



ANALYSE DES RISQUES DE TRANSFERTS DE PRODUITS PHYTOSANITAIRES VERS LE LAIT

Novembre 2009
INSTITUT DE L'ELEVAGE
Achraf ADIB, Sophie BERTRAND

SOMMAIRE

I.	Introduction	8
II.	Définitions et réglementation	9
II.1.	Définitions	9
II.1.1.	Définition légale du lait	9
II.1.2.	Définition de produit phytosanitaire	9
II.1.3.	Définition de résidu	9
II.1.4.	Définition de produit biocide	10
II.1.5.	Définition de Limite Maximale de Résidu	10
II.1.6.	Définition de DJA	10
II.1.7.	Définition de substance active et préparation commerciale	11
	▪ Substance active	11
	▪ Préparation commerciale	11
II.2.	Réglementation	11
II.2.1.	Procédure d'homologation d'une substance phytosanitaire	12
III.	Le lait et les produits phytosanitaires	13
III.1.	Origine de la contamination du lait par les produits phytosanitaires	13
III.2.	Facteurs physico-chimiques favorisant le transfert vers le lait	13
III.2.a.	Capacité de liaison aux protéines	15
III.2.b.	Degré d'ionisation et caractéristiques acido-basiques	16
III.2.c.	Liposolubilité et gradient de concentration	17
III.2.d.	Poids moléculaire	18
III.2.e.	Autres facteurs	18
	▪ Composition du lait	18
	▪ Etat physiologique de la mamelle	18
III.3.	Les molécules attendues dans le lait : caractéristiques et données bibliographiques... ..	19
III.3.A.	Pesticides organochlorés	19
	▪ Caractéristiques	19
	▪ Niveau de contamination : état des connaissances bibliographiques	20
III.3.B.	Pesticides organophosphorés	22
	▪ Caractéristiques	22
	▪ Niveau de contamination : état des connaissances bibliographiques	22
	Expériences de contamination du lait via l'application dans les étables.....	22

Expériences de contamination du lait via l'alimentation.....	23
III.3.C. Carbamates	26
▪ Caractéristiques	26
▪ Niveau de contamination : état des connaissances bibliographiques	26
III.3.D. Pyréthrinoides	27
▪ Caractéristiques	27
▪ Niveau de contamination : état des connaissances bibliographiques.....	27
III.3.E. Strobilurines	28
▪ Caractéristiques	28
▪ Niveau de contamination : état des connaissances bibliographiques	28
III.3.F. Triazoles	28
▪ Caractéristiques	28
▪ Niveau de contamination : état des connaissances bibliographiques	29
III.3.G. S-triazines	29
▪ Caractéristiques	29
❖ Cas de l'Atrazine	29
▪ Devenir de l'Atrazine dans les denrées alimentaires d'origine animale (ex :le lait)	29
▪ Niveau de contamination : état des connaissances bibliographiques	30
III.3.H. Les Aryloxyacides	31
▪ Caractéristiques	31
▪ Niveau de contamination : état des connaissances bibliographiques	32
III.3.I. Les Nitrophénoliques	32
❖ Cas du TCDD	32
▪ Caractéristiques	32
▪ Niveau de contamination : état des connaissances bibliographiques	33
III.3.J. Pesticides de familles diverses	33
❖ Cas du fipronil	33
▪ Caractéristiques	33
▪ Niveau de contamination : état des connaissances bibliographiques	33
❖ Cas du cyprodinyl	35
▪ Caractéristiques	35
▪ Niveau de contamination : état des connaissances bibliographiques	36
IV. Faisabilité analytique	36

IV.1. Objectif.....	36
IV.2. Méthodes d'analyse utilisées	36
✓ Chromatographie gazeuse	38
✓ Chromatographie liquide haute performance (HPLC)	38
V. Evaluation du risque de contamination par les produits phytosanitaires	38
V.1. Etablissement de liste prioritaire	38
V.1.1. Evaluation réaliste de la multi-exposition aux pesticides : Etude AFSSA	39
V.1.2. Etude « Institut de l'élevage-CNIEL	40
Objectif	41
Démarche de travail	41
-Identification du danger	42
-Caractérisation du danger	42
-Evaluation de l'exposition	42
-Caractérisation du risque	44
▪ Méthode de construction de la «liste prioritaire»	44
-Analyse statistique	44
▪ Résultats	45
-Liste de substances actives retenues comme fortement à risque	46
-Liste de substances actives retenues comme moyennement à risque	47
-Liste de substances actives retenues comme faiblement à risque	47
-Liste de substances actives présentant des DJA très faibles	48
VI. Partie expérimentale	49
VI.1. Matériels et méthodes	49
▪ Sélection des exploitations	49
▪ Etablissement de questionnaire	50
▪ Analyse des échantillons	50
VI.2. Résultats	51
VI.3. Discussion	52
VI.4. Les limites rencontrées	52
VII. Limiter les risques liés aux produits phytosanitaires	52
VIII. Conclusion	55
IX. Perspectives	56
Bibliographie	61

Résumé	61
Annexes	62

LISTE DES ABREVIATIONS

2,4-D	Acide 2,4-Dichlorophénoxyacétique
ACM	Analyse des Correspondances Multiples
ACTA	Association de Coordination Technique Agricole
AFSSA	Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments
AFSSE	Agence Française de sécurité sanitaire de l'environnement
AJMT	Apport Journalier Maximum Théorique
C.N.R.S	Centre National de la Recherche Scientifique
CAH	Classification Ascendante Hiérarchique
CNIEL	Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière
D.D.A	Acide 2,2-bis(4-chlorophényl) acétique
D.D.D =T.D.E	TétrachloroDiphénylEthane
D.D.E	Dichloro-Diphényl-Ethylène
D.D.T	Dichloro-Diphényl-Trichloroéthane
D.J.A	Dose Journalière Acceptable
D.S.E	Dose Sans Effet
Da	Dalton
DACT	2-chloro-4,6-amino-s-triazine
DAR	délais avant récolte
DERNS	Direction de l'Evaluation des Risques Nutritionnels et Sanitaires
DGCCRF	Direction Général de la Consommation, de la Concurrence et de la Répression des Fraudes
DiVE	Direction du végétal et de l'environnement
DJA	Dose Journalière Admissible
DL50	Dose Létale 50
EFSA	European Food Safety Authority,
F.A.O	Food and Agriculture Organization
FAO	Food and Agriculture Organization
H.C.H	Hexa-Chloro-Hexane
HR	Highest residues
IFT	Indicateur Fréquence de Traitement
INCA	Enquête Individuelle et Nationale des Consommations Alimentaires
JMPR	Joint FAO/WHO meeting on pesticide residues
K.O.W	Coefficient octanol-eau

L.M.R	Limite Maximale de Résidus
LOD	Limite de Détection
LOQ	Limite de quantification
NOEL	No Observed Effect Level
O.M.S	Organisation Mondiale de la Santé
OMS	Organisation mondiale de la santé
P.C.B	Poly-Chloro-Biphényl
STMR	Supervised Trials Median Residue
T.C.D.D	2,3,7,8-TétraChloroDibenzo- <i>p</i> -dioxine
U.E	Union Européenne
U.H.T	Ultra Haute Température
VTR	Valeur toxicologique de référence
W.H.O	World Health Organization

LISTE DES ILLUSTRATIONS

LISTE DES TABLEAUX :

Tableau. I : Les molécules retrouvées dans le lait	19
Tableau. II : Les variables retenues pour la typologie	37

LISTE DES FIGURES :

Figure.1 : Facteurs régissant l'absorption et le transfert d'une substance dans le lait	08
Figure.2 : Effet de la liaison d'un xénobiotique aux protéines plasmatiques sur son degré de liaison dans le lait	10
Figure.3 : Bilan schématique du devenir de l'Atrazine et de la DACT dans la filière bovine	24
Figure.4 : Démarche générale de l'analyse des risques environnementaux	35
Figure.5 : Méthodologie statistique de la construction d'une liste de substances prioritaires	39
Figure.6 : Répartition géographique des exploitations enquêtées	43
Figure 7 : répartition des familles de produits phytosanitaires utilisées en élevage laitier	45

I / Introduction :

Depuis plusieurs décennies l'emploi des produits phytosanitaires n'a cessé d'augmenter en agriculture. La France est considérée comme étant le premier consommateur européen et le troisième au niveau mondial. Cette augmentation de l'utilisation a certes permis d'accroître les rendements agricoles mais a poussé aussi plusieurs organismes et équipes de recherche à s'intéresser davantage aux effets potentiellement nocifs des résidus de ces substances sur la santé humaine et animale.

En effet, ces résidus sont connus pour la plupart par leur stabilité et leur persistance dans l'environnement, leur solubilité dans les lipides qui leur permettent de s'accumuler dans les organismes vivants et leur aptitude à se concentrer tout au long de la chaîne alimentaire. Leur caractéristiques font d'eux une source d'inquiétudes supplémentaires puisqu'ils sont largement connus comme pouvant présenter un danger pour le consommateur.

C'est pourquoi, plusieurs recherches ont porté sur la surveillance de ces résidus dans les végétaux ou autres denrées alimentaires directement traitées puis consommées par l'homme, mais peu de données sur la contamination des aliments d'origine animale après ingestion d'aliments contaminés sont disponibles actuellement. Cette dernière voie d'exposition implique l'intervention du métabolisme de l'animal, qui peut ou non modifier le produit initialement ingéré conduisant à des métabolites parfois plus toxiques.

C'est pour cette raison que l'Institut de l'Élevage et l'Interprofession Laitière (CNIEL) ont lancé un projet de recherche qui vise à instaurer un plan de surveillance au niveau national afin de détecter d'éventuelles contaminations du lait par ces résidu de produits phytosanitaires.

Aussi, il permet d'anticiper et de prospecter pour mieux connaître la nature des substances utilisées sur le terrain et leur comportement dans les différents compartiments afin de minimiser les risque d'exposition de la filière laitière, ainsi que la construction d'un réseau d'expertise. Mon stage s'inscrivant dans ce projet avait pour objectif de :

- Fournir un état des connaissances sur les niveaux de contamination du lait retrouvés en France et dans le monde.
- Mettre en évidence des facteurs intervenant dans les mécanismes de transfert des résidus de ces molécules vers le lait.
- Etablir une liste de substances dites «prioritaires» basée sur une approche de risque sur l'impact par combinaison de critères prédéfinis.
- Lancer une opération pilote de contrôle du lait sur une dizaine d'élevages.

II/ Définitions et législation:

II.1 / Définitions :

II.1.1. Définition légale du lait :

En France le lait destiné à la consommation humaine a été défini en 1909 par le Congrès International de la répression des fraudes par la formule suivante : « le lait est le produit intégral de la traite totale et ininterrompue d'une femelle laitière bien portante, bien nourrie et non-surmenée. Il doit être recueilli proprement et ne pas contenir de colostrum »

La réglementation européenne a elle aussi défini la dénomination « lait ». D'après le règlement C.E.E N° 1898/87 du conseil du 2 Juillet 1987, ce terme est réservé exclusivement au produit de la sécrétion mammaire normale obtenue par une ou plusieurs traites sans aucune addition ou soustraction. L'origine devant être précisée si ce n'est pas du lait de vache.

II.1.2. Définition de produit phytosanitaire :

La directive CEE 91/414 (J. O. de la C.E. du 19 août 1991) (du 15 juillet 1991, relative à la mise sur le marché des divers «produits phytopharmaceutiques»défini toute les substances actives et préparations contenant une ou plusieurs substances actives qui sont présentées sous la forme dans laquelle elles sont livrées à l'utilisateur et qui sont destinées à :

- Protéger les végétaux ou les produits végétaux contre tous les organismes nuisibles ou à prévenir leur action ;
- Exercer une action sur les processus vitaux des végétaux, pour autant qu'il ne s'agisse pas de substances nutritives (par exemple, les régulateurs de croissance) ;
- Assurer la conservation des produits végétaux, pour autant que ces substances ou produits ne fassent pas l'objet de dispositions particulières du Conseil ou de la Commission concernant les agents conservateurs ;
- Détruire les végétaux indésirables ;
- Détruire les parties de végétaux, freiner ou prévenir une croissance indésirable des végétaux.

II.1.3. Définition de résidu de produit phytosanitaire :

Les résidus de produits phytosanitaires sont le souci permanent de la communauté scientifique et des organisations de santé publique à travers le monde. Selon le Codex Alimentarius un résidu de pesticide est toute substance (dérivé, métabolite, impureté...) présente dans les aliments, les produits agricoles ou les aliments pour animaux par suite de

l'utilisation d'un pesticide (FAO/OMS). La Directive européenne 91/414 (J. O. de la C.E. du 19 août 1991) du 15 juillet 1991 trouve qu'une ou plusieurs substances présentes dans ou sur des végétaux ou produits d'origine végétale, des produits comestibles d'origine animale, ou ailleurs dans l'environnement, et constituant le reliquat de l'emploi d'un produit phytopharmaceutique, y compris leurs métabolites et produits issus de la dégradation ou de la réaction est considérée comme résidu. Un résidu toxique signifie évidemment tout résidu pouvant avoir une importance sur le plan toxicologique dans la marge des doses résiduelles. Selon Abhauer, (1991) il n'y a pas de composé toxique mais plutôt des doses toxiques.

II.1.4. Définition de produit biocide :

Au fin de la Directive 98/8/CE (article 2) un produit biocide se définit par toutes les préparations contenant une ou plusieurs substances actives qui sont présentées sous la forme dans laquelle sont livrées à l'utilisateur, qui sont destinés à détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles, à en prévenir l'action ou à combattre de toute autre manière par une action chimique ou biologique.

II.1.5. Définition de la Limite Maximale de Résidu :

Aux fins du Codex Alimentarius, on entend par Limite Maximale de résidu (LMR) la concentration maximale d'un résidu de pesticide que le Codex Alimentarius recommande d'autoriser légalement dans ou sur un produit alimentaire. La limite est exprimée en parties pondérales de résidu de pesticide par million de parties pondérales de l'aliment ou du produit alimentaire.

Les LMR sont établies sur la base d'une évaluation des risques à priori faisant appel aux valeurs toxicologiques de référence (VTR) définies pour chaque substance active, de façon à ce que les teneurs en résidus ne comportent aucun risque pour le consommateur.

Cette évaluation intègre des critères agronomiques ; niveau de résidus retrouvés lors d'essais aux champs (The supervised trials median residues STMR) et plus haut niveau de résidus (Highest residues, HR). Ces LMR permettent de garantir de bonnes pratiques agricoles (doses homologuées, délai avant récolte respecté).

II.1.6. Définition de la Dose Journalière Admissible (DJA) :

La dose journalière admissible est l'estimation de la quantité de substance active qui peut être ingérée quotidiennement par le consommateur, pendant toute sa vie, sans effet pour sa santé.

Elle est calculée sur la base des critères toxicologiques à partir d'une dose sans effet (DES ou NOEL (No Observed Effect Level) observée chez l'animal, divisée par un facteur de sécurité en tenant compte de la variabilité intra-individuelle et inter-espèce et de la nature

des effets de la substance en cas de besoin. Elles sont fixées par les instances d'évaluation scientifiques :

- ✓ La Direction du Végétal et de l'Environnement (DiVE) de l'AFSSA au niveau national.
- ✓ L'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA) et la JMPR (Joint FAO/WHO meeting on pesticide residues) au niveau international.

II.1.7. Définition de substance active et de préparation commerciale:

▪ Substance active :

Toute substance exerçant une activité générale ou spécifique sur les organismes nuisibles ou sur les végétaux, parties ou produits de végétaux. Pour être incorporée dans une préparation commerciale, les substances actives doivent être inscrites à la liste positive (Annexe1) européenne et avoir fait l'objet d'une évaluation toxicologique et éco toxicologique au niveau communautaire.

▪ Préparation commerciale :

C'est un mélange de composés de deux ou plusieurs substances , dont au moins une substance active, destinés à être utilisés comme produit phytosanitaire et ou phytopharmaceutique.

L'évaluation de ces produits et l'autorisation de mise sur le marché sont sous la responsabilité des états membres.

II.2/ Réglementation :

La directive CEE 91/414 établit, précise les modalités d'inscription d'une substance à l'annexe I de cette directive (cette annexe liste les substances actives dont l'incorporation dans les produits phytopharmaceutiques est autorisée : les composés y sont énumérés avec leur nom de nomenclature IUPAC, les dispositions spécifiques et les dates entre lesquelles tout ceci reste valable) et la nécessité de communiquer toute nouvelle information concernant les effets dangereux potentiels d'un produit phytopharmaceutique ou d'une substance active sur la santé humaine ou animale ou encore sur la qualité des eaux souterraines ou les risques pour l'environnement. On y trouve aussi les conditions sous lesquelles peut être octroyée une AMM provisoire, les pièces du dossier à fournir par le demandeur d'AMM et les vérifications opérées par les états membres, les mentions légales à afficher sur l'emballage et l'étiquette des produits, les mesures de contrôle et diverses dispositions administratives (J.O. de la C.E. du 19 août 1991).

La directive 96/23/CE a elle aussi énuméré, dans son annexe I les substances dont les résidus sont concernés par ces mesures (J.O. de la C.E. du 23 mai 1996), et l'on y trouve

ainsi des antiparasitaires internes (anthelminthiques, anticoccidiens), les carbamates et les pyréthrinoïdes (groupe B2), et les organochlorés, organophosphorés et éléments chimiques (groupe B3). Les pesticides, qui appartiennent bien souvent à ces familles chimiques, sont donc concernés par cette directive (annexe 5). La loi d'orientation agricole du 9 juillet 1999 réaffirmait, quant à elle, la nécessité d'une Autorisation de Mise sur le Marché avant toute utilisation d'une substance et elle précisait que «En matière de pesticide, tout ce qui n'est pas autorisé est interdit» (Freydier, 2001). L'arrêté du 18 octobre 2006 (annexe 6) a reprecisé les teneurs maximales autorisées en résidus de certains pesticides, modifiant lui aussi, après de nombreux autres arrêtés, celui du 5 décembre 1994 (annexe 7) (J.O. du 7 novembre 2006).

II.2.1/ Procédure d'homologation d'une substance phytosanitaire :

Les produits phytosanitaires et les antiparasitaires sont bien moins souvent retrouvés dans le lait à des teneurs dépassant les limites maximales résiduelles que les inhibiteurs (antibiotiques principalement, lors de mauvaise utilisation des médicaments), mais ils n'en demeurent pas moins importants en raison de leurs conséquences possibles sur la santé humaine, à plus ou moins long terme (Lepoutre et Petit, 2000). En France, toute commercialisation et distribution d'une substance phytosanitaire est subordonnée à l'octroi d'une autorisation de mise sur le marché (AMM), délivrée par le ministère chargé de l'Agriculture sur la base d'une évaluation complète. C'est pourquoi tout nouveau produit phytosanitaire n'est introduit sur le marché qu'après une évaluation de 8 à 10 ans (Freydier, 2001).

Cette procédure comporte deux phases :

Une première phase d'évaluation des substances actives entrant dans le cadre de la Directive Européenne 91/414/CE au niveau communautaire. Ces études couvrent différents domaines:

- Détermination des propriétés physico-chimiques des substances actives et l'évaluation de la validité des méthodes analytiques dans les végétaux, les denrées d'origine animale, l'air, le sol et l'eau.
- Evaluation de la toxicité pour l'homme à travers des études de métabolisme de la substance, de détermination de la toxicité aigue, subaigüe et chronique, de la détermination des effets sur les fonctions de reproduction (téragénèse sur plusieurs générations) , et des études sur le potentiel mutagène et cancérigène sur plusieurs espèces animales. Ces études permettent de définir des doses journalières admissibles (DJA) , des doses de référence Aigue (ARfD) ainsi que des doses acceptables pour l'applicateur (AOEL).

- Evaluation des résidus dans les végétaux, dans les produits de transformation, dans les denrées d'origine animale à travers des études du métabolisme dans les plantes destinées à être traitées. Ces études permettent de définir les limites maximales de résidus (LMR) ainsi que le délai avant récolte (DAR) pour chaque type de récolte.
- Evaluation du devenir de la substance dans les différents compartiments, voir sa dégradabilité dans l'eau, l'air et le sol, et une évaluation du risque de rémanence dans l'environnement par des études en laboratoire et au champ.
- Evaluation de la toxicité pour la faune et la flore .

Une seconde phase d'évaluation des préparations commerciales contenant une ou plusieurs substances actives, et d'autorisation de mise sur le marché sous la responsabilité des états membres.

III / Le lait et les produits phytosanitaires :

III.1/ Origine de la contamination du lait par les produits phytosanitaires :

Les produits phytosanitaires peuvent pénétrer dans l'organisme des bovins et donc polluer le lait via diverses voies : par voie cutanée, par inhalation, et surtout par voie digestive, cette dernière intervenant de façon prépondérante (Larson et Smith, 1974), (Rychen et coll., 2005).

Les vaches sont exposées à trois sources de contamination majeures responsables de la présence possible de résidus de produits phytosanitaires dans le lait et les produits laitiers : il s'agit de l'alimentation, des bâtiments d'élevage et de l'usage de produits antiparasitaires externes (Milhaud et Kolf-Claw, 1994) , ces trois sources sont détaillées ci-dessous.

- ✓ Traitement des semences ou des parties aériennes des plantes cultivées destinées à l'alimentation des vaches laitières.

- ✓ Assainissement des locaux d'élevage et traitement antiparasitaires des vaches laitières.

- ✓ En ce qui concerne le traitement des sols, c'est par l'intermédiaire de la consommation de végétaux dont les racines puisent dans le sol, par ingestion de terre quand les vaches broutent et par la contamination des nappes phréatiques dont l'eau peut ensuite être ingérée par les ruminants que la contamination peut se produire (Rychen et coll., 2005).

III. 2/ Facteurs physico-chimiques favorisant le transfert d'une substance vers le lait :

Les mécanismes de transfert d'un composé dans le lait sont globalement régis par les règles de traversée membranaire car l'épithélium de la glande mammaire se comporte comme une

membrane lipoprotéinique entre le sang et le lait, le pH de ce dernier étant acide alors que le sang est plutôt basique (pH =7,4) (Keck,1979). Le franchissement d'une membrane plasmique par une molécule peut se produire par transport passif ou bien il requiert un transport actif, selon les caractéristiques physico-chimiques de la molécule en question (Baggot, 1977). La figure suivante illustre l'ensemble des facteurs qui régissent l'absorption et l'éventuel passage d'une substance phytosanitaire dans le lait de vache.

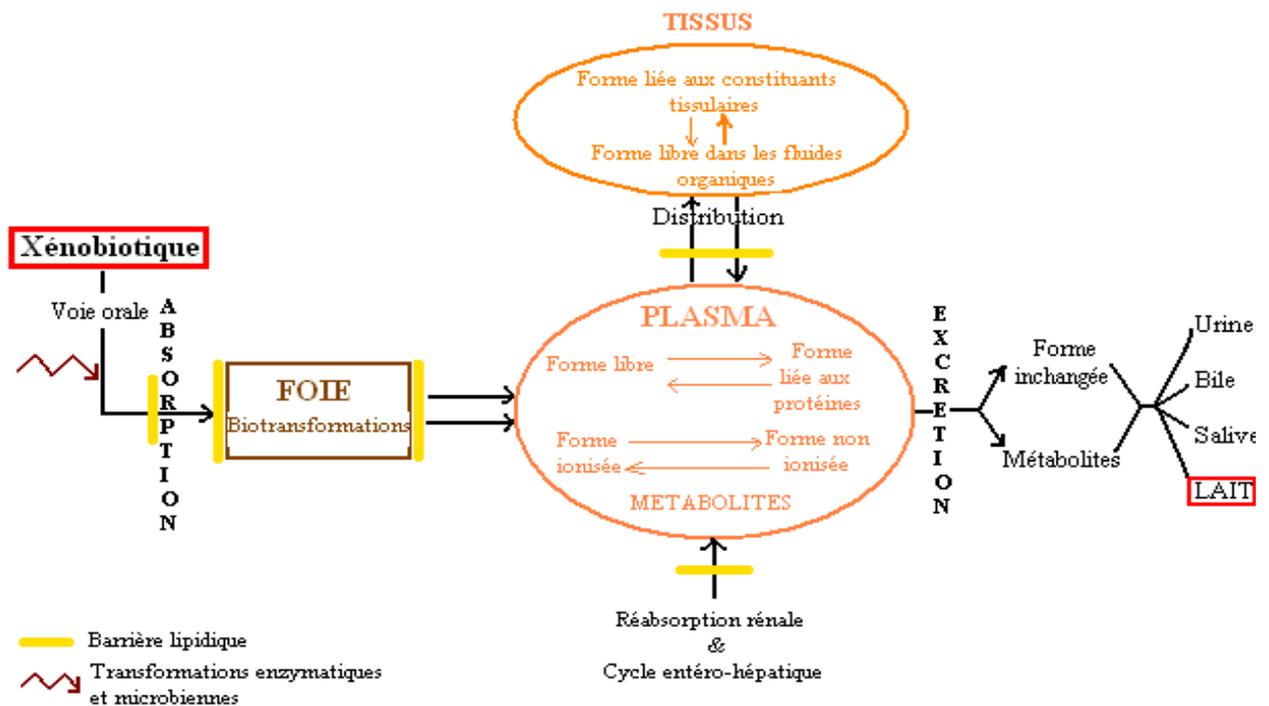


Figure.1 : Facteurs régissant l'absorption et l'éventuel passage d'une substance dans le lait (d'après BAGGOT, 1977).

Un certain nombre de propriétés physico-chimiques des substances phytosanitaires, en particulier le degré d'ionisation, la polarité, l'affinité pour les protéines et la liposolubilité ainsi que le poids moléculaire, ont une répercussion directe sur leur passage du plasma vers le lait. La connaissance de ces phénomènes remonte à une vingtaine d'années, et revient à l'étude approfondie du transfert des substances médicamenteuses. Ces facteurs sont décrits comme suit :

- Capacité de liaison aux protéines plasmatiques.
- Pka (degré d'ionisation et caractéristiques acido-basiques).
- Liposolubilité et gradient de concentration.
- Poids moléculaire.

a) Capacité de liaison aux protéines :

Dans le sang, tout composé se trouve soit sous forme libre, soit sous forme liée, surtout aux protéines plasmatiques et, souvent de façon moindre, aux éléments figurés du sang.

La fixation aux protéines est le plus souvent réversible car de faible énergie (forces électrostatiques, ponts hydrogènes, liaisons de Van der Waals', polarité (Hayes et Laws, 1991) car les albumines, protéines de fixation majeures, portent de nombreuses charges à leur surface et sont donc capables de se lier à des cations ou à des anions. Les lipoprotéines (ou globulines), interviennent beaucoup moins et transportent plutôt les molécules très lipophiles et certains métaux (Keck, 1978).

Plus un xénobiotique a de l'affinité pour les protéines plasmatiques, moins il aura de facilité à s'en détacher et passer dans le lait. Ainsi, plus le taux de liaison d'une substance au niveau plasmatique augmente, moins son excrétion dans le lait sera importante (Martinet et Houdebine, 1993).

Une substance fortement liée perdurera alors plus longtemps dans l'organisme, du fait d'une élimination moins rapide, par quelques voies que ce soit (y compris laitière), sera excrétée plus longtemps quoiqu'en moindre proportion (Keck, 1978). Cependant, la plupart du temps, la fraction de xénobiotique liée aux protéines reste relativement limitée (Morrow, 1980). La fraction de xénobiotique libre est donc supérieure dans le lait si la liaison aux protéines plasmatiques est plus forte que l'attachement aux protéines lactées, la substance ayant alors plus tendance à aller dans le plasma où sa fraction libre est réduite, de façon à équilibrer les pressions osmotiques.

Cependant, on note que la plupart des xénobiotiques se fixent préférentiellement aux protéines plasmatiques (Martinet et Houdebine, 1993). C'est en définitive dans le milieu où la fixation protéique est la plus grande que la concentration totale d'une substance sera la plus élevée (Baggot, 1977).

Le degré de liaison aux protéines varie de façon importante en fonction du pH du milieu, de la concentration de protéines et de l'existence dans le milieu d'autres agents possédant le même récepteur, d'où un phénomène de compétition. Plus une molécule est fixée aux protéines, plus elle perdurera longtemps dans l'organisme (Morrow, 1980).

La figure suivante montre l'influence de la liaison aux protéines sur la concentration en xénobiotiques dans le lait.

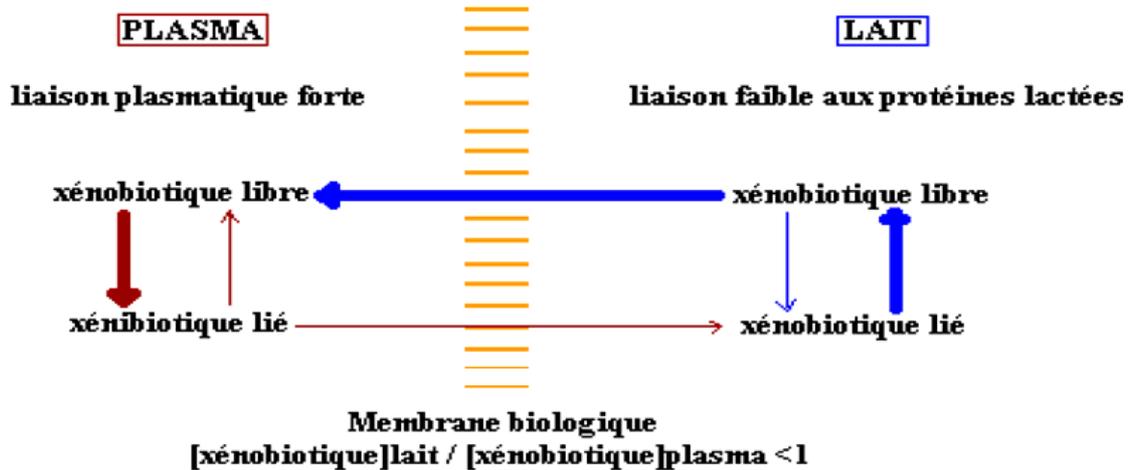


Figure.2 : Effet de la liaison d'un xénobiotique aux protéines plasmatiques sur son degré de liaison dans le lait (d'après Martinet et Houdebine, 1993).

b) Degré d'ionisation et caractéristiques acido-basiques :

Le degré d'ionisation d'un xénobiotique repose sur les caractéristiques acido-basiques du milieu et la constante de dissociation du composé considéré, soit du pH du milieu et du pKa du xénobiotique (Martinet et Houdebine, 1993).

Comme les bases faibles possèdent un pKa supérieur à 7, elles auront donc tendance à rester dans le lait, entre 6,5 et 6,7 en moyenne (Kahn, 2005).

Une fois dans le lait, ces bases faibles s'ionisent et s'y concentrent en fonction du gradient de concentration de la forme non ionisée.

Ceci revient à dire que pour une substance donnée, on a toujours une concentration totale plus importante dans le compartiment où celle-ci est plus fortement ionisée (Baggot, 1977).

Tout ceci peut se démontrer grâce à l'équation d'Henderson-Hasselbalch selon laquelle :

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log ([\text{A}^-]/[\text{AH}]) \text{ pour un acide faible;}$$

$$\text{pH} = \text{pKa} + \log ([\text{A}]/[\text{AH}^+]) \text{ pour une base faible.}$$

Si l'on nomme I la concentration de la forme ionisée d'un composé et NI celle de sa forme non ionisée, on obtient donc, en utilisant l'équation précédente :

- $\text{pKa} - \text{pH} = \log (\text{NI}/\text{I})$ pour un acide faible;
- $\text{pKa} - \text{pH} = \log (\text{I}/\text{NI})$ pour une base faible.

Considérons maintenant que $\text{I} + \text{NI}$ représente la concentration totale du composé dans un ultrafiltrat et que Lult est sa concentration dans l'ultrafiltrat de lait et Pult sa concentration dans l'ultrafiltrat plasmatique.

Pour un acide faible, on tire la formule: $\text{Lult} / \text{Pult} = 1 + 10^{\text{pH} - \text{pKa}} / 1 + 10^{\text{pH} - \text{pKa}}$.

Pour une base faible, on aboutit à l'équation : $L_{ult} / P_{ult} = 1 + 10^{pka-phl} / 1 + 10^{pka-php}$. Sachant que le pH du lait est inférieur à 7 et que le pH plasmatique est compris entre 7,4 et 7,7, donc basique, on comprend alors pourquoi les bases faibles diffusent plus aisément dans le lait. A l'inverse, les acides faibles tendent à rester dans le plasma (Keck, 1979). En effet, l'équation valable pour un acide faible donnera un résultat inférieur à 1 puisque le PHL < pHP, donc le numérateur se retrouvant inférieur au dénominateur, et inversement avec une base faible.

c) Liposolubilité et gradient de concentration :

La forme non ionisée d'une substance étant a priori la seule apte à traverser les membranes cellulaires, son passage puis sa distribution au sein des divers constituants du lait dépend ensuite de son affinité pour les lipides. Plus un composé est lipophile et plus il traversera rapidement une membrane biologique, de façon passive, suivant son gradient de concentration de part et d'autre de cette membrane. Plus le gradient est important, plus il passera vite, en direction du compartiment où il se trouve en plus faible concentration (Martinet et Houdebine, 1993).

Cependant, il faut aussi un certain degré de solubilité en phase aqueuse pour que la substance puisse passer dans les fluides qui entourent la membrane biologique (Kahn, 2005), que ce soit le lait ou même le milieu intracellulaire. Outre la vitesse de transfert, la liposolubilité d'une molécule influe aussi sur sa répartition parmi les divers constituants du lait : si cette substance est hydrophile, elle ira préférentiellement dans l'eau et la fraction protéique du lait, alors qu'on la retrouvera principalement dans les globules de gras si elle est lipophile (Martinet et Houdebine, 1993). Les molécules les moins hydrophiles, donc les plus lipophiles, subissent généralement moins de biotransformations et seront alors plus transférées vers la mamelle (Rychen et coll., 2005).

Le stockage d'un xénobiotique dans le tissu adipeux est proportionnel à sa lipophilie et inversement corrélé à sa facilité de métabolisation. La graisse corporelle semble être le tissu majoritaire où se concentrent de nombreux produits phytosanitaires. Si certaines substances sont solidement fixées dans la graisse corporelle, elles peuvent quand même être excrétées lors de lipomobilisation, ce qui est justement le cas pendant la lactation, où la vache a des besoins accrus en énergie nécessaires pour la production laitière, besoins que sa ration alimentaire ne suffit généralement pas à couvrir. Elle puise donc dans ses réserves, au moins en début de lactation, et la fonte du tissu adipeux est donc susceptible de libérer des composés initialement stockés (Hayes et Laws, 1991). Ceci a d'ailleurs aussi été démontré en 1977 par Fries et Marrow qui ont constaté une élimination plus rapide du DDD présent

dans l'organisme de vaches contaminées, lors de leur entrée en lactation (Raisbeck et coll., 1989). Cette lipophilie est exprimée par le coefficient octanol-eau ou KOW ; plus il augmente, plus l'affinité de la substance pour les lipides augmente. La plupart des contaminants du lait sont caractérisés par une bonne liposolubilité et se localisent donc dans la matière grasse du lait (Anadon et coll., 1996). Plus le KOW augmente, plus la substance tend à aller dans le lait, mais avec cependant une limite pour les produits dont $\log KOW \geq 6$, leur absorption étant réduite justement, en raison de cette faible hydro solubilité puisque comme dit précédemment, une molécule doit être un minimum soluble dans les divers fluides corporels pour pouvoir traverser les membranes cellulaires (Rychen et coll., 2005).

d) Poids moléculaire :

Les substances de poids moléculaire inférieur à 800 à 1000 Daltons sont celles qui traversent le mieux les membranes plasmiques (Keck, 1979).

Certains composés hydrosolubles peuvent ainsi traverser les membranes par filtration, processus au cours duquel ils sont portés par un flux d'eau (l'existence de ce flux dépendant d'un écart de pression hydrostatique ou osmotique entre intérieur et extérieur de la cellule) à travers des pores membranaires. Bien évidemment, ces molécules doivent être de taille réduite pour pouvoir passer avec l'eau, mais le diamètre de ces canaux membranaires varie selon leur localisation : ceux que l'on trouve au niveau des capillaires sanguins sont bien plus larges (de 40 à 80 Å) que ceux qui existent dans la membrane des cellules digestives et de la plupart des cellules de l'organisme (4 Å) (Baggot, 1977).

e) Autres facteurs :

▪ **Composition du lait :**

La composition chimique du lait est susceptible de subir certaines modifications à l'échelle de l'animal. Les principaux facteurs de variation sont :

- Soit directement liés à l'animal : il s'agit des facteurs génétiques (ex : race), du stade de lactation (ex : une baisse du taux protéique au pic de lactation par effet de «dilution») et de l'état sanitaire des animaux (ex : présence de mammite).

- Soit indirectement liés à l'animal, c'est-à-dire conditionnés par le milieu et la conduite d'élevage : ce sont la saison, la climat et l'alimentation.

Ces variations interviennent au niveau individuel mais aussi à l'échelle du lait de mélange (Pougheon, 2001).

▪ **Etat physiologique de la mamelle :**

L'état de lactation représente des modifications importantes des paramètres métaboliques de l'organisme femelle ainsi que des régulations afférentes.

En même temps, il offre une voie temporaire d'excrétion d'un certain nombre de molécules exogènes et endogènes, qui vient s'ajouter aux voies habituelles, fécale et urinaire.

Une femelle en lactation se trouve en état de balance énergétique négative et, de ce fait, mobilise ses graisses corporelles. De ce fait, les substances liposolubles qui y sont stockées peuvent être reléguées.

La lactation stimule donc la décontamination des animaux en augmentant la quantité de substance excrétée, par utilisation de la voie mammaire comme voie d'élimination supplémentaire (et parfois comme voie prépondérante si le composé chimique a une affinité particulière pour le lait).

III.3/ Les molécules attendues dans le lait: caractéristiques et données bibliographiques

III.3.A. Pesticides organochlorés

✓ Caractéristiques :

Les organochlorés sont utilisés aussi bien pour la protection des cultures servant à l'alimentation du bétail que pour le traitement des étables ou celui des animaux eux-mêmes. Du fait de leur importante lipophilie, ils sont aisément absorbés dans le tractus digestif, en plus ou moins grande proportion selon la composition du reste de la ration alimentaire (fibres, matière grasse...) et selon la quantité totale de nourriture ingérée (Hayes et Laws, 1991).

Se sont des toxiques cumulatifs, leur stockage se fait dans les tissus riches en graisses (effet de bioaccumulation et bioamplification dans la chaîne alimentaire). Leur biotransformation est très lente, essentiellement chlorynation et oxydation (ex : DDT en DDA & DDE).Après absorption, les organochlorés sont transformés en dérivés hydroxylés ou en époxydes stables sous l'action du complexe enzymatique du cytochrome P-450. Le métabolisme de ces composés peut aussi comporter des réactions de conjugaison avec du glutathion ou de l'acide glucuronique. Les métabolites obtenus peuvent être éliminés *via* les fèces, *via* les urines s'ils sont suffisamment polaires, mais aussi, et c'est justement l'un des éléments sanitaires problématiques, dans le lait (de vache, de femme...). De plus, au-delà d'une simple élimination dans le lait, les organochlorés y sont concentrés en raison de leur affinité pour la phase lipidique de ce dernier. Il existe donc un risque non négligeable pour les enfants dans les pays où ces insecticides sont encore très utilisés (par consommation du lait de leur mère pour les nourrissons et par l'importance des aliments à base de lait de vache pour les autres enfants). Moubry et coll. ont, en 1968, classé les organochlorés, selon le temps nécessaire à l'obtention de concentrations lactées inférieures aux limites de détection, dans l'ordre décroissant suivant: Dieldrine>DDT et ses

analogues>BHC>lindane>endrine>méthoxychlore (Hayes et Laws, 1991). Les résultats d'études faites dans différents pays donnent une idée de l'évolution de la contamination des produits laitiers par ces composés, qui ont été interdits dans les pays industrialisés dont la France depuis 1969 dans le cadre de la désinsectisation des étables selon l'arrêté du 15 Octobre 1969 et circulaire du 20 Juillet 1970, et depuis 1974 en agriculture (sauf le lindane). A l'inverse, ces xénobiotique continuent à être utilisés dans les pays en voie de développement compte tenu de leur grande efficacité et leur cout relativement limité.

✓ **Niveaux de contamination : Etat des connaissances bibliographiques :**

Les études portant sur ces composés sont relativement nombreuses en raison de leur large utilisation ainsi que la connaissance de leurs propriétés physico-chimiques.

Nous ne citerons ici que quelques résultats d'études notamment les plus récents afin d'évaluer l'évolution de la contamination du lait et des produits laitiers par ces composés . L'Inde semble particulièrement plus affectée par les risques liés aux organochlorés. En effet, plusieurs observations dont certaines très récentes indiquent un taux d'exposition préoccupant :

Une étude a été réalisée par un groupe de chercheurs en **2007** à partir de plusieurs régions de Bundelkhand en Inde sur un total de 325 échantillons, afin de mettre en évidence l'utilisation des pesticides organochlorés. Les résultats d'analyse par chromatographie en phase gazeuse révèlent la présence des substances suivantes :

- **HCH** (hexachlorocyclohexane) dans 78 échantillons avec des concentrations moyennes de 0,0188 mg/kg, 5 parmi les 78 échantillons positifs avaient dépassé les LMR fixées par Agnihotri en 1999 (0,05mg/kg) .

- Le **beta-HCH** avait une concentration moyenne de 0,0985 dans 49 échantillons dont 27 échantillons étaient supérieurs aux LMR (qui est de 0,02mg/kg).

- Le lindane, présent dans 69 échantillons avec une concentration moyenne de 0,0101 mg/kg dont 20 dépassaient les LMR (de 0,01mg/kg , fixées par la FAO,2000).

En terme de fréquence d'apparition dans le lait les isomères du HCH sont classés comme suit : alpha > gamma> sigma>beta.

- L'**endosulfon** totale était présent dans 89 échantillons de lait avec une concentration moyenne de 0,0492 mg/kg et un dépassement des LMR (fixées par la FAO, 2000, qui est de 0,04) dans 58 échantillons.

- Le **DDT** était présent dans 114 échantillons de lait avec, comme principal contributeur, le pp-DDE suivi par le op-DDE et le pp-DDD. Le dépassement de la LMR (qui est de 0,05mg/kg) a été observé dans 58 échantillons de lait. Le dicofol beaucoup moins utilisé

était présent dans 17 échantillons (concentration moyenne de 0,0814 mg/kg) dont 4 dépassaient les LMR de 0,1 mg/kg (FAO, 2000).

Ces concentrations en résidus d'alpha-HCH obtenues dans le lait sont similaires voir inférieures à celles observées dans d'autres régions d'Inde (Mukherjee and Gopal, 1993), en Espagne (Riva and Anadon, 1991), au Mexique (Waliszewski et al, 1996) et en Chine (Zhong et al, 2003), mais restent toujours supérieures à celles observés lors d'études menées en France (Venant et al. 1991) et en Slovaquie (Prachar et al, 1995).

En ce qui concerne le lindane, sa concentration moyenne dans cette étude était inférieure à celle retrouvée dans d'autres études à l'exception de deux études : une en Inde publiée par Mukherjee et al, en 1993 et la deuxième en Slovaquie conduite par Prachar et al, en 1995.

La présence des résidus d'HCH, endosulfon et DDT ainsi que d'autres organochlorés dans le lait de vache illustrée dans la présente étude montre que malgré la diminution de la fréquence et du niveau de contamination au cours de ces dernières années, en Inde, la persistance demeure pour certaines substances, notamment celles considérées comme des polluants persistants dans l'environnement. L'endosulfon lui est largement utilisé mais connu pour son faible coefficient de transfert dans le lait. Le dicofol lui est très rarement retrouvé grâce à son emploi comme acaricide pour les vaches laitières. Les auteurs trouvent que les résultats de cette enquête révèlent que malgré les niveaux de contamination retrouvés, le nombre d'échantillons dépassant les limites maximales de résidu demeure faible, cependant, ils recommandent fortement une poursuite des plans de surveillance.

Parallèlement, une enquête a été menée aussi en Inde en 2005 visant à évaluer le niveau de contamination du beurre et de la ghee en zone cotonnière. La recherche s'est centrée sur 44 échantillons de beurre et 55 échantillons de ghee prélevés en zones urbaines et rurales ciblant les organochlorés suivants HCH, DDT, DDE et DDD ainsi que leurs métabolites. Les résultats montrent que les échantillons de beurre été comparativement plus contaminés (97%) que ceux de la ghee (94%). Environ, 11% des échantillons de beurre montrent des résidus d'endosulfon au dessus des LMR (fixées par la FAO/WHO à 0,1microgramme/gramme) . Les résidus d'HCH et de DDT dépassaient les LMR dans 5%. Ces niveaux retrouvés sont bien inférieurs aux résultats d'études antérieures tel qu'il a été démontré par Kathpal et al en 1992 avec un dépassement des limites maximales résiduelles dans 40% pour le HCH (avec une concentration supérieure à 3,570 microgramme/gramme) et 12% pour le DDT (avec une concentration supérieure à 5,185 microgramme/gramme) dans certaines marques de beurre. Ainsi que celles de Kalra et al, en 1983 et Kaphlia et al en 1990 avec une contamination du ghee plus élevée en HCH et en DDT à des niveaux

maximums respectifs supérieurs à 6,65 et 9,86 microgramme/gramme. La raison possible de cette diminution des résidus d'HCH et de DDT dans cette étude est l'interdiction de ces substances et la restriction de leur utilisation comme insecticides dans l'agriculture en Inde.

Une enquête un peu plus ancienne a été conduite au Brésil dans la région de **SAO PAULO CITY** dans le but de mesurer les résidus de pesticides dans 132 échantillons de lait de vache collectés au hasard entre Aout **1997** et **1998** à partir des camions citernes (38 échantillons), et dans des supermarchés (94 laits pasteurisés). L'analyse portait sur plus de 70 substances, identifiées et quantifiées par chromatographie en phase gazeuse selon la méthode multi résidus DFG S19 pour l'analyse simultanée des résidus de plusieurs composés dans la même procédure.

Les résultats ont révélé la présence de l'organochloré endosulfon dans 10,2 % des prélèvements issus des camions citernes avec des concentrations pouvant aller jusqu'à 0,15 mg/kg, et de 8,5% contaminés avec l'endosulfon à des concentrations n'excèdent pas les 0,04 mg/kg et 1,1% d' α -HCH avec une concentration moyenne de 0,01mg/kg dans les échantillons de lait pasteurisé provenant des supermarchés.

Ces résultats ont donc permis de montrer l'utilisation de ces xénobiotiques dans la pratique agricole alors même que l'HCH est interdit depuis 1985 et que l'usage de l'endosulfon n'est toléré que sur certaines cultures (cacao, café, soja...).

Il est clair, qu'une poursuite des programmes de surveillance est nécessaire afin d'améliorer la qualité des aliments, sachant que ces composés présentent un risque potentiel pour la santé publique compte tenu de leurs effets cancérigènes, tératogènes et perturbateurs endocriniens.

III.3.B. Pesticides organophosphorés

✓ Caractéristiques :

Les organophosphorés demeurent avec les carbamates les produits phytosanitaires les plus utilisés d'où l'intérêt croissant d'une bonne surveillance. Ils présentent une très bonne absorption ainsi qu'une forte biotransformation.

Leur élimination est rapide et se fait essentiellement par voie urinaire, biliaire et lactée.

✓ Niveaux de contamination : Etat des connaissances bibliographiques :

-Expériences de contamination du lait via l'application dans les étables :

Les organophosphorés sont bien utilisés comme traitement des bâtiments d'élevage. La catégorie la plus représentée dans ce domaine est celle des insecticides.

En 1971, Milhaud et coll ont mené une étude afin de mettre en évidence une éventuelle contamination du lait de vache par des pesticides organophosphorés lors d'opérations de

désinfection-désinsectisation à raison de 50% de ronnel (poudre à 13,2% de matière active) et 22% de malathion (poudre à 62% de matière active) sur quatre fermes. Les prélèvements de lait furent effectués à J15, J8 et tout de suite après l'opération de désinfection-désinsectisation ou 7 heures après, matin et soir les deux premiers jours, puis à 3, 5, 8, 15, 21, 30, 45, 60 et 90 jours.

Les résultats du dosage ont montré des concentrations inférieures à 0,008 ppm aussi bien pour le ronnel que pour le malathion par rapport au lait entier, ce qui est nettement inférieur à la norme fixée par l'OMS qui est de 0,04 ppm.

Les concentrations de ces pesticides organophosphorés ont ensuite diminué jusqu'à ne plus être mesurables au bout de 15 jours.

Dans la même perspective, Pitois et Bibard se sont intéressés en 1971 aux résidus de chlorfenvinphos dans la matière grasse du lait suite à un traitement des bâtiments d'élevage. Cette expérimentation s'est effectuée sur deux étables, la première bien aérée ayant subit un traitement sur le plafond et les parties hautes des voies verticales à une concentration deux fois supérieure à la concentration recommandée (0,3 g de matière active/m³ de surface traitée) la seconde, quant à elle, semblait être ancienne et peu ventilée ayant subit par contre un traitement sur l'ensemble des surfaces et à des concentrations trois fois plus supérieures que la dose recommandée.

Les prélèvements de lait ont été effectués deux fois par jour, un jour avant et 1, 2, 4, 7, 15 et 30 jours post traitement et ont été dosés par chromatographie en phase gazeuse avec détection par capture d'électrons à partir de 0,01 ppm dans la matière grasse. Ils ont révélé une teneur maximale à J4 dans l'ancienne étable de 0,58 ppm dans la matière grasse du lait (tandis que la nouvelle étable ne présentait pas de concentrations détectables), et 0,002 ppm dans le lait entier. Les résultats de cette étude montrent que la contamination du lait suite à des traitements de désinfection des étables ne présente pas de risque pour le consommateur dans le respect des doses recommandées.

-Expériences de contamination du lait via l'alimentation :

Un groupe de chercheurs a effectué une étude au Portugal entre mars et juin 1991 dans le but de déceler la présence de pesticides organophosphorés à savoir le cis-mevinphos, le méthyl-parathion et le paraxon dans le lait. 21 échantillons ont été prélevés à partir de 6 marques distinctes de lait pasteurisé et de lait UHT (entier, demi-écrémé et écrémé) ainsi que 4 prélèvements effectués directement sur des vaches. Les résultats montrent que les 25 échantillons ne renfermaient pas de concentrations détectables de cis-mevinphos et de méthyl-parathion.

A l'inverse du paraxon (analogue oxygéné du parathion) présent dans 22 échantillons de lait, avec des concentrations allant de 1,5 à 8,7 ppb, et une moyenne de 3,6 ppb. Les fortes teneurs ont été observées dans les échantillons de lait écrémé, à l'exception du groupe 4 où le lait riche en matières grasses avait révélé les plus fortes concentrations.

Les trois échantillons de lait négatifs faisaient partie de ceux prélevés directement au pis des vaches, les deux autres organophosphorés recherchés ont donc rapidement été métabolisés (Lino et Noronha Da Silveira, 1992). Le codex alimentarius n'a pas établi d' LMR pour le paraxon à cause de sa forte toxicité pour l'homme.

Une autre enquête a été réalisée au Mexique en 2003 dans le but de rechercher les résidus de 13 pesticides organophosphorés largement utilisés en tant qu'antiparasitaires externes et produits phytosanitaires appliqués sur les cultures destinées à l'alimentation du bétail, dans des échantillons de lait homogénéisé et pasteurisé. Quatre marques de lait à grande distribution ont été analysées par chromatographie en phase gazeuse avec détection photométrique de flamme, par collecte bihebdomadaire du lait sur une durée de 12 mois.

Les résultats de cette enquête montrent que les pesticides principalement retrouvés avec dépassement des LMR sont le dichlorvos (avec une présence dans 3 échantillons), le chlorfenvinphos (présent dans un seul échantillon) et enfin le phorate (présent également dans un seul échantillon).

les concentrations de résidus obtenus étaient respectivement 1,18 – 2,45 – 3,75 – 5,5 et 17,28 fois supérieures à la dose journalière admissible chez l'enfant. Chez l'adulte, les échantillons contenant du phorate dépassaient 2,88 fois la DJA. Hormis ces exceptions, la moyenne des résidus des 13 pesticides organophosphorés était inférieure aux LMR, variant entre 0,0051 et 0,0203 ppm (Salas et coll, 2003).

Etant donné que le Mexique est considéré comme un pays en voie de développement, l'emploi de certaines substances phytosanitaires est encore autorisé comme le chlorfenvinphos, le dichlorvos et le phorate. Ces substances étant interdites en France à l'heure actuelle, peuvent poser un réel problème dans le cadre du commerce international.

Des observations similaires ont été faites en Italie, lors de la recherche de résidus d'organophosphorés fréquemment utilisés en agriculture, à savoir (l'acephate, pirimiphos-méthyle, chlorpyrifos, diazinon, methamidiphos, methidathion, chlorpyrifos-méthyle) entre novembre 2002 et juillet 2003. 135 échantillons ont été prélevés dans 4 laiteries directement des camions de collecte, ils représentent 920 tonnes de lait réparti sur l'ensemble de l'Italie.

Les résultats de cette étude montrent que le principal polluant est l'**acephate** (positif dans 33 échantillons) avec des concentrations traces allant jusqu'à 18 mg/kg, suivi par le **Chlorpyriphos** (présence dans 16 échantillons positifs à une concentration trace de 5mg/kg). La présence d'acephate et de chlorpyriphos est due à leur grande utilisation dans la lutte contre la pyrale du maïs, mais aussi comme antiparasitaires externes. En effet le traitement sur le maïs s'effectue habituellement en juin, avec un délai de 60 jours, la récolte se fera en fin d'été, et distribué aux vaches en automne, ceci peut en partie expliquer la grande contamination du lait en saison froide.

Depuis mars 2003, l'utilisation de l'acephate est interdite, cette étude témoigne d'une contamination récente. Cependant, les chercheurs confirment que quelque soit la quantité retrouvée de ces organophosphorés, elle reste toujours inférieure aux limites maximales de tolérance fixées par l'Union Européenne (Pagliuca et coll, 2006).

Dans la même perspective, une deuxième étude a été réalisée toujours en Italie sur un plus grand nombre d'échantillons (298 prélèvements de lait cru) à partir de 9 usines réparties sur 3 périodes de l'année, soit en octobre 2004, janvier 2005 et mai 2005. Les analyses ont fait appel à une chromatographie en phase gazeuse.

Les résultats montrent que 4,4 % des échantillons analysés ne contenaient que des traces d'organophosphorés avec une prédominance de la substance **Chlorpyriphos** (9 échantillons positifs) suivi par **l'éthyle Parathion** (2 échantillons positifs), et le **disulphoton et Acephate** (1 échantillon positif chacun).

Le tableau suivant résume la répartition des 4 principales molécules retrouvées sur les 3 périodes de collecte :

Echantillon	Echantillons positifs	Acephate	Chlorpyriphos-éthyle	Disulphoton	Parathion-éthyle
Octobre	6 (6%)		5	1	
Janvier	5 (5%)		4		1
Mai	2 (2%)	1			1
Total	13	1	9	1	2

Tableau I : Les molécules retrouvées dans le lait (d'après GAZZOTTI et al, 2009).

Les résultats obtenus présentent tous des concentrations inférieures aux limites de quantification avec seulement 13 échantillons positifs en traces ($LOD < X < LOQ$).

Il convient ainsi de dire qu'une diminution a été observée par rapport à l'enquête réalisée en 2006 qui pourrait être expliquée en partie par un contrôle et une surveillance plus stricte de l'usage de ces molécules en élevage laitier.

III.3.C. Les Carbamates

✓ **Caractéristiques :**

Les carbamates sont pour la plupart des insecticides qui traversent facilement la barrière digestive et subissent un métabolisme et une élimination rapide. Les propriétés physico-chimiques des molécules de cette famille montrent une lipophilie modérée, mais des caractéristiques basiques, ce qui nous pousse à s'interroger sur leur capacité à traverser la membrane mammaire.

De plus, leur application directe sur certaines cultures est susceptible d'entraîner une ingestion de quantité considérable par les vaches laitières.

✓ **Niveaux de contamination : Etat des connaissances bibliographiques :**

La propension de certains carbamates à contaminer le lait après ingestion dans la ration a aussi été examinée par la FAO (WHO et FAO, 2005) :

Lors d'une expérimentation sur des vaches ayant reçu chacune 200mg d'indoxacarbe par jour pendant 5 jours de suite, ce qui représentait environ 10 ppm de leur ration. Une très faible proportion a été excrétée dans le lait : de 0,79 à 0,84%, principalement sous forme inchangée.

- Des vaches de race Holstein ont ingéré la même molécule à hauteur de 7,5, 22,5 ou 75 ppm par rapport à la matière sèche de leur ration, pendant 28 jours. Le lait a été collecté quotidiennement et l'indoxacarbe y a été dosé. Les résidus présents dans le lait ont atteint au bout de 4 jours un plateau dont le niveau était proportionnel à la dose initiale. Ainsi, les concentrations maximales obtenues sont respectivement de 0,021, 0,054 0,19 mg/kg dans le lait, et de 0,22, 0,60 et 2,2 mg/kg dans la crème, soit 10,8 fois plus en moyenne. Cette dernière observation est logique puisque l'indoxacarbe est assez liposoluble (comme les autres carbamates).

- Du méthiocarbe a été incorporé à l'alimentation de vaches laitières à des taux de 0, 10, 30 et 100 ppm pendant 29 jours. A l'issue de cette période, les concentrations décelées dans le lait étaient de 0,007, 0,020, 0,033 mg/kg pour 10, 30 et 100 ppm respectivement. La même expérience réalisée avec le niveau maximal estimé de méthiocarbe dans la ration de bovins, soit 0,32 mg/kg, a démontré que la quantité de résidus dans le lait demeurerait toujours nettement inférieure à la limite de quantification (0,005 mg/kg de lait).

En 2004, un groupe de chercheurs italiens a développé une méthode d'analyse de 6 insecticides carbamates dans le lait entier de vache. Les chercheurs ont utilisé l'eau chaude

comme moyen efficace d'extraction suivie d'une analyse par chromatographie en phase liquide couplée à une spectrométrie de masse.

Afin d'évaluer les effets de la température, du volume d'extraction, du débit d'extraction et l'effet matrice sur le taux de récupération, ils ont procédé à différents essais.

Les résultats de ces essais ont montré qu'une température de 90°C semble améliorer remarquablement le rendement de l'analyse notamment pour les carbamates qui présentent une grande hydrophobie. Aussi, un volume d'extraction de 5ml d'eau a été retenu, il a été observé qu'il influençait positivement la sensibilité de la méthode étudiée.

Compte au débit d'extraction, les résultats ne montrent aucun effet sur la qualité de l'analyse, par convention un débit de 1ml/min a été retenu.

L'effet matrice est responsable dans cette étude d'une récupération faible de l'aldicarbe et du pirimicarbe, ceci pourrait être corrigé par l'utilisation de la spectrométrie de masse en tandem.

III.3.D. Les pyréthriinoïdes

✓ Caractéristiques :

Les substances appartenant à cette famille sont employées aussi bien pour leurs propriétés insecticides qu'antiparasitaires.

Toutes ces substances demeurent très peu hydrosolubles (solubilité de l'ordre de quelques microgrammes par litre d'eau, parfois encore moins) mais peuvent aisément se dissoudre dans les solvants organiques et sont extrêmement liposolubles (AFSSA, 2007).

Du fait de leurs faibles doses répondues par hectare, ces composés semblent ne pas causer de réels problèmes de contamination du lait et des produits laitiers.

✓ Niveaux de contamination : Etat des connaissances bibliographiques :

Lors d'une expérimentation menée par Boyer et ses collaborateurs en 1992, des vaches ont été exposées à du fenvalérate via l'alimentation, à une dose deux fois plus grande que celle observée dans des aliments pour animaux sur le terrain. Les résultats de leur expérimentation montrent une rapide distribution de ce xénobiotique dans le lait (surtout au sein de la fraction lipidique), le tissu adipeux et les muscles, mais aussi une élimination très efficace, donc une faible durée de rémanence dans l'organisme. De plus, Akhtar en 1992 confirme cette hypothèse à travers son étude qui consiste à l'administration de la deltaméthrine à raison de 2 ou 10 mg/kg d'aliment à des vaches laitières sur une durée de 28 jours. Les concentrations obtenues étaient proportionnelles aux quantités ingérées, et détectables plutôt dans la graisse rénale, le tissu adipeux-sous-cutané, le foie et les reins.

En ce qui concerne le lait, une très faible concentration a été trouvée avec une teneur n'excédant pas les limites réglementées, et une demi-vie d'environ 1 jour.

III.3.E. Les strobilurines

✓ Caractéristiques :

Cette famille de pesticides est récemment lancée en France (depuis 1998) et connaît une forte expansion grâce à son faible coût et son efficacité en tant que fongicide. Sur le terrain, ces substances sont utilisées en très grande quantité, en 2000 elles occupaient plus du tiers du marché français des fongicides. Les chercheurs s'interrogent sur la présence ou pas de danger compte à leur forte utilisation.

✓ Niveaux de contamination : Etat des connaissances bibliographiques :

Les publications sur cette famille de pesticides demeurent rares, cependant lors d'une évaluation de risque établie par l'EFSA en 2005, des chèvres laitières ont reçu une ration contenant de la Fluxastrobine radioactive afin de mesurer son éventuelle excrétion dans le lait. 0,11% de la radioactivité a été révélé dans le lait donc en très faible proportion. Les composés résiduels en cause étaient principalement la Fluxastrobine elle-même et son métabolite la phénoxy-hydroxypyrimidine (M55), avec d'autres métabolites en moindres quantités. Ces observations étés similaires sur les expérimentations menées sur des vaches laitières, avec prédominance des isomères E et Z et de M55.

Une autre étude a été conduite en Grande Bretagne dans le but d'évaluer le niveau de transfert de la picoxystrobine dans le lait. Cette substance est nouvellement introduite dans le Royaume Uni (2002) et on ne dispose d'aucune étude faite à son propos.

Cependant, les résultats obtenus avec de très fortes concentrations testées montrent qu'il n'existe pas de risque de passage dans le lait (Atkinson et coll, 2003).

Malgré une forte utilisation de ces molécules en agriculture, leur biotransformations intenses semblent être responsables de leur élimination rapide.

III.3.F. Les triazoles

✓ Caractéristiques :

Les constituants de cette famille sont très largement utilisés sur les exploitations agricoles et en grandes quantités. Ils se présentent sous la forme de solides faiblement miscibles dans l'eau (de l'ordre de quelques milligrammes par litre) et très solubles dans les solvants organiques (Gouzy et Farret, 2006).

✓ **Niveaux de contamination : Etat des connaissances bibliographiques :**

Une publication récente réalisée par un groupe de chercheurs en Chine à partir de 10 échantillons de lait prélevés dans des supermarchés locaux, montre la présence de deux échantillons positifs avec des concentrations détectables mais restent toujours inférieures aux limites maximales de résidus recommandées, un des échantillons retrouvés présentait une concentration de 4 ug/l de tetraconazole. Les chercheurs trouvent que les constituants de cette famille de produits phytosanitaires ne constitue pas de risque pour le consommateur (Zhang et coll, 2005). Cependant, le manque de publications concernant cette famille n'exclut pas ce risque.

III.3.G. Les s-triazines

✓ **Caractéristiques :**

❖ **Cas de l'Atrazine**

Les s-triazines sont des herbicides très largement utilisés, le plus communément étudié est l'atrazine (aujourd'hui interdite en France), qui présente une propriété de persistance dans les sols traités engendrant un passage vers les plantes et notamment le maïs et le céréale, considéré comme l'aliment de base des animaux de rente.

De nombreuses études expérimentales conduites sur cette substance mettent en évidence une absorption chez les bovins de l'ordre de 80%, après une administration par voie orale, et une biotransformation rapide aboutissant à des métabolites issus des réactions de type I fortement hydrosolubles soit éliminés tels quels ou entra dans des réactions de type II pour être conjugués. Après détoxification, l'atrazine est éliminée par trois voies principales ; le lait, les fèces, mais surtout l'urine.

Devenir de l'Atrazine dans les denrées alimentaires d'origine animale (ex : le lait) : De nombreuses études de terrain ont été conduites pour évaluer la présence des résidus de s-triazines dans le maillon lait de la chaîne alimentaire de la vache laitière (s-triazines-fourrage-vache laitière-lait-homme).

Une étude menée en 1989 a mis en évidence la présence de nombreux métabolites chez une chèvre en lactation, les chercheurs remarquent que la fraction organique des fèces et des urines renfermaient surtout des composés de dérivés chlorés tandis que la fraction aqueuse contenait une grande diversité de métabolites. Le lait quant à lui renfermait principalement du 2-chloro-4,6-diamino-s-triazine (DACT) métabolite majoritaire de l'atrazine.

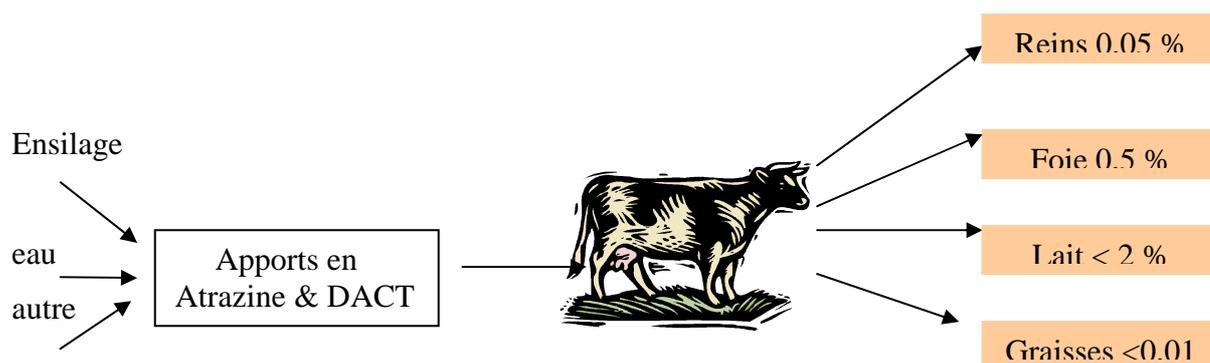


Figure. 3 : Bilan schématisé du devenir de l'atrazine et de la DACT dans la filière bovine (d'après Sumner et col, 1971).

✓ **Niveaux de contamination : Etat des connaissances bibliographiques :**

De 1980 à 1982, MALKOVA M et ses collaborateurs étudient la présence de substances inhibitrices, d'herbicides et d'éléments chimiques contaminants dans le lait de 19 laiteries de la région de Brno (Tchécoslovaquie), à différentes étapes du traitement.

A cet effet, 135 échantillons de lait cru ont été prélevés et analysés par chromatographie (avec une précision de 0,01 à 0,05 m/kg de lait) pour détecter la présence d'herbicides s-triazines. Des résidus sont trouvés dans 45 échantillons (33,3%) ; un tel pourcentage confirme le passage de cette molécule vers le lait.

Dans une autre étude conduite en 1982, par GAJDUSKOVA V, sur 46 échantillons de lait cru en provenance des laiteries de Hodonin, Breclav et Brno (Tchécoslovaquie), la chromatographie sur couche mince pour détecter les herbicides s-triazines et s-triazines dans chacun des échantillons (avec une précision de 0,02 à 0,05 mg/kg et une récupération de l'ordre de 90%) a révélé la présence dans 28,3% des cas, des résidus de Chloridazone, de prométryne, d'atrazine ou de simazine, en particulier dans les échantillons de Hodonin et de Breclav. Mais la concentration d'herbicide ne dépassait pas 0,05 mg/kg de lait.

De même, en 1991, MORAVA P et BABICKA L, publient les conclusions de leurs recherches sur la présence des résidus s-triazines dans le fourrage et le lait de vaches laitières. L'étude expérimentale est effectuée entre 1983 et 1989 à partir d'animaux provenant de 8 exploitations différentes de Tchécoslovaquie. Pour chaque échantillon prélevé, les s-triazine sont récupérées par extraction au méthanol et réextraction au chloroforme. Les résidus sont détectés par chromatographie gazeuse.

Les résultats révèlent la présence d'herbicides triazines dans le fourrage et de leurs résidus dans la chaîne alimentaire de la vache laitière. Le taux de résidus triazines dans le lait (dus à la présence de l'herbicide dans le fourrage) varie de 0% à 68,73%. Parmi ces résidus,

l'atrazine, la prométryne, la simazine et la terbutryne sont identifiées. La valeur des composés triaziniques varie entre 0 et 0,0095 mg/kg de fourrage, et entre 0 et 0,33 mg/kg de lait. Selon certains résultats, l'atrazine représentait 75% des résidus triaziniques. Une autre étude a été conduite par PHYLYPIAW H.M et HANKIN L dans le Connecticut (USA), afin de rechercher l'éventuelle présence d'atrazine et d'alachlor dans 78 échantillons de lait de tank ayant été prélevé à partir de 7 exploitations entre janvier et avril 1990. Les résultats d'analyse par la méthode ELISA et confirmés par spectrométrie de masse montrent une présence de cette molécule dans 72 échantillons avec des concentrations allant de 0,001 ppm à 0,019 ppm, et une moyenne de 0,0075 ppm qui reste très en deçà de la concentration fixées par l'EPA (Environmental Protection Agency).

En conclusion, il semble important de souligner que les concentrations retrouvées demeurent en dessous des limites maximales recommandées, et qu'à travers certaines expérimentations conduites ayant comme point de départ une administration d'Atrazine « pure » et à de fortes doses ce qui diffère fortement de la réalité. En effet, avant d'atteindre l'organisme animal, l'atrazine est métabolisé dans la plante, hors les études ne révèlent qu'un faible transfert des métabolites présents dans la plante vers le lait, la viande et les œufs. Ce transfert est possible grâce à la partie chloro-s-triazine présente dans la plante. Ainsi, l'homme est exposé indirectement aux métabolites d'atrazine par ingestion de denrées d'origine animale. Cependant, il convient de dire que l'animal diminue cette exposition et donc le risque pour l'individu.

III.3.H. Les Aryloxyacides

✓ Caractéristiques :

Les dérivés Aryloxyacides ou phytohormones sont des herbicides découverts dans les années 40, largement utilisés en agriculture. Notamment sur les cultures destinées à l'alimentation des vaches laitières. Les principales étapes de leur devenir dans l'organisme animal sont conditionnées par les propriétés physico-chimiques des produits.

Dans des conditions naturelles, l'absorption peut s'effectuer par trois voies : digestive, respiratoire et enfin cutanée.

Après leur absorption, les aryloxyacides vont être distribués aux différents tissus de l'organisme par le sang. Cette distribution est rapide et de nombreux tissus sont concernés. Ces molécules subissent différentes biotransformations dans le foie, à l'inverse de la dioxine qui elle ne subit que très peu de modification. Parmi les biotransformations possibles on peut noter les suivants :

- **Hydrolyse** : souvent celle des esters et en moindre mesure les sels aminés en acides libres ou en sels de sodium.

- **Beta-oxydations** : cette biotransformation intervient surtout chez l'homme et les ruminants, les produits ainsi obtenus sont :

- Soit des aryloxyacides actifs (le cas pour le 2,4-DB et le MCPB oxydés respectivement en 2,4-D et en MCPA).

- Soit des dérivés phénoliques correspondant à l'acide.

L'apparition de ces métabolites phénoliques a lieu essentiellement chez les ruminants et n'affecte qu'une faible proportion de l'acide absorbé.

- **Conjugaison** : chez les animaux la conjugaison s'effectue avec les acides aminés (la glycine en particulier).

L'importance de cette conjugaison est variable selon le composé, par exemple, le phénoprop est en général plus conjugué que le 2,4-D. Chez les ruminants, les dérivés phénoliques seront eux aussi conjugués, il s'agit d'une conjugaison avec l'acide glucuronique. Plusieurs voies d'élimination sont possibles, la principale étant la voie urinaire. L'élimination des phytohormones commence quelques heures après l'ingestion et suit une cinétique de premier ordre chez les animaux comme chez l'homme.

- ✓ **Niveaux de contamination : Etat des connaissances bibliographiques :**

Des essais effectués sur des bovins nourris pendant quelques jours avec 5 à 50 ppm d'aryloxyacides dans la ration montrent l'absence d'élimination de ces herbicides dans le lait. Puisqu'une alimentation contenant 1000 ppm d'aryloxyacides engendrait la détection de 0,5 ppm dans le lait ainsi que 0,06 ppm des dérivés phénoliques issus de leur métabolisme, il est donc peu probable, dans les circonstances naturelles, de trouver des résidus d'aryloxyacides en quantités aussi importantes dans le lait.

III.3.I. Les Nitrophénoliques

- ❖ **Cas du TCDD :**

- ✓ **Caractéristiques :**

Ce composé utilisé comme herbicide en post-levée est peu hydrosoluble, mais fortement lipophile, il présente une dégradation très lente (demie vie supérieure à 10 ans selon certaines études). Le TCDD est considérée comme la dioxine la plus toxique (DL50 est variable selon les espèces animales). sa métabolisation très partielle, avec une élimination principalement par les fèces et moindrement par les urines, cependant, de nombreuses études ont mis en évidence son excrétion lactée.

✓ **Niveaux de contamination : Etat des connaissances bibliographiques :**

Dans une étude menée par Kinzell et col en 1985, un lot de vaches laitières ont été nourries avec une ration contenant 0,2mg/kg de poids corporel par jour de PCP (pentachlorophenol) radioactif. Après 72h, 5% de la radioactivité a été observée dans le lait. Ceci montre que le lait ne constitue qu'une voie mineure d'excrétion de ce composé.

Parallèlement à cette étude, Jensen et Hummel se sont intéressés au passage potentiel du TCDD dans les produits laitiers étant donnée sa lipophilie. Dans cette optique, ils ont d'abord ajouté à la ration de trois vaches du TCDD (à 0,5 mg/kg) et de l'acide 2,4,5-trichlorophénoxyacétique afin de forcer le métabolisme. Puis chaque vache a reçu 5, 15, 50 et enfin 150 µg de TCDD par kg de ration pendant 14 jours à chacun de ces dosages, puis 500 µg/kg pendant 21 jours. Les résultats obtenus sont les suivants :

Dans le lait, les résidus variaient proportionnellement à la dose ingérée, d'indétectables (pour 5 µg/kg de ration) à 89 µg/kg de lait (pour 500 µg/kg de ration) ;

Dans la crème, il y avait 10 fois plus de résidus, ce qui s'explique par la lipophilie du TCDD. Par la suite, la concentration de TCDD a diminué dans le lait après retour à une ration non polluée, et la demi-vie plasmatique de ce composé a été évaluée à 41 jours (Jensen et Hummel, 1982).

III.3.J. Pesticides de familles diverses

❖ **Cas du fipronil :**

✓ **Caractéristiques :**

Cet insecticide appartenant à la famille des phénylpyrazoles, est employé pour la désinsectisation des locaux de stockage, de matériel de transport ainsi que traitement des sols. L'absorption de ce composé est quasi-complète après ingestion et sa distribution vise préférentiellement le tissu adipeux.

Le taux de transfert dans le lait reste faible mais mesurable, il a été estimé à 20% selon une évaluation faite par l'AFSSA-DERNS et l'AFSSE en 2005, et de 15 à 20% chez la poule pondeuse. La concentration du composé parental et de ses métabolites principalement sulfone et sulfure retrouvée lors d'une étude se situait entre 2% et de 0,5% respectivement, initialement présent dans l'aliment ingéré (Arnich et coll., 2005).

✓ **Niveaux de contamination : Etat des connaissances bibliographiques :**

Dans une expérimentation, trois chèvres en lactation, ont reçu une ration alimentaire incorporée de fipronil à raison de 0,05, 2 et 10 mg/kg pendant 7 jours consécutifs. Les dosages effectués 24heures après la dernière administration ont mis en évidence un taux de transfert de cette substance ou de ses métabolites dans le lait assez limités, mais quand même mesurable. 0,5 à 2%

de la concentration en fipronil présent dans la nourriture ont été retrouvés, majoritairement sous la forme du composé parental.

A l'inverse, aucune trace n'a pu être détectée dans le lait de vaches auxquelles avait été administrée une alimentation enrichie en fipronil à une dose équivalente à 4 fois le niveau de résidus estimé lors d'études récentes effectuées sur l'ensilage de maïs (« estimé » car la teneur en résidus était trop faible pour être détectée, la limite de quantification étant de 0,002 mg/kg). Ce résultat signifie donc que si ce composé existait dans le lait, il s'y trouvait à des concentrations inférieures à la limite de quantification de 0,01 mg/kg.

Une autre étude a été conduite par un groupe de chercheurs français sur un lot de 12 vaches laitières dans une ferme expérimentale des Trinottière (à Montreuil sur Loir) entre septembre 2004 et mars 2005 afin d'évaluer le potentiel de transfert des résidus de fipronil (sulfone, sulfide, désulfanyl et amide) dans le lait. Les principales périodes d'expérimentation étaient:

- Du 14 septembre au 30 septembre 2004 les vaches ont été nourries avec de l'ensilage de maïs non traité.

- Après une période de transition de 15 jours, les vaches sont de nouveau nourries avec de l'ensilage traité par du fipronil du 14 octobre au 5 janvier 2005.

Après une deuxième période de transition de 15 jours, les vaches sont remises à l'ensilage non traité du 21 janvier au 21 mars 2005.

Des échantillons de lait ont été prélevés à ces périodes et analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à une spectrométrie de masse en tandem.

Les résultats de cette étude montrent que les concentrations de résidus de fipronil sont plus importantes dans les échantillons provenant d'ensilage traité par rapport aux échantillons provenant d'ensilage non traité, mais restent toujours au-dessous des LMR.

- ✓ **Dans le maïs :** des traces de fipronil et de sulfone ont été identifiées dans quelques échantillons avec des concentrations moyennes de 0,09 (+ou - 0,10) micro gr/kg et 0,11 (+ ou - 0,02) micro gr/kg de matière sèche au moment de la floraison, et 0,07 (+ ou - 0,07) et 0,09 (+ou - 0,03) micro gr/kg de matière sèche avant récolte et 0,04 (+ou- 0,06) et 0,02 (+ou- 0,03) micro gr/kg de matière sèche dans l'ensilage.

Les valeurs des écarts types étaient relativement supérieures car aucun résidu n'a été trouvé dans certains échantillons.

Les concentrations de fipronil dans les graines traitées a été estimée à 1gr/kg. Ceci dit le maïs traité à partir de ces graines présentait des traces de fipronil et sulfone dans tous les échantillons. Aucune trace quantifiable de sulfide n'a été détectée.

Il convient ainsi de dire que les concentrations totales de fipronil (fipronil +sulfone) été 7 fois supérieures dans l'ensilage traité que dans l'ensilage non traité, avec une valeur 2 fois supérieure dans le maïs traité par rapport au non traité.

L'eau, la paille, les minéraux et les aliments correcteurs ont été caractérisés en terme de métabolites de fipronil. Les LOD et LOQ de ces composés sont comparables à celles observées pour les plantes.

3/5 d'échantillons de paille présentaient des résidus de fipronil entre LOD et 0,18 micro gr/kg. Concernant les aliments correcteurs, les échantillons contenaient des traces de résidus de fipronil avec 2/5 pour les tourteaux de soja (entre LOD et LOQ), 2/5 pour le soja (entre LOD et 0,66), 1/2 de blé entre LOD et LOQ. Les résidus de fipronil dans les minéraux n'ont pas été identifiés, l'eau, le magnésium et le sel qui ne représentent qu'une infime partie n'ont pas été analysés.

Les traces de résidus de fipronil dans le maïs non traité, le soja, le blé et la paille témoignent d'une diffusion de la contamination dans l'environnement.

✓ **Dans le lait :** le sulfone, considéré comme le principal métabolite du fipronil semble toujours être retrouvé avec des concentrations moyennes de 0,14 (+ ou - 0,05) micro gr/l, contrairement au fipronil et désulfinyl qui eux n'ont jamais été détectés. Le sulfide et l'amide ont été détectés des fois mais non quantifiés.

Cette méthode validée par la directive 2006/657/EC, a permis d'estimer la valeur de LOQ à 0,025 dans le lait et 0,05 dans les plantes pour tous les résidus sauf pour l'amide dont les valeurs sont 4 fois supérieures.

A ces concentrations, les chercheurs ont pu détecter des ultra-traces de résidus de fipronil et de sulfone dans plusieurs matrices alimentaires.

Parallèlement à ces résultats, Un laboratoire du CNRS a lui aussi rapporté un cas de dosage de sulfone de fipronil dans du lait de vache, à une teneur de 0,2 µg/kg (LD = 0,04 µg/kg et LQ = 0,1 µg/kg). Ces données amènent à conclure que la contamination des denrées alimentaires, transformées ou non, par des résidus de fipronil semble faible (Arnich et coll., 2005).

❖ **Cas du cyprodinyl :**

✓ **Caractéristiques :**

Ce fongicide appartenant à la famille des phénylaminopyrimidines est utilisé dans le traitement des semences de céréales à raison de **5 g/q** et pour protéger les parties aériennes des cultures de blé, orge, pois et triticale en en appliquant **500 à 600 g/ha** (MAP, 2007). Le cyprodinyl traverse la barrière digestive en très forte proportion et se répand dans tous les tissus. Il subit surtout des oxydations et des sulfoconjuguaisons et les métabolites ainsi obtenus partent dans l'urine (voie majoritaire) et les fèces. L'absorption par voies respiratoire et cutanée reste elle aussi possible, quoique moins efficace pour la deuxième (AFSSA, 2007).

✓ **Niveaux de contamination : Etat des connaissances bibliographiques :**

Dans le cadre d'une évaluation du danger potentiel de cyprodinyl, la WHO & FAO ont établi un rapport général en 2003 à partir d'une expérimentation réalisée sur des vaches recevant 5,15 ou 50 ppm de cyprodinyl par rapport à la matière sèche de la ration pendant 28 jours.

Les prélèvements de lait effectués régulièrement à chaque traite ne renfermaient pas de résidus de cyprodinyl en quantité mesurable dans le lait, ce qui signifie que les concentrations de résidus potentiels étaient inférieures à la limite de quantification de 0,01 mg/kg.

Aussi, des expérimentations similaires faites sur des chèvres recevant 100 ppm de cyprodinyl dans leur ration soit 4,1 mg/kg PV pendant 4 jours, n'ont pas permis de mettre en évidence le composé parent dans le lait, mais de faibles quantités de certains de ses métabolites, à savoir son dérivé hydroxylé en position 4 sur le cycle phényle et ses glucurono- et sulfoconjugués. Ces résultats nous poussent ainsi à dire que le cyprodinyl ne représente pas de préoccupation vis à vis de la santé publique via le lait.

IV/ Faisabilité analytique :

IV.1. Objectif

Les produits phytosanitaires sont susceptibles de se retrouver partout , à la suite d'un épandage volontaire ou même après un entraînement par divers agents ou par rémanence.

Ils sont présents à des teneurs en deca ou au delà des limites maximales de résidus, mais toujours en faibles quantités voir souvent à l'état de trace.

L'omniprésence, la teneur, la diversité des molécules employées , la diversité des matrices requièrent des techniques analytiques spécifiques, fines, sensibles et fiables.

De ce fait, l'objectif est double, d'une part protéger le consommateur en arrivant à détecter les plus basses concentrations équivalentes aux limites réglementées, permettre aussi la détection des substances interdites suite à une utilisation abusive , spécialement pour les composés avec des dangers potentiels génotoxiques et carcinogènes, et respecter le libre échange d'autre part.

IV.2. Méthodes d'analyse utilisées

La recherche de résidus de pesticides doit être rationnelle et productive. En effet on assiste à un développement de deux types de méthodes ; les méthodes multi résidus , communément appelés QUECHERS, sont des méthodes automatisables et capables de détecter un maximum de substances à partir de plusieurs matrices alimentaires en utilisant de très faibles volume de solvant et peu ou pas d'étape de purification et les méthodes mono résidus qui ne peuvent détecter qu'une seule substance voir une seule famille de produits phytosanitaires.

Le but ici n'est pas de recenser toutes les méthodes analytiques qui permettent d'analyser les résidus de pesticides dans les différentes matrices de façon exhaustive, mais d'apporter un aperçu général sur les techniques utilisées à l'heure actuelle.

Les procédures d'analyse passent par différentes étapes. L'optimisation de ces étapes contribuerait à la réduction du temps d'analyse ainsi qu'à la réduction de l'incertitude, car chaque étape ajoute une source d'erreur.

De nouvelles méthodes d'extraction et de concentration ont été développées utilisant de faible volume de solvant et d'échantillon. Cependant, l'application de ces diverses techniques à des niveaux de traces dans les aliments reste encore difficile.

L'automatisation croissante de certaines techniques doit augmenter la robustesse en même temps réduire le temps d'analyse. La reproductibilité de certaines méthodes dépend souvent de la matrice à analyser et doit encore être testée pour plusieurs résidus de contaminants.

Pour les matrices complexes, comme les aliments, la combinaison de différentes techniques est souvent recommandée.

Les techniques de séparation des résidus de pesticides font souvent appel aux méthodes chromatographiques classiques comme la chromatographie gazeuse et la chromatographie liquide haute performance (HPLC) dont le principe est décrit ci-dessous :

- **Chromatographie gazeuse :**

La chromatographie en phase gazeuse est une discipline scientifique relativement récente puisqu'elle a vu le jour de façon concrète en 1932 par la parution du célèbre article des deux chercheurs JAMES et MARTIN sur la chromatographie et l'estimation des acides gras volatils par chromatographie de partage gaz-liquide.

C'est une technique physicochimique de séparation, basée sur la migration différentielle des composés d'un mélange sous l'influence du déplacement d'un fluide (phase mobile) sur un milieu poreux doué de propriétés d'adsorption, de partage, d'affinité, de filtration ou d'échange (phase stationnaire). L'identification des constituants du mélange est réalisée par le détecteur qui opère selon un principe physique.

- Principe

Lorsqu'un mélange de composés est injecté dans un chromatographe, les différents constituants, une fois vaporisés dans l'injecteur sont entraînés par le gaz vecteur dans la colonne où ils vont cheminer à des vitesses différentes selon leur affinité, plus au moins grande vis-à-vis de la phase stationnaire.

Si la colonne et les conditions opératoires sont bien choisies, on pourra obtenir une séparation complète à la sortie du système, une bonne séparation se traduit par un courant électrique mesurable.

▪ **Chromatographie liquide haute performance (HPLC) :**

La chromatographie liquide haute performance (**CLHP**) ou chromatographie en phase liquide (**CPL**) est une méthode physico-chimique de séparation. L'échantillon à séparer est en solution : les constituants à séparer sont appelés **solutés**.

La séparation résulte d'un équilibre de partage des solutés entre la phase stationnaire remplissant la colonne et une phase mobile traversant cette colonne.

La phase mobile en provenance d'un réservoir de solvant est pompée en permanence à travers la colonne. L'analyse débute par l'introduction de l'échantillon en solution dans la vanne d'injection. La solution est poussée dans la colonne par la phase mobile.

La séparation se produit dans la colonne. Les composés séparés sont repérés sous forme de pics en sortie de colonne par un détecteur approprié.

Les différentes parties de l'appareillage en contact avec la phase mobile sont généralement construites en acier inoxydable de façon à tenir à la pression (de l'ordre de 40 à 150 bars) et à résister à la corrosion chimique.

Ces méthodes de séparation sont souvent couplées à des détecteurs spécifiques et adaptés aux pesticides notamment, les détecteurs à capture d'électrons particulièrement sensibles aux organochlorés, et les détecteurs thermoioniques sensibles aux composés organophosphorés et azotés

Cependant, le couplage aux méthodes de spectrométrie de masse et ou en tandem (MS/MS) demeure le moyen le plus efficace pour une confirmation par excellence à l'heure actuelle (cf. annexe 3, modélisation du couplage en chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse).

Pour conclure, l'objectif de chaque méthode analytique est d'atteindre les performances requises (c'est à dire sensibilité, exactitude et précision) en appliquant le minimum d'étapes possibles. Le développement actuel de méthodes plus sélectives notamment pour l'analyse des résidus de pesticides à l'état de traces devrait être plus important produisant des bases de données plus fiables à l'appui des études d'évaluation de risque et de sécurité alimentaire.

V / Evaluation du risque de contamination par les produits phytosanitaires :

V.1. Etablissement de liste de substances prioritaires à rechercher dans le lait :

V.1.1 Evaluation de la multi-exposition aux pesticides «étude AFSSA » :

Une étude a été réalisée par l'AFSSA dans le but d'établir une estimation des apports maximums théoriques (AJMT) en pesticides de la population Française avec prise en compte de la contribution des produits laitiers (représentés essentiellement par le lait, les yaourts et autres produits dérivés du lait).

- Les données des consommations alimentaires ont été recueillies à partir de l'enquête INCA réalisée entre 1998 et 1999 qui répertorie les consommations alimentaires de 3003 individus de 3 à 75 ans.

- Les données des LMR établies sur des critères agronomiques, à partir des niveaux de résidus retrouvés lors d'essais au champ (The supervised trials median residue, STMR) et du plus haut niveau de résidus (Highest Residue, HR), selon les Bonnes Pratiques Agricoles ont été recueillis à partir de la base de donnée d'EUROPA pour les LMR européennes et de la base de donnée d'AGRITOX pour les LMR nationales.

- Les données des DJA ont été fournies par la base de donnée d'EUROPA.

Afin d'estimer au mieux les AJMT, certains ajustements ont été réalisés :

- Conservation des individus normo-évaluant,

 - Décomposition de chaque aliment en pourcentage d'ingrédients réellement consommés, comme le recommandent The Food and Agriculture Organization (FAO) et l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS),

 - Décomposition des aliments composés en denrées brutes.

Afin de transcrire au mieux, l'Annexe 1 du règlement 178/2006, concernant les LMR fixées pour les denrées d'origine animale :

- Les Log de P des 134 substances, ayant au moins une LMR pour les denrées d'origine animale, ont été recueillis,

- Les pourcentages de matière grasse de toutes les denrées alimentaires d'origine animale ont également été recueillis.

L'AJMT a pour hypothèse que la concentration en résidus de pesticides est égale, pour chacun des aliments, à la limite maximale de résidus autorisée, ceci implique que toutes les cultures ont été traitées avec la substance active, que la dose résiduelle sur les aliments est égale à la LMR, qu'aucune diminution de la concentration en résidus n'intervient entre la récolte du produit frais et sa consommation. Or, il est largement reconnu que la teneur en pesticides dépend fortement, du temps et des conditions de stockage avant la consommation, du lavage, des pratiques culinaires et de la partie consommée (exemple la peau). De ce fait, un AJMT corrigé a été calculé en prenant en compte et les usages de pesticides par culture et

la part des importations. Les critères utilisés à l'AFSSA pour déterminer les substances prioritaires sont :

- Les substances pour lesquelles les AJMT sont supérieurs à 80% de la DJA,
- Les contributions des produits laitiers supérieurs à 5 % de la DJA.

Ainsi, d'après les résultats obtenus, il a été observé que les produits laitiers contribuent à plus de 5% de la DJA, sur la vie entière, de 25 substances actives et 18 de ces substances ont des AJMT supérieurs à 80% de la DJA.

D'après cette étude, il est pertinent d'analyser, dans les produits laitiers, les substances suivantes :

- fentin acetate,
- fentin hydroxyde,
- cyhexatin,
- carbofuran,
- carbaryl,
- oxydemeton-methyl,
- disulfoton,
- aldrin,
- dieldrin,
- diazinon,
- heptachlor,
- phorate,
- chlofenvinphos,
- methidathion,
- pirimiphos-methyl,
- vinclozolin,
- dicofol,
- methomyl.

L'ensemble de ces substances sont aujourd'hui interdites en France, à l'exception du Pirimiphos-méthyl qui reste largement utilisé comme insecticide sur toutes les cultures et le méthomyl utilisé comme traitement des bâtiments d'élevage.

V.1.2 Etude Institut de l'Élevage «établissement de liste prioritaire » :

Nous avons tenté d'établir une classification de substances phytosanitaires afin de les hiérarchiser à travers une combinaison de critères prédéfinis. Cette hiérarchisation des

substances conduira à la construction d'une liste de substances dites « prioritaires » qui fera l'objet d'un test sur le terrain.

L'établissement de cette liste de substances prioritaires de produits phytosanitaires selon leur niveau de risque pour le consommateur et qui sont autorisés et utilisés en Europe est réalisé à partir des bases de données EUROPA (le site Internet de la Commission européenne sur la sécurité alimentaire), et Françaises (AGRITOX) et (FOOTPRINT) pour le profil toxicologique et les caractéristiques physico-chimiques des substances étudiées. Cependant, il semble important de souligner que ces bases de données françaises et européennes ne sont pas totalement complètes.

➤ **Objectif :**

La surveillance de ces produits phytosanitaires est difficile à mettre en œuvre dans la mesure où les substances actives qui entrent dans leur composition sont très nombreuses et très diverses compte tenu de leurs propriétés, de leurs usages, de leurs modalités de transfert ainsi que de leurs effets chez l'homme.

Les méthodes d'analyse disponibles actuellement sont difficiles à mettre en œuvre et onéreuses et ne concernent en général qu'un nombre limité de substances

Compte tenu de ces éléments, l'établissement d'une liste de substances prioritaire semble donc utile afin d'optimiser les critères de sélection des molécules à mesurer dans les denrées alimentaires (le lait dans notre étude) d'une part, et d'apprécier l'existence d'un risque de contamination du lait par les produits phytosanitaires d'autre part.

L'appréciation de ce risque doit permettre la mise en place de mesures de prévention proportionnées, à commencer par un plan de surveillance interne à la profession laitière.

➤ **Démarche d'évaluation de risque :**

L'évaluation des risques sanitaires et du management des risques environnementaux comprend dans cette étude quatre étapes à savoir :

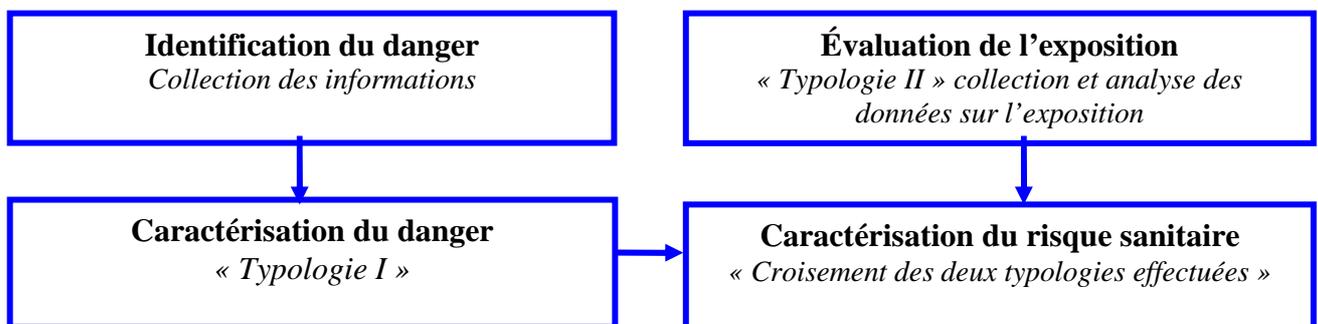


Figure.4 : Démarche générale de l'analyse des risques environnementaux.

▪ **Identification du danger**

Les dangers sont représentés ici par les produits phytosanitaires utilisés en élevage laitier sur les cultures mais aussi comme traitement des grains au stockage. Environ 700 matières actives différentes sont utilisées, en France, par les agriculteurs.

Dans le but d'identifier les substances les plus susceptibles de se retrouver dans le lait, nous avons réalisé une classification sur la base de 144 substances phytosanitaires retenues suite aux résultats d'une étude menée au sein de l'Institut de l'Élevage en 2004, (S.Bertrand, 2004). Ces 144 substances ont été retenues car elles sont utilisées sur prairie, maïs et céréales, ce qui représente la base de la ration d'une vache laitière.

Ces substances ont été classées par rapport à des critères d'expositions de la vache laitière et des critères de danger relatifs à la substance utilisée.

▪ **Caractérisation du danger**

Les critères de danger retenus pour cette étude sont :

- La dose journalière acceptable (DJA) qui représente la toxicité chronique.
- Le coefficient de partage octanol-eau ou log de P qui renseigne sur le degré de liaison à la matière grasse du lait.
- La Limite Maximale de Résidus (LMR) dans le lait.
- La classe de toxicité.

Les données constituées regroupent un bon nombre de variables de nature aussi bien physico-chimiques que biologiques. Ces renseignements sont tirés de différentes bases de données essentiellement la base de donnée EUROPA pour les LMR européennes et AGRITOX pour les LMR nationales, dans le lait, révisées à l'heure actuelle, les bases de données d'AGRITOX et de FOOTPRINT et EUROPA pour les propriétés physico-chimiques des matières. Ces bases de données recensent toutes les monographies des substances actives.

▪ **Evaluation de l'exposition**

L'exposition représente le couple «concentration en polluant/durée» auquel est confrontée la vache laitière. Plusieurs paramètres peuvent intervenir dans la notion d'exposition, compte tenu de paramètres de variation, nous n'avons gardé pour notre typologie que les critères qui semblent influencer de façon considérable l'exposition de l'animal à ces xénobiotiques. A cet effet, les critères étudiés sont :

- La voie d'exposition (par l'air, le sol, le fourrage, l'eau ...)
- La période de traitement (avant récolte ou au stockage)

- La présence de la molécule dans l'eau, dans l'air et dans l'alimentation animale (selon les bilans IFEN 2004, Lig 'Air 2002 et DGCCRF de l'année 2001)

- La persistance de la substance dans le sol.

- La fréquence d'utilisation et d'emploi de la substance par l'éleveur fournie par les résultats des questionnaires établis par l'étude de S. Bertrand en 2004.

Le tableau suivant résume les critères d'exposition de la vache laitière et de dangers retenus comme variables à analyser dans cette typologie.

A-Variables d'exposition	Unité	Signification
1-Fréquence	s.d	Fréquence d'utilisation du produit phytosanitaire
2-Période	s.d	Période d'utilisation du produit phytosanitaire
3-Persistance du produit	jours	Persistance dans le sol
4-Présence du produit dans les compartiments	s.d	Présence dans l'air, le sol et dans l'eau
B-Variables de danger	Unité	Signification
5-Coefficient de partage octanol-eau = Kow	s.d	Affinité pour les membranes biologiques et les graisses (caractère de bioaccumulation)
6-Dose Journalière Acceptable = DJA	mg/kg PC	Toxicité à long terme pour l'homme
7-Limite Maximale de Résidu dans le lait = LMR (lait)	mg/kg	Limite légale applicable aux concentrations du produit phytosanitaire sur les cultures
8-Classe de toxicité	s.d	Nature du produit et son classement toxicologique

Tableau II : Les variables retenues pour la typologie.

s.d: sans dimension.

Pc: poids corporel.

Remarque : Choix des variables retenues pour l'étude

A la lecture de la littérature, nous avons remarqué qu'il existe un bon nombre de critères de danger relatifs aux propriétés physico-chimiques des substances étudiées, pouvant intervenir dans le passage de ces substances vers le lait, à savoir le Pka ainsi que le poids moléculaire. Cependant, les valeurs de ces propriétés ne sont pas complètes dans les bases de données, de ce fait, elles constituent des données manquantes qui peuvent biaiser les résultats de cette analyse statistique, ce qui justifie leur non prise en compte.

▪ **Caractérisation du risque**

La caractérisation du risque dans cette étude s'effectue par croisement des critères de danger et des critères d'exposition. Afin de hiérarchiser les molécules qui présentent le plus de risque de contamination du lait, un traitement statistique par analyse typologique a été effectué.

Méthode de construction de la liste :

- Proposition d'une sélection de critères (variables et modalités de variables).
- Disposition de données permettant de renseigner les critères retenus (à savoir ; les données relatives aux usages, aux propriétés physico-chimiques, écotoxicologiques et données toxicologiques des substances étudiées).
- Combiner les variables de manière efficace. Dès lors que l'on combine plus de 3 facteurs, la hiérarchisation devient difficile et nécessite l'utilisation d'outil mathématique, à cet effet, le logiciel SPAD version 7.0 (Data management. Analyse des données. Data Mining) a été utilisé pour le traitement de cette analyse.

- Analyse statistique :

Nous avons procédé dans un premier temps à une analyse statistique descriptive multi variée à savoir l'analyse des correspondances multiples (ACM), sur les critères de danger et sur les critères d'exposition séparément. Cette analyse des correspondances multiples ne traite que des données qualitatives. De ce fait, et dans le but d'exploiter toutes les variables retenues, un découpage en classes des valeurs des variables quantitatives a été réalisé afin de transformer nos données continues en nominales. Cette transformation occasionne une perte de l'information brute mais présente des avantages tels que :

- Pouvoir exploiter simultanément des variables nominales et continues en correspondance multiple.
- Valider à posteriori les données en permettant d'observer l'éventuelle contiguïté des classes voisines.
- Et surtout, mettre en évidence des éventuelles liaisons non-linéaires entre variables continues.

Après l'ACM, une classification ascendante hiérarchique (CAH) a été réalisée sur les deux types de données, elle a pour but de fournir des classes d'individus les plus cohérentes possibles, soit en constituant les groupes les plus homogènes ou à l'inverse, les groupes qui se distinguent le plus les uns des autres.

Cette classification propose plusieurs partitions avec différents pourcentages d'inertie. Nous avons opté pour celle qui nous a semblé la plus représentative de l'ensemble des molécules

étudiées. Après choix des classes retenues, nous avons procédé à la réalisation d'un tableau croisé qui nous a permis d'obtenir des croisements de molécules.

La figure suivante illustre la démarche du travail statistique.

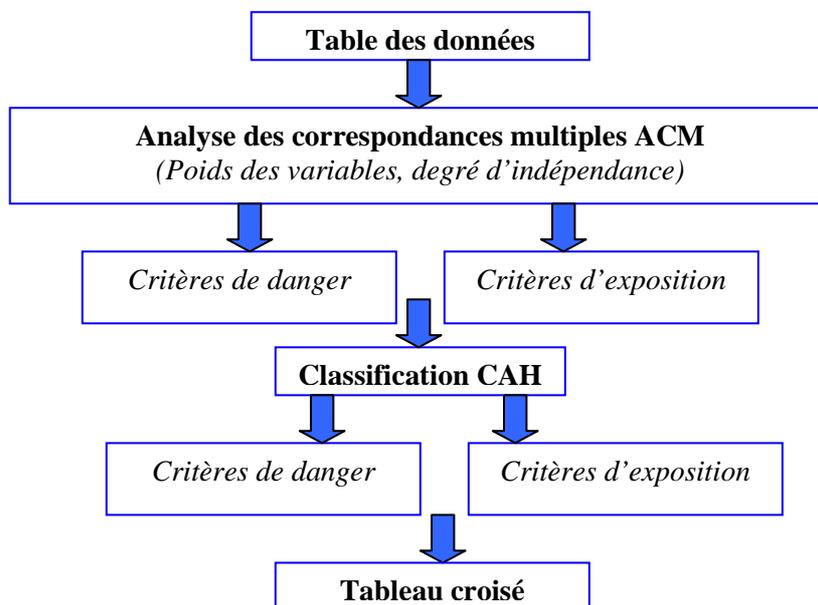


Figure.5: La méthodologie statistique de construction d'une liste de substances «prioritaire »

- Résultats :

Les données retenues pour cette étude proviennent des sources citées précédemment, cependant, il faut savoir que malgré le regroupement de plusieurs bases de données, nous avons recensé :

- 51 substances ne possèdent pas de LMR lait ;
- 4 substances ne présentent pas de DJA ;
- 4 données manquantes relatives à la valeur du Log P ;
- Et enfin 26 molécules exemptes de classification toxicologique.

Pour plus de représentativité, nous avons retenu la partition en 8 classes pour les critères d'exposition avec un pourcentage d'inertie de 0,66 et celle en 9 classes pour les critères de danger avec un pourcentage d'inertie de 0,54.

Après croisement des classes et révision des profils et usages des substances en exploitations, nous avons obtenu les listes de substances suivantes :

➤ **Liste de substances actives « prioritaires », retenues comme étant fortement à risque (58 molécules) :**

Ces molécules sont issues des croisements entre classes caractérisées par :

- Coefficient de partage octanol-eau >3 (pour pratiquement toutes ces substances).
- Des DJA et des LMR « lait » de faibles valeurs.
- Un traitement sur le maïs (considéré comme la ration principale de la vache laitière).
- Les insecticides de nature très toxique, et dans ce cas ils sont très à risque même si leur utilisation est modérée.
- Les fongicides appliquées sur maïs, employées en grandes quantités et assez persistants dans le sol, ayant une plus forte propension à générer une portion non négligeable de résidus.
- Les fongicides appliquées sur céréales avec une très grande fréquence d'emploi.
- Les substances fortement toxiques avec une éventuelle présence dans les autres compartiments biologiques ont été retenues aussi.
- Quelques herbicides utilisés en quantités importantes sur maïs et prairie.

De plus, toutes les molécules considérées comme « prioritaires » par l'AFSSA avec un AJMT dépassant 80% la DJA font partie de cette liste.

Cependant, nous n'avons pas pris en compte dans notre hiérarchisation les molécules interdites. Ces substances sont donc à surveiller prioritairement par rapport aux autres.

Les molécules appartenant à cette catégorie sont décrites ci-dessous :

Cyhexatin	mercaptodiméthur	2,4-D
Dicofol	tetraconazole	Linuron
Tau-fluvanilate	alphaméthrine	isoproturon
Bitertanol	bromoxynil	tefluthrine
Bromuconazole	Difeniconazole	carbofuron
Fenpropidine	deltaméthrine	Triallate
Cinidon-éthyl	fludioxonil	Aclonifen
Pyréthrine 1	Pyréthrine 2	dichlorvos
Carfentrazone	glyphosate	cyfluthrine
bifenthrine	benfuracarbe	Ioxynil
Prochloraze	Metconazole	cypermethrine
esfenvalérate	clofentézine	pyrimicarbe
chlorothalonil	lambda-cyhalothrine	Phosalone

Diflusalazole	fendpropimorphe	Diclofop
betacyfluthrine	Tridemorphe	Tebuconazole
Betacyfluthrine	triticonazole	Aldicarbe
Prosulfocarbe	diflubenzuron	Fluquiconazole
Pyrimiphos-méthyl	imidaclopride	Epoxiconazole
imazamethabenz	chlorpyriphos-éthyl	phoxime
Oxydemeton-méthyl		

➤ **Liste de substances moyennement à risque (30 molécules)**

Les molécules appartenant à cette catégorie, bien que par leurs propriétés basiques et lipophiles, ne sont pas très utilisées en pratique (notamment les herbicides), ou leur pratique se limite aux céréales avec emploi à faibles doses et des transferts vers le lait assez réduits décrits dans la littérature.

Chlorsulfuron	picloram	triclopyr
Ethofumésate	bentazone	cyprodinil
Picolinafen	acetochlore	captane
Carbendazime	trifloxystrobine	fipronil
Azoxystrobine	chlorotoluron	diflufenican
Fenbuconazole	zetacypermethrine	diquat
Quinoxifene	hexaconazole	fenoxaprop
Flusilzole	iprodione	fluzifop
Pendimethaline	quizalofop	trifluraline
Pyraclostrobin	cycloxidime	2,4-MCPA

➤ **Liste de substances faiblement à risque (48 molécules)**

Les molécules qui ne semblent pas être à risque sont surtout les herbicides utilisés sur céréales, Ces herbicides sont appliqués sur les mauvaises herbes en début de culture ce qui doit leur laisser le temps de se dégrader avant la récolte. Ils présentent à priori moins de risque pour le lait que les insecticides et fongicides qui sont appliqués directement sur les plantes et plutôt en fin de culture. De plus, les céréales représentent une part beaucoup plus faible en quantité que le maïs et l'herbe dans la ration d'une vache laitière.

Aussi, nous avons rajouté à cette liste, les molécules ne possèdent pas d'LMR et dont les propriétés physico-chimiques (ex ; log p et nature toxicologique) ne semblent pas favoriser le transfert vers le lait).

Les molécules de cette catégorie sont listées ci-dessous :

Amidosulfuron	florasulam	flupyrsulfuron
Propoxycarbazone	pyraflufen	rimsulfuron
Sulfosulfuron	prosulfuron	mecoprop
Isoxaflutol	clopyralid	carbetamide
Mesosulfuron-methyl	nicosulfuron	thifensulfuron
Iodosulfuron	foramsulfuron	asulame
Pyridate	2,4-MCPB	DMTA -P
Phosphure d'aluminium	mefenoxam	metosulam
Dicamba	acide propionique	mefenpyr
Triacetate-guazatine	cyproconazole	isoxaben
Flutriafol	picoxystrobine	mancozébe
Manébe	bifenox	quinoxifène
Isoxadifen-éthyl	silthiofam	spiroxamine
Thirame	triazoxide	triticonazole
flurtamone	Cloquintocet	dichlormide
dichlorprop	Fluroxypyr	flufénacet

➤ **Liste de substances présentant des DJA très faibles (8 molécules) :**

Les molécules sont représentées ci-dessous :

- mesotrione
- aminotriazole
- sulcotrione (cancérogène non génotoxique)
- clodinafop
- alachlor
- tribenuron
- carboxine
- benoxacor

D'après les propriétés de ces molécules et leurs usages, elles ne semblent pas constituer un risque majeur, cependant, on observe qu'elles possèdent toutes de très faibles doses journalières admissibles. Ceci pourrait être expliqué par le manque d'information ou d'explication de mécanismes d'action toxicologiques, ce qui implique généralement l'application d'un facteur de sécurité plus lourd par les instances d'évaluation.

VI / Partie expérimentale :

VI.1. Matériels & Méthodes :

Une opération pilote a été mise en place dans le but de tester la pertinence de la liste de substances prioritaires établie à travers la typologie réalisée précédemment et de préparer la construction d'un plan de surveillance au niveau national.

La réalisation de cette opération comporte différentes étapes:

➤ Sélection des exploitations

Pour être sélectionnés, les éleveurs devront répondre aux impératifs attendus qui sont l'utilisation de plusieurs matières actives de la liste prioritaire sur leurs cultures principalement le maïs, le blé et l'orge.

Le protocole est adapté à une dizaine d'élevages représentés ci-dessous.



▲ Exploitations enquêtées.

■ Exploitations en cours.

Figure.6: Répartition géographique des exploitations enquêtées.

Comme le montre bien la carte, ces exploitations ont été sélectionnées dans les régions fortes productrices de lait, à savoir, la basse Normandie, pays de la Loire, Bretagne et Rhône alpes. Cependant, il semble important de rappeler que l'échantillon final de cette étude est insuffisant pour obtenir une image globale et détaillée de l'utilisation de ces molécules sur le terrain, il ne prétend pas à une extrapolation à l'ensemble des élevages de la métropole.

➤ **Etablissement de questionnaires**

Le questionnaire réalisé tente d'être le plus exhaustif possible sur toutes les substances et préparations utilisées dans les exploitations. En effet les données collectées sont de 3 types à savoir :

- Des données générales sur les élevages (cf. questionnaire annexe1).
- Des données sur l'emploi des produits phytosanitaires durant l'année 2008 et en cours sur les cultures et au moment du stockage si y'a lieu.
- Des données relatives à l'utilisation de produits antiparasitaires et produits biocides et les traitements de désinfection des locaux d'élevage entrant dans la liste de substances recherchées.

➤ **Analyse des échantillons**

Le protocole de prélèvement de lait sera étalé en trois périodes de l'année, soit en fin d'hiver, en été et en automne. Ceci dans le but d'évaluer l'impact des changements de ration alimentaire de la vache laitière sur les teneurs en résidus dans le lait.

Le prélèvement s'effectue sur du lait de tank d'un volume de 2 litres selon un matériel adapté fourni par le laboratoire d'analyse (CARSO), suivi d'une phase de conservation (essentiellement par congélation entre -18° et -20°C) et envoi accompagné d'une fiche d'identification.

A ce moment, nous n'avons procédé qu'à la première période de prélèvement considérée dans le protocole et correspondant aux prélèvements d'été et uniquement sur cinq fermes.

Les prélèvements et analyses correspondant à la deuxième période du protocole, sont en cours. Les analyses seront établies en fonction de la liste des produits phytosanitaires utilisés sur les exploitations et l'alimentation des vaches laitières au moment du prélèvement. Les techniques utilisées selon la norme NF EN 1528 1-4 F ou G COFRAC sont :

- La chromatographie gazeuse avec détecteurs à capture d'électrons pour les composés organochlorés et pyréthrinoides.
- La chromatographie gazeuse avec détecteurs thermoïoniques pour les composés organophosphorés.

- La chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse pour la détection du fipronil.

- La chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (HPLC / MS-MS) pour la détection des carbamates.

Le laboratoire CARSO tente de développer des méthodes analytiques pour l'analyse des fongicides et herbicides (date prévue pour le dernier trimestre 2009).

VI. 2. Résultats :

Les données collectés à travers le traitement des questionnaires reçus de 4 exploitations sur 10 montrent un emploi important de fongicides, herbicides représentés principalement par les molécules appartenant aux familles des triazoles (metconazole, epoxiconazole, propiconazole,...), sulfonyleurés (prosulfuron et nicosulfuron principalement), trikétones (surtout la sulcotrione et la mesotrione), ainsi que l'emploi du glyphosate (comme herbicide) sur une seule exploitation.

Le graphique suivant illustre les différentes familles de pesticides utilisées dans les 4 exploitations.

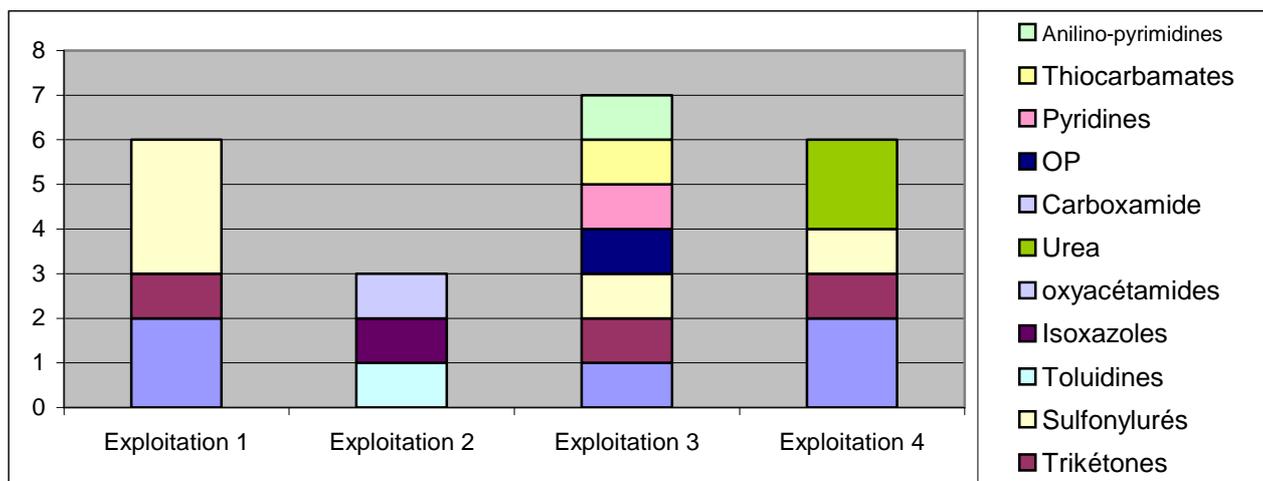


Figure 07: répartition des famille de produits phytosanitaires utilisés en élevage laitier.

Les résultats des dosages de laboratoire montrent que sur les 5 exploitations analysées , les concentrations retrouvées étaient toujours inférieures aux limites de quantifications par rapport à la matière grasse. Ces premiers résultats sont plutôt rassurant, cependant, il est évident que les résultats en vraie grandeur peuvent être biaisés , soit que certaines substances n'aient pas été recherchées (le cas des herbicides très employés sur le terrain), ou mal détectées (sensibilité insuffisante, échantillonnage non représentatif). C'est pour cette raison qu'une réelle veille toxicologique s'impose. Elle doit se traduire par une densité de contrôles

suffisante et par des discussions et dialogues permanents au sein d'organismes officiels publics et privés , au niveau national européen et international, et la mise en cause des acquis en fonction des nouvelles données.

Ceci impliquera certes des répercussions sur le plan financier, mais une telle étude effectuée durant une année permettra de confirmer l'absence de résidus de produits phytosanitaires et d'évaluer le statut actuel en incluant des enquêtes récentes menées sur le terrain.

VI.3. Discussion :

A la lecture de ces premiers résultats d'analyse fournis par cette étude nous remarquons qu'aucun échantillon ne renfermait des teneurs au-dessus des limites de quantification durant cette période de l'année. Ces résultats sont plutôt rassurant, cependant, il est évident que les résultats en vraie grandeur peuvent être biaisés, soit que certaines substances n'aient pas été recherchées (le cas des herbicides très employés dont on ne dispose pas à l'heure actuelle de méthodes analytiques efficaces permettant de les doser), ou mal détectées (sensibilité insuffisante, échantillonnage non représentatif). A cet effet, nous ne pouvons pas conclure à l'issue de la première étape du protocole.

La poursuite de l'étude s'avère nécessaire pour écarter tout éventuel risque de contamination possible.

VI.4. Les limites rencontrées :

Lors des multiples recherches traitant des produits phytosanitaires, il est apparu que nombreuses sont les publications qui datent d'une trentaine d'années voire plus. Elles ne concernent que les molécules très largement étudiées et dont les effets sont connus et pris en compte lors des évaluations toxicologiques, d'ailleurs beaucoup sont aujourd'hui interdites en usage agricole. Aussi, le nombre considérable de données manquantes rend l'approche de l'évaluation des risques environnementaux plus difficile à mettre en œuvre (l'incertitude générée par les données manquantes).

Il faut noter aussi que l'absence de méthodes d'analyses pour la plupart des substances utilisées aujourd'hui de manière courante par les éleveurs est, bien entendu, aussi une limite majeure de cette étude.

VII / Limiter les risques liés aux produits phytosanitaires :

Les risques environnementaux et sanitaires sont présents tout au long du cycle de vie des pesticides:

- En amont de l'exploitation agricole : au moment de leur fabrication, de leur transport et de leur stockage ;
- Sur l'exploitation : avant l'application du produit au moment du remplissage du

pulvérisateur, sur la parcelle traitée pendant l'application, après l'application lors de l'élimination des déchets occasionnés;

- En aval de l'exploitation : on retrouve des résidus de pesticides dans le milieu (eau, air, sol) et sur les produits destinés à la consommation animale et humaine.

Il existe différentes voies pour réduire ces risques qui sont détaillées ci-dessous :

- Agir sur les produits phytosanitaires et les denrées alimentaires : une première évaluation des risques associés à chaque produit phytosanitaire est réalisée avant même la délivrance d'une autorisation de mise sur le marché (AMM). Après la mise sur le marché d'un produit, il s'agit de préserver la qualité des denrées alimentaires en fixant la LMR et le DAR correspondant à chaque produit.

- Agir sur les pratiques : L'agriculture utilise 90 % des quantités de substances actives vendues en France (Aubertot et al., 2005). L'action sur les pratiques agricoles revêt donc un intérêt majeur et doit répondre à trois objectifs :

- Limiter l'exposition des opérateurs par la limitation de la fréquence d'utilisation et le recours aux équipements de protection individuelle.

- Limiter les pollutions ponctuelles par la réduction de la fréquence d'utilisation des pesticides par des équipements spécifiques (local de stockage, aire de remplissage et de lavage, cuve de rinçage du pulvérisateur, dispositif de traitement des fonds de cuve des pulvérisateurs) ou encore par l'organisation de collecte des emballages et des produits phytosanitaires non utilisés.

- Limiter les pollutions diffuses liées à l'usage agricole des produits phytosanitaires, cela peut passer par la réduction des transferts de substances actives vers les eaux. Une telle réduction passe par un raisonnement des traitements dans le cadre d'une stratégie de «protection intégrée». En effet, cette dernière conduit ainsi à limiter ce besoin de traiter sans aller jusqu'à interdire totalement le recours aux produits phytosanitaires. Ces méthodes relèvent schématiquement de quatre catégories :

- La **lutte culturale** fait notamment appel à des modifications de la succession culturale, des adaptations de la nutrition azotée, des modifications de date de semis pénalisant le développement des bio agresseurs.
- La **lutte génétique** vise à accroître la résistance des variétés aux ennemis des cultures par sélection variétale ou par association de variétés différant par leur sensibilité aux pathogènes.

- La **lutte physique** consiste à utiliser un mode d'action « physique » pour lutter contre les bio agresseurs ; le travail du sol, détruisant les mauvaises herbes ou le désherbage mécanique s'inscrit dans cette catégorie.
- La **lutte biologique** consiste à utiliser des organismes vivants (appelés auxiliaires) pour prévenir ou réduire les dégâts causés par les ennemis des cultures.

Afin de caractériser la lutte phytosanitaire, un indicateur de fréquence de traitement (IFT) a été développé par le ministère de l'Agriculture et de la Pêche et l'INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) en s'appuyant sur l'expérience Danoise. Cet IFT est calculé à partir de deux bases de données à savoir L'enquête Pratiques Culturelles (PK) et celle d'e-phy, générée par la DGAL & CERIT. Cette dernière base rassemble les données concernant plus de 9 000 produits commerciaux. Elle associe à chaque produit ses différents usages et les doses homologuées correspondantes. Elle permet de calculer pour chaque couple «produit x culture» la «dose homologuée» retenue pour l'IFT.

L'IFT représente un rapport de dose. Il est calculé en divisant la dose appliquée sur la parcelle par la dose homologuée. Il s'agit donc d'un indicateur de pression phytosanitaire ou de pratique. Le calcul de cet IFT de manière régulière devrait permettre de mesurer les progrès réalisés par les agriculteurs en terme de protection phytosanitaire.

VIII / Conclusion:

Le lait reste dans la mémoire collective un excellent produit doué de qualités nutritionnelles importantes et est, généralement, considéré comme un allié important de la santé. Cependant, de par ses propriétés physico-chimiques, il reste un compartiment susceptible d'excréter de nombreux composés chimiques, principalement liposolubles ou présentant des propriétés de bases faibles. Parmi ces composés, un regard attentif est actuellement porté sur les produits phytosanitaires.

A travers cette analyse, nous avons montré que de nombreuses molécules répondant à ces propriétés sont donc compatibles avec leur excrétion lactée. L'analyse bibliographique a montré que la présence de résidus de produits phytosanitaires dans le lait de bovin apparaît actuellement très limitée en France alors que ce problème semble plus crucial dans les pays en expansion économique. Toutefois, les expérimentations et enquêtes ayant pour objectif leur mise en évidence dans le lait restent abondantes en nombre absolu, mais la plupart d'entre elles portent sur des produits déjà anciens et relativement peu d'études concernent les produits les plus récents.

De plus, compte tenu du coût analytique élevé ainsi que le manque de méthodes sensibles et spécifiques, la recherche ne porte que sur les molécules les plus anciennes.

A cet effet, une hiérarchisation des substances phytosanitaires a été faite, elle a pour but de cibler les molécules à rechercher dans le lait.

A l'issue de ce travail, et après mise en évidence des différents facteurs rentrant dans le mécanisme de transfert de ces molécules dans le lait, nous avons établi une liste de substances prioritaires à rechercher dans le lait. La construction de cette liste est basée sur une approche de risque à travers une combinaison de critères basés sur les propriétés physico-chimiques des molécules utilisées et sur les pratiques agricoles.

Ces molécules retenues comme «prioritaires» devront faire l'objet d'une surveillance plus stricte sur le terrain à travers des contrôles réguliers mis en œuvre.

IX / Perspectives :

A l'issue de ce stage, il semble intéressant d'approfondir et d'exploiter certains points

- Il apparaît clairement que les bases de données sur les LMR et les DJA ne soient pas complètes, les données réelles de contaminations du lait et des produits laitiers ainsi que les données de ventes des matières actives avec les cultures correspondantes devraient être mis à jour.

- Le développement actuel de méthodes plus sélectives notamment pour l'analyse des résidus de pesticides à l'état de traces s'impose, produisant des bases de données plus fiables à l'appui des études d'évaluation de risque et de sécurité alimentaire. Il apparaît intéressant d'effectuer d'abord :

- Une recherche de résidus de produits phytosanitaires dans l'aliment de la vache laitière, avant de procéder à des dosages dans le lait, dans le but de minimiser les coûts financiers engendrés par l'analyse.

- Dans le cas d'une confirmation de présence dans l'aliment, un suivi plus rigoureux des prélèvements de laits sur un nombre plus représentatif s'impose, qui seront faits à partir d'exploitations réparties dans tout le bassin laitier français.

- Des enquêtes devraient être menées pour évaluer l'état actuel d'une éventuelle contamination des milieux biologiques avoisinants (notamment l'eau, l'air...).

Il apparaît aussi que le manque de données chiffrées sur le métabolisme des substances actives dans l'organisme animal ainsi que leur cinétique de dégradation dans les différents compartiments environnementaux semble poser problème compte à la détermination des métabolites précis qui transitent dans l'environnement après excrétion. Ce problème devrait être pallié par une connaissance approfondie des facteurs influençant leur dégradation.

Pour conclure, une réelle veille toxicologique est nécessaire, elle doit se traduire par une densité de contrôles suffisante et par des discussions et dialogues permanents au sein d'organismes officiels publics et privés, au niveau national européen et international, et la mise en cause des acquis en fonction des nouvelles données.

Ceci impliquerait certes des répercussions sur le plan financier, mais une telle démarche durant une année par exemple permettra de confirmer l'absence de résidus de produits phytosanitaires dans les denrées d'origine animale.

BIBLIOGRAPHIE

- AKHAR M.H., DANIS C., TRENHOLM H.L., HARTIN K.E.** (1992), Deltamethrin residues in milk and tissues of lactating dairy cows, *J. Environ. Sci. Health B.*, 27,(3), 235- 253.
- ARNICH N., CERVANTES P., GALLOTTI S., LOULERGUE M-H., SOLAL C.** (2005), Evaluation des risques pour la santé humaine liés à une exposition au fipronil, AFSSA, 173p.
- BATTU R.S., SINGH B., KANG B.K.** (2004), Contamination of liquid milk and butter with pesticide residues in the Ludhiana district of Punjab state, India, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 59, (3), 324-331.
- BATTU R.S., SINGH B., KANG B.K., JOIA B.S.** (2005), Risk assessment through dietary intake of total diet contaminated with pesticide residues in Punjab, India, 1999-2002, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 62, (1), 132-139.
- BOYER A.C., LEE P.W., POTTER J.C.** (1992), Characterization of fenvalerate residues in dairy cattle and poultry, *J. Agr. Food Chem*, 40, (5), 914-918.
- CARDEAL Z D L., DIAS PAES C M.** (2006). Analysis of pesticides organophosphorus in whole milk by solid phase microextraction gas chromatography method, *Journal of Environmental Science and Health*, part B, 41: 369-375.
- CAZET L.** (2007), Bilan du taux de contamination et étude préparatoire au dosage de résidus de produits phytosanitaires dans le lait de grand mélange bovin. Thèse Docteur Vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, 167p.
- CISCATO C.H., GEBARA A.B., SPINOSA Hde.S.** (2002), Pesticide residues in cow milk consumed in Sao Paulo City (Brazil), *J. Environ. Sci. Health B.*, 37, (4), 323-330.
- COUTEUX A ; LEJEUNE V. ;** (2008) . Index Phytosanitaire. ACTA, Paris, 844 p.
- DERACHE R.**, 1994. Toxicologie et Sécurité des Aliments, Lavoisier Editions, 105-124 p.
- GALLENBERG.L.A., VODICNIK.M.J.**(1989), Transfer chemicals in milk, *Drug Metabolism reviews*, 21(2), 277-317.
- GAZZOTTI T.,STICAA P., LUGOBONI B., SERRAINO A., PAGLIUCA G,** (2009). Determination of 15 pesticides organophosphorus pesticides in Italian raw milk, *Bull.Environ. Contam.Toxicol.*, 82: 251-254.
- GONZALEZ.M., MIGLIORANZA.K., AIZPU'N DE MORENO.J.**(2005), Evaluation of conventionally and organically produced vegetables for high lipophilic organochlorine pesticide (OCP) residues, *Food and Chemical Toxicology*, 43, 261–269.
- HUSTON D H., PAULSON G D.** (1995). The mammalian metabolism of agrochemicals in progress in pesticide biochemistry and toxicology, volume 8, 340 p.
- Journal officiel de la Communauté Européenne L230 du 19 août 1991** : Directive 91/414/CEE du Conseil du 15 juillet 1991 concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques.

- KECK G.** (1978), Distribution dans l'organisme des médicaments et toxiques, *Le Point Vétérinaire*, vol.8, (36), 41-49.
- KECK G.** (1979), Métabolisme des médicaments et toxiques – Elimination, *Le Point Vétérinaire*, vol.8, (38), 11-19.
- KUMAR.U., DEY.S.**(2008), Clean Milk Production-residue and contaminants problem and its impact on human health and global trade, *Indian Dairyman*, 60, 11.
- KUMARI B., SINGH J., SINGH S., KATHPAL T.S.** (2005), Monitoring of butter and ghee (clarified butter fat) for pesticidal contamination from cotton belt of Haryana, India, *Environ. Monit. Assess.*, 105, (1-3), 111-120.
- LAMBROPOULOU.D.A., ALBANIS.T.A.**(2007), Methods of sample preparation for determination of pesticide residues in food matrices by chromatography-mass spectrometry-based techniques: a review, *Anal Bioanal Chem*, 389:1663-1683.
- LEEMAN W R. ,VAN DEN BERG K J.,HOUBEN G. F.**(2007).Transfer of chemicals from feed to animal products: The use of transfer factors in risk assessment. *Food Additives and Contaminants* ; 24(1): 1–13.
- LINO C.M., NORONHA DA SILVEIRA M.I.** (1992), Organophosphorus pesticide residues in cow's milk : levels of cis-mevinfos, methyl-parathion and paraoxon, *Bull. Environ. Contam. Toxicol*, n°49, 211-216.
- LUO.Y.,ZHANG.M.**(2009), Multimedia transport and risk assessment of organophosphate pesticides and a case study in the northern San Joaquin Valley of California, *Chemosphere Environmental Toxicology and risk assessment*.
- MACEDO A N., NOGUEIRA A R A., GOVONI BRONDI S H.**(2009). Matrix solid-phase dispersion extraction of analysis of cypermethrin residue in cow's milk, *Chromatographia*, 69, 571-573.
- MALLATOU H., PAPPAS C.P., KONDYLI E., ALBANIS T.A.** (1997), Pesticide residues in milk and cheeses from Greece, *The Science of the Total Environment*, n°196, 111-117.
- MARTINET J. et HOUDEBINE L.M.** (1993), *Biologie de la lactation*, INSERM/INRA, Paris, 587p.
- MENARD.C, HERAUD.F, NOUGADERE.A, VOLATIER.J, LEBLANC.J-C,** (2008), Relevance of integrating agricultural practices in pesticide dietary intake indicator, *Food and Chemical Toxicology.*, 46, 3240-3253.
- MILHAUD G., BECHADE A., PINAULT L.** (1971), Contamination du lait par des résidus de ronnel et de malathion utilisés pour la désinfection des étables, *Rec. Med. Vet.*, 167, (10), 1053-1061.
- Ministère de l'Agriculture et de la Pêche**, e-phy, le catalogue des produits phytopharmaceutiques et de leurs usages, des matières fertilisantes et des supports de culture homologués en France, [en ligne] adresse URL : <http://e-phy.agriculture.gouv.fr/>

PINGAULT N, PLEYBER E, CHAMPEAUX C, GUICHARD L, OMON B., (2009), « Produits phytosanitaires et protection intégrée des cultures : L'indicateur de fréquence de traitement (IFT) », Notes et études économiques, n° 32, ministère de l'Agriculture et de la Pêche, pp. 61-98.

PAGLIUCA G., SERRAINO A., GAZZOTTI T., ZIRONI E., BORSARI A., ROSMINI R. (2006), Organophosphorus pesticides residues in Italian raw milk, *J. Dairy Res.*, 73, (3), 340-344.

PARDIO V T., WALISZEWSKI K N., LANDINT L A., BAUTISTA R G, (2003). Organochlorine pesticide residues in cow's milk from a tropical region of Mexico, *Food Additives and Contaminants.*, vol 20; N°3; 259-269.

PITOIS M., BIBARD G. (1971), Etude des résidus dans la matière grasse du lait provenant de vaches hébergées dans des étables traitées avec une préparation à base de chlorfenvinphos, *Rec. Med. Vet.*, 577-781.

POUGHEON S. (2001), Contribution à l'étude des variations de la composition du lait et leurs conséquences en technologies laitières, Thèse de doctorat vétérinaire, Université Paul-Sabatier, Toulouse, 109p.

RAMES J-F. et MAURISSON E. (2006), L'économie laitière en chiffres, édition 2006, CNIEL (Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière), Paris, 217p.

RICHOU-BAC L., MOLLET M.F., RESTUIT A., PANTALEON J. (1974), Données récentes sur la contamination des produits laitiers français par les composés organochlorés, *Bull. Acad.Vét.Fr.*, vol.47, 379-390.

RONCHI B., DIPAN P.D. (2008), Contamination by persistent chemical pesticides in livestock production systems, *Impact of pollution on Animal Products.*

ROY C. (1999), Suivi d'un intrant dans la filière animale : l'Atrazine étude expérimentale. Thèse Docteur Vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, 127 p.

RYCHEN G., DUCOULOMBIER-CREPINEAU C., GROVA N., JURJANZ S., FEIDT C. (2005), Modalités et risques de transfert des polluants organiques persistants vers le lait, *INRA Productions Animales*, 18, (5), 355-366.

SALAS et coll. (2003), Organophosphorus pesticide residues in Mexican commercial pasteurized milk, *J. Agric. Food Chem.*, 51, (15), 4468-4471.

SASS J.B. et COLANGELO A. (2006), European Union bans atrazine, while the United States negotiate continued use, *Int. J. Occup. Environ. Health*, 12, (3), 260-267.

SATTLER C., KACHELE H., VERCH G. (2007), Assessing the intensity of pesticide use in agriculture, *Agriculture Ecosystems & Environment* 119: 299-304.

VINGGAARD A.M. et coll. (2006), Prochloraz : an imidazole fungicide with multiple mechanisms of action, *Int. J. Androl.*, 29, (1), 186-192.

World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United States (2004), *FAO plant production and protection paper 176 : Pesticide Residues in food – Report 2003*, Rome, 38p;

ZHANG et coll. (2005), Disposable biosensor test for organophosphate and carbamate insecticides in milk, J. Agric. Food Chem., 53, (13), 5110-5115.

BASES DE DONNEES CONSULTEES

US EPA Ecotox database: <http://cfpub.epa.gov/ecotox/>

DG SANCO : http://ec.europa.eu/dgs/health_consumer/index_en.htm

ARLA : <http://www.arla.com/>

Agritox : <http://www.dive.afssa.fr/agritox/index.php>

EFSA : http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753816_home.htm

e-phy: <http://e-phy.agriculture.gouv.fr>

extoxnet: <http://extoxnet.orst.edu/>

INCHEM: <http://www.inchem.org/>

SIRIS-pesticides (INERIS) : <http://www.ineris.fr/siris-pesticides/>

ANNEXES

ANNEXE 1 : Questionnaire d'élevage

Fiche de renseignement

Nom :

Prénom :

Adresse :

Téléphone : @

Nom de l'enquêteur : Date de l'enquête : ..

1-Exploitation

UTH (unité travailleur humain) :

SAU :

Quota laitier :litres

Niveau moyen de production :litres/VL/an

2-Le troupeau laitier

Q : quelles sont les principales races présentes dans votre élevage ?

.....

Q : quel est l'effectif de vaches laitières dans votre cheptel bovin ?

.....

Q : y'a t'il des achat de vaches laitières à l'extérieur ?

.....

3-Emploi des produits phytosanitaires sur les cultures destinées à l'alimentation des vaches laitières, en 2008 et début d'année 2009

NB : -Les cases colorées en violet sont obligatoires pour notre étude.

-Si vous ne connaissez pas le nom de la substance active merci de laisser la case vide

type	nom commercial	substance active	composition (g/l ou %)	dose utilisée (l/ha) ou (kg/ha)	surface traitée (ha par an)	Date de traitement	type de culture
ERRBICIDE							

FONGICIDE							

INSECTICIDE							

RACCOURCISSEUR							

AUTRES							

- Utilisez vous un insecticide pour le stockage des grains sur l'exploitation ? si oui lequel ?

.....

4- Désinfection des bâtiments d'élevage

Q : principaux produits utilisés et dans quel bâtiment ?

.....
Q : Fréquence d'utilisation ?

.....
Q : Moyen d'utilisation ?

.....
5- l'hygiène lors de la traite :

Q : qu'employez vous comme produits pour le nettoyage de la mamelle au moment de la traite ?

.....
.....
.....

6- Ration des vaches laitières

Vous pouvez indiquer les quantités réelles en kg par jours pour l'hivers 2008/2009 et indiquer vos prévisions pour le printemps et l'été 2009 :

Année	En hivers 2008/2009	Printemps 2009	Eté 2009
Ensilage de maïs (kg / Vache Laitière/j)			
Ensilage herbe (kg/ Vache Laitière/j)			
Foin (kg /Vache Laitière/j)			
Herbe pâturée (kg / Vache Laitière/j)			
Tourteaux de soja (kg / Vache Laitière/j)			
Blé (kg / Vache Laitière/j)			
C.M.V. (kg / Vache Laitière/j)			
Co-produits (pulpe de betterave, drêches..)			
Ingestion totale (kg /Vache Laitière/j)			

7-Période de pâturage/ dates de changement d'alimentation

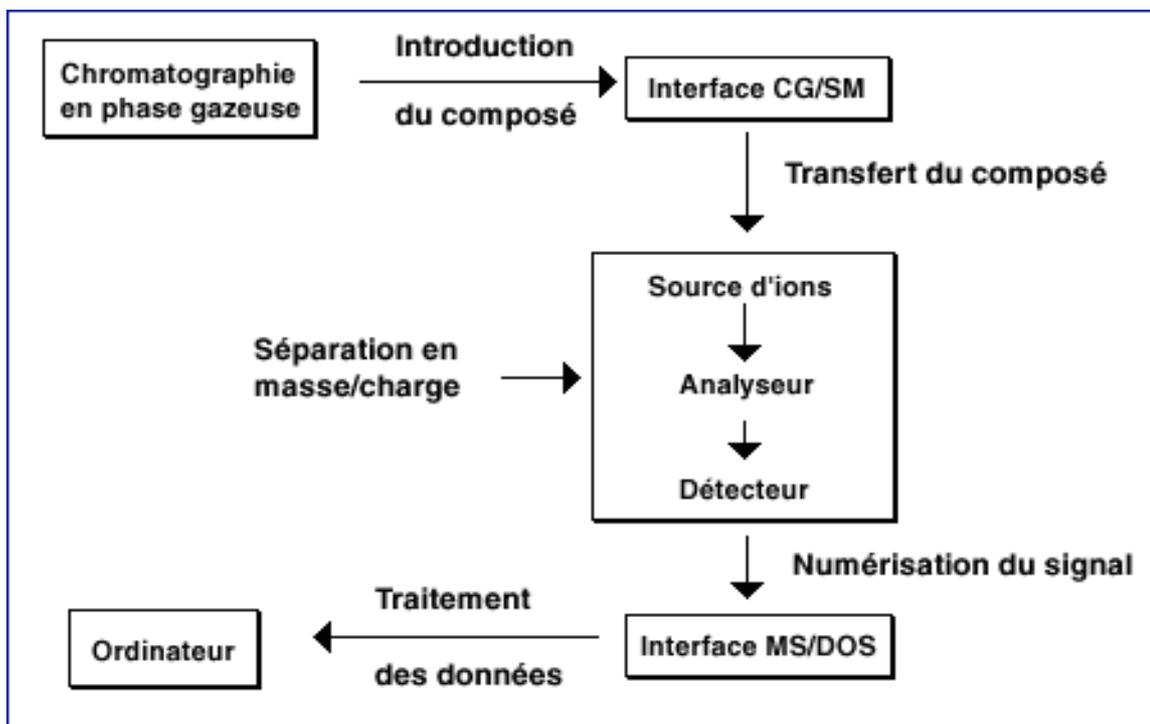
Vous pouvez indiquer les dates réelles de changement d'alimentation pour 2008, et vos estimations pour 2009

	2008	2009
Date de Mise à l'herbe		
Début / Arrêt du maïs		
Début / Arrêt concentrés		
Pâturage 100%		
Début / Arrêt pâturage partiel		
Début / Arrêt tourteaux		

7-Assolement

Cultures/prairies	Surface 2008-2009 (en ha)

Annexe 3 : Modélisation du couplage chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse



Résumé :

La mise en évidence des effets potentiellement nocifs des produits phytosanitaires constitue une préoccupation importante de la santé publique et fait l'objet de différentes études.

Face à ces préoccupations suscitées, des dosages de résidus de ces produits ont été effectués dans différentes denrées alimentaires, notamment le lait dont la consommation ne cesse d'augmenter.

Etant donné l'enjeu posé par les risques de transfert de ces xénobiotiques dans le lait, une étude a été initiée par l'Institut de l'Élevage et le CNIEL (Interprofession Laitière) dans le but de mettre en place un plan de surveillance de résidus de ces produits phytosanitaires dans le lait au niveau national.

Parmi les nombreuses substances actives utilisées, une présélection a porté essentiellement sur des produits appliqués sur les cultures destinées à l'alimentation de la vache laitière.

Le premier volet de cette étude a consisté en une synthèse des connaissances bibliographiques sur les mécanismes de transfert des molécules d'une part, et sur les niveaux de contamination des laits retrouvés au niveau Français et mondial d'autre part.

Dans un deuxième volet, nous avons réalisé une classification des substances actives à partir des critères d'exposition de la vache laitière, mais aussi des critères de danger relatifs au composé chimique (éléments fournis par la synthèse des connaissances bibliographiques), notamment les facteurs tels que la biodisponibilité, la liposolubilité, la biotransformation des substances.

Le troisième volet expérimental de l'étude a permis de tester la pertinence de cette sélection de molécules grâce à une opération pilote menée sur une dizaine d'élevages laitiers.

Cette opération consiste dans un premier temps à effectuer des prélèvements de lait, tout le long de l'année en tenant compte des variations des rations alimentaires de la vache laitière.

Dans un deuxième temps, des analyses ont été réalisées auprès d'un laboratoire compétent afin de quantifier les concentrations de ces substances (liste sélectionnée) dans le lait.

Les premiers résultats partiels de cette étude montrent bien que les prélèvements effectués sont exempts de contamination et de ce fait ne constitue pas de risque pour la consommateur.

Le résultat final constituera une aide à la prise de décision ainsi qu'à la mise en œuvre éventuelle d'un outil de gestion de risque et de recommandations aux bonnes pratiques d'élevage.

Mots clés : lait, produit phytosanitaire, résidu, santé.

Abstract :

The identification of potentially harmful effects of pesticides is an important point of concern for the public health authorities and the subject of numerous studies.

Given these concerns, analysis of pesticides residues have been realized in any food matrix, and especially milk whose consumption is increasing.

Given the potential hazard posed by the risks of transfer of these xenobiotics in milk, a study was initiated by the French Livestock Institute and the French dairy board to develop a monitoring of these pesticides in milk at the national level.

Among the important number of substances used in the French agriculture, a preselection of substances used only on the crops grown to feed the dairy cows have been made.

The first part of this study is an overview of the scientific literature knowledge on the transfer mechanisms of these molecules and the levels of contamination of milk found in France and around the world. In a second part, we've made a classification based on the criteria of the cow exposure to pesticides and criteria of danger for each chemical compound (based on the evidence provided by the synthesis of the literature), including factors such as bioavailability, liposolubility and biotransformation of substances. The third part of this study is an experimental part to test the relevance of this selection of molecules through an experimental project conducted in ten dairy farms.

This experimentation consisted first to take samples of milk three times in the year, to take into account the changes in the feed rations of the dairy cows.

In a second step, analysis were conducted with a laboratory to quantify the concentrations of these substances (selected list) residues in milk.