Introduction.....	6
1. Généralités sur les pesticides sériques.....	7
1.1 Caractérisation, utilisation et réglementation.....	7
1.2 Exposition alimentaire de la population aux pesticides sériques.....	8
1.3 Mesure et interprétation des niveaux sériques des pesticides mesurés.....	8
2. Matériel et méthodes.....	10
2.1 Contexte et objectifs.....	10
2.2 Population.....	10
2.3 Recueil des données.....	10
2.4 Collecte et traitement des échantillons biologiques sanguins.....	11
2.5 Dosages des pesticides et des lipides sériques.....	12
Dosage des pesticides sériques.....	12
Dosage des lipides sériques.....	12
2.6 Analyses statistiques.....	13
Plan de sondage et pondérations.....	13
Traitement des données manquantes et censurées à gauche.....	13
Description des niveaux d'imprégnation.....	13
Recherche des déterminants des niveaux d'imprégnation.....	13
Logiciels utilisés.....	14
3. Résultats des analyses descriptives et des déterminants de l'imprégnation chez les adultes....	15
3.1 Description des niveaux des pesticides sériques et leurs métabolites.....	15
3.2 Comparaisons avec des études françaises et internationales.....	20
A la date de ce rapport, il n'a pas été retrouvé dans la littérature, d'études d'imprégnation ; en France ou à l'international, menées dans des échantillons représentatifs de population ayant mesuré les pesticides présentés ici.....	20
3.3 Déterminants de l'imprégnation par le bromoxynil chez les adultes.....	20
4. Valeurs de référence d'exposition au bromoxynil, à partir des résultats de l'étude Esteban.....	23
4.1 Méthodologie.....	23
4.2 Valeurs de références à partir des données de l'étude Esteban.....	23
5. Discussion/Conclusion.....	24
Références bibliographiques.....	25
Annexe 1 / Liste des variables testées dans le modèle multivarié.....	26

INTRODUCTION

Les pesticides analysés dans ce rapport sont issus de la priorisation qui avait été définie pour l'élaboration du programme national de biosurveillance (1). L'évaluation de l'exposition de la population à ces substances s'est faite par le biais d'un prélèvement de sérum car ce sont des pesticides avec des demi-vies plutôt longues (plusieurs jours à plusieurs mois) sauf la carbendazime pour laquelle il existe peu de données.

Leurs dosages ont fait l'objet de plusieurs appels d'offres : appel d'offres ouvert en 2015 et une deuxième publication en 2016. Ces procédures ont été déclarées infructueuses faute de candidats en raison de la complexité de ces dosages et des développements nécessaires. Un contrat de recherche et développement (CRD) a donc été mis en place entre le laboratoire d'étude et de recherche en environnement et santé (Leres) et Santé publique France pour le développement analytique et le dosage de ces substances.

En France, il n'existe pas d'études permettant de disposer de données portant sur les niveaux d'imprégnation en population générale par ces pesticides et peu de données sont disponibles dans la littérature sur les pesticides que l'on souhaitait mesurer : amitraze, fipronil, méthomyl, bromoxynil et carbendazime.

Après un rappel des généralités sur les pesticides sériques mesurés ici, ce document présente la méthode utilisée pour la collecte des données et leur analyse, puis les résultats descriptifs des niveaux d'imprégnation mesurés dans le cadre de l'étude Esteban, ainsi que l'analyse des déterminants de l'exposition au bromoxynil.

1. GÉNÉRALITÉS SUR LES PESTICIDES SÉRIQUES

1.1 Caractérisation, utilisation et réglementation

Les pesticides relèvent de quatre réglementations européennes distinctes en fonction de l'usage auquel ils sont destinés. On distingue :

- Les substances et produits phytopharmaceutiques (règlement (CE) n° 1107/2009) utilisés principalement par les professionnels du secteur agricole, par les professionnels chargés de l'entretien des espaces verts et les jardiniers amateurs ;
- Certaines substances et certains produits biocides (règlement (CE) n° 528/2012) utilisés dans les secteurs professionnels ou dans le cadre d'utilisations domestiques ;
- Les antiparasitaires à usage humain (directive n° 2004/27/CE) destinés au traitement des parasitoses externes humaines ;
- Les antiparasitaires à usage vétérinaire (directive n° 2004/28/CE) destinés au traitement des parasitoses externes des animaux domestiques et de rente.

L'amtiraze est un acaricide et insecticide qui appartient à la famille chimique des formamidines. Il n'est plus approuvé au titre du règlement n° 1107/2009 depuis le 17 février 2004. À ce jour, en France, aucune préparation commerciale contenant de l'amtiraze ne dispose d'une autorisation de mise sur le marché (AMM) pour les produits phytopharmaceutiques. Il n'est autorisé dans aucun type de produits biocides. Concernant les médicaments vétérinaires, plusieurs produits contenant de l'amtiraze disposent d'une AMM. Il s'agit d'antiparasitaires, délivrables uniquement sur ordonnance. L'amtiraze est très utilisé dans le monde sur des animaux à sang chaud pour prévenir et traiter les infestations par les parasites externes (gales, poux, tiques et mélophages) des chiens et des animaux de rente (bovins, ovins, caprins et porcins). Il est aussi parfois utilisé chez des animaux à sang froid comme chez l'abeille domestique dans les ruches par les apiculteurs pour protéger contre le varroa, ce qui explique qu'on puisse le détecter dans les ruches, dans le miel et dans la cire des rayons (2).

Le bromoxynil, 3,5-dibromo-4-hydroxybenzonnitrile ou 4-hydroxy-3,5-dibromobenzonnitrile est une substance active de produit phytopharmaceutique, qui présente un effet herbicide, et qui appartient à la famille chimique des hydroxy-benzonnitriles. Sur le plan de la réglementation des produits phytopharmaceutiques, au niveau de l'Union européenne, l'approbation a expiré au 31 juillet 2021. En effet, l'Autorité européenne de sécurité des aliments (EFSA) a considéré que le bromoxynil jusqu'alors classé en tant que substance toxique pour la reproduction de catégorie 2, devrait être classé comme toxique pour la reproduction de catégorie 1B¹. Dans ses conclusions, l'EFSA a précisé que l'exposition non alimentaire au bromoxynil ne peut pas être considérée comme négligeable et a fait état de l'existence, pour les enfants résidents, d'un risque lié aux utilisations représentatives du bromoxynil, même en tenant compte des mesures d'atténuation disponibles².

Le fipronil est un insecticide appartenant à la famille des phénylpyrazoles dont l'approbation au titre du règlement n° 1107/2009 a été retirée le 30 septembre 2017. Il était utilisé dans le traitement de certaines semences. Aucun usage phytopharmaceutique n'est plus autorisé pour le fipronil. Il est autorisé en usage biocide en tant qu'insecticide, acaricide et contre les autres arthropodes mais il n'est autorisé pour aucun autre usage biocide. Il s'agit de produits destinés à lutter contre les fourmis, les blattes/cafards ou les termites, destinés au grand public et aux professionnels. En France,

¹ Règlement d'exécution (UE) n° 2020/1276 du 11/09/20 portant sur le non-renouvellement de l'approbation de la substance active « bromoxynil », conformément au règlement (CE) n° 1107/2009 du Parlement européen et du Conseil concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques, et modifiant l'annexe du règlement d'exécution (UE) n° 540/2011 de la Commission.

² EFSA (Autorité européenne de sécurité des aliments), 2018, Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for the active substance bromoxynil in light of negligible exposure data submitted. EFSA Journal 2018 ; 16 (12) : 5490, 15 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2018.5490>

certains médicaments vétérinaires disposent d'une autorisation de mise sur le marché (AMM) valide contenant du fipronil. Il s'agit de traitements antiparasitaires externes à usage topique destinés à traiter les chats, les chiens et les furets (3, 4).

Le méthomyl est une substance active insecticide de la famille des carbamates. Il fut introduit en 1966, mais son utilisation a été restreinte à cause de sa toxicité élevée chez l'homme. Il était utilisé principalement sur les cultures de luzerne pour l'alimentation animale, sur une grande variété de cultures ainsi que pour le contrôle des mouches du bétail et en bâtiments d'élevage. L'utilisation du méthomyl est interdite dans l'Union européenne depuis le 21 février 2009. En revanche, en France, il n'est plus autorisé pour des usages phytosanitaires depuis le 31 décembre 2008.

La carbendazime appartient à la famille des benzimidazoles (5). La carbendazime est utilisée au niveau mondial depuis 1974 comme biocide et comme fongicide en cultures fruitières et légumières, grandes cultures et vignes (INRS 2009; Tomlin 2006). La carbendazime a été utilisée comme fongicide dans les produits phytopharmaceutiques et comme biocide dans différents types de produits à usage non agricole. Au niveau de l'Union européenne, des restrictions et des conditions d'emploi ont été établies pour la carbendazime dans les produits à usage agricole. En France, la distribution des spécialités phytopharmaceutiques renfermant de la carbendazime (qui étaient réservées à un usage professionnel) est interdite depuis le 31 décembre 2008 et leur utilisation n'a plus été autorisée au-delà du 31 décembre 2009. La carbendazime est interdit dans l'Union européenne par le règlement (CE) no 1107/2009 du 21 octobre 2009 concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques. L'utilisation de la carbendazime en tant que substance active dans les produits biocides de catégorie 9 (produits de protection des fibres, du cuir, du caoutchouc et des matériaux polymérisés) n'est plus autorisée depuis le 22 novembre 2019 (6).

1.2 Exposition alimentaire de la population aux pesticides sériques

L'exposition de la population générale à la carbendazime ou au méthomyl provient principalement de l'alimentation (5).

La carbendazime était très peu quantifiée (0,7%) dans les échantillons alimentaires analysés dans l'enquête alimentation totale 2 (EAT 2). Elle était quantifiée dans seulement 8 échantillons de pommes, poires, raisins, fraises et eau du robinet. Chez les adultes comme chez les enfants, les fruits constituent les contributeurs majoritaires à l'exposition (7).

Le méthomyl n'a pas été détecté dans 99,8% des échantillons analysés dans EAT 2. Deux échantillons seulement (poire et raisin blanc frais) contenaient des résidus non quantifiés. Chez les adultes comme chez les enfants, les fruits constituent les seuls contributeurs ou les contributeurs majoritaires de l'exposition selon les scénarios retenus (7).

Les autres pesticides sériques mentionnés dans ce rapport n'ont pas été dosés dans les études EAT1 et EAT2.

1.3 Mesure et interprétation des niveaux sériques des pesticides mesurés

À la suite d'un examen de la littérature scientifique effectué par le Leres, il a été décidé de développer la méthode de dosage pour certains métabolites connus du fipronil, de l'amitrazé et de la carbendazime (tableau 1). Par contre, l'amitrazé n'a pas pu être intégré à la méthode analytique développée, principalement pour deux raisons :

- l'amitrazé est très instable, même en solution dans un solvant organique, même en ajoutant un peu d'acide comme préconisé dans la littérature ;
- l'amitrazé se dégrade lors de la première étape du protocole d'analyse, à savoir l'étape de dénaturation des protéines (ajout d'acide formique).

Il avait donc été décidé de développer une méthode analytique pour doser notamment les métabolites (non spécifiques) de l'amitrazé : 2,4-diméthylaniline (DMA), N,N-diméthylformamide (DMF) et N-(2,4-diméthylphényl)-formamide (DPMF).

Tableau 1. Pesticides analysés et leurs métabolites

Pesticides (numéro CAS)	Métabolites (numéro CAS)
Carbendazime (10605-21-7)	2-Aminobenzimidazole (2-AB) (934-32-7)
	Méthyl-5-hydroxy-2-benzimidazole carbamate (5-HBC) (22769-68-2)
Méthomyl (16752-77-5)	
Bromoxynil (1689-84-5)	
Fipronil (120068-37-3)	Fipronil-désulfinyl (205650-65-3)
	Fipronil-sulfone (120068-36-2)
Amitrazé (33089-61-1)	2,4-Diméthylaniline (DMA) (95-68-1)
	N,N-diméthylformamide (DMF) (68-12-2)
	N-(2,4-diméthylphényl)-formamide (DPMF) (60397-77-5)

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 Contexte et objectifs

En France, la loi Grenelle de l'environnement (n° 2009-967 du 3 août 2009) a conduit à l'élaboration d'un programme national de biosurveillance de la population française. Ce programme a été inscrit dans les PNSE 2 et 3 (Plan national Santé Environnement). Ce programme, préparé entre mai 2009 et mars 2010 par un Comité de pilotage mis en place et animé par Santé publique France (ex Institut de veille sanitaire³), reposait sur la mise en place de deux études :

- le volet périnatal effectué au sein de la cohorte Elfe (Étude longitudinale française depuis l'enfance). L'objectif était d'estimer l'exposition des femmes enceintes et de leurs enfants *in utero* à certains polluants présents dans l'environnement ;
- l'étude nationale transversale en population générale nommée Esteban (Étude de santé sur l'environnement, la biosurveillance, l'activité physique et la nutrition) conçue pour estimer l'exposition de la population à diverses substances de l'environnement (y compris dans l'alimentation) et pour améliorer la compréhension des déterminants de l'exposition.

Les objectifs du volet environnemental de l'étude Esteban concernant les pesticides décrits dans ce rapport étaient les suivants :

- Décrire les niveaux d'imprégnation par l'amtiraze, le fipronil, le méthomyl, le bromoxynil et la carbendazime de la population française continentale, mesurés à partir de prélèvements de sérum recueillis, et établir des valeurs de référence ;
- Analyser les déterminants des niveaux d'imprégnation du bromoxynil de la population générale adulte.

2.2 Population

Les inclusions des participants se sont déroulées entre avril 2014 et mars 2016, au cours de quatre vagues successives, de durées égales, afin d'équilibrer les inclusions en fonction de la saisonnalité des expositions environnementales et de l'alimentation. La population cible de l'étude Esteban était constituée de l'ensemble des personnes résidant en France continentale âgées de 6 à 74 ans et vivant dans un ménage ordinaire sur la période d'étude.

Pour être éligibles, les individus devaient résider au moins quatre jours par semaine dans leur résidence habituelle, maîtriser suffisamment la langue française, ne pas déménager en dehors des zones géographiques couvertes au cours de la période d'étude et ne pas souffrir d'une pathologie rendant impossible la réalisation de l'étude (alimentation artificielle entérale ou parentérale, contre-indication à un prélèvement sanguin).

Le dosage des pesticides sériques présentés dans ce rapport a été réalisé sur un sous-échantillon aléatoire de 1 000 adultes de la population vivant en France, chez lesquels la quantité de matrice sérique était suffisante pour la réalisation du dosage.

2.3 Recueil des données

Les données relatives aux trois grands thèmes étudiés dans Esteban ont principalement été recueillies par questionnaires (renseignés en face à face avec un enquêteur se rendant au domicile

³ Réunissant la Direction générale de la Santé, la Direction générale de la prévention des risques, la Direction générale du Travail, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments et l'Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail aujourd'hui regroupées au sein de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail, Anses

des participants et par auto-questionnaires papier ou internet selon le choix des participants). Des informations plus détaillées sur l'ensemble des données recueillies et sur les aspects opérationnels de la réalisation de l'étude Esteban sont disponibles dans un article décrivant le protocole de l'étude (1).

Des données démographiques, socio-économiques, sur l'alimentation, l'activité physique, la sédentarité, l'environnement résidentiel et professionnel, la santé générale et la consommation de soins ont été recueillies à travers la passation de différents questionnaires. D'autre part, l'ensemble des mesures et des prélèvements biologiques (sang veineux, urines, mèche de cheveux) ont été effectués dans le cadre d'un examen de santé. Pour se faire, Santé publique France s'est appuyé sur le réseau des centres d'examen de santé de l'Assurance maladie (CES). Pour les enfants et les adultes qui en avaient exprimé le choix, l'examen de santé était effectué à domicile, avec la venue d'un infirmier diplômé d'État (IDE). Les traitements immédiats des prélèvements biologiques ont été réalisés dans les laboratoires d'analyses rattachés aux CES.

2.4 Collecte et traitement des échantillons biologiques sanguins

Lors de l'examen de santé, le sang veineux était recueilli sur tube sec sans gel séparateur mais avec un activateur de coagulation. Le délai entre les prélèvements et le traitement des tubes (dosages et aliquotage) ne devait pas dépasser quatre heures si la centrifugation des tubes de sang n'avait pas été effectuée dans les deux heures après le prélèvement. Lorsque l'examen de santé était réalisé à domicile, les infirmiers conservaient les tubes de prélèvement dans des glacières contenant des blocs réfrigérants (sans contact direct avec les tubes), permettant leur transport jusqu'aux laboratoires. Les tubes secs ont été laissés à coaguler pendant trente minutes et conservés à l'abri de la lumière (en vue des dosages nutritionnels ultérieurs). Un relevé de température a été effectué à l'arrivée des prélèvements aux laboratoires pour prendre en compte la température lors du transport des prélèvements. L'intégralité des tubes de prélèvement ont été conservés au laboratoire à une température comprise entre +4°C et +10°C dans l'attente des traitements nécessaires (dosages biologiques immédiats, centrifugation et aliquotage des matrices en plus petits volumes et cryoconservation). La centrifugation a été réalisée à 2 500 g pendant 15 minutes environ. Pour la réalisation du dosage des composés perfluorés, le sérum obtenu après centrifugation a été aliquoté en cryotube en polypropylène (PP) de haute densité en petits volumes.

L'ensemble des échantillons biologiques en provenance des laboratoires ont été transportés par camion réfrigéré au Centre de ressources biologiques (CRB) de l'hôpital Bretonneau au CHU de Tours afin d'y être conservés dans des congélateurs à -80°C. Un transport des échantillons des laboratoires vers le CRB était organisé de façon régulière tout au long de la phase de collecte. Une fiche de suivi et de traçabilité des prélèvements renseignée aux différentes étapes avait permis de connaître les conditions de prélèvement, de traitement et de stockage des échantillons de chaque participant et de prendre en compte les écarts ou anomalies observés.

Dans le cadre de cette étude, 1 000 échantillons de sérum d'adultes ont été mis à la disposition du Leres pour la réalisation des dosages des pesticides et des lipides sériques. Les dosages ont été réalisés en 2021. Ces échantillons ont été transportés congelés entre -80°C et -60°C, vers le laboratoire de dosage. Le temps de transport des échantillons de la bibliothèque vers le laboratoire était inférieur à 24 heures. Les échantillons ont été conservés au sein du laboratoire à l'abri de la lumière et à une température de -80°C. Le laboratoire a respecté les procédures décrivant les conditions de mise en œuvre pour assurer la conservation des échantillons selon les directives reconnues au plan international et, également, en cas de panne (alarmes, groupe de secours, etc.).

2.5 Dosage des pesticides et des lipides sériques

Dosage des pesticides sériques

Le laboratoire d'étude et de recherche en environnement et santé (Leres) disposait d'un volume de 5 mL de sérum pour le dosage des pesticides sériques conditionné dans des tubes en polypropylène et conservés à - 80°C avant le dosage.

La méthode de dosage comprenait une étape de dénaturation des protéines suivie d'une étape d'extraction sur phase solide puis d'une étape d'analyse de l'extrait organique par chromatographie en phase liquide ultra haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem (UHPLC/MS/MS).

Les limites de quantification (LOQ) étaient déterminées selon la norme NF T90-210 par validation d'une LOQ choisie (tableau 1).

La courbe de calibration a été réalisée grâce à 5 points de concentration (minimum) et vérifiée tous les 100 échantillons. Un « blanc méthode » a été analysé tous les 10 échantillons pour garantir la non-contamination du circuit analytique. Des contrôles de qualité internes (CQI) en matrice ont été dosés au cours des séries analytiques sur plusieurs niveaux de concentration pour établir des cartes de contrôle et satisfaire aux critères de Westgard. Les calculs d'incertitude ($k=2$) ont été réalisés sur plusieurs niveaux de concentration (proche LOQ, moyen et élevé) et étaient compris entre 20 et 40%. La justesse et la fidélité intermédiaire étaient de l'ordre de 20%.

Une fois les développements analytiques réalisés, une première série d'analyses a permis de consolider la liste des métabolites et substances dont les résultats pourront être interprétés. Le dosage du métabolite 2-AB de la carbendazime a été abandonné car les rendements d'extraction obtenus étaient insuffisants ainsi que celui des métabolites de l'amitrazé en raison de mauvaises performances analytiques (DMF), d'incertitudes de mesure élevées (DPMF) ou d'un effet matrice important et d'une justesse insuffisante (DMA).

Finalement, il a donc été décidé de présenter les résultats du 5-HBC (métabolite de la carbendazime), du méthomyl, du bromoxynil, du fipronil et de ses deux métabolites : fipronil-désulfinyl et fipronil-sulfone.

Tableau 2. Limites de détection (LOD) et de quantification (LOQ) atteintes pour les dosages des divers pesticides sériques (en ng. L⁻¹)

	LOD (ng. L ⁻¹)	LOQ (ng. L ⁻¹)
Bromoxynil	25	50
Fipronil	5	10
Fipronil-désulfinyl	2,5	5
Fipronil-sulfone	25	50
Méthomyl	25	50
5-HBC	10	20

Dosage des lipides sériques

Le dosage des lipides sériques était réalisé sur une fraction de l'échantillon de sérum transmis au laboratoire (environ 0,5 mL). L'analyse concernait les quatre paramètres lipidiques permettant le calcul des lipides totaux (TL) : cholestérol total (TC), cholestérol non-estérifié (FC), triglycérides (TG) et phospholipides (PL). Le dosage des lipides était réalisé par méthode enzymatique, conformément au protocole présenté dans la publication d'Akins JR en 1989 (8). Le dosage était effectué indépendamment de la préparation de l'échantillon pour le dosage des pesticides sériques.

Les lipides totaux ont été calculés selon l'équation : $TL = 1,677*(TC-FC) + FC + TG + PL$ (8).

2.6 Analyses statistiques

Plan de sondage et pondérations

Le plan de sondage de l'étude Esteban est un plan de sondage stratifié à trois degrés. Au premier degré, un échantillon stratifié d'unités primaires (communes ou regroupements de communes) a été tiré au sort. Au deuxième degré, dans chaque unité primaire, des ménages ont été tirés au sort par échantillonnage téléphonique. La stratification a été réalisée en fonction de deux variables : la région (8 zones géographiques) et le degré d'urbanisation (5 strates : rural ; < 20 000 habitants ; 20 000 – 100 000 habitants ; > 100 000 habitants, Paris et région parisienne). Le plan d'échantillonnage est décrit de façon détaillée dans l'article du protocole de l'étude (1).

Le dosage des pesticides sériques a été réalisé sur un sous-échantillon aléatoire de sujets parmi les individus qui avaient accepté de participer au volet biologique de l'étude et disposaient d'une quantité de sérum suffisante en biothèque pour permettre l'analyse biologique.

Le processus de calcul des pondérations a été effectué en trois étapes. La première étape a consisté à établir des pondérations initiales dues au plan de sondage. En second lieu, les poids ont été ajustés par rapport à la non-réponse totale. Cette étape a été réalisée en utilisant la méthode des scores, méthode basée sur le principe des groupes de réponse homogènes et faisant appel à des informations disponibles à la fois pour les répondants et les non-répondants (9). Enfin, un calage a été effectué en utilisant les marges issues du recensement permettant à la population d'étude d'être comparable avec la population source selon certains critères (âge, sexe, niveau de diplôme, etc.).

Traitement des données manquantes et censurées à gauche

Les données manquantes des variables issues des différents questionnaires et les valeurs censurées à gauche des biomarqueurs (niveaux biologiques inférieurs à la LOD ou LOQ) ont été imputées en utilisant la méthode d'imputation multiple par équations chaînées. Cette méthode est très flexible, permettant à la fois d'imputer des variables quantitatives, qualitatives et censurées. Elle est implémentée dans le package ICE de Stata (10). Les valeurs imputées ne pouvant pas être traitées comme des données réelles mesurées, le processus d'imputation a été répété une dizaine de fois afin d'obtenir des jeux de données complets. Ces derniers ont été analysés séparément et les résultats ont été combinés afin de tenir compte de l'incertitude liée aux données imputées (11).

Description des niveaux d'imprégnation

La distribution des niveaux d'imprégnation est décrite sous forme de percentiles (10, 25, 50, 75, 90 et 95) et d'une moyenne géométrique (MG), avec les intervalles de confiance à 95% pour la moyenne géométrique et le percentile 95 (P95). Les résultats sont présentés pour la population totale, par sexe et par tranche d'âge. L'ensemble des analyses chez les adultes et chez les enfants prend en compte le plan de sondage de l'étude. La distribution des niveaux d'imprégnation est présentée pour l'ensemble des métabolites ou substances à la fois en ng. L⁻¹ et en ng. g⁻¹ de lipides. Les moyennes géométriques des métabolites ou des substances n'étaient pas calculées lorsque le pourcentage de quantification de ces métabolites ou substances était inférieur à 60%.

Recherche des déterminants des niveaux d'imprégnation

L'étude des déterminants de l'imprégnation par le bromoxynil a été réalisée à partir d'un modèle linéaire généralisé (GLM) prenant en compte le plan de sondage de l'étude. Les concentrations du bromoxynil en ng. g⁻¹ de lipides ont été log-transformées afin de favoriser la normalité des résidus du modèle. L'étude des déterminants a été réalisée à partir des concentrations exprimées en ng. g⁻¹ de lipides du fait de la lipophilie modérée de cette substance (coefficient de partage octanol-eau : 1,04 à pH 7, 1,31 à pH 2). Un modèle a été construit uniquement pour le bromoxynil car son pourcentage de quantification était supérieur à 60%.

Certains facteurs de risque et d'ajustement ont été sélectionnés a priori au vu de la littérature sur les facteurs influençant les niveaux d'imprégnation par le bromoxynil. D'autres facteurs d'exposition ont été sélectionnés lors de la modélisation en se basant sur le critère d'information d'Akaike (AIC). La forme de la relation entre les niveaux d'imprégnation par le bromoxynil et les facteurs de risque et d'ajustement quantitatifs a été ajustée en utilisant des fonctions splines. La colinéarité entre les facteurs inclus dans le modèle, l'homoscédasticité et la normalité des résidus ont été examinées. Pour étudier la robustesse des résultats, en particulier l'effet des valeurs extrêmes des niveaux d'imprégnation par le bromoxynil, une analyse de sensibilité a été effectuée en excluant de l'analyse les individus ayant des valeurs extrêmes (99e percentile).

L'estimation des paramètres du modèle final a été réalisée sur 10 jeux de données imputées. Les résultats sont présentés sous forme de pourcentage de variation des concentrations de bromoxynil :

- associé à une augmentation interquartile des facteurs de risque quantitatifs ;
- par rapport à une référence pour les facteurs d'exposition qualitatifs.

Les variables testées dans le modèle construit pour les adultes sont listées en annexe 1.

Logiciels utilisés

Les analyses statistiques ont été réalisées avec la version 14 de Stata (12) et la version R 3.4.0 (13) qui, via le package (Survey), permet l'analyse des données issues d'un plan de sondage complexe.

3. RÉSULTATS DES ANALYSES DESCRIPTIVES ET DES DÉTERMINANTS DE L'IMPRÉGNATION CHEZ LES ADULTES

3.1 Description des niveaux des pesticides sériques et leurs métabolites

Les concentrations sériques des pesticides et leurs métabolites dans Esteban ont été mesurées sur un sous échantillon aléatoire de 1 000 adultes, inclus dans l'étude entre avril 2014 et mars 2016.

Les distributions de ces substances et métabolites, respectivement en ng. L⁻¹ et en ng. g⁻¹ de lipides, sont présentées dans les tableaux 3 et 4. Seul le bromoxynil était quantifié dans tous les échantillons analysés. Le 5-HBC (0,04%) et le méthomyl (0%) étaient très peu ou pas du tout quantifiés. Concernant le fipronil, c'est le métabolite fipronil-sulfone qui était le plus quantifié (53,4%).

La concentration sérique moyenne (MG) des adultes en bromoxynil était égale à 324 ng. L⁻¹ (54 ng. g⁻¹ de lipides) et le 95^e percentile à 710 ng. L⁻¹ (130 ng. g⁻¹ de lipides).

Les valeurs des moyennes géométriques et des percentiles 95 étaient similaires chez les femmes et chez les hommes et selon les classes d'âge.

Caractéristiques des participants présentant les niveaux d'imprégnation les plus élevés

Au total, 9 adultes présentaient des niveaux de bromoxynil supérieurs à 1 638 ng. L⁻¹ (P99 de la distribution). L'exploration des caractéristiques de ces 9 adultes les plus imprégnés par le bromoxynil montrait que tous sauf un consommaient des légumes provenant de leur jardin une fois par semaine ou plus. Sept utilisaient des pesticides dans leur potager et 7 habitaient également à moins de 200 mètres de cultures.

Tableau 3. Distribution des concentrations sériques des pesticides et leurs métabolites (ng. L⁻¹) des adultes de 18 à 74 ans en France continentale (2014-2016)

Biomarqueurs (% > LOQ)	N	MG	IC 95 % MG	P10	P25	P50	P75	P90	P95	IC 95 % P95
Bromoxynil (100 %)										
Total (18-74 ans)	1 000	324	[310 ; 339]	185	236	319	413	569	710	[636 ; 839]
Âge (ans)										
[18-44]	318	316	[298 ; 335]	187	235	321	402	531	628	[563 ; 672]
[45-59]	354	328	[305 ; 354]	188	239	314	416	597	867	[636 ; 1040]
[60-74]	328	336	[303 ; 372]	175	227	320	447	598	833	[609 ; 1295]
Sexe										
Homme	435	336	[315 ; 358]	180	235	332	439	613	773	[654 ; 954]
Femme	565	314	[295 ; 335]	188	236	307	387	528	646	[565 ; 802]
Fipronil (6,5 %)										
Total (18-74 ans)	1 000	NC	NC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	16,2	[9,6 ; 25,3]
Âge (ans)										
[18-44]	318	NC	NC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	18,2	[5,9 ; 31,3]
[45-59]	354	NC	NC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	23,6	[13,3 ; 55,8]
[60-74]	328	NC	NC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	[4,9 ; 11,1]
Sexe										
Homme	435	NC	NC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	18,8	[10,7 ; 25,6]
Femme	565	NC	NC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	13,4	[7,0 ; 30,8]
Fipronil désulfinyli (17,1 %)										
Total (18-74 ans)	1 000	NC	NC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	7,3	11,1	[9,3 ; 14,0]
Âge (ans)										
[18-44]	318	NC	NC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	5,7	10,1	[6,5 ; 13,4]
[45-59]	354	NC	NC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	8,4	17,6	[9,2 ; 40,1]
[60-74]	328	NC	NC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	7,7	10,5	[8,3 ; 12,3]
Sexe										
Homme	435	NC	NC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	7,5	11,9	[9,0 ; 19,7]
Femme	565	NC	NC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	7,1	11,0	[8,6 ; 15,1]

Fipronil sulfone (53,4 %)											
Total (18-74 ans)	1 000	NC	NC	< LOQ	< LOQ	58,9	177,8	568,6	976,0	[757,2 ; 1352,8]	
Âge (ans)											
[18-44]	318	NC	NC	< LOQ	< LOQ	< LOQ	149,1	399,1	678,4	[458,6 ; 1087,5]	
[45-59]	354	NC	NC	< LOQ	< LOQ	80,7	261,1	789,3	1433,8	[942,9 ; 2775,0]	
[60-74]	328	NC	NC	< LOQ	< LOQ	60,7	182,6	600,2	895,5	[684,0 ; 1072,1]	
Sexe											
Homme	435	NC	NC	< LOQ	< LOQ	55,6	170,1	507,9	863,5	[589,6 ; 1468,0]	
Femme	565	NC	NC	< LOQ	< LOQ	63,2	186,1	644,7	1035,2	[798,4 ; 1459,6]	
Méthomyl (0 %)											
Total (18-74 ans)	1 000	NC	NC	< LOQ	NC						
Âge (ans)											
[18-44]	318	NC	NC	< LOQ	NC						
[45-59]	354	NC	NC	< LOQ	NC						
[60-74]	328	NC	NC	< LOQ	NC						
Sexe											
Homme	435	NC	NC	< LOQ	NC						
Femme	565	NC	NC	< LOQ	NC						
5-HBC (0,04 %)											
Total (18-74 ans)	1 000	NC	NC	< LOQ	NC						
Âge (ans)											
[18-44]	318	NC	NC	< LOQ	NC						
[45-59]	354	NC	NC	< LOQ	NC						
[60-74]	328	NC	NC	< LOQ	NC						
Sexe											
Homme	435	NC	NC	< LOQ	NC						
Femme	565	NC	NC	< LOQ	NC						

Bromoxynil : LOD = 25 ng. L⁻¹ ; LOQ = 50 ng. L⁻¹ ; fipronil : LOD = 5 ng. L⁻¹ ; LOQ = 10 ng. L⁻¹ ; fipronil-désulfinyl : LOD = 2,5 ng. L⁻¹ ; LOQ = 5 ng. L⁻¹ ; fipronil-sulfone : LOD = 25 ng. L⁻¹ ; LOQ = 50 ng. L⁻¹ ; méthomyl : LOD = 25 ng. L⁻¹ ; LOQ = 50 ng. L⁻¹ ; 5-HBC : LOD = 10 ng. L⁻¹ ; LOQ = 20 ng. L⁻¹ ; NC = non calculé car le pourcentage de quantification était inférieur à 60%

Tableau 4. Distribution des concentrations sériques des pesticides et leurs métabolites (ng. g⁻¹ de lipides) des adultes de 18 à 74 ans en France continentale (2014-2016)

Biomarqueurs ** (% > LOQ)	N	MG	IC 95 % MG	P10	P25	P50	P75	P90	P95	IC 95 % P95
Bromoxynil (100 %)										
Total (18-74 ans)	1 000	54	[51 ; 57]	29	37	53	71	106	130	[120 ; 143]
Âge (ans)										
[18-44]	318	56	[53 ; 59]	31	40	57	72	107	124	[112 ; 128]
[45-59]	354	52	[48 ; 57]	28	36	50	68	100	153	[110 ; 227]
[60-74]	328	53	[48 ; 59]	27	35	51	72	105	134	[107 ; 183]
Sexe										
Homme	435	56	[52 ; 60]	28	37	55	75	111	136	[119 ; 162]
Femme	565	52	[49 ; 56]	30	37	51	68	97	125	[106 ; 142]
Fipronil (6,5 %)										
Total (18-74 ans)	1 000	NC	NC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2,6	[1,5 ; 3,9]
Âge (ans)										
[18-44]	318	NC	NC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2,8	[1,1 ; 5,6]
[45-59]	354	NC	NC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	4,0	[1,7 ; 9,6]
[60-74]	328	NC	NC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	[0,8 ; 2,2]
Sexe										
Homme	435	NC	NC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2,9	[1,5 ; 4,2]
Femme	565	NC	NC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2,4	[1,2 ; 4,7]
Fipronil désulfinyli (17,1 %)										
Total (18-74 ans)	1 000	NC	NC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1,3	2,0	[1,6 ; 2,7]
Âge (ans)										
[18-44]	318	NC	NC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1,0	1,9	[1,4 ; 2,5]
[45-59]	354	NC	NC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1,4	3,1	[1,6 ; 6,6]
[60-74]	328	NC	NC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1,3	1,9	[1,4 ; 2,3]
Sexe										
Homme	435	NC	NC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1,3	2,2	[1,6 ; 3,6]
Femme	565	NC	NC	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1,2	1,9	[1,5 ; 2,4]

Fipronil sulfone (53,4 %)											
Total (18-74 ans)	1 000	NC	NC	<LOQ	<LOQ	9,6	30,4	100,5	157,5	[128,1 ; 219,4]	
Âge (ans)											
[18-44]	318	NC	NC	<LOQ	<LOQ	8,6	25,6	77,1	124,1	[89,7 ; 197,5]	
[45-59]	354	NC	NC	<LOQ	<LOQ	12,6	41,6	130,9	229,2	[139,9 ; 407,3]	
[60-74]	328	NC	NC	<LOQ	<LOQ	9,6	29,1	102,2	144,0	[114,1 ; 205,4]	
Sexe											
Homme	435	NC	NC	<LOQ	<LOQ	9,1	29,2	87,7	144,9	[105,4 ; 249,6]	
Femme	565	NC	NC	<LOQ	<LOQ	10,3	31,3	112,9	168,9	[133,3 ; 254,6]	
Méthomyl (0 %)											
Total (18-74 ans)	1 000	NC	NC	< LOQ	NC						
Âge (ans)											
[18-44]	318	NC	NC	< LOQ	NC						
[45-59]	354	NC	NC	< LOQ	NC						
[60-74]	328	NC	NC	< LOQ	NC						
Sexe											
Homme	435	NC	NC	< LOQ	NC						
Femme	565	NC	NC	< LOQ	NC						
5-HBC (0,04 %)											
Total (18-74 ans)	1 000	NC	NC	< LOQ	NC						
Âge (ans)											
[18-44]	318	NC	NC	< LOQ	NC						
[45-59]	354	NC	NC	< LOQ	NC						
[60-74]	328	NC	NC	< LOQ	NC						
Sexe											
Homme	435	NC	NC	< LOQ	NC						
Femme	565	NC	NC	< LOQ	NC						

Bromoxynil : LOD = 25 ng. L⁻¹ ; LOQ = 50 ng. L⁻¹ ; fipronil : LOD = 5 ng. L⁻¹ ; LOQ = 10 ng. L⁻¹ ; fipronil-désulfinyl : LOD = 2,5 ng. L⁻¹ ; LOQ = 5 ng. L⁻¹ ; fipronil-sulfone : LOD = 25 ng. L⁻¹ ; LOQ = 50 ng. L⁻¹ ; méthomyl : LOD = 25 ng. L⁻¹ ; LOQ = 50 ng. L⁻¹ ; 5-HBC : LOD = 10 ng. L⁻¹ ; LOQ = 20 ng. L⁻¹ ; NC = non calculé car le pourcentage de quantification était inférieur à 60%

3.2 Comparaisons avec des études françaises et internationales

À la date de ce rapport, il n'a pas été retrouvé dans la littérature d'études d'imprégnation, en France ou à l'international, menées en population générale adulte ayant mesuré les pesticides présentés ici.

3.3 Déterminants de l'imprégnation par le bromoxynil chez les adultes

La recherche des déterminants de l'exposition au bromoxynil chez les adultes âgés de 18 à 74 ans en France continentale a permis de mettre en évidence des associations entre l'imprégnation, l'environnement résidentiel, la saison de la collecte biologique et l'autoconsommation de légumes (tableaux 5 et 6).

L'environnement résidentiel influençait les concentrations sériques en bromoxynil. Une tendance à l'augmentation des imprégnations était retrouvée avec le fait de résider à moins de 200 mètres d'une culture, ainsi qu'avec le fait de résider dans une ferme ou une maison individuelle par rapport au fait de résider dans un appartement. Le fait d'habiter à moins de 200 mètres d'une voie ferrée augmentait également les concentrations en bromoxynil de presque 20% par rapport à ceux qui habitaient plus loin d'une voie ferrée.

Concernant l'autoconsommation de légumes, les adultes qui consommaient des légumes provenant de leur jardin une fois par semaine ou plus avaient des concentrations sériques en bromoxynil presque 18% plus élevées que ceux qui n'en consommaient jamais ou moins d'une fois par mois.

Enfin, concernant la saison de la collecte biologique, les adultes dont les prélèvements avaient été effectués en été ou en automne avaient des concentrations sériques en bromoxynil plus élevées que ceux prélevés au printemps.

Tableau 5. Déterminants associés aux concentrations en bromoxynil sérique chez les adultes de 18 à 74 ans (variables qualitatives)

Variables qualitatives	N (%)	Bromoxynil	
		% de variation	IC 95 %
Sexe			
Homme	435 (47,9)	-9,9	[-23,6 ; 6,3]
Femme	565 (51,4)	Réf.	
Diplôme*			
Aucun, CEP, BEP, BEPC, CAP, brevet élémentaire, brevet de compagnon	272 (47,3)	Réf.	
Bac technologique, bac général	216 (20,6)	9,5	[-2,6 ; 23,0]
1 ^e cycle	256 (15,3)	0,7	[-10,2 ; 13,0]
2 ^e cycle	256 (16,8)	10,6	[-1,8 ; 24,4]
Enfants présents dans le ménage*			
Oui	304 (34,1)	Réf.	
Non	696 (65,9)	-10,2	[-20,6 ; 1,6]
Type d'habitat			
Une ferme, une maison individuelle	677 (65,0)	Réf.	
Un appartement	320 (35,0)	-10	[-19,5 ; 0,6]
Saison de prélèvement			
Printemps	214 (25,2)	Réf.	
Été	201 (23,6)	19,1	[4,2 ; 36,3]
Automne	329 (26,4)	15,5	[3 ; 29,5]
Hiver	250 (24,7)	4,9	[-9,5 ; 21,5]
Culture présente à moins de 200 mètres autour de l'habitat			
Oui	329 (35,3)	9	[-2,6 ; 21,9]
Non	668 (64,7)	Réf.	
Voie ferrée présente à moins de 200 mètres autour de l'habitation			
Oui	141 (13,7)	19,6	[0,9 ; 41,8]
Non	856 (86,3)	Réf.	
Consommation de légumes provenant du jardin des participants			
Jamais ou moins d'une fois par mois	563 (61,2)	Réf.	
1 à 3 fois par mois	115 (12,4)	5,1	[-9,2 ; 21,7]
1 fois par semaine ou plus	229 (26,4)	17,9	[2,8 ; 35,3]

*variable d'ajustement ; Réf. = Référence ; N = effectif dans l'échantillon ; % dans la population

Tableau 6. Déterminants associés aux concentrations sériques en bromoxynil chez les adultes de 18 à 74 ans (variables quantitatives)

Variables quantitatives	(P25 ;P50 ; P75)	Bromoxynil	
		% de variation	IC 95 %
Âge du participant (années)	37 ; 48 ; 59	-7,5	[-13,7 ; -0,8]
IMC	22,5 ; 25,3 ; 28,7	-4,1	[-10,6 ; 2,9]

4. VALEURS DE RÉFÉRENCE D'EXPOSITION (VRE) AU BROMOXYNIL, À PARTIR DES RÉSULTATS DE L'ÉTUDE ESTEBAN

4.1 Méthodologie

D'une manière générale, la VRE renseigne sur un niveau particulier d'imprégnation de la population générale française (population de référence) au-delà duquel on peut vraisemblablement considérer l'imprégnation comme anormalement élevée. Les VRE ne renseignent pas sur un quelconque effet sanitaire et ne doivent pas être confondues avec les valeurs limites biologiques d'imprégnation. La VRE établie à partir des données d'exposition permet de comparer les résultats mesurés chez un individu ou un sous-groupe de population par rapport à l'imprégnation de la population de référence. Ainsi, il est possible d'identifier des individus surexposés par rapport à la population de référence. En France, les seules VRE existantes pour la population générale sont celles produites à partir des résultats de l'étude ENNS en 2006-2007 (14). L'étude Esteban, réalisée en 2014-2016 permet leur actualisation et fournit pour la première fois des VRE chez les enfants âgés de 6 à 17 ans. La multiplicité des méthodes disponibles pour produire des VRE a conduit Santé publique France à définir et publier une stratégie nationale de production des VRE (15, 16).

La méthode de production des VRE françaises a été inspirée des travaux de la commission allemande de biosurveillance (17). C'est donc la valeur arrondie du percentile 95, comprise dans l'intervalle de confiance à 95%, qui a été choisie.

4.2 Valeurs de références à partir des données de l'étude Esteban

La VRE du bromoxynil a été établie, à partir des données de l'étude Esteban en population générale française. Il ne s'avéra pas nécessaire de construire une valeur de référence en fonction de classes d'âge ou en fonction du genre, du fait d'une absence de différences significatives des niveaux d'imprégnation suivant les critères d'établissement des valeurs de référence d'exposition (chevauchement de leurs intervalles de confiance à 95%). Le tableau 7 présente la VRE établie pour le bromoxynil.

Tableau 7. Valeur de référence d'exposition en population générale française (adultes) à partir des niveaux d'imprégnation sériques en bromoxynil (ng. L⁻¹)

Biomarqueur	Effectif	Classe d'âge	P50	P95	[IC à 95%] P95	VRE ₉₅
Bromoxynil	1 000	18-74 ans	319	710	[636 ; 839]	710

5. DISCUSSION / CONCLUSION

L'étude Esteban a permis, pour la première fois, de décrire la distribution des niveaux de ces pesticides ou métabolites : 5-HBC (métabolite de la carbendazime), méthomyl, bromoxynil, fipronil et ses deux métabolites : fipronil-désulfinyl et fipronil-sulfone chez les adultes âgés de 18 à 74 ans vivant en France continentale.

Des pesticides ou de leurs métabolites sériques analysés dans ce rapport, seul le bromoxynil était quantifié chez tous les adultes ayant participé à l'étude Esteban. Le métabolite du fipronil : fipronil-sulfone était également quantifié dans plus de la moitié de l'échantillon des adultes. Les autres pesticides ou métabolites étaient peu ou pas quantifiés mais n'étaient plus autorisés entre 2014 et 2016 pour un usage phytopharmaceutique. À cette date, par rapport à la réglementation, seuls le bromoxynil et le fipronil étaient encore autorisés pour cet usage. Toutefois, la quantification du bromoxynil chez tous les adultes de l'étude Esteban n'était pas nécessairement attendue. En 2014, environ 1/4 des parcelles de maïs était traitées avec du bromoxynil (7% pour le blé tendre). Celui-ci était peu retrouvé dans les données de surveillance de l'eau, de l'air ou dans les aliments. D'après les données de la Banque nationale des ventes de produits phytopharmaceutiques par les distributeurs agréés (BNVD), les ventes étaient en diminution régulière jusqu'à son interdiction en 2021.

Par rapport à la littérature, il n'a pas été retrouvé d'autres études réalisées sur des échantillons de taille importante permettant de comparer les résultats obtenus dans l'étude Esteban avec ceux d'études menées à l'étranger ou en France.

Les déterminants de l'exposition n'ont pu être recherchés que pour le bromoxynil, seule substance quantifiée à plus de 60% dans ce rapport. Cette recherche a permis de mettre en évidence des associations entre l'imprégnation, l'environnement résidentiel, la saison de prélèvement et l'autoconsommation de légumes.

La répétition du dosage du fipronil et de ses métabolites ainsi que du bromoxynil dans de prochaines études de biosurveillance pourrait permettre d'observer si l'interdiction de ces substances en usage phytopharmaceutique a eu une incidence sur l'évolution des niveaux mesurés dans la population des adultes âgés de 18 à 74 ans et vivant en France métropolitaine par rapport à l'étude Esteban.

Références bibliographiques

1. Balicco AO, A; Szego, E; Boschat, L; Deschamps, V; Saoudi, A; Zeghnoun, A; Fillol, C. Protocole Esteban: une Étude transversale de santé sur l'environnement, la biosurveillance, l'activité physique et la nutrition (2014–2016) [Esteban design: a cross-sectional health survey about environment, biomonitoring, physical activity and nutrition (2014—2016)]. *Toxicol Anal Clin.* 2017;29:517-37.
2. Anses. https://www.anses.fr/fr/system/files/Fiche_PPV_Amitraze.pdf.
3. INRS. https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_286.
4. Anses. https://www.anses.fr/fr/system/files/Fiche_PPV_Fipronil.pdf.
5. OMS. <https://incem.org/documents/ehc/ehc/ehc149.htm>.
6. INRS. https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_214.
7. Anses. 2011b. Étude de l'alimentation totale française 2 (EAT 2). Tome 2 : résidus de pesticides, additifs, acrylamide, hydrocarbures aromatiques polycycliques. Maison Alfort: Anses, 2011.
8. Akins JR, Waldrep K, Bernert JT, Jr. The estimation of total serum lipids by a completely enzymatic 'summation' method. *Clin Chim Acta.* 1989;184(3):219-26.
9. Haziza DB, JF. On the Construction of Imputation Classes in Surveys. *International Statistical Review.* 2007;75, 25-43.
10. Royston P WI. Multiple imputation by chained equations (MICE): Implementation in Stata. *Journal of Statistical Software.* 2011;45:1-20.
11. Little. RR, DB. *Statistical analysis with missing data.* Second edition. Wiley Series in Probability and Statistics. Second edition. New York : Wiley Series in Probability and Statistics; 2002. 408 p.
12. StataCorp. *Stata Statistical Software : Release 14.* College Station, TX: StataCorp LP. 2015.
13. Team. RC. *R: A language and environment for statistical computing.* R Foundation for Statistical Computing. Vienna Australia. 2017.
14. Fréry N GL SA, Garnier R, Zeghnoun A, Bidondo ML. Exposition de la population française aux substances chimiques de l'environnement Tome 2 - Polychlorobiphényles (PCB-NDL) et pesticides. 2013 <https://www.santepubliquefrance.fr/determinants-de-sante/exposition-a-des-substances-chimiques/pesticides/documents/rapport-synthese/exposition-de-la-population-francaise-aux-substances-chimiques-de-l-environnement.-tome-2-polychlorobiphenyles-pcb-ndl.-pesticides>.
15. Rambaud. LF, C. Élaboration de valeurs de référence en population générale à partir d'études avec biomarqueurs. *Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement.* 2016;77:473.
16. Rambaud LS, A; Zeghnoun, A; Dereumeaux, C; Fillol, C. Élaboration de valeurs de références d'exposition à partir de données de biosurveillance. *Santé publique France.* 2017:26 p.
17. Schulz C, Angerer J, Ewers U, Kolossa-Gehring M. The German Human Biomonitoring Commission. *Int J Hyg Environ Health.* 2007;210(3-4):373-82.

Annexe. Liste des variables testées dans le modèle multivarié

Variables

Facteurs d'ajustements

Indice de masse corporelle
Âge
Sexe
Vie en couple du référent
Ressenti de l'état financier
Présence d'au moins un enfant dans le foyer
Statut tabagique
Diplôme
Situation professionnelle actuelle
Statut vis-à-vis du logement

Déterminants

Habitation

Proximité d'une zone de culture
Zone d'habitation
Fréquence d'aération du logement
Type de logement

Habitudes de nettoyage

Fréquence de nettoyage des sols
Fréquence produits d'entretien (cuisine, salle de bain, sols, fenêtre)
Délai depuis la dernière utilisation de produits ménagers

Loisirs

Composition florale, jardinage

Pesticides

Utilisation de pesticides à domicile pour le potager, arbres fruitiers, vignes
Délai depuis la dernière utilisation d'insecticides ou herbicides

Exposition professionnelle

Activité professionnelle (domaine d'activité) passée et actuelle
Exposition sur le lieu de travail actuel (pesticides)

Alimentation

Alimentation en provenance du jardin : fruits, légumes, céréales ou pain complet
Alimentation de provenance biologique : fruits, légumes, céréales ou pain complet
Consommation de pains, céréales et biscottes
Consommation de riz, pâtes, pommes de terre, légumes racines d'autrefois, tuberculeux
Consommation de légumes (tous légumes)
Consommation de tous fruits
Consommation de boissons alcoolisées
Préparation des fruits/légumes

Autres

Type d'eau de boisson consommée
Saison de prélèvement
