

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Année 2007 - Thèse n° 074

BILAN DU TAUX DE CONTAMINATION ET ETUDE PREPARATOIRE AU DOSAGE DE RESIDUS DE PRODUITS PHYTOSANITAIRES DANS LE LAIT DE GRAND MELANGE BOVIN

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 16 octobre 2007
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Laure, Danielle, Marie CAZET
Né (e) le 16 novembre 1982
à Chenôve (Côte d'Or)



ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Année 2007 - Thèse n° 074

BILAN DU TAUX DE CONTAMINATION ET ETUDE PREPARATOIRE AU DOSAGE DE RESIDUS DE PRODUITS PHYTOSANITAIRES DANS LE LAIT DE GRAND MELANGE BOVIN

THESE

Présentée à l'UNIVERSITE CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 16 octobre 2007
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Laure, Danielle, Marie CAZET
Né (e) le 16 novembre 1982
à Chenôve (Côte d'Or)



DEPARTEMENT ET CORPS ENSEIGNANT DE L'ENVL
Directeur : Stéphane MARTINOT

Mise à jour : 02/01/2007

	PR EX	PR 1	PR 2	MC	Contractuel, Associé, IPAC et LISPV	AERC	Chargés de consultations et d'enseignement
DEPARTEMENT SANTE PUBLIQUE VETERINAIRE							
Microbiologie, Immunologie, Pathologie Générale	Y. RICHARD		A. KODJO	V. GUERIN-FAUBLEE D. GREZEL			
Pathologie infectieuse			A. LACHERETZ M. ARTOIS	J. VIALARD			
Parasitologie et Maladies Parasitaires	MC. CHAUVE	G. BOURDOISEAU		MP. CALLAIT CARDINAL L. ZENNER			
Qualité et Sécurité des Aliments			P. DEMONT C. VERNIOZY	A. GONTHIER S. COLARDELLE			
Législation et Jurisprudence			A. LACHERETZ	P. SABATIER ML. DELIGNETTE K. CHALVET-MONFRAY			
Bio-informatique - Bio-statistique							
DEPARTEMENT ANIMAUX DE COMPAGNIE							
Anatomie			T. ROGER	S. SAWAYA	C. BOULOCHER ME. DUCLOS		
Chirurgie et Anesthésiologie		JP. GENEVOIS	D. FAU E. VIGUIER D. REMY		S. JUNOT (MCC) K. PORTIER (MCC) C. DECOSNE-JUNOT (MCC)	C. CAROZZO	
Anatomie-pathologique/Dermatologie-Cancérologie			C. FLEURY	T. MARCHAL	P. BELLI D. PIN		
Hématologie		C. FOURNEL			D. WATRELOT-VIRIEUX (MCC)		
Médecine interne		JL. CADORE		L. CRIBANNE F. PONCE M. HUGONNARD C. ESCRIOU			I. BUBLOT
Imagerie Médicale					J. SONET (MCC)		
DEPARTEMENT PRODUCTIONS ANIMALES							
Zootéchnie, Ethologie et Economie Rurale		M. FRANCK		L. MOUNIER			
Nutrition et Alimentation				D. GRANCHER L. ALVES DE OLIVEIRA G. EGRON			
Biologie et Pathologie de Reproduction		F. BADINAND	M. RACHAIL-BRETIN	S. BUFF P. GUERIN	A. C. LEFRANC		
Pathologie Animaux de Production		P. BEZILLE	T. ALOGNINOJWA	R. FRIKHA M.A. ARCANGIOLI D. LE GRAND			G. LESOBRE P. DEBARNOT D. LAURENT
DEPARTEMENT SCIENCES BIOLOGIQUES							
Physiologie/Thérapeutique				J.J. THIEBAULT J.M. BONNET-GARIN			
Biophysique/Biochimie		E. BENOIT F. GARNIER		T. BURONFOSSE V. LAMBERT			
Génétique et Biologie moléculaire		G. KECK	F. GRAIN P. JAUSSAUD P. BERNY				
Pharmacie/Toxicologie Législation du Médicament							
Langues					C. FARMER T. AVISON		
DEPARTEMENT HIPPIQUE							
Pathologie équine		JL. CADORE		A. BENAMOU-SMITH			
Clinique équine		O. LEPAGE		A. LEBLOND	M. GLANGL		

A Monsieur le Professeur Alain BERGERET,
Qui m' a fait l'honneur de présider ce jury de thèse,

Hommages très respectueux.

A Monsieur le Docteur Thierry BURONFOSSE,
Qui m'a gentiment consacré du temps
Et a suivi et guidé la réalisation de ce travail,

Très sincères remerciements.

A Madame le Docteur Sylvie COLLARDELLE,
Qui a accepté d'examiner ce travail,

Sincères remerciements.

A mes parents,

Pour m'avoir toujours entourée d'affection,
soutenue, rassurée et aidée,
merci pour tant de patience et de force.

A Richard,

Mon p'tit frère, qui m'a toujours encouragée,
a toujours gardé confiance malgré mes doutes
et m'a apporté des touches d'humour et de complicité.

A Igor,

Sans qui cette vocation
ne se serait peut-être pas développée,
et qui me manque tellement...

A Tata Fanfan,

Pour tant de soutien,
Et tant d'encouragements bienvenus !

A Mémé Marcelle,

Qui a su rester confiante en toutes circonstances.

A ma famille,

Qui a suivi ces années avec intérêt.

A Jérôme,

Pour ces éclats de rire,
ces nombreux moments de connivence
et une telle amitié.

A Anouk,

Qui sait rester si calme et posée, relativiser
et m'a si souvent remonté le moral,
depuis la rentrée en classe de CE1 !

A Sabrina,

Qui m'a toujours acceptée telle que je suis.

A Emeline,

Qui me supporte depuis quelques années déjà!

A Ophélie,

Ma maman de clinique, qui m'a tant appris
et permis de passer une bonne année de D2.

A mes autres amis,

Grâce auxquels ces années
ont été ponctuées de moments d'évasion.

*Aux Vétérinaires de Semur en Auxois
ainsi que Mme Chauzy, Christelle et Gaële,
Pour tant de gentillesse et de disponibilité.*

A mes autres maîtres de stage

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	13
TABLE DES ILLUSTRATIONS	18
LISTE DES ABBREVIATIONS	20
INTRODUCTION	23

1^{ère} PARTIE : LA PRODUCTION DE LAIT DE VACHE : ORGANISATION ET LEGISLATION

<i>I. Importance et organisation de la production lactée.....</i>	26
A. La production de lait en chiffres	26
1. La production de lait en France.....	26
2. Le lait de vache dans l'Union Européenne.....	31
3. Le lait de vache dans le monde	31
B. De la vache au consommateur : devenir et filière du lait.....	32
1. Définition	32
2. La collecte du lait et sa transformation	32
<i>II. Législation : définition et normes d'acceptabilité du lait.....</i>	35
A. Définition légale du lait	35
1. Définition générale	35
2. Précisions	35
B. Normes d'acceptabilité du lait.....	35
1. Le lait en droit français.....	35
2. Le lait en droit européen.....	36
C. Substances interdites ou réglementées dans le lait	37
1. Législation générale	37
2. Les antibiotiques	39
3. Les détergents et les désinfectants	39
4. Les pesticides	39
a) Définition	39
b) Réglementation	40

2^e PARTIE : COMPOSITION ET PRODUCTION DU LAIT PAR LA MAMELLE

<i>I. La composition du lait de vache.....</i>	44
A. Propriétés physico-chimiques du lait.....	44
1. Aspect macroscopique.....	44
2. Constantes physiques	44
a) Le pH.....	44
b) L'acidité titrable.....	44
c) La densité	44

d) Température de congélation.....	45
e) Potentiel d'oxydo-réduction.....	45
3. Les phases du lait	45
B. La composition chimique du lait	45
1. Composition globale	45
2. Nature précise des divers composants du lait.....	46
a) Les matières azotées totales	46
b) Les glucides du lait	49
⇒ Le lactose	49
⇒ Les autres glucides du lait.....	51
c) Les lipides du lait	51
⇒ Divers types de lipides.....	51
⇒ Les acides gras	52
⇒ Partie insaponifiable	52
⇒ Organisation du globule gras	52
d) Les vitamines du lait de vache	54
e) Les minéraux du lait.....	54
f) Les gaz dissous dans le lait.....	54
II. La sécrétion du lait par la mamelle.....	55
A. Bases anatomiques et physiologiques de la sécrétion du lait	55
1. Anatomie de la sécrétion lactée.....	55
2. Contrôle hormonal de la mammogénèse et de la lactation.....	58
B. L'élaboration du lait par la mamelle	59
1. Origine globale des divers composants du lait.....	59
a) Les constituants directement filtrés depuis le sang	59
b) Les constituants synthétisés par la mamelle	60
2. Le métabolisme des diverses catégories de constituants du lait.....	62
a) Le métabolisme des glucides du lait	62
⇒ Synthèse du lactose par les cellules lactogènes et importance du glucose	62
⇒ Origines du glucose sanguin.....	63
⇒ Le rôle majeur du lactose dans la quantité de lait produite	64
b) Le métabolisme des lipides du lait.....	64
⇒ Origine des divers types d'acides gras.....	64
⇒ Digestion des lipides et matière grasse du lait.....	65
⇒ Relations mamelle et tissu adipeux dans la synthèse des lipides du lait	67
⇒ Biosynthèse des matières grasses du lait	67
c) Le métabolisme des protéines du lait	69
C. Variations de la composition du lait	71

3^e PARTIE : LE LAIT ET LES PESTICIDES

I. L'impact des pesticides sur la santé humaine	74
A. Généralités	74
B. Individus les plus fortement exposés.....	74
C. Les pesticides perturbateurs endocriniens.....	75
1. Mécanismes mis en jeu	75
2. Effets observés sur la reproduction	76

3. Lien entre perturbation endocrinienne et cancérogénèse	81
D. Les pesticides et la cancérogénèse	82
1. Cancers des organes génitaux:	82
2. Cancer du sein	82
3. Cancer du poumon	83
4. Leucémies et autres cancers	83
E. Les effets des pesticides sur le système immunitaire	83
II. Pharmacocinétique et transfert des produits phytosanitaires dans le lait.....	85
A. Origines de la contamination du lait par ces produits	85
B. Facteurs physico-chimiques favorisant le passage d'une substance dans le lait.....	87
1. Degré de liaison aux protéines	87
2. Degré d'ionisation et caractéristiques acido-basiques	88
3. La liposolubilité et le gradient de concentration	90
4. La taille moléculaire	91
C. Les molécules attendues dans le lait : propriétés physico-chimiques et données bibliographiques	92
1. Insecticides organochlorés	92
a) Présentation et caractéristiques majeures	92
⇒ Nature	92
⇒ Toxicité	92
⇒ Modes de contamination du lait.....	92
⇒ Voies d'absorption et devenir	93
⇒ Conséquences	96
b) Le DDT et ses dérivés	97
⇒ Le DDT	97
⇒ Le TDE ou tétrachlorodiphényléthane.....	98
⇒ Le méthoxychlore	98
⇒ L'HCH	98
⇒ Le dicofol	99
c) Les cyclodiènes et apparentés	100
⇒ Présentation générale	100
⇒ Le chlordane	101
⇒ L'heptachlore :	101
⇒ L'aldrine et la dieldrine	102
⇒ L'endrine.....	102
⇒ L'endosulfan	103
d) Dosage dans les produits laitiers : étude bibliographique.....	103
⇒ Considérations générales	103
⇒ Expériences sur la contamination d'origine alimentaire	104
⇒ Niveaux de contamination en France et dans le reste du monde.....	105
2. Les pesticides organophosphorés	107
a) Généralités.....	107
⇒ Propriétés physico-chimiques et usage	107
⇒ Activité et toxicité.....	108
⇒ Absorption, distribution, métabolisme et élimination	109
b) Pesticides de la catégorie des fluorophosphates	109
⇒ Le mipafox.....	109
⇒ Le diméfox.....	110

⇒ Le DFP.....	110
c) Pesticides organophosphorés diméthoxy de quatrième catégorie.....	111
⇒ Le dichlorvos	112
⇒ Le trichlorfon	112
⇒ Le dicrotophos	112
⇒ Le fénitrothion	113
⇒ Le fenthion.....	113
⇒ Le pyrimiphos-méthyle.....	113
⇒ Le téméphos.....	114
⇒ Le chlorpyriphos-méthyle.....	114
d) Pesticides organophosphorés diéthoxy de quatrième catégorie.....	114
⇒ Le parathion	115
⇒ Le chlorpyrifos.....	116
⇒ La phosalone	116
⇒ Le phoxime	116
⇒ L'azinphos-éthyle	117
⇒ Le coumaphos.....	117
e) Dosage dans les produits laitiers : étude bibliographique	118
⇒ Résidus lors d'application dans les étables.....	118
⇒ Expériences de contamination du lait via l'alimentation.....	119
⇒ Enquêtes sur le niveau de contamination du lait	121
3. Les carbamates	122
a) Généralités.....	122
⇒ Nature et mode d'action.....	122
⇒ Absorption, distribution, métabolisme et élimination	122
b) Principaux représentants	122
⇒ L'aldicarbe	122
⇒ Le carbaryl	123
⇒ Le carbofuran.....	124
⇒ Le carbosulfan	125
⇒ Le méthomyl.....	125
⇒ Le thirame	126
⇒ Le thiabendazole.....	127
c) Dosage dans les produits laitiers : étude bibliographique	127
4. Les pyréthrinoïdes	128
a) Généralités.....	128
b) Principaux représentants	129
⇒ La perméthrine.....	129
⇒ La bifenthrine.....	129
⇒ La cyfluthrine.....	130
⇒ La deltaméthrine	131
⇒ L'esfenvalérate	131
c) Dosage dans les produits laitiers : étude bibliographique	132
⇒ Expériences avec des aliments contaminés	132
⇒ Enquêtes dans divers pays	133
5. Fongicides du groupe des triazoles	133
a) Généralités.....	133
b) Principaux représentants	133
⇒ Le bitertanol.....	133
⇒ Le bromuconazole	134
⇒ Le difénoconazole.....	134
⇒ Le tébuconazole	135

⇒ Le triticonazole	135
c) Dosage dans les produits laitiers : étude bibliographique	136
6. Les strobilurines	136
a) Généralités.....	136
b) Principaux représentants	137
⇒ L'azoxystrobine	137
⇒ Le krésoxim-méthyle	137
⇒ La fluoxastrobine	138
⇒ La picoxystrobine	138
⇒ La trifloxystrobine	139
c) Dosage dans les produits laitiers : étude bibliographique	139
7. Les pesticides nitrophénoliques	140
a) Dinitrophénols	140
⇒ Le dinocap	140
b) Halophénols	141
⇒ Le pentachlorophénol	141
⇒ Le TCDD	141
c) Dosage dans les produits laitiers : étude bibliographique	142
8. Les nitrophényléthers	143
a) L'aclonifène	143
b) Le bifénox	143
9. Les dinitroanilines ou toluidines	144
a) La benfluraline	144
b) La pendiméthaline.....	144
c) La trifluraline	145
10. Les dicarboxamides.....	146
a) La procymidone	146
b) La vinclozoline.....	146
11. Pesticides de familles diverses	147
a) Le fipronil.....	147
⇒ Présentation.....	147
⇒ Dosage dans les produits laitiers : étude bibliographique	147
b) Les dérivés de l'étain	148
⇒ L'acétate de fentine.....	148
⇒ Les éthyles d'étain	148
c) L'éthofumésate.....	149
d) Le cyprodinil	150
⇒ Présentation.....	150
⇒ Dosage dans les produits laitiers : étude bibliographique	150
e) Le diflufénican	151
f) Le picolinafène	151
g) Le quinoxyfène	152
D. Conséquences : expérimentations envisageables	153
CONCLUSION	155
ANNEXES	157
BIBLIOGRAPHIE	167

TABLE DES ILLUSTRATIONS

LISTE DES TABLEAUX

<i>Tableau 1</i> : Quantités de produits laitiers en France en 2005	26
<i>Tableau 2</i> : Consommation moyenne de produits laitiers par les ménages français en 2005	27
<i>Tableau 3</i> : Echanges de produits laitiers entre la France et le reste du monde en 2005	27
<i>Tableau 4</i> : Production de lait dans les diverses régions françaises	29
<i>Tableau 5</i> : Fabrications régionales de lait liquide, beurre, lait fermenté, fromage (sauf fondu) et lait écrémé en poudre	30
<i>Tableau 6</i> : Production européenne de produits laitiers en 2005	31
<i>Tableau 7</i> : Production mondiale de produits laitiers en 2004	31
<i>Tableau 8</i> : Mode de classement des substances d'après l'EMEA et les décisions de la Communauté Européenne	38
<i>Tableau 9</i> : Résultats de dosages de résidus d'organophosphorés dans le lait de vache après ingestion d'aliments contaminés expérimentalement	119

LISTE DES FIGURES

<i>Figure 1</i> : Livraisons de lait de vache par région en 2004 (en % du total France)	28
<i>Figure 2</i> : Les divers intervenants dans le système qualité de l'élevage laitier	33
<i>Figure 3</i> : Représentation schématique de la filière laitière bovine	34
<i>Figure 4</i> : Proportions des principaux constituants du lait de vache (sans l'eau)	46
<i>Figure 5</i> : Organisation d'une submicelle (modèle de Schmidt)	47
<i>Figure 6</i> : Micelle de caséines (modèle de Schmidt)	47
<i>Figure 7</i> : Proportions des diverses protéines du lait	49
<i>Figure 8</i> : Formules spatiales des anomères α et β du lactose	50
<i>Figure 9</i> : Les divers types d'acides gras du lait	52
<i>Figure 10</i> : Globule de gras	53
<i>Figure 11</i> : Détail de l'organisation membranaire d'un globule de gras (au niveau d'une protubérance)	53
<i>Figure 12</i> : Coupe d'un quartier du pis d'une vache	56
<i>Figure 13</i> : Organisation d'un lobule membranaire (cellules myoépithéliales non représentées)	56
<i>Figure 14</i> : Coupe d'une portion d'acinus	57
<i>Figure 15</i> : Phases de la lactation bovine	58
<i>Figure 16</i> : Origine globale des constituants du lait	61
<i>Figure 17</i> : Déroulement général de la synthèse du lactose dans le lait	63
<i>Figure 18</i> : Origines des lipides du lait	65
<i>Figure 19</i> : Principales voies métaboliques des lipides chez la vache	66
<i>Figure 20</i> : Voies de biosynthèse des triglycérides dans le tissu mammaire	67
<i>Figure 21</i> : Le métabolisme des protéines chez la vache laitière	70
<i>Figure 22</i> : Effets potentiels des pesticides sur la reproduction chez la femme	78
<i>Figure 23</i> : Devenir d'une substance dans l'organisme lors de son ingestion	87
<i>Figure 24</i> : Effet de la liaison d'un xénobiotique aux protéines plasmatiques sur son degré de liaison dans le lait	88
<i>Figure 25</i> : Les modalités d'excrétion d'un xénobiotique dans le lait de vache après absorption orale	91

Figure 26 : Concentration théorique de résidus dans le lait après administration d'une dose unique d'un organochloré type	94
Figure 27 : Concentration d'organochloré dans le tissu adipeux selon le niveau d'exposition	95
Figure 28 : Résidus d'heptachlore dans le lait suite à la contamination accidentelle d'un troupeau de vaches laitières	96
Figure 29 : Structure moléculaire de quelques organophosphorés du groupe IV et du sous-groupe diméthoxy	111
Figure 30 : Structure moléculaire de quelques organophosphorés de quatrième catégorie et de sous-groupe diéthoxy	115

LISTE DES ABBREVIATIONS

2,4-D	Acide 2,4-Dichlorophénoxyacétique
3-G-P	3-Glycérol-Phosphate
Å	Angstrom
A.A.	Acide Aminé
A.G.	Acide Gras
A.G.C.C.	Acide Gras à Courte Chaîne
A.G.L.C.	Acide Gras à Longue Chaîne
A.G.N.E.	Acide Gras Non Estérifié
A.M.	Arrêté Ministériel
A.M.M.	Autorisation de Mise sur le Marché
A.R.N.	Acide Ribo-Nucléique
A.T.P.	Adénosine Tri-Phosphate
B.H.C.=H.C.B.	HexaChlorure de Benzène
C.N.R.S	Centre National de la Recherche Scientifique
Ch	Chylomicron
CoA	Coenzyme A
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.F.P.	FluoroPhosphate de Di-isopropyle
D.H.E.A.	DéHydroEpiAndrostérone
D.J.A.	Dose Journalière Acceptable
D.S.E	Dose Sans Effet
Da	Dalton
DL50	Dose Létale 50
E.M.E.A.	Agence Européenne des Médicaments
F.A.O.	Food and Agriculture Organization
F.D.A.	Food and Drug Administration
F.S.H.	Follicle Stimulating Hormon
G.A.B.A.	Acide Gamma Amino Butyrique
G.H.	Growth Hormon
G.H.R.H.	Growth Hormon Releasing Hormon
Gn.R.H.	Gonadolibérine
H.C.H.	HexaChloroHexane
HCl	Acide Chlorhydrique
I.G.F.	Insulin-like Growth Factor
I.U.P.A.C.	International Union of Pure and Applied Chemistry
Ig	Immunoglobuline
K.O.W.	Coefficient octanol-eau
L.D.	Limite de Détection
L.H.	Luteinizing Hormon
L.M.R.	Limite Maximale de Résidus

L.Q.	Limite de Quantification
L.T.	Lymphocytes T
M.G.	MonoGlycéride
N.K.	Natural Killer (lymphocytes)
O.M.S.	Organisation Mondiale de la Santé
O.P.	Organophosphoré
P.C.B.	PolyChloroBiphényl
T.C.D.D.	2,3,7,8-TétraChloroDibenzo- <i>p</i> -dioxine
T.E.P.P.	TétraEthylPyroPhosphate
T.G.	TriGlycéride
T.S.H.	Thyroïd Stimulating Hormone
T _{1/2}	Demi-vie
T4	Thyroxine
U.D.P.	Urindine Di-Phosphate
U.E.	Union Européenne
U.H.T.	Ultra Haute Température
V.L.D.L.	Very Low Density Lipoprotein
W.H.O.	World Health Organization

INTRODUCTION

Les produits phytosanitaires sont employés depuis de nombreuses décennies en agriculture, la consommation actuelle s'élevant, tous pesticides confondus, à 76.000 tonnes par an en France (c'est le troisième consommateur mondial après les Etats unis et le Japon, et le premier en Europe) et 266.000 tonnes par an en Europe (en 2004). Les molécules employées en plus forte quantité sont les fongicides ($\approx 56\%$ en France), suivis par les herbicides ($\approx 30\%$) puis les insecticides ($\approx 3\%$).

Au cours des années, divers xénobiotiques ont été synthétisés, dans le but de lutter plus efficacement contre les insectes, acariens, champignons et plantes adventices entravant le bon développement des cultures. Le gain de productivité a d'abord semblé primer, avec en particulier l'expansion des organochlorés dès les années 1940, mais les autorités sanitaires se sont assez rapidement interrogées sur les conséquences au niveau des écosystèmes naturels et sur les risques liés à l'exposition des consommateurs aux pesticides, même à faible dose. Les scientifiques ont pointé du doigt leurs effets néfastes et les organismes de santé publique ont lancé des alertes, en particulier vis à vis des perturbateurs endocriniens et des substances potentiellement cancérogènes.

Ainsi, de nombreuses études sur animaux de laboratoire et des enquêtes menées chez l'Homme ont mis en exergue les effets potentiellement nocifs des pesticides à court, moyen et surtout long termes. Face aux préoccupations suscitées, des dosages des résidus de produits phytosanitaires présents dans les denrées alimentaires ont été réalisés. La plupart des recherches a porté sur les végétaux ou autres denrées alimentaires directement traités puis consommés par l'homme, mais relativement peu d'études ont examiné la contamination des aliments d'origine animale après ingestion d'une ration elle-même polluée par des résidus chimiques. Cette dernière voie d'exposition humaine est en effet indirecte et implique l'intervention du métabolisme de l'animal, qui peut ou non modifier le produit initial.

Parmi les denrées alimentaires d'origine animale, le lait possède généralement une image valorisante dans la pensée collective et sa consommation demeure très forte avec une moyenne d'environ 400 litres par habitant et par an en France tous produits laitiers confondus. Il est considéré comme une nourriture saine, surtout par les mères, à tel point qu'on a même envisagé de l'utiliser en médecine humaine en tant que vecteur d'éléments de supplémentation alimentaire. Or un tel emploi repose sur l'idée que le lait reste excellent pour la santé et qu'on peut encore en améliorer les qualités intrinsèques et favoriser sa large consommation. Les conséquences sont primordiales chez l'enfant, pour qui il tient une place souvent majeure dans la ration globale (consommation moyenne recommandée entre 1 et 3 ans : 500 mL/j par enfant). Il convient donc de s'assurer que le bénéfice de ces propriétés organoleptiques et nutritionnelles n'est pas contrebalancé par la présence de résidus potentiellement dangereux.

C'est pourquoi, en partant du principe que les vaches laitières consomment souvent des végétaux traités, nous avons jugé légitime de nous interroger sur le risque d'exposition humaine aux pesticides via la consommation de lait et ses conséquences possibles à long terme (même lorsque les limites maximales de résidus sont respectées). Dans cet objectif, nous allons donc effectuer un bilan du taux de contamination passé et actuel du lait de vache par ces substances et nous interroger sur les composés que l'on serait en droit d'attendre dans le lait, au vu de leurs propriétés physico-chimiques et de leurs modalités d'utilisation.

Nous décrirons donc tout d'abord la filière du lait avec ses circuits de collecte et les mesures législatives liées au lait et aux résidus de pesticides, puis nous ferons quelques rappels sur la physiologie de la mamelle avec la composition du lait, ces deux premières parties nous permettant ainsi de mieux comprendre pourquoi certaines molécules sont attendues dans le lait du fait de leurs propriétés physico-chimiques, et nous verrons enfin si les données bibliographiques disponibles corroborent ou infirment nos hypothèses.

1^{ère} PARTIE

LA PRODUCTION DU LAIT DE VACHE ORGANISATION ET LEGISLATION

I. Importance et organisation de la production lactée

A. La production de lait en chiffres

1. La production de lait en France

La France comptait 3.947.000 vaches laitières en 2005, ce qui correspondait à une production de 239.567×10^5 litres de lait, soit 6.070 kg/vache/an en moyenne (vaches tarées comprises, soit environ 7.500 kg/vache/an au contrôle laitier).

Sur cette production, 94,6% ont été collectés, soit 22.667 milliards de litres dont le taux butyreux moyen était de 41,8 g/kg et le taux protéique de 33,3 g/kg.

Les divers laits de consommation représentent moins d'un cinquième du lait collecté et le reste de la production est utilisé pour fabriquer d'autres produits de consommation comme des laits fermentés, des desserts, de la crème, du beurre, des fromages et du lait en poudre (tableau 1). Le lait UHT représente presque $\frac{3}{4}$ des laits de consommation (Rames et Maurisson, 2006).

Production en 2005	Tonnes	% du lait collecté total
laits conditionnés (stérilisés, pasteurisés, aromatisés)	3865284,792	16,52%
yaourts et autres laits fermentés	1513749	6,47%
desserts lactés frais	585148	2,50%
crème conditionnée	338987	1,45%
beurre	332899	1,42%
fromages au lait de vache	1697410	7,26%
laits en poudre industriels	460898	1,97%
conditionnement de poudre de lait	98691	0,42%
lait collecté	23392344	100%

Tableau 1 : quantités de produits laitiers en France en 2005
(Rames et Maurisson, 2006)

Les quantités consommées des aliments issus du lait de vache n'ont guère évolué en France depuis plus de 10 ans (tableau 2) (Guesdon et coll., 1995).

consommation des ménages français	consommation par habitant en 1993	consommation totale en 2005 (en tonnes)	consommation par habitant en 2005 (en kg)
laits liquides	78,5	2602291,2	65,1
produits frais (yaourts, desserts lactés frais, crème de consommation)	-	164637300	33,3
beurre	8	158600	7,4
fromages	22,9	734600	22,9
laits de conserve (concentrés, en poudre, desserts lactés)	-	-	3
crèmes glacées	-	-	5,9
consommation totale en équivalents de lait entier mis en œuvre	-	-	398

Tableau 2 : consommation moyenne de produits laitiers par les ménages français en 2005

La France réalise aussi des échanges de produits laitiers. Elle a en 2005 exporté un peu plus de deux millions de tonnes de produits laitiers et en a importé moins d'un million (tableau 3). Le lait est donc une valence importante de l'économie agricole.

	exportations en 2005 (en tonnes)	importations en 2005 (en tonnes)
laits liquides	868225	343817
laits secs	285564	68865
fromages	566647	210934
yaourts	273572	76177
crème de consommation	130803	90452
beurre	83219	139950
total	2208030	930195

Tableau 3 : échanges de produits laitiers entre la France et le reste du monde (Rames et Maurisson, 2006)

En France, les régions les plus fortes productrices de lait de vache sont la Basse-Normandie (449.800 vaches laitières en 2006), les Pays de la Loire (519.300 vaches laitières en 2006) et la Bretagne (744.600 vaches laitières en 2006). On trouve ensuite, mais déjà loin derrière, les régions Rhône-Alpes, Auvergne, Nord-Pas de Calais et Lorraine. Le tableau 4 et la figure 1 représentent la production laitière en fonction des régions françaises et le tableau 5 indique les quantités de produits laitiers qui en sont issues.

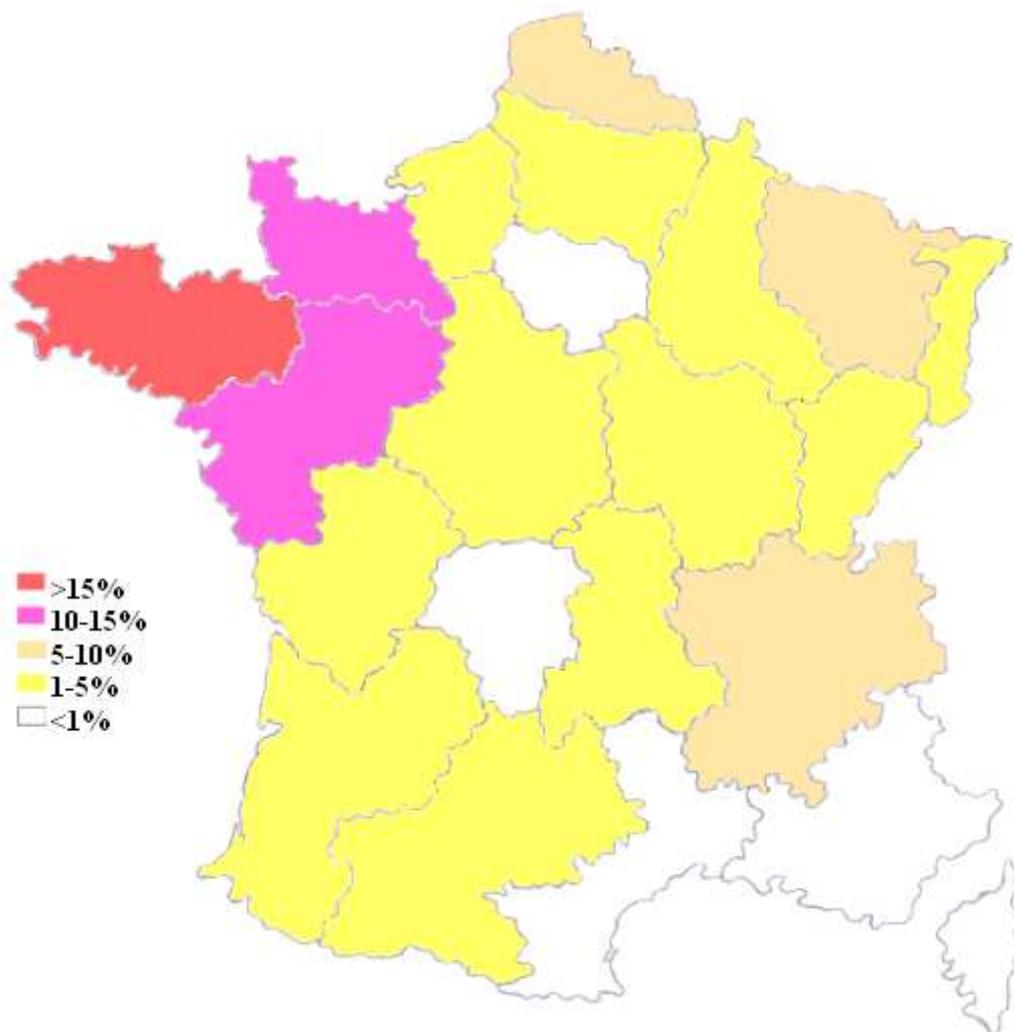


Figure 1 : Livraisons de lait de vache par région en 2004 (en % du total France)
(Rames et Maurisson, 2006)

Région	nombre de producteurs de lait	nombre de vaches laitières	livraisons aux laiteries (x1000l)	% du total des livraisons
<i>Ile de France</i>	154	7.680	44.352	0,2
Champagne-Ardenne	2.695	117.566	664.892	2,99
Picardie	3.434	144.300	880.221	3,96
Haute-Normandie	3.495	154.000	809.235	3,64
Centre	1.586	71.820	449.207	2,02
Basse-Normandie	10.946	477.400	2.445.148	11,04
Bourgogne	1.445	63.700	359.918	1,62
Nord-Pas de Calais	5.337	199.171	1.214.940	5,46
Lorraine	4.644	208.970	1.175.675	5,28
Alsace	1.097	46.635	280.022	1,26
Franche-Comté	5.323	206.775	1.059.603	4,76
Pays de la Loire	13.674	521.800	3.236.442	14,55
Bretagne	19.109	751.750	4.613.017	20,73
Poitou-Charentes	2.675	113.800	701.019	3,15
Aquitaine	3.714	131.952	674.889	3,03
Midi-Pyrénées	4.950	171.088	871.300	3,92
<i>Limousin</i>	935	36.450	179.514	0,81
Rhône-Alpes	8.910	287.892	1.392.051	6,26
Auvergne	7.902	260.700	1.065.527	4,79
<i>Languedoc-Roussillon</i>	751	22.050	89.051	0,4
<i>Provence Alpes Côte d'Azur</i>	275	7.692	31.540	0,14
Corse	-	10	-	-
France	103.051	3.003.201	22.247.563	100

Tableau 4 : Production de lait dans les diverses régions françaises
(Rames et Maurisson, 2006)

Région	lait liquides conditionnés		beurre (tonnes)		laites fermentés (tonnes)		fromages (tonnes)		lait écrémé en poudre (tonnes)
	2004 (x10000)	2005 (x10 ⁶ l)	2004	2005	2004	2005	2004	2005	2004
Ile de France	-	-	-	-	-	-	2.014	2.848	-
Champagne-Ardenne	-	-	-	-	-	-	32.639	32.804	-
Picardie	505.353	560	-	-	123.344	-	6.399	-	-
Haute-Normandie	-	-	-	-	166.199	168.929	133.379	145.503	-
Centre	123.395	116	-	-	-	-	-	-	-
Basse-Normandie	-	-	90.709	93.025	44.589	39.955	291.739	283.787	18.689
Bourgogne	-	-	-	-	162.864	-	118.731	145.845	-
Nord-Pas de Calais	462.289	433	-	-	186.295	193.835	-	-	-
Lorraine	-	-	-	-	-	-	187.749	190.218	-
Alsace	-	-	-	-	2.584	-	-	-	-
Franche-Comté	-	-	-	-	160	-	106.305	107.715	-
Pays de la Loire	664.192	668	54.838	53.075	132.816	133.806	281.742	286.851	31.404
Bretagne	473.001	445	82.973	84.168	100.120	105.103	194.915	201.081	57.274
Poitou-Charantes	83.929	-	23.603	24.250	-	-	26.938	27.346	-
Aquitaine	-	-	-	-	959	-	29.452	30.042	-
Midi-Pyrénées	419.731	397	-	-	172.244	-	17.022	15.129	1.094
Limousin	-	-	-	-	-	-	8.805	9.469	-
Rhône-Alpes	336.881	351	2.354	2.666	321.870	310.964	124.399	127.773	-
Auvergne	288.764	280	-	47.349	-	-	89.164	91.907	-
Languedoc-Roussillon	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Provence Alpes Côte d'Azur	-	-	-	-	-	-	2.509	-	-
France	3.818.060	3.745	335.252	332.899	1.501.755	1.513.749	1.702.988	1.697.412	182.905

Tableau 5 : Fabrication régionale de laités liquides, beurre, laités fermentés, fromage (sauf fondu) et lait écrémé en poudre
(Rames et Maurisson, 2006)

2. Le lait de vache dans l'Union Européenne

Avec un cheptel total d'environ 23.401×10^3 vaches laitières dans l'UE à 25, l'Europe a produit 142.090×10^3 tonnes de lait, ce qui donne un rendement moyen par vache et par an de 5.897 kg (avec les vaches tarées). Ce rendement est supérieur si l'on ne considère que les pays de l'Europe à 15 (6.228 kg) (Rames et Maurisson, 2006).

Le lait de consommation représente plus de 20% de la quantité totale collectée.

Production en 2005	Europe à 15 : quantité en 10^3 t	Europe à 15 : % de la production totale	Europe à 25 : quantité en 10^3 t	Europe à 25 : % de la production totale
production totale	120002	100%	142090	100%
quantité de lait collectée	114549	95,46%	131460	92,52%
lait liquide	28712	23,93%	32090	22,58%
beurre	1824	1,52%	2112	1,49%
crème de consommation	2102	1,75%	2533	1,78%
fromages	7406	6,17%	8345	5,87%
laits en poudre	811	0,68%	901	0,63%

Tableau 6 : Production européenne de produits laitiers en 2005

La France produit donc plus de 19% de la quantité de lait générée dans l'Europe des 15 et plus de 16% dans l'Europe à 25, ce qui lui confère une place importante sur le marché laitier. Les habitudes alimentaires françaises semblent quelque peu différer de celles du reste de l'Europe puisque la consommation de lait à l'état liquide y est relativement moins importante, le lait étant surtout consommé après transformation en fromage, yaourt et beurre.

3. Le lait de vache dans le monde

Avec 238.739×10^3 vaches laitières dans le monde, la production de lait s'élevait à $530,7 \times 10^6$ tonnes de lait en 2004, soit une productivité moyenne de 2.192 kg/vache/an. Cette production est aussi transformée en beurre, fromage et divers types de laits (en poudre, liquide, concentré...) (tableau 7) (Rames et Maurisson, 2006).

production mondiale en 2004	quantité en 10^3 t
lait de vache total	523200
beurre	8305
lait écrémé en poudre	18232
lait entier en poudre	3291
lait concentré	4135

Tableau 7 : production mondiale de produits laitiers en 2004

B. De la vache au consommateur : devenir et filière du lait

1. Définition

On appelle filière un système économique qui consiste en un réseau de distribution et d'approvisionnement utilisé par tous les producteurs d'un même produit ou type de produits, en concurrence sur un marché de consommation (Lagrange, 1989). Elle vise à valoriser le potentiel d'une matière première fournie par l'agriculture en les transformant en produits finis à forte valeur ajoutée (Adrian et coll., 1995).

Une filière est définie par (Lagrange, 1989) (Landier, 1993) :

- En amont le produit agricole considéré, ici le lait, et tous les stades par lesquels il passe ;
- les circuits empruntés par le produit comme maillons intermédiaires;
- les divers intervenants tout au long de cette chaîne, c'est à dire fournisseurs des éleveurs, éleveurs, industries de transformation, transporteurs, commerçants...
- les fonctions de ces intervenants
- les flux de marchandises ;
- en aval, les consommateurs.

Analyser la filière lait revient donc à suivre le parcours de ce produit depuis sa production en tant que matière première jusqu'à son utilisation comme denrée alimentaire, donc depuis la traite jusqu'au consommateur, et à étudier les relations entre les divers acteurs de cette filière.

Notre but ici ne sera pas de détailler tout ceci mais d'en donner un aperçu nécessaire à la bonne compréhension du contexte dans lequel s'inscrit notre propos.

2. La collecte du lait et sa transformation

En France, la collecte du lait est effectuée par des laiteries organisées en entreprises privées ou en coopératives. Elles récoltent environ 90% du lait des vaches traites (voire plus dans les régions laitières) (Valzi, 1993). La quantité collectée a d'ailleurs eu tendance à diminuer depuis l'instauration des quotas en 1984.

Le lait produit à la ferme (traite bi-quotidienne) est acheminé jusqu'au tank à lait de l'exploitation, tank situé dans le local de laiterie, distinct de la salle de traite, via un système de tuyauteries. Là, après filtration, il est rapidement réfrigéré à 4°C pour pouvoir être conservé en attendant la collecte.

La collecte du lait (figure 2) a lieu tous les 2 à 3 jours par des camions-citernes isothermes qui ramènent le lait à une laiterie (Douard, 1989). Pour chaque entreprise, il existe une zone de récolte du lait, dont l'étendue est adaptée de façon à assurer une fréquence de collecte adéquate et à correspondre au rythme de travail de la laiterie. Des itinéraires de 2 à 3 heures sont ainsi précisément définis pour chaque camion-citerne et leurs retours à la laiterie sont échelonnés pour éviter tout encombrement du quai de réception et permettre le contrôle de la qualité du lait dès son arrivée. En effet, **des échantillons de lait sont prélevés dès l'arrivée à l'usine afin d'effectuer des tests rapides de vérification de la qualité sanitaire (propreté physique, évaluation bactériologique, comptage cellulaire somatique, présence de résidus...) et de détermination des taux protéique et butyreux** (Veisseyre, 1979). Lorsque les laits collectés au cours d'une même tournée sont de qualités inégales, les citernes de collecte peuvent être compartimentées de façon à ne pas les mélanger avant de les tester

individuellement en arrivant à la laiterie. L'isolation des citernes limite le réchauffement du lait au cours de la tournée et le ramasseur ne doit théoriquement recueillir que du lait déjà réfrigéré à 4°C maximum. La citerne subit une séquence rinçage/désinfection/rinçage après chaque tournée (Jouzier et Cohen-Maurel, 1986). Ces mesures visent à protéger le consommateur (le lait est détruit en cas d'anomalie le rendant impropre à la consommation humaine) et à déterminer le prix d'achat du lait au producteur (selon les taux protéique et butyreux et le comptage des cellules et des bactéries quand ces derniers restent dans les limites de l'acceptable : il s'agit donc d'un paiement à la qualité selon la qualité constitutionnelle de la matière première et de sa qualité microbiologique) (Veisseyre, 1979).

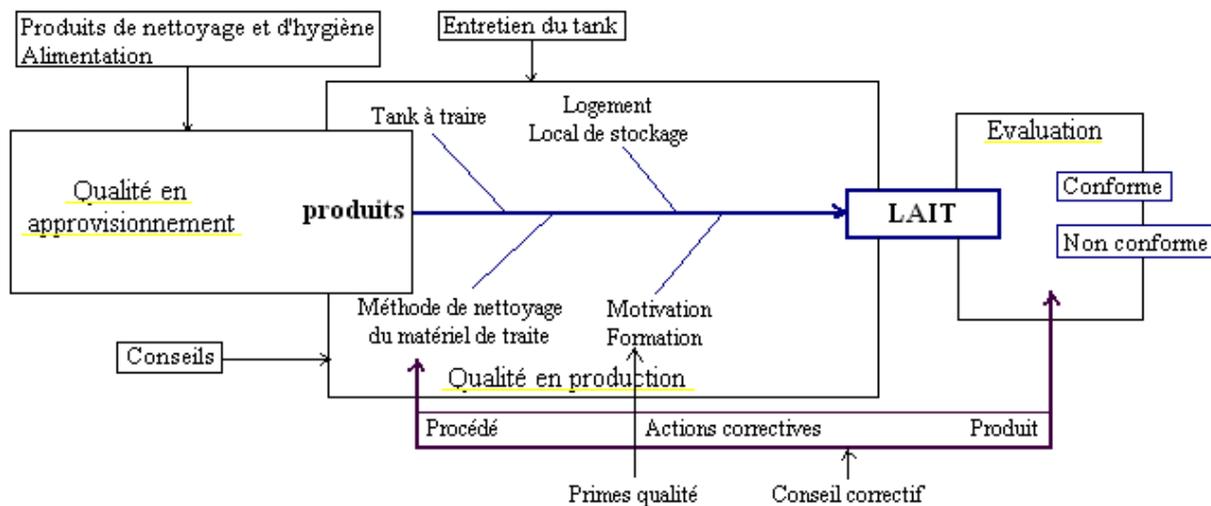


Figure 2 : les divers intervenants dans le système qualité de l'élevage laitier (Fabre et Serieys, 1990)

Au delà d'un lait de composition conforme aux attentes et non contaminé, consommateurs et distributeurs exigent la régularité des caractéristiques du produit, ce qui sous-entend d'obéir à un cahier des charges précis (inclus dans la norme ISO 9002 qui englobe aussi les équipements, les modes de travail, l'organisation et le mode d'approvisionnement en matière première de l'industrie, ici laitière) (Fabre et Serieys, 1990).

A la laiterie, le lait est ensuite pris en charge dans de grands réservoirs en acier inoxydable après passage dans un réseau de pompes et de tuyaux où il est pasteurisé et normalisé en matière grasse (par des échangeurs à plaque et des centrifugeuses). Puis les traitements subis vont dépendre de la finalité (Douard, 1989).

Le lait pourra être destiné à (figure 3) :

- une fromagerie : il sera alors soumis à une fermentation lactique, puis il y aura séparation du caillé (obtenu par action de présure) et du lactosérum, et enfin divers traitements en feront un fromage donné ;
- une beurrerie : la crème sera alors barattée ;
- la production de lait de consommation, plus ou moins écrémé (entier, demi-écrémé ou écrémé) ;
- la transformation en tout autre produit laitier type yaourt, poudre de lait...

La production de laits de conserve, c'est à dire des produits laitiers tels que le fromage et le beurre, était initialement surtout un moyen de pallier aux écarts de production saisonniers tout en restant apte à répondre à la demande des consommateurs (plus de lait au printemps et en été, malgré les efforts d'étalement des vêlages) (Veisseyre, 1979).

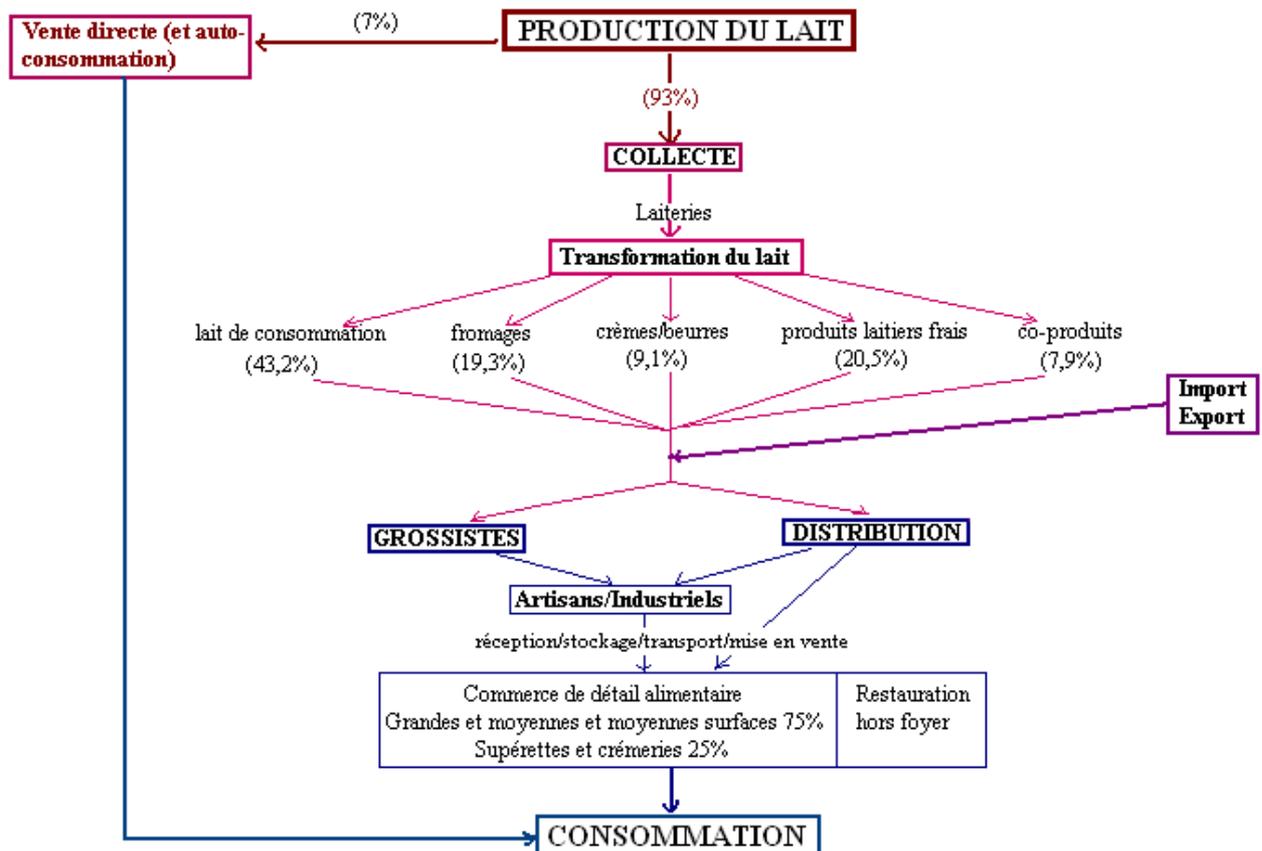


Figure 3 : Représentation schématique de la filière laitière bovine
(Sans et Fabre, 2000) (Deforges et coll., 1999)

Le lait de grand mélange est le lait reçu par les usines laitières, c'est à dire un mélange de laits de nombreuses exploitations différentes après que ceux-ci ont été jugés aptes à la consommation humaine à l'issue des tests de vérification de la qualité sanitaire réalisés lors de l'arrivée des camions citernes à la laiterie (Favier, 1985). C'est donc plutôt à ce lait de grand mélange que nous nous intéresserons dans cette thèse.

II.Législation : définition et normes d'acceptabilité du lait

A. Définition légale du lait

1. Définition générale

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** » (Dehove, 1984) (Luquet, 1985 (a)).

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 là aussi précisée si ce n'est pas du lait de vache.

2. Précisions

La dénomination « lait » sans indiquer l'espèce animale dont il provient renvoie uniquement au lait de vache.

Sinon, dans le cas d'un lait issu d'une femelle laitière autre que la vache, on emploie la dénomination « lait » suivie du nom de l'espèce animale dont il est issu, à savoir « lait de chèvre », « lait de brebis », etc...(article 1^{er} du décret du 25 mars 1924 et décret n°55-592 du 16 juillet 1955) (Code de la consommation, 2001).

B. Normes d'acceptabilité du lait

1. Le lait en droit français

D'après l'article 2 du décret du 25 mars 1924 (titre 1^{er}) complété par le décret n°71-6 du 4 janvier 1971 (Code de la consommation, 2001), on considère comme impropre à la consommation humaine :

« Le lait provenant d'animaux atteints de maladies dont la nomenclature sera donnée par arrêté du Ministre de l'Agriculture pris sur avis du comité consultatif des épizooties » ;

« Le lait coloré, malpropre et malodorant » (Le lait cru ou pasteurisé doit être propre, ce qui est prouvé au moyen d'une épreuve de filtration sur ouate)

« Le lait provenant d'une traite opérée moins de 7 jours après le part, et d'une manière générale le lait contenant du colostrum » ;

« Le lait provenant d'animaux mal nourris et manifestement surmenés » ;

« Le lait contenant des antiseptiques et des antibiotiques » ;

« Le lait coagulant à l'ébullition » ;

« Le lait ne satisfaisant pas à l'épreuve du dénombrement cellulaire dont les modalités sont fixées par arrêté du ministre de l'agriculture » (arrêté ministériel du 2 mai 1985 (Dumoulin et Leseur, 1991)).

La détention de la patente sanitaire, qui permet la commercialisation de lait cru, repose d'ailleurs sur l'absence de résidus bactériostatiques, antibiotiques ou antifongiques dans le lait (article 1^{er} de l'arrêté du 1^{er} février 1980).

L'article 2bis du décret du 4 janvier 1971 précise que le lait ne peut être vendu au consommateur que si son taux protéique est supérieur ou égal à 28g/L.

L'article 2ter du même décret porte sur les normes d'acceptabilité du lait pour la consommation animale. Ainsi le lait issu d'animaux malades, le lait coloré ou malpropre, le

lait contenant des antibiotiques ou des antiseptiques, le lait qui coagule à l'ébullition et le lait dont le taux cellulaire est supérieur à la limite établie ne pourront être considérés comme propres à la consommation animale.

Concernant la présence potentielle d'une autre substance mélangée au lait, l'article 4 du même décret présente le mouillage du lait (par de l'eau potable ou non) comme une falsification, ainsi que tout traitement, autre que le filtrage et les traitements thermiques, susceptible de modifier la composition du lait, sauf autorisation spécifique.

L'article 5, lui, précise quelles substances sont utilisables pour nettoyer et désinfecter les divers ustensiles de manipulation et de transport du lait.

Le lait est payé selon sa composition et sa qualité depuis la loi Godefroy du 3 janvier 1969, mise en application par le décret du 16 novembre 1970 (Dumoulin et Leseur, 1991). D'après ce décret :

- les modalités de paiement reposent sur la mise en place de conventions annuelles renouvelables entre les entreprises laitières et les producteurs ;
- un arrêté ministériel précise la façon dont sont prélevés et analysés les échantillons et quels laboratoires y sont autorisés, et constitue une Commission Scientifique et Technique qui contrôle les méthodes d'analyse ;
- un arrêté préfectoral établit dans chaque département les bases de calcul du prix du lait ainsi que les conditions pratiques des prélèvements.

2. Le lait en droit européen

La réglementation européenne est venue compléter les arrêtés ministériels français du 31 juin 1982 et du 21 novembre 1983 concernant le lait traité thermiquement, par la directive du 5 août 1985. Les modifications portaient sur l'hygiène de la production (état sanitaire des animaux, locaux, personnel, traite, stockage du lait) et les normes sanitaires du lait-même avec les quantités limites de germes et de cellules (Dumoulin et Leseur, 1991).

Les normes sanitaires valables en France ont été revues selon la directive 92/46 CEE du 16 juin 1992 (modifiée par la directive 94/71/CE du 13 décembre 1994) qui a donné lieu à trois arrêtés ministériels (Tosi, 2000) :

- AM du 30 décembre 1993 concernant les conditions d'installation, d'équipement et de fonctionnement des centres de collecte ou de standardisation du lait et des établissements de traitement et de transformation du lait et des produits à base de lait, modifié par les arrêtés du 2 mars 1995 relatif à l'agrément des centres de collecte, de standardisation ou de traitement du lait et des produits à base de lait, du 2 août 1996 et du 10 février 1997.

- AM du 18 mars 1994 relatif à l'hygiène de la production et de la collecte du lait (modifié par les arrêtés du 2 mars 1995 et du 10 février 1997). Cet arrêté précise entre autres que (Sanoa et Menard, 1994) :

- « ...**le lait cru provient d'animaux...qui n'ont pas été traités avec des substances dangereuses ou pouvant devenir dangereuses pour la santé de l'homme, susceptibles de se transmettre au lait, sauf respect du délai d'attente officiel** ».

- « ...**le lait est exclu de la collecte, de la transformation et de la vente en vue de la consommation humaine...lorsqu'il contient des résidus de substances ayant une action pharmacologique, de leur produit de transformation, ainsi que d'autres substances se transmettant au lait susceptibles de nuire à la santé humaine, interdits ou dépassant le niveau autorisé par la réglementation** ».

- AM du 30 mars 1994 sur les critères microbiologiques auxquels doivent satisfaire les laits de consommation et les produits à base de lait lors de leur mise sur le marché, modifié par l'arrêté du 2 mars 1995.

Cette directive a ainsi établi la « barre des 400.000 cellules » comme norme supérieure d'acceptabilité du lait (Fabre et Sans, 2000).

La directive 92/46 fait aussi référence à la directive 89/362 relative aux conditions générales d'hygiène des exploitations de production de lait.

C. Substances interdites ou règlementées dans le lait

1. Législation générale

Le code rural (livre II, titre III, chapitre IV, section II, article L.234-2) (Code rural, 2006) stipule qu'il est interdit d'administrer aux animaux dont la chair ou les produits sont consommés par l'Homme (sauf autorisation spécifique pour certains médicaments) des produits contenant des stilbènes ou leurs dérivés, des substances à activité thyrostatique et des substances à activité anabolisante, anticatabolisante ou bêta-agoniste (mais parmi ces trois dernières catégories, certains composés peuvent entrer, par décret, dans la composition de certains médicaments vétérinaires, selon les dispositions énoncées au titre IV du livre I^{er} de la cinquième partie du code de la santé publique).

De même, les établissements qui fabriquent des aliments pour animaux sont soumis à une réglementation visant à limiter ou empêcher la transmission d'aliments chimiques ou biologiques (article L.235-1, chapitre V, titre III, livre II du Code Rural) (Dumoulin et Leseur, 1991 ; Code rural, 2006).

Mais hormis les substances totalement interdites, il en existe d'autres dont l'**usage** est **réglementé** de façon à **ne pas dépasser la quantité maximale résiduelle autorisée dans les denrées alimentaires d'origine animale**. Il s'agit ainsi par exemple de déterminer les **temps d'attente** entre l'administration d'une substance à un animal et la consommation possible de cet animal ou de ses produits. Ceci repose sur une démarche liée aux diverses caractéristiques physico-chimiques du produit en question : on définit d'abord la **Dose Sans Effet (DSE)** toxique du produit, on en déduit la **Dose Journalière Acceptable (DJA)** par application d'un coefficient de sécurité (100 à 1000) à la DSE, puis on répartit la DJA entre les différentes denrées alimentaires (selon les quantités consommées en moyenne) pour pouvoir en tirer la tolérance en matière de résidus. Ainsi on considère qu'**en moyenne un homme consomme 800 mL de lait et dérivés par jour**. Puis selon la pharmacocinétique du xénobiotique, on calcule le temps d'attente (Labie, 1981). C'est la loi du 25 mai 1975 qui définit clairement cette notion comme les « **délais à observer entre l'administration du médicament à l'animal dans les conditions normales d'emploi et l'utilisation des denrées alimentaires provenant de cet animal pour garantir que ces denrées ne contiennent pas des résidus dangereux pour la santé publique** » (Sanoa et Menard, 1994). Cette démarche est généralement suffisante pour **garantir la sécurité du consommateur**, même si elle est parfois un peu trop simpliste compte tenu des voies métaboliques que peuvent suivre les composés, voies qui mènent parfois à des métabolites toxiques (Labie, 1981).

Les diverses substances ont été classées en quatre annexes (Laurentie et Sanders, 2002) présentées dans le tableau 8.

Annexe	Définition	Nombre de substances inscrites	Nombre de substances inscrites pour le lait
I	Substances dont les LMR ont été établies	139	66
II	Substances ne nécessitant pas de LMR	809	-
III	Substances pour lesquelles des LMR provisoires ont été établies	25	14
IV	Substances pour lesquelles il n'a pas été possible d'établir des LMR (leur utilisation est interdite pour les animaux de rente. On n'a pas pu établir de DJA donc de LMR, en raison du manque de données permettant de préciser le risque)	11	-

Tableau 8 : Mode de classement des substances d'après l'EMEA et les décisions de la Commission Européenne (Laurentie et Sanders, 2002)

Depuis 1982, on recherche en particulier dans le lait et les produits laitiers la présence éventuelle de pesticides et polychlorobiphényles, de métaux lourds, de radionucléides, de listéria dans le lait cru, de résidus d'antibiotiques et d'aflatoxines (Dumoulin et Leseur, 1991).

La notion de résidu a été redéfinie dans la directive 96/23/CE du 29 avril 1996 (J.O. du 23 mai 1996) relative aux mesures de contrôle instituées vis à vis de certaines substances et leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits. Ainsi, on entend par « **résidu : un résidu de substances ayant une action pharmacologique, de leurs produits de transformation, ainsi que d'autres substances se transmettant aux produits animaux et susceptibles de nuire à la santé humaine** ». L'annexe IV de cette même directive énonçait quelques pistes concernant le niveau et la fréquence d'échantillonnage vis à vis des résidus de toute substance dans les denrées alimentaires d'origine bovine (annexe 8), exigences reprises dans la directive 97/474/CE du 27 octobre 1997 où le lait est tout particulièrement visé au chapitre I de l'annexe de cette décision (J.O. du 6 novembre 1997). La directive 96/23/CE définissait aussi les cas dans lesquels le lait est considéré comme impropre à la consommation (Delepine et coll., 2002) (J.O. de la C.E. du 23 mai 1996) : il s'agit des cas où la concentration mesurée est supérieure à la limite maximale de résidus (LMR), pour une substance dotée d'une LMR dans le lait, où des substances sans LMR sont mises en évidence dans le lait, ce qui implique l'utilisation de médicaments en dehors du résumé des caractéristiques du produit, et où des substances sont listées en annexe IV du règlement 2377/90 (J.O. de la C.E. du 18 août 1990), indiquant donc l'utilisation de produits interdits chez l'animal.

Ces concepts de LMR et de temps d'attente sont appliqués dans l'ensemble de l'Union Européenne et internationalement reconnus au sein du *Codex Alimentarius* (Laurentie et Sanders, 2002). Le temps d'attente est défini dans la directive 81/851/CEE (J.O. de la C.E. du 6 novembre 1981) comme le délai à respecter entre la dernière administration de la spécialité en question à des animaux selon les conditions normales d'emploi et la production de denrées alimentaires issues de ces animaux, de façon à garantir que ces denrées ne contiennent pas de résidus en quantités supérieures aux LMR.

La directive 96/23/CE a ensuite été retranscrite en droit français par la mise en place d'un plan de surveillance des résidus en France, plan approuvé au niveau européen par la décision du 10 février 1998 (98/151/CE) (J.O. de la C.E. du 18 février 1998).

Enfin, les directives 2006/61/CE du 7 juillet 2006 et 2006/62/CE du 12 juillet 2006 (J.O. de la C.E. du 27 juillet 2006 (a)(b)) sont venues modifier ou préciser les teneurs maximales en résidus pour diverses molécules.

2. Les antibiotiques

Leur présence dans le lait est interdite d'après la loi du 2 juillet 1935 (décrets du 25 mars 1924 et du 4 janvier 1971) (Sanoa et Menard, 1994).

S'ils sont réglementés, c'est parce que l'on craint des accidents d'allergie, surtout avec la pénicilline. Comme on ne peut prouver que les petites quantités d'antibiotiques retrouvées dans le lait suite à un traitement antibiotique ne sont pas suffisantes pour sensibiliser les consommateurs ou pour perturber certaines fabrications utilisant des ferments lactiques, le lait est considéré comme impropre à la consommation humaine ou animale (décret du 4 janvier 1971) et ne peut être utilisé que pour la synthèse de produits non alimentaires (arrêté du 1^{er} février 1980) (Sanoa et Menard, 1994) quelle que soit la voie d'administration des antibiotiques, mais surtout par les voies mammaire ou parentérale, une partie de ces substances se retrouve dans le lait (Labie, 1981).

Les limites maximales en résidus d'antibiotiques présents dans les diverses denrées alimentaires d'origine animale, y compris le lait, ont été établies au niveau européen par le règlement CE n°2377/90 du Conseil du 26 juin 1990 qui a mis en place une procédure de fixation des limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires au sein de la communauté européenne (J.O. de la C.E. du 18 août 1990), modifié en dernier lieu par le règlement CE n°1729/2006 de la Commission (J.O. de la C.E. du 24 novembre 2006).

3. Les détergents et les désinfectants

De même que pour les antibiotiques, on ne doit théoriquement pas les retrouver dans le lait d'après la loi du 2 juillet 1935 (Sanoa et Menard, 1994).

L'article 5 du décret du 4 janvier 1971 (Code de la consommation, 2001) précise quelles substances sont utilisables pour désinfecter les ustensiles de manipulation et de transport du lait. Il est ainsi possible d'employer des carbonates alcalins, des hypochlorites, du formol ou de l'eau oxygénée, mais à condition d'effectuer suffisamment de rinçages pour ne pas retrouver ces éléments dans le lait.

Le décret n°71-644 du 30 juillet 1971 (J.O. du 3 août 1971) établit quelles quantités de résidus des produits utilisés en agriculture ou en élevage peuvent être tolérés dans les denrées alimentaires et les boissons, et le décret n°73-138 du 12 février 1973 énumère les produits utilisés pour le nettoyage des matériaux et objets destinés à entrer en contact avec des denrées alimentaires, ce qui inclut donc aussi le lait.

4. Les pesticides

a) Définition

Il s'agit de l'ensemble des produits chimiques naturels ou synthétiques utilisés contre les parasites animaux ou végétaux des plantes, des animaux et de l'Homme. Appartiennent donc à cette catégorie les herbicides, fongicides, insecticides, acaricides, anthelminthiques et rodenticides, dont les résidus constituent principalement un danger de toxicité chronique (par accumulation). Certaines de ces substances relèvent d'ailleurs de l'arsenal thérapeutique ou prophylactique vétérinaire (Hoerner, 1995).

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 » définit justement ce terme par :

« Les substances actives et les 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, pour autant que ces substances ou préparations ne soient pas autrement définies ci-après ;

- 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

ou

- Détruire les parties de végétaux, freiner ou prévenir une croissance indésirable des végétaux. »

b) Réglementation

Les lois du 1^{er} août 1905 sur la répression des fraudes et du 29 mai 1975 sur la pharmacie vétérinaire, dans le code de la santé publique, établissent les limites relatives aux résidus de pesticides. Elles sont renforcées par les arrêtés du 15 octobre 1969, du 2 octobre 1972 et du 5 avril 1982 pour les organochlorés car ceux-ci sont les plus rémanents (Hoerner, 1995).

La directive 86/363/CEE du 24 février 1986 a établi des teneurs maximales en résidus de pesticides sur et dans les denrées alimentaires d'origine animale (J.O. de la C.E. du 7 août 1986). L'article 2 alinéa 1 de cette directive définit ce que l'on entend par « résidus de pesticides », à savoir que ce sont des « reliquats de pesticides, ainsi que de leurs produits de métabolisation, de dégradation ou de réactions énumérés à l'annexe II [de cette directive], qui sont présents sur ou dans les produits visés à l'article 1^{er} [de cette même directive] » (annexe 4). **Parmi des denrées alimentaires d'origine animale citées en annexe I, on trouve le lait et les produits laitiers, pour lesquels donc, d'après l'article 3, les Etats membres doivent veiller à ce qu'ils ne présentent pas, dès leur mise en circulation (= « toute remise à titre onéreux ou gratuit de produits visés à l'article 1^{er} » : article 2 alinéa 2), de danger pour la santé humaine en relation avec des résidus de pesticides.** L'annexe II de cette directive précise quelles quantités maximales de résidus de pesticides sont admises dans le lait et les produits laitiers (J.O. de la C.E. du 9 février 1981).

La directive CEE 91/414 établit, après diverses définitions dont celles des termes « produit phytopharmaceutique », « résidus de produits phytopharmaceutiques », « mise sur le marché », « environnement » et « animaux », les dispositions générales communes à tous les états membres de l'UE vis à vis des produits phytopharmaceutiques et les conditions d'octroi, de révision et de retrait d'autorisation de ces composés. Elle précise aussi 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 pyréthriinoïdes (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 précisé 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).

En sus de ces contraintes liées à la détection de résidus de pesticides, la loi d'agrément des distributeurs et applicateurs de pesticides, créée en 1992 et appliquée 4 ans plus tard, impose qu'au sein de tout établissement utilisant ou commercialisant des produits toxiques ou nocifs, au moins un employé sur dix soit titulaire d'un certificat de qualification professionnelle (Freydier, 2001).

On constate donc que malgré une prise de conscience déjà ancienne (dès 1905) concernant le risque phytosanitaire pour la santé publique, la prise en compte des risques plus particulièrement liés au passage par le lait demeure bien plus récente, les mesures législatives dans ce domaine remontant plutôt aux années 1980.

Résumé

L'Union Européenne, avec environ 150 millions de tonnes par an, produit plus du quart du lait mondial (production globale annuelle supérieure à 500 millions de tonnes). Parmi les pays européens, la France demeure un assez fort producteur de lait, principalement dans les régions du nord-ouest, avec une production annuelle moyenne un peu inférieure à 25 millions de tonnes, et les Français en font une consommation moyenne de 400 kg par habitant et par an tous types de produits laitiers confondus. Ce produit reste donc important dans l'alimentation et est aussi l'objet d'échanges commerciaux avec l'étranger (importations légèrement inférieures à un million de tonnes par an et exportations supérieures à deux tonnes).

Une telle production est possible grâce à l'existence d'une filière dédiée à ce produit, les laiteries intervenant comme centres de collecte après acheminement du lait depuis les exploitations au moyen de camions-citernes qui récoltent le lait de tank tous les 2 à 3 jours.

Une fois à la laiterie, le lait est soumis à un contrôle de qualité en composition (taux protéique et butyreux) et surtout selon des critères sanitaires (propreté physique, micro-organismes et cellules, résidus). Les laits de chaque élevage sont ainsi testés individuellement avant, si aucune anomalie n'est détectée, d'être regroupés pour donner le lait de grand mélange, que la laiterie pasteurise puis transforme ou non.

Les contrôles effectués en laiterie reposent sur l'existence d'une législation qui définit les normes d'acceptabilité du lait afin qu'il soit propre à la consommation humaine tant au niveau de son apparence qu'au niveau de la santé du consommateur. Elle précise donc aussi quelles substances, entre autres les pesticides, sont interdites ou réglementées dans le lait, et établit des limites maximales de résidus lorsque c'est nécessaire et/ou possible.

2^e PARTIE

COMPOSITION ET PRODUCTION DU LAIT PAR LA MAMELLE

I. La composition du lait de vache

A. Propriétés physico-chimiques du lait

1. Aspect macroscopique

Le lait se présente comme un liquide blanc opaque, parfois un peu jaunâtre selon sa concentration en β -carotènes. Son odeur est discrète et son goût légèrement sucré. Il peut être plus jaunâtre s'il s'agit de colostrum, mais dans ce cas il n'est pas apte à la consommation humaine (voir législation). En effet, le colostrum est le produit sécrété par la mamelle pendant la première semaine post-partum, il est de couleur jaune, possède un goût salé et amer ainsi qu'une odeur marquée, critères qui le distinguent nettement du lait (Alves De Oliveira, 2006).

2. Constantes physiques

a) Le pH

Le pH du lait de vache varie habituellement entre 6,5 et 6,7 (à 20°C) : il est donc très légèrement acide (Luquet, 1985 (a) ; Wattiaux, 1997 (a)). Ce pH tend à décroître quelque peu au cours d'une lactation en raison de l'augmentation du taux de caséines et de phosphates qu'il renferme. Mais hormis ces variations mineures, qui restent dans les limites précitées, le pH du lait ne change théoriquement pas et constitue un indice de son état de fraîcheur. En effet, lors d'un manque de fraîcheur, les bactéries lactiques transforment le lactose en acide lactique qui diminue le pH du lait (par augmentation de la concentration d'ions hydronium H_3O^+ selon l'équation $\text{pH} = \log 1/[\text{H}_3\text{O}^+]$). De même, comme le colostrum est acide, un lait au pH trop faible peut aussi être le révélateur de la présence de colostrum c'est à dire d'une traite trop précoce après le part (Alves De Oliveira, 2006). A l'inverse, en cas de mammite, le pH augmente car le lait renferme alors des substances basiques.

b) L'acidité titrable

Exprimée en degrés DORNIC, elle correspond à une quantité d'acide lactique que l'on neutraliserait avec de la soude N/9 en présence de phénolphtaléine comme indicateur coloré, de telle sorte qu'1°D équivaldrait à 0,1 g d'acide lactique par litre de lait. Un tel dosage ne renseigne pas sur la quantité d'acide lactique dans le lait mais sur son acidité globale qui repose sur l'ensemble de ses constituants acides et sur sa teneur en matière sèche. L'acidité titrable est soumise à la norme NF-V04-206 de janvier 1969. Elle doit être comprise entre 15 et 18°D.

c) La densité

Cette valeur correspond au rapport de la masse d'un volume de lait à une température donnée sur celle du même volume d'eau à la même température. Celle du lait de vache est généralement comprise entre 1,028 et 1,036 (voire de 1,023 à 1,040 selon M.A.Wattiaux (Wattiaux, 1997 (a))). Elle varie dans le même sens que la richesse en matière sèche du lait, c'est à dire qu'un lait plus riche sera *a priori* plus lourd, même s'il faut considérer le fait que

les lipides, dont la présence peut augmenter la proportion de matière sèche, sont eux moins denses que l'eau donc diminuent la densité globale du lait. C'est pourquoi on évalue d'abord la teneur en matière grasse par détermination de la masse volumique (NF V04-204 de septembre 1969). Un lait écrémé pourra donc avoir une densité supérieure aux valeurs usuelles et l'adjonction d'eau fait tendre la densité vers 1. Cependant, un lait écrémé mouillé n'aura pas une densité normale (Luquet, 1985 (a) ; Alves De Oliveira, 2006).

d) Température de congélation

Elle varie entre -0,51 et -0,55°C, selon les conditions zootechniques. Si elle tend vers 0°C, cela peut permettre de détecter une adjonction d'eau, ou mouillage, qui constitue une fraude (Luquet, 1985 (a) ; Wattiaux, 1997 (a)).

e) Potentiel d'oxydo-réduction

Il varie de +0,10 à +0,20V (Luquet, 1985 (a)).

3. Les phases du lait

On définit une phase comme toute partie homogène d'un système. Dans le lait, on en compte quatre types distincts (Luquet, 1985 (a)) :

La phase aqueuse, solution vraie, qui contient le lactose et divers ions (Ca^{2+} , K^+ , Cl^- , Na^+ ...), particules mesurant environ 0,1 nm, ainsi que des protéines solubles et un peu de matière grasse. C'est le lactosérum (Luquet, 1985 (b)) ;

Les phases colloïdales, qui comprennent d'une part les albumines et les globulines, molécules polymérisées aux propriétés hydrophiles (phase relativement stable), et d'autre part le caséinate de calcium et le phosphate tricalcique (phase très instable), ces particules ayant respectivement des dimensions de l'ordre du nanomètre et de quelques dizaines à quelques centaines de nanomètres ;

Les globules de gras, gouttelettes d'huile avec une membrane de lipoprotéines, en émulsion dans le lait et dont la taille varie entre 1 et 10 μm ;

Les micro-organismes du lait, principalement des bactéries.

B. La composition chimique du lait

1. Composition globale

Le lait contient plus de 100 composants différents (Wattiaux, 1997 (a)), dont certains en quantités infimes. On peut regrouper ces divers éléments de telle sorte qu'un litre de lait directement issu de la mamelle se compose globalement de (figure 4) (Alves De Oliveira, 2006 ; Wattiaux, 1997 (a)) :

- 900-910 g d'eau, quantité qui dépend de celle du lactose (Wattiaux, 1997 (a)) ;
- 125-130 g de matière sèche totale qui se répartit en :
 - 35-45 g de matière grasse (40g pour un lait standard)
 - 47-52 g de lactose
 - 31-38 g de matières azotées protéiques, proportion qui peut varier avec la race de vache et la quantité de lipides dans le lait (varient dans le même sens) (Wattiaux, 1997 (a))

- 0,02-1,2 g d'azote non protéique (urée surtout)
- 7-7,5 g de cendres (Calcium : 1 à 1,4 g/L; Phosphore : 0,8 à 1,1 g/L; Magnésium : 0,12 g/L; Fer : 0,6 mg/L) (Alves De Oliveira, 2006)
- biocatalyseurs (Luquet, 1986)
- pigments : β carotène
- enzymes : lipase, phosphatase, protéase, xanthine-oxydase, lactoperoxydase
- vitamines : surtout A, B et D
- gaz dissous : dioxygène, dioxyde de carbone et diazote.

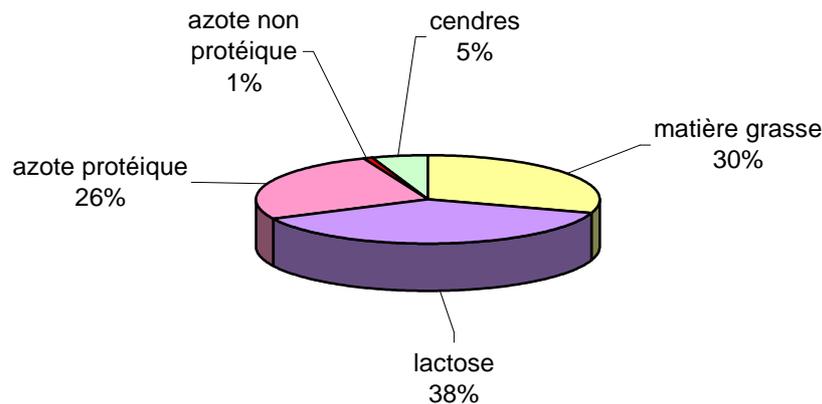


Figure 4 : Proportions des principaux constituants du lait de vache (sans l'eau)
(Alves De Oliveira, 2006) (Wattiaux, 1997 (a))

2. Nature précise des divers composants du lait

a) Les matières azotées totales

La proportion de matières azotées totales (MAT) est aussi nommée **taux protéique** car les MAT sont à 95% des protéines, les 5% restants correspondant à l'azote non protéique. Le lait possède globalement une très bonne valeur protéique (= azote retenu pour la croissance = pourcentage de l'azote absorbé retenu, c'est à dire qui n'est pas excrété dans l'urine ni dans les fèces) en raison de son équilibre remarquable en acides aminés indispensables et grâce à la bonne digestibilité de ses acides aminés (Alves De Oliveira, 2006 ; Luquet, 1986). La protéine totale du lait comporte une importante teneur en lysine, si bien qu'elle est facilement dénaturée par la chaleur.

La majeure partie des protéines est représentée par les caséines (à 80%) et le reste est représenté par les protéines du lactosérum (20%) (Wattiaux, 1997 (a)) (figure 7).

Les caséines (environ 27 g/L) (Luquet, 1986), insolubles, sont une famille de molécules assez hétérogènes dont les caractères communs sont la précipitation à pH=4,6, donnant ainsi le caillé à l'origine du fromage, une masse moléculaire faible comprise entre 20 et 25 kDa, ainsi qu'une séquence primaire (= enchaînement des acides aminés) riche en proline, acide aminé responsable de la faible proportion de structures secondaires (type hélices ou feuilletts β ...) dans ces molécules.

On distingue principalement quatre catégories de caséines (Wattiaux, 1997 (a)) (Alais et Linden, 1994) :

- les caséines α (α_{S1} et α_{S2}) (≈ 12 à 14 g/L) ;
- les caséines β ($\approx 6,2$ à 9 g/L) ;
- les caséines κ ($\approx 3,4$ à $3,7$ g/L) ;
- les caséines γ ($\approx 1,2$ à $1,8$ g/L).

Elles sont complexées dans le lait avec le phosphate de calcium pour former des micelles, mesurant $0,08$ à $0,12$ μm (Alais et Linden, 1994) (figures 5 et 6). Les liaisons entre caséines et phosphore et calcium assurent la stabilité des micelles dans le lait à l'état liquide (Aimutis, 2004), mais les micelles sont facilement dégradées par toutes les enzymes protéolytiques.

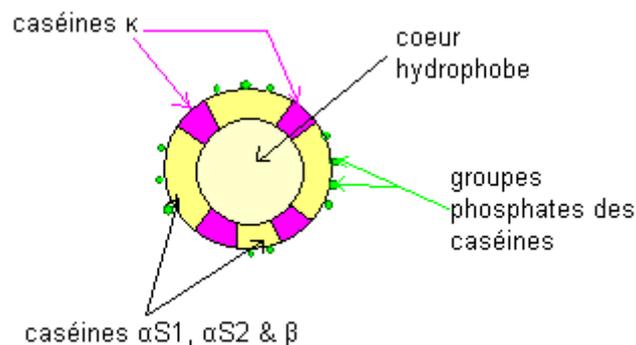


Figure 5 : Organisation d'une submicelle (*modèle de Schmidt*)
(Alais et Linden, 1994)

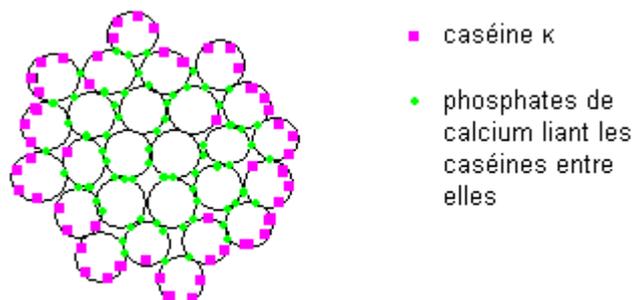


Figure 6 : Micelle de caséines (*modèle de Schmidt*)
(Alais et Linden, 1994)

Les autres protéines sont dites « solubles » : ce sont celles du lactosérum (phase aqueuse qui se sépare du caillé lors de la fabrication de fromage), à savoir (Luquet, 1986) :

- α -lactalbumines (20% \Leftrightarrow 1,2 g/L) ;
- β -lactoglobulines (50% \Leftrightarrow 3 g/L) ;
- sérum albumines (10% \Leftrightarrow 0,4 g/L) ;
- globulines (20%): immunoglobulines (0,7 g/L) ;
- protéoses peptones (0,6 g/L).

A la différence des caséines, ces molécules sont très riches en structures secondaires, tertiaires et quaternaires, structures dénaturées par la chaleur, d'où leur labilité. De plus, elles ne sont pas phosphorylées et peu glycosylées. Les lactoglobulines et les lactalbumines confèrent au lait sa capacité à prendre en masse et à mousser.

Enfin, d'autres protéines existent dans le lait, de façon bien plus mineure par leur quantité, mais elles jouent des rôles importants (Aimutis, 2004) (Luquet, 1986). On retiendra surtout :

- le lysozyme : enzyme aux propriétés antibactériennes (0,25 mg/L) ;
- la lactoferrine (0,3 g/L)
- la lactoperoxidase : enzyme aux propriétés antibactériennes ;
- la lipase ;
- la protéase ;
- la phosphatase alcaline ;
- la xanthine oxydase.

L'azote non protéique comprend :

- de l'urée (composé principal de cette fraction azotée : 0,25 g/L) ;
- de la créatine et de la créatinine ;
- des acides aminés libres ;
- des vitamines ;
- des nucléotides.

Les proportions respectives des protéines du lait sont représentées sur la figure 7.

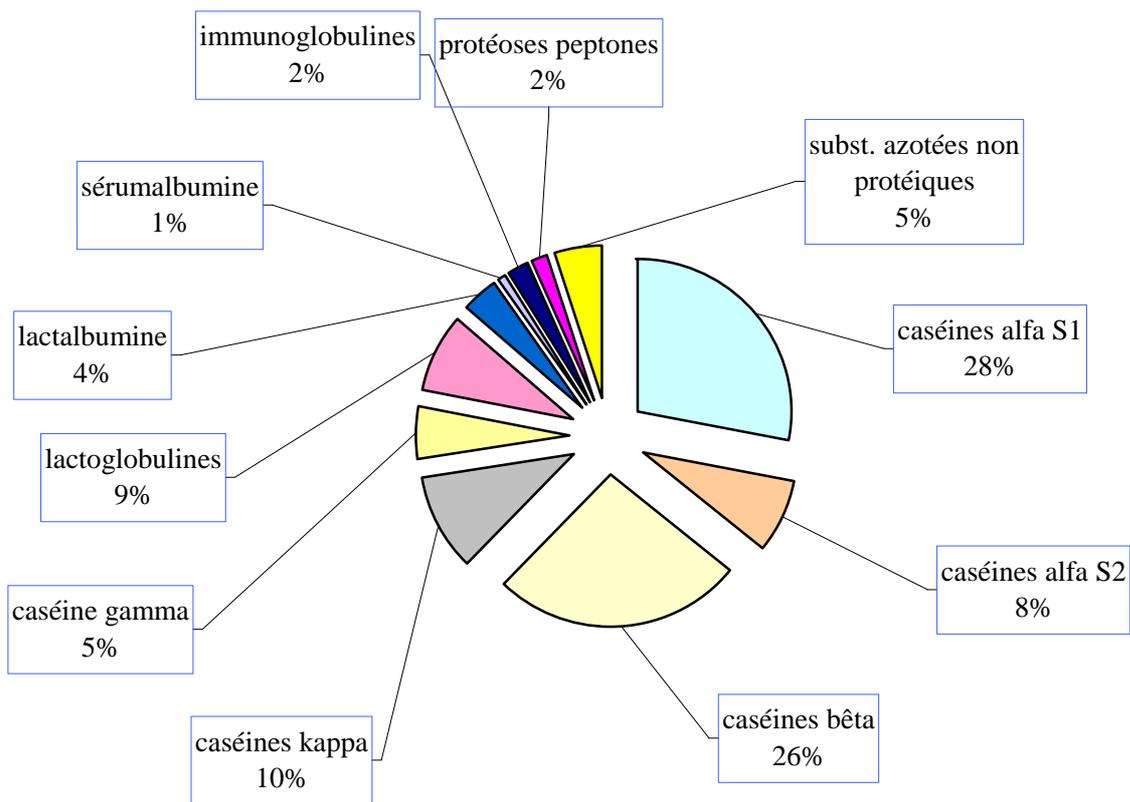


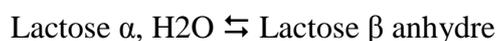
Figure 7 : Proportions des diverses protéines du lait (Alais et Lingen, 1994)

b) Les glucides du lait

⇒ Le lactose

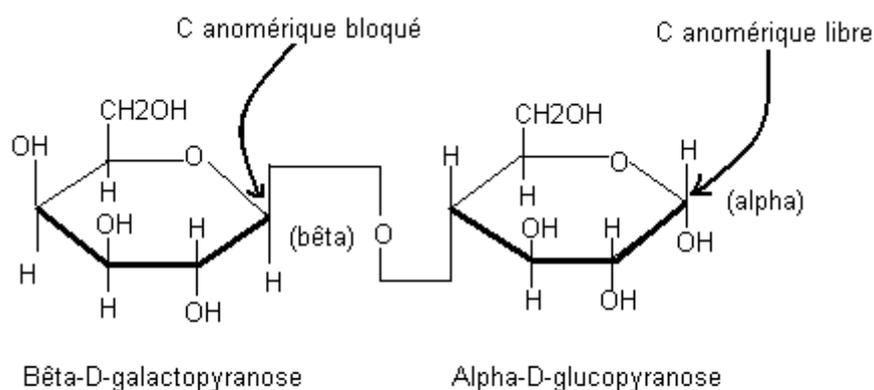
Le lactose ($C_{12}H_{22}O_{11}$) représente l'immense majorité des glucides du lait, sa concentration variant très peu, entre 48 et 50 g/L (seulement 28 g/L dans le colostrum). Son taux peut varier quelque peu, augmentant avec le cycle de lactation. C'est un sucre spécifique du lait.

Le lactose est un diholoside composé d'une molécule de glucose et d'une molécule de galactose, pyranoses aux propriétés réductrices existant chacun sous deux formes : les stéréoisomères α et β , aux propriétés réductrices. Le lactose est un aldose (= sa molécule porte un groupement aldéhyde, par opposition aux cétooses, qui portent un groupement cétone) qui existe sous trois formes : deux formes anhydres ou β -D-galactopyranosido (1-4)D-glucopyranose : α et β , et une forme α -hydratée (c'est à dire avec une molécule d'eau) (Mathieu, 1998). En effet, le lactose est dit α ou β selon la position du groupement $-OH$ porté par le carbone 1 du résidu glucose (figure 8), le résidu galactose étant bloqué dans la liaison (1,4) en position β . Le lait ne contient naturellement que les formes α hydratée et β anhydre, en équilibre selon l'équation suivante (Luquet, 1985 (a)) :



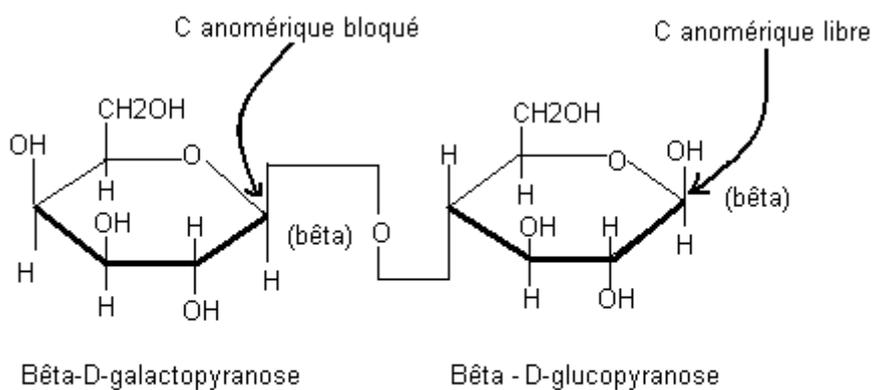
A 15°C, il y a 38% de lactose sous forme α hydratée et 62% de forme β anhydre, d'où un rapport lactose β / lactose α = 1,63.

Forme α :



Bêta-D-galactosido 1-4-alpha-D-glucose

Forme β :



Bêta-D-galactosido 1-4-bêta -D-glucose

Figure 8 : Formules spatiales des anomères α et β du lactose

On trouve naturellement les deux anomères du lactose en solution aqueuse, le lactose α sous forme hydratée et le lactose β sous forme anhydre. Les états respectivement anhydre et hydraté de ces deux formes n'existent pas à l'état naturel dans le lait mais on peut les obtenir en faisant varier la température (Luquet, 1985 (a)). Le passage d'un anomère à l'autre se nomme mutarotation.

Le lactose β est 7 fois plus soluble que le lactose α : 50 g/L pour le premier et 7 g/L pour le deuxième à 15°C. la solubilité de la forme α peut augmenter avec le temps dans une solution aqueuse grâce à la mutarotation (par déplacement de l'équilibre en faveur de la forme β).

Le lactose peut se combiner avec les fonctions amines libres des protéines, en particulier la lysine dans le lait, ce qui fait diminuer la valeur biologique de ses protéines par séquestration de cet acide aminé essentiel (n'est plus disponible lors de la digestion). C'est ce que l'on nomme les réactions de Maillard, qui confèrent une coloration brune et un goût de caramel au lait (Luquet, 1985 (a)).

⇒ Les autres glucides du lait

Le reste des glucides du lait est représenté par des oligosides libres ou combinés avec les protéines, à raison de 1 à 1,6 g/L dans le lait (contre 3 g/L dans le colostrum). Ce sont des polyosides neutres azotés (*N*-acétylglucosamine et *N*-acétylgalactosamine, composés de 8 atomes de carbone) à raison de 1 g/L dans le lait (5 à 6 g/L dans le colostrum) et des polyosides acides (acide *N*-acétylneuraminique ou acide sialique, composé à 11 atomes de carbone) à moins de 0,5 g/L dans le lait (5 à 6 g/L dans le colostrum).

Les glucides non combinés se trouvent pour partie à l'état moléculaire en solution vraie comme le lactose, le reste étant sous forme de glycoprotéines dans la membrane des globules de gras et dans certaines protéines (Luquet, 1985 (a)).

c) Les lipides du lait

⇒ Divers types de lipides

Le lait entier de vache contient en moyenne 35 à 45 g/L de lipides. On appelle aussi taux butyreux cette teneur en matière grasse.

Ainsi, 99 à 99,5% de la matière grasse sont représentés par des composés lipidiques, avec 98 à 98,5% de lipides simples (ou matière grasse au sens strict) et 1% de lipides complexes polaires. Le reste est insoluble dans l'eau : c'est la partie insaponifiable.

◆ Lipides simples (Luquet, 1986 ; Alais et Linden, 1994)

- les glycérides :
 - 95-96% de triglycérides
 - 2-3% de diglycérides
 - 0,1% de monoglycérides
- les cholestéroïdes = esters d'acides gras et de cholestérol : 0,03%
- les cériques : esters d'acides gras et d'alcools longs : 0,02%

Tous ces lipides se trouvent à l'état solide à température ambiante, ils sont presque totalement libres, répartis en fine dispersion dans les globules gras.

◆ Lipides complexes (Luquet, 1986 ; Alais et Linden, 1994)

Ils correspondent principalement à des phospholipides tels que la lécithine. Ils sont surtout sous forme liée dans la membrane globulaire.

⇒ Les acides gras

Parmi les acides gras du lait de vache, environ 35% se trouvent à l'état insaturé (acides monoinsaturés, polyinsaturés non conjugués et polyinsaturés conjugués) et le reste (65%) est un ensemble d'acides gras saturés (volatils et fixes) (Luquet, 1986 (c)). La répartition des diverses catégories d'acides gras du lait est représentée sur la figure 9.

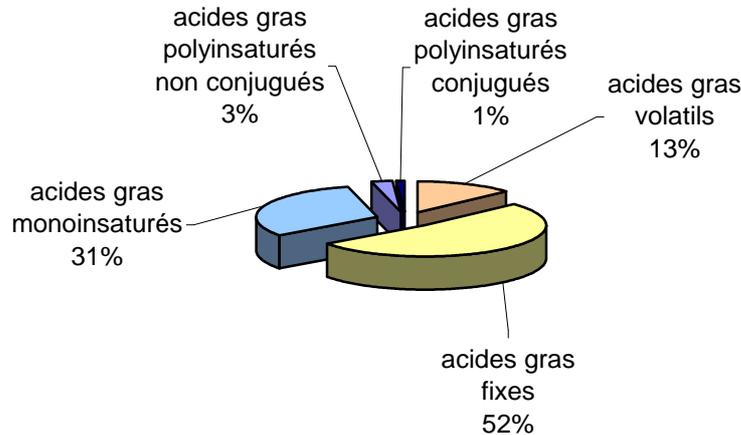


Figure 9 : Les divers types d'acides gras du lait
(Luquet, 1986 (c))

⇒ Partie insaponifiable

Elle représente 0,5 à 1% des lipides du lait et comprend du cholestérol, des hydrocarbures divers, les vitamines liposolubles et des alcools.

⇒ Organisation du globule gras

La matière grasse du lait est à l'état dispersé dans le lait au sein des globules gras, formations sphériques de 4 à 5µm de diamètre, avec environ deux milliards d'unités par litre de lait de vache (Luquet, 1986 (c)).

La structure d'un globule gras est la suivante (Alais et Linden, 1994) (figure 10) :

- une membrane, ou film protecteur, elle même composée de deux épaisseurs (figure 11) :
 - o la couche interne, qui contient des glycoprotéines, des phospholipides et quelques éléments métalliques (tels que le cuivre et le fer) : elle est assez résistante et son activité enzymatique est très limitée.
 - o La couche externe, avec une forte activité enzymatique car elle contient notamment la phosphatase alcaline et la xanthine oxydase.
- Une gouttelette lipidique au cœur du globule.

La densité des globules de gras est d'environ 0,9.

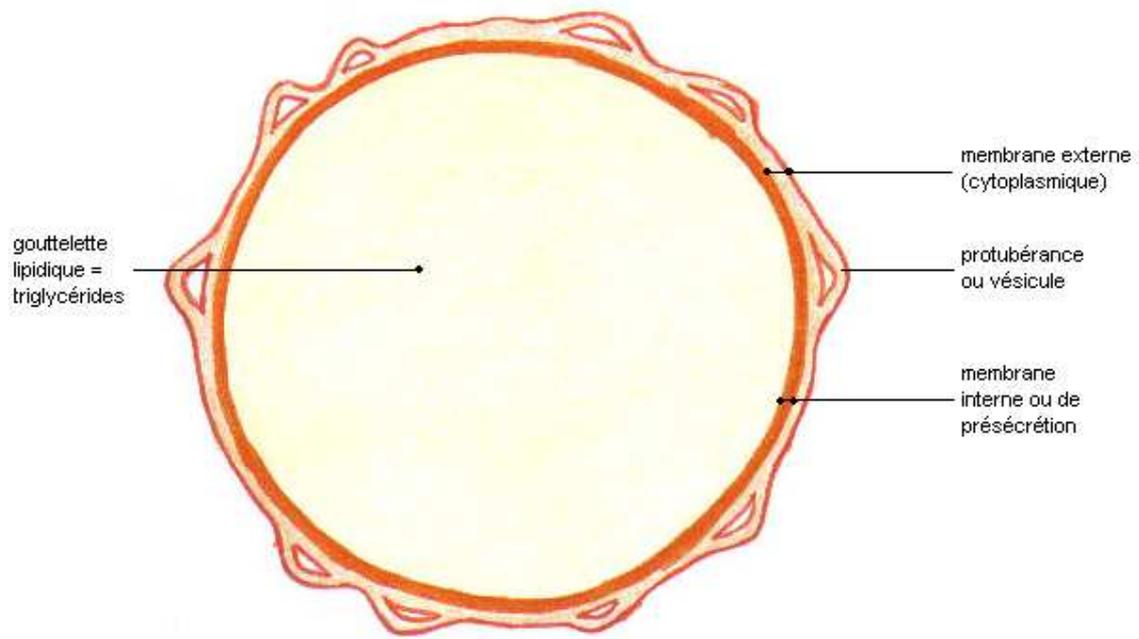


Figure 10 : globule de gras (dessiné d'après (Mathieu, 1998))

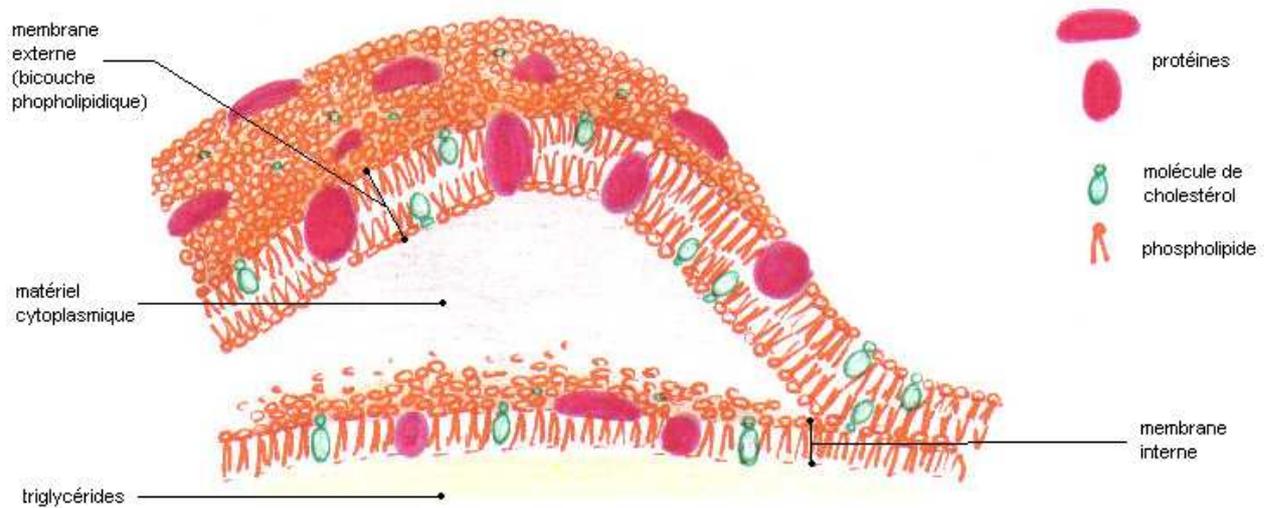


Figure 11 : Détail de l'organisation membranaire d'un globule gras (au niveau d'une protubérance) (dessiné d'après (Mathieu, 1998))

d) Les vitamines du lait de vache

Le lait contient d'une part des vitamines liposolubles (vitamines A, D, E) qui sont généralement fixées à la surface des globules de gras (annexe 2) et d'autre part des vitamines hydrosolubles (vitamine C et vitamines B) diversement complexées avec des protéines ou d'autres groupements (annexe 3) (Leclercq, 1999).

e) Les minéraux du lait

Ils sont très divers. Certains sont en concentration plus importante dans le lait, de l'ordre du gramme par litre : ce sont le calcium (minéral d'importance majeure dans le lait), le phosphore, le magnésium, le sodium, le potassium et le chlore. D'autres sont présents à raison de moins d'un milligramme : il s'agit du fer, du zinc, de l'iode, du cuivre, du molybdène, du sélénium et du fluor (annexe 1) (Leclercq, 1999).

Pour certains, la quantité existant dans le lait est constante quelle que soit l'alimentation de la vache et quel que soit son état physiologique : calcium, phosphore, magnésium et zinc.. A l'inverse, les autres peuvent varier de manière importante.

Arrêtons nous en particulier sur l'importance du calcium dont le lait est la source alimentaire majeure. Il est aux 2/3 intégré aux micelles avec 21% liés aux caséines et 46% sous forme de $[\text{PO}_4]_2\text{Ca}_3$. Le dernier 1/3 n'est pas micellaire avec 11,5% sous forme d'ions Ca^{2+} solubles et 21,5% sous formes de citrates et de phosphates moléculaires solubles (Leclercq, 1999).

Notons aussi parmi ces minéraux la place fondamentale de l'iode, dont la carence a souvent été crainte chez l'enfant (Gauthier, 2004).

La teneur du lait en iode varie en moyenne de 30 à 300 $\mu\text{g/L}$. Le colostrum en contient deux à trois fois plus. La quantité d'iode repose aussi sur le stade de lactation et sa durée (la concentration diminue au fil de la lactation), la quantité de lait produite, la saison (lait plus riche en iode l'hiver et plus pauvre au printemps et en été), le statut thyroïdien, l'âge (Gauthier, 2004)...

La concentration en iode du lait des bovins augmente proportionnellement à celle de leur alimentation (on peut enrichir leur ration : pierres à lécher, bolus, fertilisants iodés, sélection de dicotylédones comme plantes fourragères, injection d'iode ou administration per os) (Gauthier, 2004).

1/3 de l'iode plasmatique est ainsi capté par la thyroïde (pour synthétiser les hormones thyroïdiennes iodées) et le reste sera éliminé par l'organisme à raison de 30% dans les fèces, 40% dans l'urine et seulement 8% dans le lait de vache. La mamelle concentre activement l'iode du sang (Chabanas, 2005) (Romain, 1970).

Dans le lait, l'iode se trouve presque exclusivement dans la partie non lipidique, à 50% sous forme inorganique et à 50% dans des protéines. Les protéines iodées du lait sont fabriquées par les cellules lactogènes à partir d'acides aminés iodés qu'elles prélèvent dans le sang (Gauthier, 2004).

f) Les gaz dissous dans le lait

Ils représentent environ 6% du volume du lait. Ce sont surtout le dioxyde de carbone (87,8mg/L), l'azote (15,9mg/L) et le dioxygène (8mg/L) (Mathieu, 1998).

II. La sécrétion du lait par la mamelle

A. Bases anatomiques et physiologiques de la sécrétion du lait

1. Anatomie de la sécrétion lactée

Le lait est sécrété sur un mode exocrine (Wattiaux, 1997 (b)) par les glandes mammaires, au nombre de quatre chez la vache (une glande par quartier) (Mathieu, 1998) (figure 12). Chaque glande est composée de cellules lactogènes constituant la couche interne des acini, petits sacs creux (regroupés en lobules eux-mêmes rassemblés en lobes) mesurant entre 0,1 et 0,3 mm de diamètre, à l'intérieur desquels est produit le lait. Ils sont abondamment irrigués grâce à un riche réseau de capillaires sanguins qui les entoure (Mathieu, 1998) (figure 13). Ainsi le lait est principalement synthétisé dans la mamelle à partir de précurseurs prélevés dans le sang (figure 14) : glucose, acides gras, acides aminés et minéraux (Larson et Smith, 1974 (a)). La production peut varier avec le débit sanguin qui, de 20 à 27 mL/100g de tissu mammaire par minute avant parturition, s'accroît jusqu'à atteindre 60 mL/10g de tissu mammaire par minute en pleine lactation puis rediminue progressivement au cours de l'avancement de la lactation (Wattiaux, 1997 (a)). **La mamelle reçoit ainsi en 4 minutes environ l'équivalent de la quantité de sang présente dans le reste du corps.** L'augmentation du pourcentage du flux cardiaque destiné à la mamelle est proportionnel à l'augmentation de production laitière. Ces modifications circulatoires influent aussi sur la concentration des nutriments filtrés par la mamelle (Martinet et Houdebine, 1993). **Pour produire un kg de lait, il faut qu'entre 400 et 500 kg de sang aient traversé la mamelle** (Wattiaux, 1997 (b)). Après sa production au sein des acini, le lait est éjecté dans des canalicules intra-lobulaires puis intra-lobaires pour se retrouver dans des canaux galactophores puis dans le sinus lactifère dont une partie se situe dans le trayon. Pour sortir de la mamelle, le lait traverse ensuite canal du trayon qui se trouve à l'extrémité de ce dernier (Dosogne et coll., 2000).

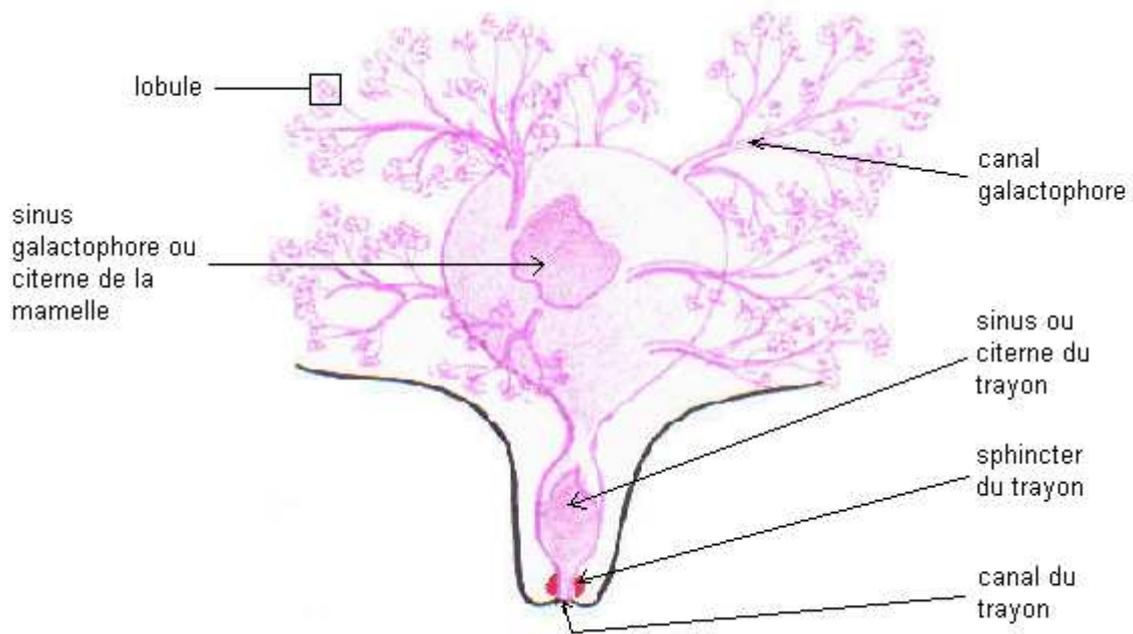


Figure 12 : Coupe d'un quartier du pis d'une vache (dessiné d'après (Mathieu, 1998))

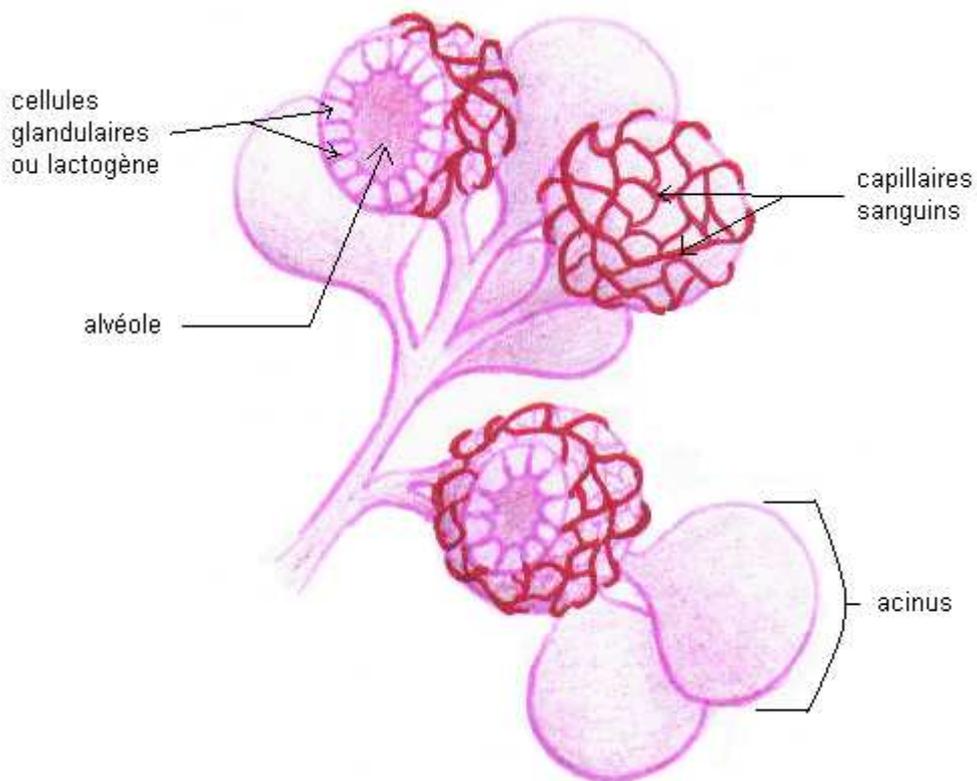


Figure 13 : Organisation d'un lobule mammaire (cellules myoépithéliales non représentées) (dessiné d'après (Mathieu, 1998))

La sécrétion du lait a lieu par un mécanisme principalement mérocrine (c'est à dire que des inclusions des cellules lactogènes sont libérées pour faire partie du lait sans qu'il y ait rupture de la membrane cellulaire) **en début de traite**, où la pression dans la glande mammaire est telle qu'il n'y a pas d'intervention des cellules myoépithéliales pour évacuer le lait. Et **au fur et à mesure de l'avancée de la traite**, les cellules myoépithéliales interviennent de plus en plus, ce qui amène à un **mécanisme surtout holocrine** (le plasmalemme de la cellule lactogène est rompu pour libérer les sécrétions dans la lumière de l'acinus) qui correspond à la sécrétion de la matière grasse (Dosogne et coll., 2000). **Ceci pourrait expliquer pourquoi le lait est plus riche en protéines et en acides gras en fin de traite** (Frandsen et Spurgeon, 1992).

L'activité de la glande mammaire dure une dizaine de mois (Mathieu, 1998), les cellules lactogènes puisant dans le sang les éléments dont elles ont besoin pour synthétiser le lait : **certains composants sont directement filtrés depuis le sang vers le lait tandis que d'autres, la majorité, sont prélevés dans le sang par les cellules des acini afin d'être utilisés comme précurseurs des synthèses qui se déroulent au sein de ces cellules lactogènes**. On estime ainsi que 92% de la matière sèche du lait sont synthétisés spécifiquement par les cellules lactogènes et **8% proviennent directement du sang par filtration sélective** (figure 14).

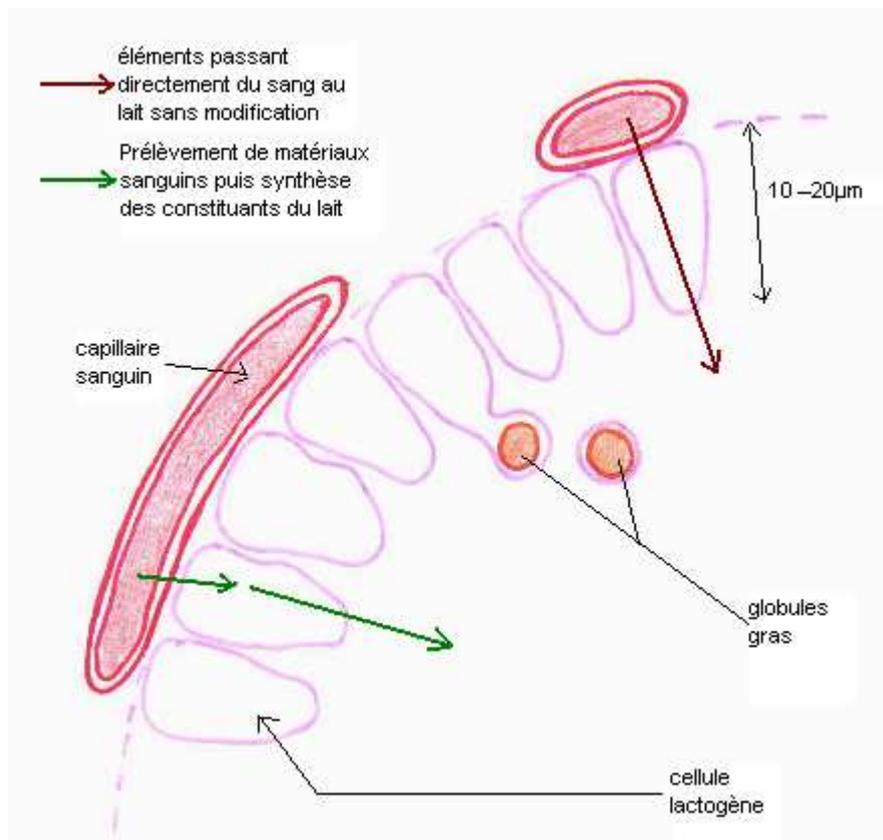


Figure 14 : Coupe d'une portion d'acinus (dessiné d'après (Mathieu, 1998))

2. Contrôle hormonal de la mammogénèse et de la lactation

La croissance et le développement mammaire sont sous la dépendance de diverses hormones d'origine sexuelle ou hypothalamo-hypophysaire (Dosogne et coll., 2000) (Martinet et Houdebine, 1993).

La mammogénèse se déroule en deux phases : la première a lieu de la période foétale jusqu'à la puberté tandis que la deuxième, cyclique, se produit à chaque gestation. En effet, à chaque fois que la vache est gestante, on observe la succession d'évènements décrits figure 15 :

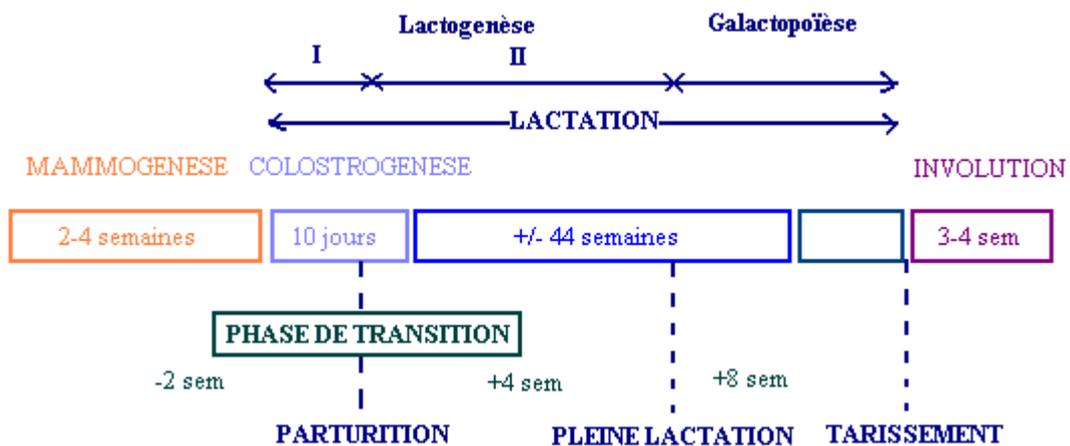


Figure 15 : Phases de la lactation bovine
(Dosogne et coll., 2000)

La lactogénèse est le déclenchement de la sécrétion du lait, ou montée laiteuse. Elle se découpe en deux phases : la lactogénèse stade I qui consiste surtout en des modifications biochimiques et cytologiques tandis que la lactogénèse stade II est l'apparition soudaine, quelques jours avant le part, de la production lactée. La galactopoïèse est l'entretien et l'optimisation de la sécrétion de lait.

La lactation constitue la fin du cycle de reproduction et permet de couvrir les besoins du veau avant qu'il ne devienne physiologiquement indépendant. Colostrum et lait sont des aliments très digests et complets.

Pendant la gestation, la vache est sous imprégnation progestéronémique. La progestérone facilite la croissance et la différenciation du tissu sécrétoire mais inhibe le démarrage de la sécrétion par les cellules lactogènes (elle inhibe la synthèse des caséines (Martinet et Houdebine, 1993) et celle de lactalbumine, ce qui empêche la fabrication du lactose). En fin de gestation, on assiste à une brusque diminution du taux de progestérone et en parallèle à une forte augmentation des œstrogènes sériques. Le 17 β -oestradiol stimule la synthèse et la libération de prolactine par l'hypophyse antérieure, hormone qui intervient dans la montée laiteuse et joue sur l'intensité de la lactation. Ses effets sont modulés par les

stéroïdes sexuels et les glucocorticoïdes lors de la croissance et de la différenciation du tissu mammaire. Les glucocorticoïdes jouent un rôle majeur dans l'optimisation de la lactogénèse : ils stimulent la synthèse des caséines et amplifient l'action de la prolactine sur les phénomènes sécrétoires mammaires en augmentant sa libération par l'hypophyse et en induisant une augmentation du nombre de récepteurs à cette hormone.

La somatotropine (= hormone de croissance = GH) et l'ocytocine sont deux hormones qui interviennent lors de la galactopoïèse. La GH permet une meilleure utilisation des nutriments disponibles pour synthétiser le lait, ceci en agissant au niveau du foie, du tissu adipeux, de la glande mammaire et d'autres tissus, de façon à favoriser les cellules lactogènes. Cette activité est indirecte : en particulier, la GH stimule la production d'IGF1 (« *Insulin-like Growth Factor 1* ») qui agit surtout au niveau du foie et elle augmente la transformation de T4 en T3 (hormones thyroïdiennes) au niveau mammaire (ce qui intensifie le métabolisme et le flux sanguin localement, élevant ainsi l'apport en nutriments aux cellules mammaires). Notons d'ailleurs que la TSH (« *Thyroid Stimulating Hormon* »), sécrétée par l'adéno-hypophyse, stimule la production de GH et de prolactine chez les ruminants. C'est ainsi principalement grâce à la GH que la lactation perdure, mais sa concentration va en diminuant au fil de la lactation.

Après sa synthèse, le lait est temporairement stocké dans la lumière des acini mammaires en attendant son transfert dans la citerne via les canaux galactophores lors de la tétée ou de la traite. L'expulsion active du lait hors des acini découle d'un processus neuro-endocrinien : la stimulation des trayons génère un influx nerveux qui gagne le complexe hypothalamus-post-hypophyse par les nerfs mammaires et la moelle épinière, influx qui provoque une décharge d'ocytocine par la post-hypophyse. **L'ocytocine est ensuite acheminée vers la mamelle par voie sanguine et induit la contraction des cellules myoépithéliales qui entourent les acini, d'où l'expulsion du lait.** La quantité d'ocytocine augmente très rapidement (≈ 2 minutes) après le début de la traite puis varie à des taux élevés pendant 6 à 8 minutes en moyenne (un peu moins que la durée de la traite) avant de diminuer fortement. La décharge d'ocytocine est facilitée par le conditionnement de la femelle au rituel de la traite et stimulée par la vue du veau.

D'autres hormones et neurotransmetteurs interviennent, mais secondairement, dans la lactation. Par exemple, la vasopressine (Hormone Anti-Diurétique) joue un rôle similaire à l'ocytocine, l'acétylcholine facilite la décharge d'ocytocine, la noradrénaline l'inhibe (rétention lactée lors de stress) et toutes les hormones participant au métabolisme général agissent indirectement.

B. L'élaboration du lait par la mamelle

1. Origine globale des divers composants du lait

a) Les constituants directement filtrés depuis le sang

Ils passent du sang à la lumière des acini à travers les cellules lactogènes de l'épithélium mammaire (Mathieu, 1998). C'est le cas de l'eau, l'urée, les minéraux et les vitamines (Mathieu, 1998 ; Dosogne et coll., 2000) (figure 16). Cependant, les concentrations de ces éléments diffèrent entre sang et lait : on a en effet une concentration en calcium bien

plus élevée dans le lait que dans le sang (respectivement 1,23 et 0,1 g/L), le potassium est lui aussi plus concentré dans le lait (1,51 g/L contre 0,25 g/L), et à l'inverse, sodium et chlore sont en concentrations bien moindres dans le lait par rapport au sang (Na : 3,36 g/L et Cl : 3,5 g/L dans le sang) (Mathieu, 1998).

Quelques protéines sont aussi directement issues du sang : ce sont la sérumalbumine, la transferrine, certaines enzymes et anti-enzymes, et les immunoglobulines G (IgG). La concentration en IgG du lait est supérieure à celle du sang car elles sont surtout amenées dans le lait par transport actif. On a ainsi 17 fois plus d'IgG dans le lait que dans le sang (et 20 fois plus dans le colostrum) (Destouet, 1989). En cas d'affection mammaire et au début de la lactation dans le colostrum, les concentrations de sérumalbumine et d'immunoglobuline sont beaucoup plus grandes (Luquet, 1985 (a)).

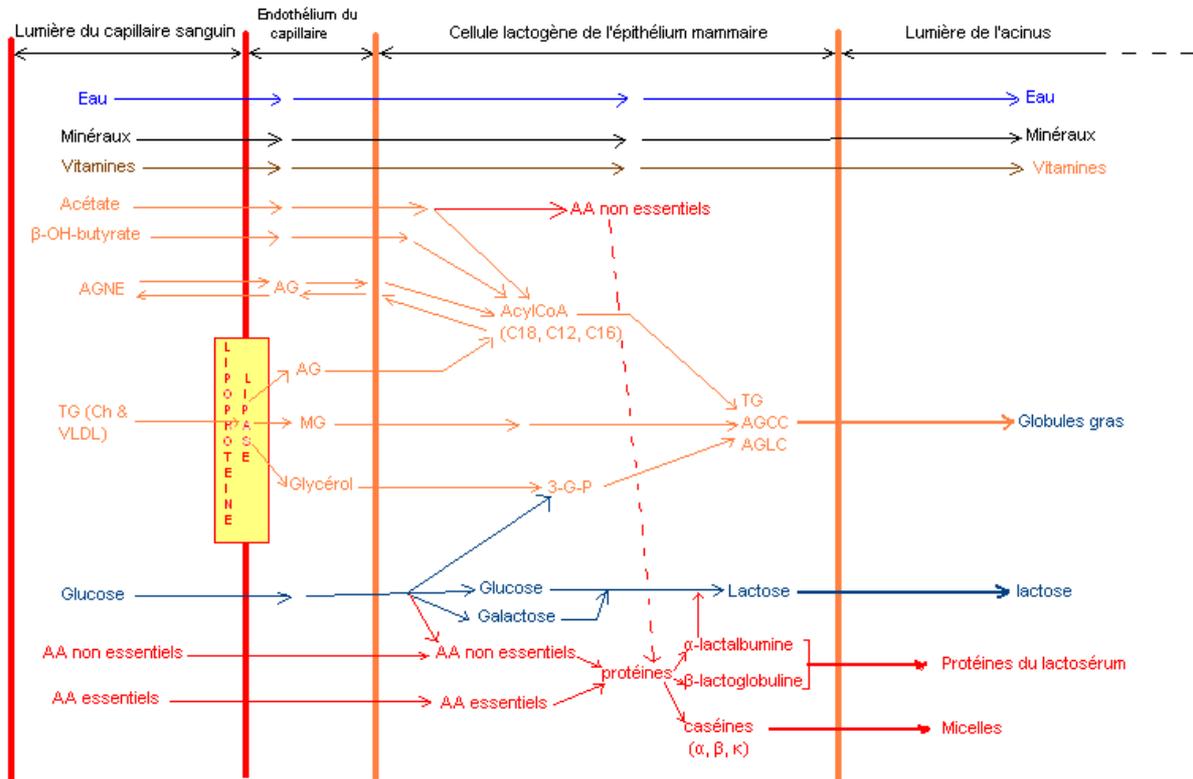
Des acides aminés, de la créatinine, de l'acide urique, de l'ammoniac et de la créatine viennent aussi du sang (Dosogne et coll., 2000).

Enfin, certains acides gras sont eux aussi transférés du sang au lait sans modification. Il s'agit de 50% des acides gras à 16 atomes de carbone et des acides gras à plus de 16 atomes de carbone : ils viennent directement de l'alimentation et sont transportés par le sang sous forme d'acides gras non estérifiés, de chylomicrons et de VLDL (lipoprotéines à très faible densité) (Dosogne et coll., 2000).

La filtration opérée par les cellules lactogènes est donc active et sélective. Une partie des composants du lait provient ainsi du milieu sanguin, mais la majeure partie est synthétisée par les cellules lactogènes (Mathieu, 1998).

b) Les constituants synthétisés par la mamelle

Ce sont tous les autres non cités ci-dessus (figure 16), c'est à dire l'immense majorité des protéines, une partie des acides gras et le lactose (cf paragraphe suivant). Lorsque la teneur en éléments fabriqués par la mamelle diminue, celle des éléments venus du sang augmente.



AGNE = acides gras non estérifiés ; AG = acides gras ; AcylCoA (C18, C12, C16) = Acyl-coenzyme A ; MG = monoglycérides ; TG = triglycérides ; Ch = chylomicron ; VLDL = very low density lipoprotein ; 3-G-P = 3-glycérol-phosphate ; AA = acides aminés ; AGCC = acides gras à chaîne courte ; AGLC = acides gras à chaîne longue.

Figure 16 : Origine globale des constituants du lait (CFPPCIL, 1987) (Wattiaux, 1997 (a))

2. Le métabolisme des diverses catégories de constituants du lait

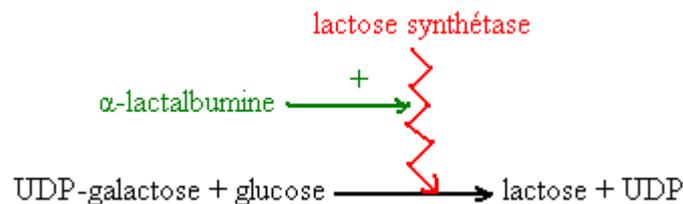
a) Le métabolisme des glucides du lait

En réalité, ceci concerne quasi-uniquement le lactose, puisqu'il représente l'immense majorité des sucres du lait. Il s'y trouve en quantité constante quelle que soit la race de la vache, et les modifications de la ration alimentaire ne jouent que très peu sur sa concentration (essentiels laitiers).

⇒ Synthèse du lactose par les cellules lactogènes et importance du glucose

Les cellules des acini synthétisent le lactose à partir du glucose sanguin. En effet, on ne trouve pas de lactose dans le sang (Luquet, 1985 (a)). Ce dernier sert pour 50-60% à fabriquer du lactose et pour 30-40% à apporter de l'énergie aux cellules lactogènes (en entrant dans la glycolyse et la voie des pentoses-phosphates) (Larson et Smith, 1974 (b)) (figure 17).

Les cellules lactogènes ont la capacité d'isomériser une partie du glucose qu'elles prélèvent dans le sang en galactose après liaison de la molécule de glucose avec une molécule d'UDP (UDP = Uridine DiPhosphate) (on obtient donc de l'UDP-galactose) (Mathieu, 1998). Puis dans l'appareil de Golgi des cellules lactogènes, la liaison d'une molécule de glucose et d'une molécule d'UDP-galactose permet d'obtenir une molécule de lactose. Cette réaction fait intervenir l' α -lactalbumine et l'UDP-galactosyl-transférase (Leclecq, 1999). L' α -lactalbumine est uniquement sécrétée par les lactocytes en lactation, son rôle est d'« activer » l'UDP-galactosyl-transférase en lactose-synthétase. Ainsi la concentration en lactose du lait est positivement corrélée à la présence d' α -lactalbumine dans les cellules lactogènes.



Le galactose obtenu dans les cellules lactogènes provient donc surtout du glucose sanguin, mais une partie très minoritaire est fabriquée à partir du glycérol par les cellules des acini mammaires. Le glucose utilisé pour créer du lactose vient, lui, exclusivement du sang (Dosogne et coll., 2000).

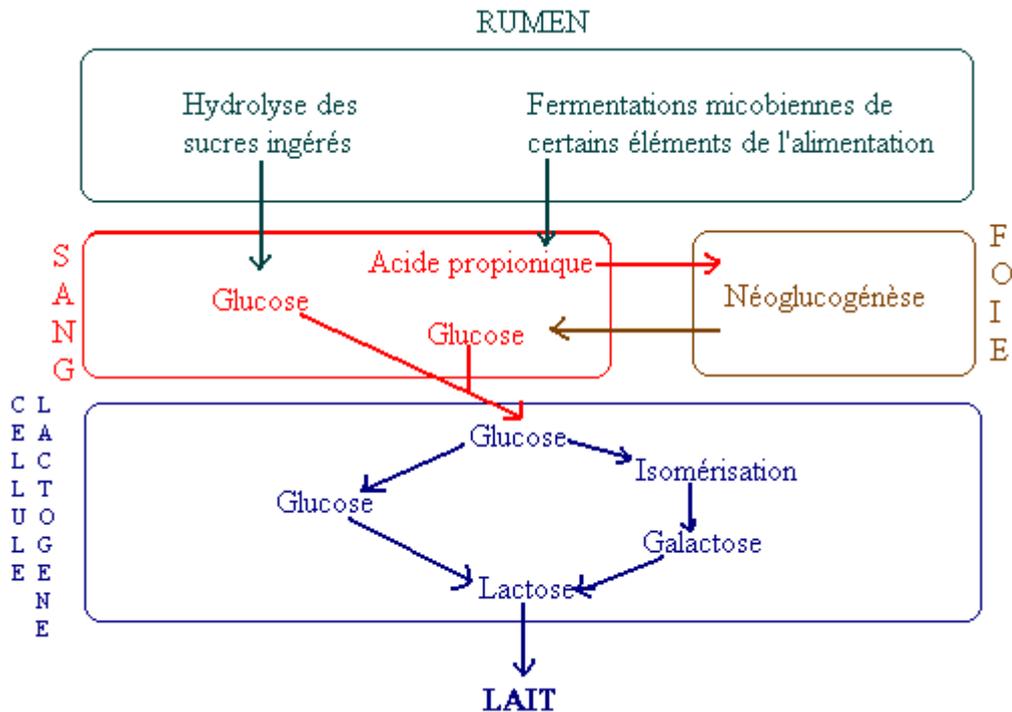


Figure 17 : déroulement général de la synthèse du lactose dans le lait (Mathieu, 1998)

Il est aussi possible, quoique plus rare, que la mamelle prélève directement du galactose dans le sang. C'est le cas avec certaines molécules porteuses d'un groupement galactose telles que des galactolipides et des galactoprotéines (Frandsen et Spurgeon, 1992).

Le lactose formé dans l'appareil de Golgi des cellules mammaires est amené jusqu'à la lumière des acini avec d'autres constituants (dont des protéines) grâce à des vésicules de sécrétion qui déchargent leur contenu par exocytose (Peaker, 1977).

En sus de son rôle prépondérant dans la synthèse du lactose, le glucose est un substrat qui permet à la cellule lactogène de synthétiser 50% de son glycérol et peut aussi, en faible proportion, autoriser la synthèse de certains acides aminés (sérine, aspartate, glutamate et alanine), dont la teneur sanguine seule ne suffirait pas aux synthèses protéiques. Enfin, la mamelle utilise une partie du glucose pour fabriquer des acides gras (Larson et Smith, 1974 (a)).

⇒ Origines du glucose sanguin

Le glucose est, comme nous venons de le voir, le substrat indispensable à partir duquel la mamelle synthétise du lactose. Il provient (Luquet, 1985 (a)) :

- Du glucose présent dans l'intestin grêle après hydrolyse des sucres ingérés (saccharose, ...);
- De l'acide propionique fabriqué par les microorganismes du rumen et transformé dans le foie en glucose ;
- De la transformation d'acides gras à longue chaîne carbonée par le métabolisme de la vache ;
- De la désamination de certains acides aminés.

La majeure partie du glucose de l'organisme est issue de la néoglucogenèse hépatique, principalement à partir d'acide propionique et de certains acides aminés. L'intensité de cette réaction constitue d'ailleurs un facteur limitant nutritionnel prépondérant de la sécrétion lactée (CFPPCIL, 1987).

⇒ Le rôle majeur du lactose dans la quantité de lait produite

La sécrétion lactée est très liée à la quantité de lactose synthétisé : chaque fois que la mamelle fabrique 50 g de lactose, 900 g d'eau sont aussi sécrétés dans le lait. Il existe donc une étroite relation entre les niveaux de production de lait et de lactose (Luquet, 1985 (a)). Ceci est dû à l'activité osmotique du lactose : de l'eau doit venir « diluer » le lactose sécrété dans le lait afin de permettre une égalisation des pressions osmotiques de part et d'autre de la membrane plasmique des cellules lactogènes. La lactose est ainsi le mécanisme essentiel de sécrétion de l'eau par la glande mammaire (Peaker, 1977).

Lactose et minéraux sont interdépendants dans le lait : la sécrétion des ions minéraux osmotiquement actifs tout comme le lactose se produit grâce aux mouvements d'eau induits par le lactose, car ces mouvements induisent un potentiel électrique membranaire qui lui-même est responsable des migrations ioniques (surtout Na^+ , K^+ et Cl^-) (CFPPCIL, 1987). Les ions Na^+ et K^+ traversent passivement la membrane apicale des cellules sécrétrices selon la différence de potentiel entre lait et milieu intracellulaire. Le lait apparaît chargé positivement par rapport au cytoplasme, d'où la moindre quantité de Na^+ et K^+ dans le lait que dans les cellules lactogènes. La concentration de lactose est inversement proportionnelle à celle des ions potassium et sodium (Peaker, 1977).

b) Le métabolisme des lipides du lait

⇒ Origine des divers types d'acides gras

Les cellules lactogènes peuvent réaliser trois actions distinctes vis à vis de la matière grasse du lait : elles peuvent synthétiser certains acides gras, en prélever dans le sang et modifier une partie de ces derniers afin de donner d'autres acides gras (figure 18).

Environ 50% (en nombre de moles, soit 60% en masse) des acides gras du lait proviennent des lipides circulants (CFPPCIL, 1987), donc à partir des triglycérides des chylomicrons et des VLDL principalement. C'est l'intervention de lipoprotéines lipases, situées au pôle capillaire des cellules des acini mammaires, que de si grosses molécules peuvent être captées par la mamelle (Larson et Smith, 1974 (b)). En effet, ces enzymes hydrolysent les triglycérides en glycérol et acides gras susceptibles de traverser la membrane plasmique des cellules lactogènes. Les lipides circulants sont soit d'origine alimentaire, soit issus de l'anabolisme hépatique. Cette activité aboutit à la présence d'acides gras comportant 4 à 18 atomes de carbone dans le lait (Mathieu, 1998). Les acides gras à longue chaîne prélevés par la mamelle ne servent que très peu de source d'énergie aux cellules lactogènes, ils sont surtout destinés à donner la matière grasse du lait. L'apport de lipides alimentaires augmente la proportion de triglycérides circulants dans les VLDL et les chylomicrons, mais les triglycérides des VLDL peuvent aussi être issus, certes de façon plus anecdotique, de la lipomobilisation depuis les réserves du tissu adipeux. Les acides gras non estérifiés présents dans le torrent circulatoire naissent par lipolyse de triglycérides du tissu adipeux pour partie, et le reste vient de l'alimentation (Dosogne et coll., 2000).

Les cellules épithéliales des acini sont aussi capables, comme nous l'avons dit précédemment, d'élaborer certains acides gras du lait comportant 4 à 16 atomes de carbone (Mathieu, 1998).

Le lait renferme très peu d'acides gras polyinsaturés car ces derniers, venus de l'alimentation, sont saturés par la flore ruminale. Mais les cellules des acini peuvent créer de nouvelles doubles liaisons : 30 à 60% de l'acide oléique du lait provient de l'acide stéarique obtenu lors des réactions des microorganismes du rumen.

Globalement, les mécanismes intervenant dans la synthèse des acides gras du lait sont assez divers, ce qui pourrait expliquer leur grande variété (Mathieu, 1998). Les atomes de carbone qui y sont intégrés proviennent en moyenne pour 22% de l'acétate, pour 13% du β -hydroxy-butyrate, pour 1% des acides gras non estérifiés circulant dans le sang et pour 57% des VLDL (Dosogne et coll., 2000).

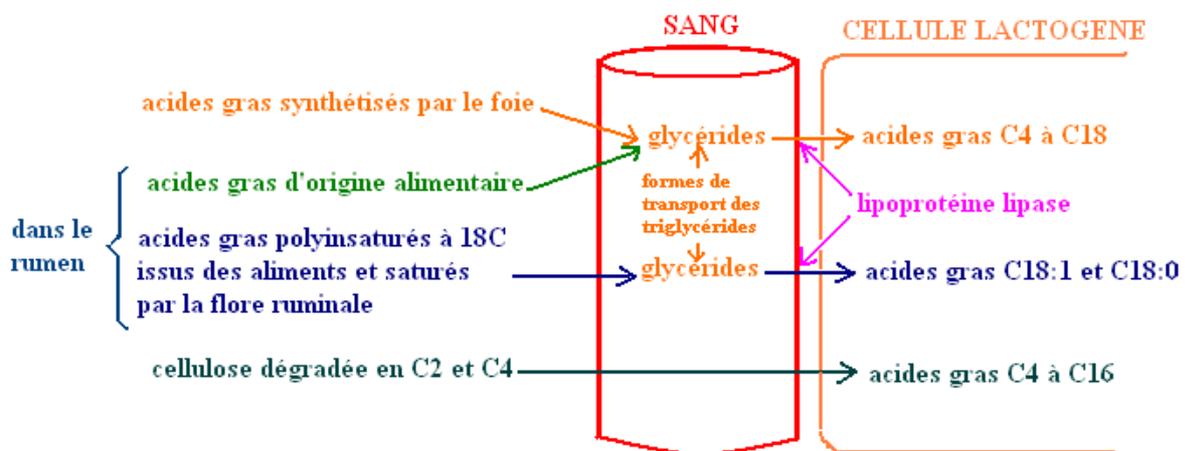


Figure 18 : origines des lipides du lait
(Mathieu, 1998)

⇒ Digestion des lipides et matière grasse du lait

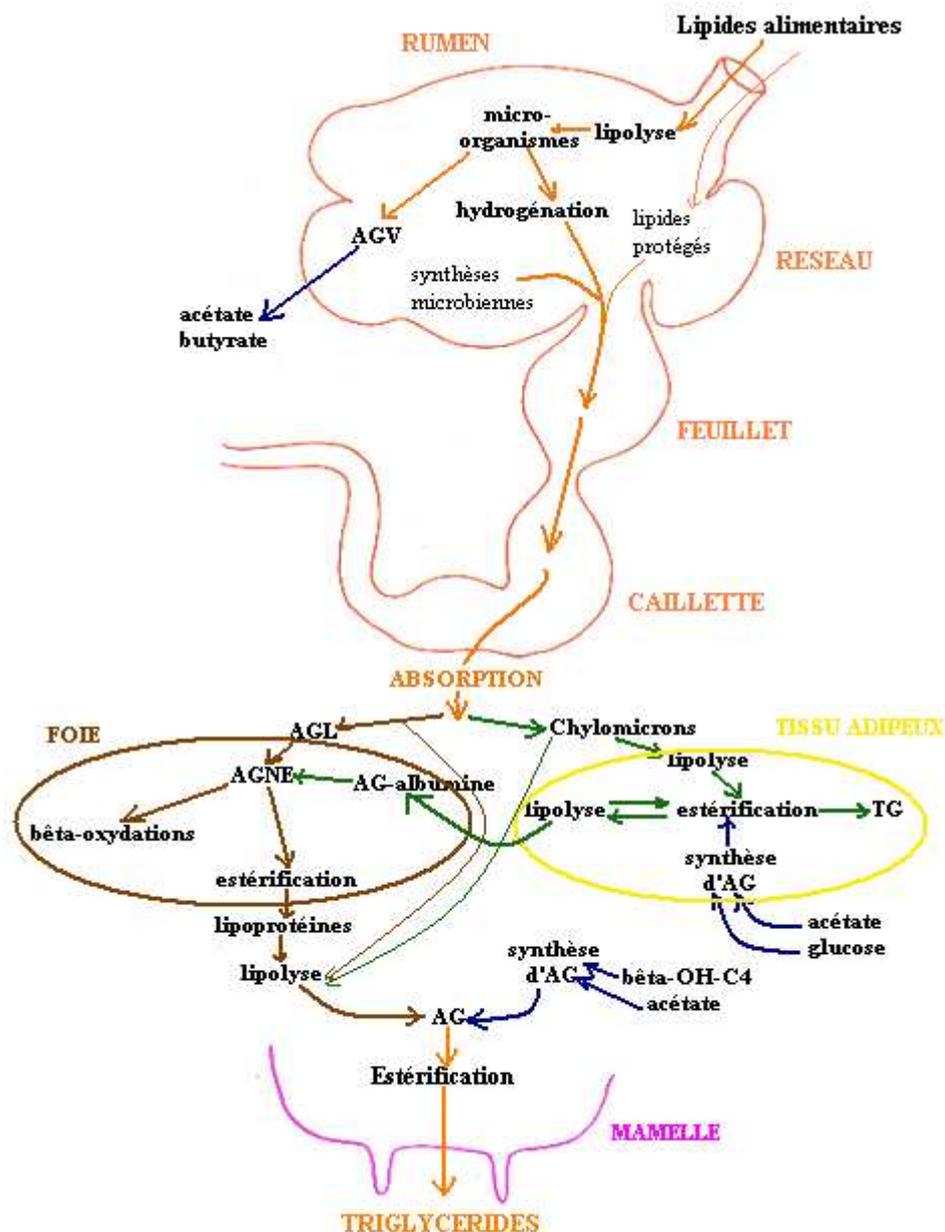
Dans l'alimentation des bovins, les lipides sont principalement des triglycérides présents dans les concentrés, ainsi que des galactolipides et phospholipides dans les fourrages verts (Donval, 2002). Ces molécules sont hydrolysées par la flore ruménale et les acides gras polyinsaturés ainsi libérés y sont saturés par action des micro-organismes (Gadoud et coll., 1992).

L'hydrolyse des triglycérides est rapide et presque totale, menant à des acides gras non estérifiés et du glycérol. Il en est de même pour les galacto- et phospholipides.

Plus de 80% des acides gras polyinsaturés à 18 atomes de carbone sont hydrogénés dans le rumen. Une petite partie échappe à ces réactions et est directement absorbée dans la membrane de micro-organismes du rumen. Cette fraction sera donc ensuite récupérée telle quelle par absorption dans l'intestin grêle lors de la digestion de ces micro-organismes (Donval, 2002). Les acides gras saturés de l'alimentation ne sont pas modifiés par la flore du rumen, si bien qu'une forte teneur de la ration en ces acides gras mènera à une hausse de leur excrétion dans le lait (Luquet, 1985 (a)).

Les lipides de la ration subissent donc d'importants remaniements pendant leur passage dans le rumen et la proportion d'acides gras qui quitte le rumen est le plus souvent supérieure à l'ingéré grâce aux synthèses microbiennes (figure 19).

Les acides gras sont absorbés dans la première moitié de l'intestin grêle. Triglycérides, diglycérides et monoglycérides, phospholipides et cholestérol se combinent avec des apoprotéines pour entrer dans les entérocytes qui les assemblent pour donner des chylomicrons et des VLDL, formes de transport des lipides dans le sang (Donval, 2002).



AGL=acides gras libres ; AGNE=acides gras non estérifiés ; AG=acides gras ; bêta-OH-C4=β-hydroxy-butyrate

Figure 19 : Principales voies métaboliques des lipides chez la vache (Donval, 2002)

⇒ Relations mamelle et tissu adipeux dans la synthèse des lipides du lait

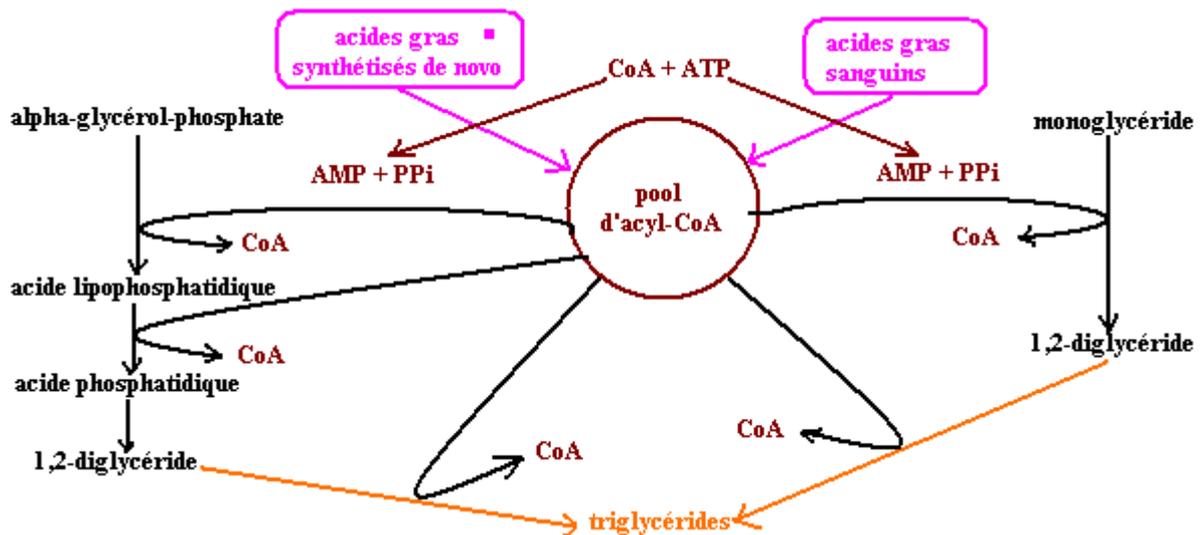
Au début de la lactation, la mamelle exporte beaucoup de protéines, de glucose et de lipides. Comme la ration alimentaire ne suffit en général pas à couvrir de tels besoins (capacité d'ingestion limitée), il y a lipomobilisation depuis le tissu adipeux et le foie fabrique aussi du glucose et des protéines (Donval, 2002).

Ainsi, parmi les acides gras à longue chaîne présents dans le sang et prélevés par la mamelle, 80% viennent de l'alimentation et les 20% restants ont une origine adipeuse. Si la lipomobilisation est importante, les acides gras libérés par le tissu adipeux sont d'autant plus récupérés par la glande mammaire qu'ils sont en forte concentration. Ceci peut entraîner une augmentation du taux butyreux et de la proportion d'acides gras à longue chaîne (C18). Si on ajoute des lipides dans la ration pendant cette période de lipomobilisation, on observera une hausse des acides gras à longue chaîne dans le lait tandis que la synthèse des acides gras à courte chaîne par la mamelle et la lipolyse diminuera (Donval, 2002). C'est d'ailleurs lors de la lipomobilisation que certains xénobiotiques lipophiles initialement stockés dans le tissu adipeux peuvent secondairement se retrouver dans le lait (Joncour, 1998).

Le taux de transfert des acides gras de la ration dans le lait est donc tributaire de leur teneur dans l'alimentation, de leur nature et de la composition globale de la ration.

⇒ Biosynthèse des matières grasses du lait

Cette activité est réalisée d'une part par le foie et le tissu adipeux, et d'autre part directement au niveau des cellules lactogènes (figure 20).



■ = acides gras synthétisés par les cellules mammaires

Figure 20 : Voies de biosynthèse des triglycérides dans le tissu mammaire (Larson et Smith, 1974 (b))

Les triglycérides du lait sont donc issus de l'estérification d'une molécule de glycérol avec trois acides gras tirés soit directement de la mamelle, soit prélevés dans le sang, ou bien ils peuvent aussi être obtenus par ajout de deux acides gras sur une molécule de monoglycéride (c'est à dire un ester d'une molécule de glycérol avec un acide gras).

Le glycérol utile à la synthèse de triglycérides par les cellules de la glande mammaire est créé sur place en utilisant du glucose.

Les biosynthèses mammaires proprement dites sont à l'origine des acides gras à nombre pair de carbone comportant moins de 16 carbones et de la moitié des acides gras à 16 carbones (Dosogne et coll., 2000). Cette activité utilise comme substrats l'acétate $\text{CH}_3\text{-COOH}$ et le β -hydroxy-butyrates lui-même obtenu à partir de l'acide butanoïque $\text{CH}_3\text{-(CH}_2\text{)}_2\text{-COOH}$. L'acétate constitue la source majoritaire de carbones pour la synthèse d'acides gras de novo par la mamelle. Ces acides gras représentent 35 à 45% de la masse totale des graisses du lait. Le β -hydroxy-butyrates reste aussi une source importante de carbones mais nettement moins que l'acétate. Il donne 8% des carbones des acides gras du lait (Larson et Smith, 1974 (b)). L'acétate pour 75% et l'acide butanoïque pour 50% sont des acides gras volatils générés par fermentation de la cellulose des végétaux ingérés par l'animal par les micro-organismes du rumen (Mathieu, 1998) (Dosogne et coll., 2000). Les 25% restants de l'acide acétique viennent des synthèses lipidiques dans le tissu adipeux et la mamelle et l'autre moitié de l'acide butanoïque résulte du catabolisme des acides gras non estérifiés dans le foie (Dosogne et coll., 2000). Le propionate n'entre que peu dans la constitution des acides gras et mène dans ce cas surtout à des acides gras à nombre impair de carbones.

L'autre moitié des acides gras en C16 et les acides gras à plus de 16 atomes de carbone viennent directement de l'alimentation et sont véhiculés par le sang sous forme d'acides gras non estérifiés, de VLDL et de chylomicrons (ils sont intégrés dans des molécules de triglycérides dans ces deux dernières formes de transport) (Dosogne et coll., 2000).

La composition de la ration alimentaire influence beaucoup la concentration du lait en matière grasse car en cas de déficit de certains composants, les quantités d'acides gras volatils varient, ce qui peut diminuer le taux butyreux ou simplement modifier la nature des lipides du lait. Par exemple, en cas de manque de fibres, la flore du rumen ne pourra pas faire suffisamment d'acétate (Dosogne et coll., 2000) . De plus, la synthèse mammaire des acides gras ralentit lorsqu'il y a beaucoup d'acides gras non estérifiés d'origine endogène (obtenus par lipomobilisation) ou exogène (alimentaires).

c). Le métabolisme des protéines du lait

Les protéines de la ration alimentaire sont dégradées par la flore du rumen pour donner de l'ammoniac et des acides gras à chaîne ramifiée. L'ammoniac ainsi libéré est utilisé par les micro-organismes du rumen pour la constitution de protéines microbiennes qui seront ensuite digérées dans la caillette (où elles sont donc dégradées en acides aminés). Mais une partie des protéines de l'alimentation n'est pas dégradée dans le rumen et arrive dans la caillette sans avoir été modifiée. Ainsi environ 60% des acides aminés absorbés dans l'intestin grêle sont d'origine microbienne et 40% sont directement issus des aliments (Wattiaux, 1997 (b)).

La majorité des protéines du lait, c'est à dire les caséines, la β -lactoglobuline et l' α -lactalbumine (protéines spécifiques du lait), est synthétisée par les cellules lactogènes en utilisant les acides aminés circulants qu'elles prélèvent dans le sang (Larson et Smith, 1974 (b)) mais aussi en utilisant des acides aminés créés par les cellules lactogènes elles-mêmes.

Le taux de prélèvement des acides aminés dans le sang (i.e. : différence de concentration plasmatique entre sangs artériels et veineux) diffère selon l'acide aminé en question et on distingue aussi trois catégories d'acides aminés en comparant les quantités prélevées et les quantités sécrétées par les cellules lactogènes (Sanoa et Menard, 1994) :

- ceux qui sont absorbés et excrétés en même proportion méthionine, phénylalanine, tyrosine et tryptophane ;
- ceux qui sont plus absorbés qu'excrétés car le reste est dégradé pour synthétiser d'autres acides aminés : arginine, valine, leucine, isoleucine, lysine, thréonine ;
- ceux qui sont plus excrétés qu'absorbés donc synthétisés dans la cellule : acides aminés non essentiels.

La teneur du sang en acides aminés libres varie principalement en fonction de la quantité de protéines de la ration. Lysine et méthionine sont deux acides aminés indispensables susceptibles de limiter la protéosynthèse dans le lait (Dosogne et coll., 2000).

Comme dans n'importe quelle cellule de l'organisme, c'est l'activation de l'expression de certains gènes, de l'équipement nécessaire à l'assemblage des protéines et de leur sécrétion qui permet la production de protéines par les cellules lactogènes. Les protéines sont d'ailleurs les molécules dont la fabrication est la plus coûteuses en énergie (Dosogne et coll., 2000). Il se produit donc une activation des acides aminés par l'ATP et ils sont ensuite transportés par liaison à un ARNt (ARN de transfert). Les complexes acide aminé-ARNt seront employés par les ribosomes pour créer une chaîne protéique avec l'intervention de l'ARN messager et de l'ARN ribosomal.

Pour les caséines, il reste à les assembler en micelles par établissement avec du phosphate et du calcium, micelles incluses dans des vésicules de Golgi avec le lactose pour être libérées au pôle apical des cellules lactogènes dans la lumière des acini (CFPPCIL, 1987).

La figure 21 synthétise l'ensemble du métabolisme protéique chez la vache laitière.

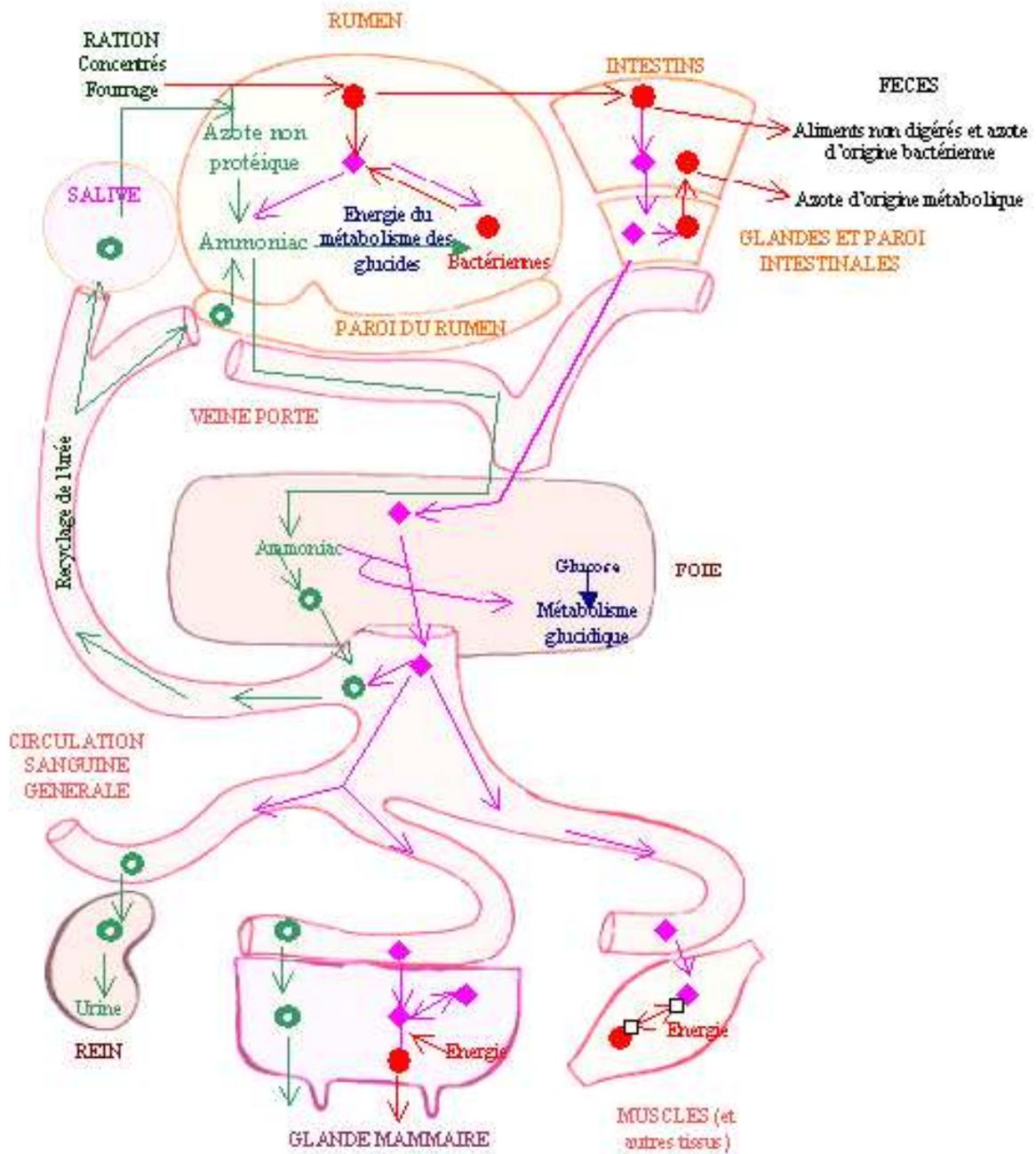


Figure 21 : Le métabolisme des protéines chez la vache laitière (Wattiaux, 1997 (b))

C. Variations de la 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 : baisse du taux protéique au pic de lactation par effet de « dilution ») et de l'état sanitaire des animaux (ex : 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).

Résumé :

Le lait, produit de la mamelle bovine, est un liquide blanc opaque légèrement acide, un peu plus dense que l'eau et dans lequel on distingue quatre phases. Il est globalement constitué d'eau où sont dissous du lactose, des protéines, des lipides, des vitamines, des minéraux et d'autres molécules nombreuses en quantités infimes. Les protéines se trouvent majoritairement sous la forme de micelles de caséines et les lipides participent pour la plupart à la constitution des globules gras.

Le pis d'une vache est composé de quatre mamelles, glandes exocrines qui synthétisent le lait post-partum. Abondamment irriguées, elles reçoivent les divers constituants nécessaires à la fabrication du lait, fabrication qui est aussi tributaire de mécanismes hormonaux complexes faisant principalement intervenir oestrogènes, prolactine et glucocorticoïdes lors de la lactogénèse, et hormone de croissance et ocytocine pour la galactopoïèse.

Les cellules lactogènes sont rassemblées en unités fonctionnelles : les acini mammaires, et elles prélèvent dans le sang des molécules utiles à leur métabolisme et des molécules plasmatiques destinées à aller dans le lait sans subir de modification. Ainsi, l'eau, les minéraux, les vitamines, diverses petites molécules, quelques protéines et certains acides gras ne font que transiter par ces cellules pour passer du sang au lait, tandis que les autres, majoritaires, sont issus de synthèses pas les cellules des acini mammaires à partir d'éléments puisés dans le sang.

Le lactose, glucide principal et spécifique du lait, est créé à partir du glucose venu de l'alimentation ou de la transformation de diverses molécules dont certaines sont obtenues par les fermentations microbiennes du rumen. C'est le déterminant essentiel de la quantité de lait produite.

Les lipides du lait sont pour la moitié d'entre eux directement captés dans le sang par les cellules lactogènes (avec des acides gras comportant 4 à 18 atomes de carbone), qu'ils soient issus du métabolisme de la vache ou de l'alimentation après transformation par la flore ruminale, et pour l'autre moitié assemblés dans les cellules du tissu mammaire (genèse d'acides gras de 4 à 16 carbones). La synthèse de la matière grasse du lait s'effectue donc au travers de nombreuses relations entre mamelle, tissu adipeux, appareil digestif et foie.

Enfin, les protéines proviennent principalement de synthèses des cellules lactogènes à partir des acides aminés prélevés dans le sang (en proportions variables selon l'acide aminé en question), par expression du génome cellulaire.

Outre les influences hormonales, la production de lait est aussi dépendante de facteurs individuels ou environnementaux.

La composition du lait provient donc du sang, de la ration alimentaire et de la mobilisation des réserves. Le lait représente un compartiment essentiellement aqueux avec une importante teneur en protéines.

3^e PARTIE

LE LAIT ET LES PESTICIDES

I. L'impact des pesticides sur la santé humaine

A. Généralités

Si les divers pesticides sont aujourd'hui mis à l'index, c'est parce qu'ils sont susceptibles, chez les animaux comme chez l'homme, de provoquer certains troubles. Ainsi, en ce qui concerne le lait de vache, c'est un aliment très régulièrement ingéré par l'homme, et encore plus par les enfants. C'est pourquoi s'il renferme des xénobiotiques, on peut craindre des conséquences sanitaires à plus ou moins long terme. Ces considérations sont d'ailleurs à l'origine de l'établissement des LMR (= limites maximales de résidus) et de la réglementation générale sur les pesticides ou d'autres produits chimiques. Cependant, ces limites maximales sont aujourd'hui de plus en plus remises en cause car elles sont peut-être encore trop élevées pour exclure tout risque à long terme avec certitude, en particulier concernant les perturbations endocriniennes générées par l'exposition à des résidus de pesticides contenus dans l'alimentation et/ou l'eau de boisson (Xue et coll., 2005). Les connaissances relatives aux conséquences potentielles de l'action des pesticides sur l'homme sont encore incomplètes. Les pays en voie de développement demeurent les plus concernés du fait de l'usage incontrôlé de pesticides (Jurewicz et coll., 2006).

B. Individus les plus fortement exposés

Les agriculteurs et les éleveurs demeurent les personnes les plus fortement exposées aux divers produits phytosanitaires car ce sont eux qui appliquent ces substances sur les sols et les cultures et car il peut parfois se dégager des poussières lors de la récolte et de la manipulation de denrées stockées, ainsi qu'en préparant la ration destinée aux animaux de rente. D'ailleurs, les effets observés au sein de cette population sont aussi bien des conséquences à court terme qu'à long terme. En ce qui concerne les effets à court terme, il s'agit de troubles directement consécutifs à l'emploi des pesticides : les agriculteurs sont victimes de nausées et de vomissements, d'irritation de la peau, des voies respiratoires et des conjonctives oculaires. Pour les effets observés à long terme, les agriculteurs sont encore une fois plus touchés, en particulier vis à vis des cancers liés aux pesticides (Van Balen, 2006).

Il ne faut cependant pas non plus oublier les enfants, qui sont plus fortement exposés à ces xénobiotiques que les adultes ne travaillant pas dans le secteur primaire. Les enfants sont en effet exposés par diverses voies (Jurewicz et coll., 2006) :

- Le transfert placentaire pendant la vie fœtale ;
- L'ingestion de lait maternel contaminé ;
- La consommation d'autres aliments : les enfants boivent et mangent proportionnellement plus que les adultes en raison des besoins liés à la croissance (Landrigan et coll., 2004). C'est pourquoi le Food Quality Protection Act (FQPA) a été ratifié en 1996 par divers pays dont les Etats-Unis : ce texte établit une protection explicite des enfants, de façon à ce qu'ils soient mieux pris en compte lors de l'estimation des risques liés à l'exposition aux pesticides environnementaux (Goldmann et Koduru, 2000) ;
- Les enfants possèdent des voies métaboliques sensiblement différentes de celles des adultes, certains processus étant plus efficaces et d'autres moins (Landrigan et coll., 2004);
- Le contact avec des animaux domestiques ou des lieux de leur environnement traités avec des insecticides, la poussière des maisons, les tapis, les pelouses et les

jardins où des pesticides ont été utilisés. Les enfants en bas âge se déplacent en effet souvent à quatre pattes dans la maison ou sur la pelouse (Goldmann et Koduru, 2000).

Les jeunes sont donc à la fois exposés indirectement via leur mère, et directement selon les modalités exposées ci-dessus.

Plus l'exposition est précoce au cours de la vie, plus elle risque d'induire des effets délétères, surtout si elle intervient pendant les phases de développement rapide que sont la vie fœtale et l'enfance. Par exemple, une exposition du fœtus augmente le risque de malformation congénitale. Globalement, la forte contamination des jeunes par les produits phytosanitaires peut être à l'origine, consécutivement ou non aux malformations directement engendrées, de cancers, de dysfonctionnements du système immunitaire, de problèmes endocriniens et de déficiences neurocomportementales (Jurewicz et coll., 2006). On soupçonne l'implication des pesticides dans l'incidence croissante des troubles du développement neuronal observés chez certains enfants, en particulier la dyslexie, l'incapacité à lire, le retard mental, le manque d'attention et l'autisme (Landrigan et coll., 2004).

C. Les pesticides perturbateurs endocriniens

1. Mécanismes mis en jeu

La stéroïdogénèse, ou synthèse des stéroïdes sexuels à partir du cholestérol, met en jeu les mitochondries et le réticulum endoplasmique lisse des cellules, en relation avec diverses étapes enzymatiques dont la plupart dépendent de cytochromes P450 (CYP suivi d'un nombre caractérisant l'isoenzyme). Les gènes codant pour les enzymes de régulation de la stéroïdogénèse sont nommés gènes CYP. Parmi eux se trouve en particulier le gène CYP19 qui code pour l'aromatase, enzyme qui convertit les androgènes en oestrogènes. D'autres enzymes interviennent aussi, entre autres des déshydrogénases :

- La 3 β -hydrostéroïde-déshydrogénase : ce n'est pas une enzyme à cytochrome P450, mais elle permet la conversion de pregnénolone en progestérone et en DHEA (= déhydroépiandrostérone) en androstènedione.
- Les 17 β -hydrostéroïde-déshydrogénases : il s'agit d'une grande famille dont les types 1,3,5,7 catalysent des réactions de réduction rendant des stéroïdes plus actifs tandis que les types 2,4,6,8 sont oxydatifs et diminuent l'activité de certains stéroïdes. Plus précisément, la 17 β -hydrostéroïde-déshydrogénase de type 1 convertit l'oestrone en 17 β -oestradiol et la 17 β -hydrostéroïde-déshydrogénase de type 5 change l'androstènedione en testostérone et la DHEA en androstènedione.

Les sulfotransférases et la stéroïde sulfatase génèrent des sulfates d'oestrogènes et d'androgènes inactifs à partir de l'oestrone et de la DHEA (chez les primates).

Toutes ces enzymes sont exprimées dans les gonades, les glandes surrénales et une importante variété d'autres tissus tels que le cerveau, le foie, le tractus génital, le tissu adipeux, la peau et le tissu mammaire.

C'est pourquoi toute modulation de ces activités enzymatiques par des xénobiotiques perturbateurs endocriniens (interagissant avec les hormones ou leurs récepteurs) risque d'avoir d'importantes conséquences sur la différenciation sexuelle et le développement, et d'induire des cancers hormono-dépendants (Whitehead et Rice, 2006). L'exposition à ces substances peut, par exemple, modifier le métabolisme hormonal en altérant la synthèse et/ou la dégradation de la testostérone, de la FSH, de la LH, ou encore d'autres hormones (Queiroz et Waissmann, 2006).

2. Effets observés sur la reproduction

De nombreuses molécules couramment employées en agriculture entraînent des troubles de la reproduction ou en sont fortement suspectées.

Les troubles engendrés par les perturbateurs endocriniens peuvent être temporaires ou permanents. Il peut s'agir d'anomalies de la reproduction, avec des dysfonctionnements gonadiques d'origine morphologique ou fonctionnelle générant une baisse de la fertilité et/ou de la libido, et il peut également se produire des malformations congénitales telles qu'une gêne du bon développement intra-utérin de l'embryon et du fœtus. Chez le mâle, les principaux effets sur la fertilité relèvent d'une chute temporaire de la concentration du sperme et de sa qualité, d'une plus forte incidence de cryptorchidie, d'hypospadias (= anomalie de position du méat urinaire) et d'une modification du sex ratio.

L'interférence avec les hormones sexuelles pendant la croissance et la puberté est aussi susceptible d'induire des troubles de la reproduction mâle à l'âge adulte. Ainsi, diverses études ont mis en évidence une nette diminution de la concentration en spermatozoïdes du sperme de l'homme au travers des dernières décennies et attribuent partiellement cette chute à des xénobiotiques dont certains seraient liés au travail, en particulier les pesticides (Queiroz et Waissmann, 2006).

Plus d'études ont été réalisées pour évaluer l'impact des pesticides sur la reproduction chez l'homme que chez la femme car ce sont généralement les hommes qui appliquent ces composés sur les cultures et car il est plus complexe d'explorer la fertilité féminine que masculine. Une étude de l'OMS (= Organisation Mondiale de la Santé) a montré que les pesticides induisent une subfertilité chez certains couples, impliquant selon les cas plutôt l'homme (20%), ou plutôt la femme (38%), ou les deux (27%).

On distingue cinq types de subfertilité (Bretsveld et coll., 2006) :

- Subfertilité mâle : elle se traduit par une faible concentration du sperme, une mobilité et/ou une morphologie anormales des spermatozoïdes et représente l'une des causes majeures de subfertilité chez 20 à 25% des couples.
- Troubles de l'ovulation : ils provoquent 20 à 25% des cas de subfertilité et se manifestent par des cycles irréguliers ou absents. Ceci se produit par exemple avec l'atrazine, le diméthoate, le carbofuran, le chlordécone, le DDT et ses dérivés, l'heptachlore, l'HCH, le lindane, le malathion, le mancozeb, le méthyl-parathion, le dithiocarbamate, le sumithion, le thirame...
- Défaut dans l'interaction entre les spermatozoïdes et le mucus cervical : un mucus cervical anormal peut empêcher les spermatozoïdes d'atteindre l'ovocyte. Ce phénomène serait en cause dans 10 à 15% des cas, mais les avis divergent.
- Désordres anatomiques au niveau de l'appareil génital féminin : obstruction ou lésions du tractus génital, hydrosalpinx, adhérences au pelvis et endométriose, troubles généralement secondaires à des infections, seraient impliqués dans 10 à 30% des situations de subfertilité.
- Subfertilité inexplicée : on ne parvient pas à établir clairement la cause dans 25 à 30% des cas.

Certains pesticides pourraient interférer avec le fonctionnement hormonal de la femme, ce qui peut gêner la reproduction en troublant l'équilibre entre hormones par perturbation de nombreux processus (Bretsveld et coll., 2006) :

- L'interaction avec les récepteurs aux oestrogènes et/ou aux androgènes ;

- La synthèse hormonale : le fénarimol, le prochloraze et d'autres fongicides imidazolés peuvent ainsi inhiber la biosynthèse des oestrogènes par inhibition de l'aromatase codée par le gène CYP19 *in vitro*, ce qui empêche la transformation des androgènes en oestrogènes. A l'inverse, les herbicides de la famille des triazines, le méthomyl et le DDE induisent l'activité de l'aromatase. Le kétoconazole, lui, inhibe diverses enzymes de la catégories de monooxygénases dépendantes du cytochrome P450 et diminue la synthèse de progestérone ;
- La libération et le stockage des hormones : le chlordiméforme, l'amitrazé, le thirame et le malathion peuvent agir par cette voie ;
- La clairance et le transport des hormones : bon nombre de pesticides induisent l'activité d'enzymes hépatiques, ce qui augmente donc leur propre clairance (détoxification), mais le catabolisme de la testostérone emprunte la même voie, d'où une intensification de son élimination (ex : DDT et ses analogues, endosulfan, mirex). Le lindane, lui, amplifie la clairance des oestrogènes ;
- La reconnaissance et la fixation sur les récepteurs hormonaux : la vinclozoline agit comme un antagoniste en se fixant sur les récepteurs aux androgènes (elle-même ou ses métabolites) (Queiroz et Waissmann, 2006), la procymidone et le DDT possèdent eux aussi une activité anti-androgène, et la dieldrine, l'endosulfan, le méthiocarbe et le fenarimol sont agonistes des oestrogènes et antagonistes des androgènes ;
- L'activation des hormones après leur fixation sur les récepteurs ;
- Le fonctionnement de la thyroïde : les chlorophénols, les organochlorés et les quinones diminuent la concentration d'hormones thyroïdiennes iodées circulantes, ce qui peut ensuite induire une baisse d'activité des monooxygénases à cytochrome P450 hépatique et ainsi altérer le métabolisme hépatique des androgènes ;
- Le fonctionnement du système nerveux central, qui intervient dans l'intégration de l'activité hormonale et du comportement. De nombreux pesticides ayant des potentialités neurotoxiques, on peut légitimement penser qu'ils pourraient troubler l'activité de coordination du système nerveux central en gênant le fonctionnement cérébral. Les produits phytosanitaires sont parfois capables de perturber l'hypothalamo-hypophyse, donc la sécrétion de GnRH, FSH et LH, en gênant le rétrocontrôle par les hormones endogènes.

Tout ceci se manifeste par une modification des concentrations hormonales, une irrégularité des cycles ovariens, une chute de la fertilité, une augmentation de la durée de gestation, et parfois même des avortements spontanés, des parts languissants, des défauts de développement, tout ceci ayant été mis en évidence par des études épidémiologiques.

On peut synthétiser ces phénomènes à l'aide de l'organigramme suivant :

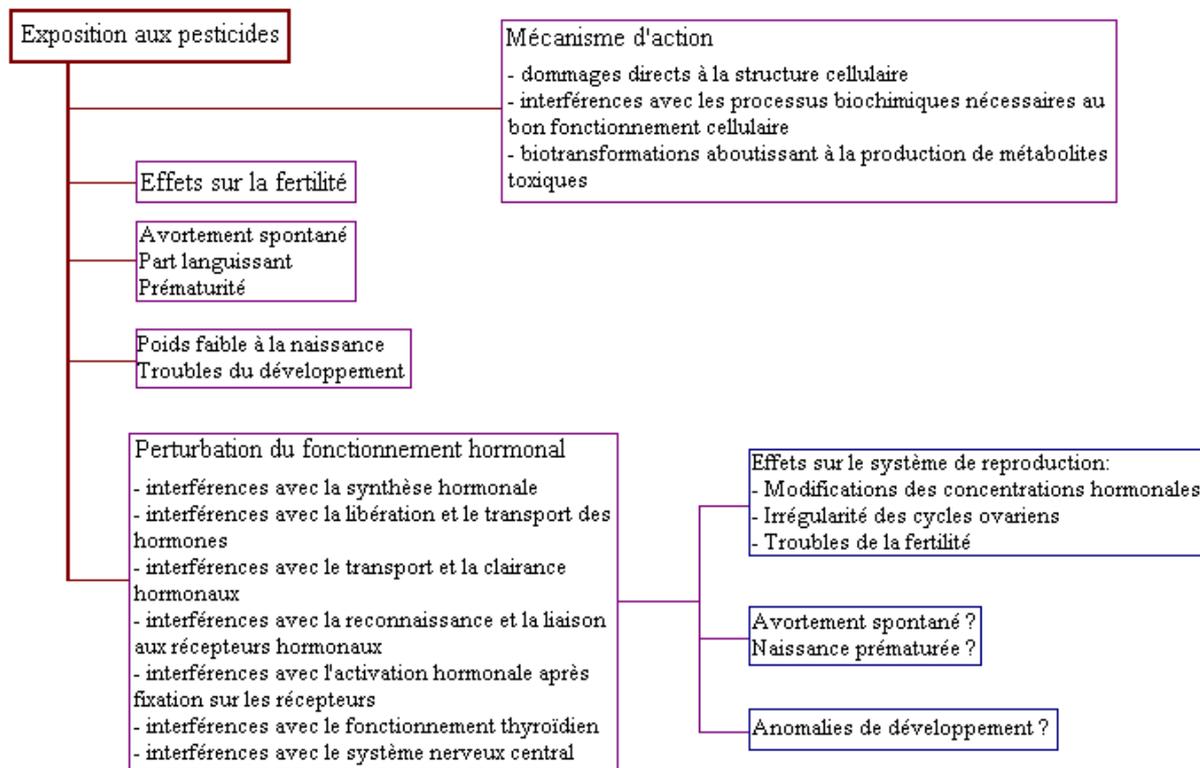


Figure 22 : Effets potentiels des pesticides sur la reproduction chez la femme (Bretsveld et coll., 2006)

L'action des pesticides peut aussi s'exercer pendant la différenciation de divers organes, d'où la genèse indirecte de certains dysfonctionnements. Parmi les anomalies rencontrées, on trouve celles qui portent sur l'appareil génital mâle et sont donc responsables à long terme d'une baisse de la fertilité sans que le xénobiotique en cause ait une action directe et même sans qu'il soit encore présent dans l'organisme. Gray et coll. ont ainsi démontré que les PCBs (polychlorobiphényles) altéraient la différenciation sexuelle chez le rat mâle, induisant à l'âge adulte les conséquences sus-citées. Par ailleurs, il arrive parfois que certaines molécules, sans interférer avec la différenciation sexuelle, réduisent la durée de vie des cellules germinales ou provoquent une agénésie partielle voire totale des cellules gonadiques. D'autres pesticides interviennent lors de la différenciation des glandes accessoires et agissent sur le système nerveux central et le comportement sexuel (Gray et coll., 1989).

De plus, les pesticides peuvent interférer avec les capacités de reproduction des adultes en modifiant le sex ratio, c'est à dire en diminuant le pourcentage de garçons par rapport aux filles (Jurewicz et coll., 2006).

Chez les filles, on a noté une apparition plus précoce des premières règles lors d'exposition à certains polluants environnementaux tels que les PCB, le DDT... (Den Hond et Schoeters, 2006). A l'inverse, une exposition chronique au DDT, à l'endosulfan ou aux PCBs chez les garçons semble entrainer un retard de la puberté. De même, l'endosulfan est un

xénooestrogène capable d'augmenter l'expression de la prolactine et d'entrer en compétition avec les oestrogènes au niveau de leurs récepteurs nucléaires, ce qui retarde l'âge de la maturité sexuelle et interfère avec la synthèse hormonale (Queiroz et Waissmann, 2006).

La majorité des pesticides affectent la reproduction en raison de leur effet potentiellement tératogène lorsque la mère y est exposée durant la grossesse. En effet, les produits phytosanitaires ou leurs métabolites sont presque tous capables d'entraîner des stress oxydatifs et donc des transferts d'électrons, ces mécanismes ayant des conséquences néfastes sur l'embryon (Kovacic et Somanathan, 2006).

Voici quelques exemples supplémentaires de pesticides incriminés dans les troubles de la reproduction humaine :

♦♦ ***Parmi les composés organochlorés :***

Les composés de cette famille sont bien connus pour leur potentiel de bioaccumulation et de bioamplification tout au long de la chaîne alimentaire et pour leurs effets cancérigènes, tératogènes et perturbateurs endocriniens chez l'homme et sur la faune sauvage (Huang et coll., 2006).

Le dicofol est un produit acaricide et miticide non systémique actuellement très utilisé au Canada et aux USA et c'est le seul organochloré encore autorisé, mais ce xénobiotique pourrait jouer le rôle de perturbateur endocrinien (Hoekstra et coll., 2006).

L'étude des conséquences de l'exposition des travailleurs au DDT en Afrique du Sud a mis en évidence une corrélation avec la présence d'anomalies morphologiques des spermatozoïdes responsables de subfertilité, et avec l'existence de défauts congénitaux dont le plus fréquent reste l'ectopie testiculaire (71% des cas) (Queiroz et Waissmann, 2006). De Jager et coll. (2006) sont parvenus à la conclusion qu'une exposition durable (dix ans voire plus), même non professionnelle, au DDT, représente un risque pour la fonction de reproduction, ceci étant lié à ses capacités de bioaccumulation au sein des tissus animaux, en particulier ceux qui sont riches en graisse.

Avec le lindane, il se produit quelquefois une diminution de la masse de l'hypophyse, ce qui laisse fortement suspecter une influence négative sur la reproduction et le développement de la progéniture (Matsuure et coll., 2005).

La dieldrine et le p,p'-DDE (qui est doté d'un faible pouvoir oestrogène) diminuent l'expression des gènes de la synthèse et du métabolisme des hormones endogènes, par perturbation de plusieurs mécanismes (Garcia-Reyero et coll., 2006) :

- L'interaction des stéroïdes sexuels avec leurs récepteurs ;
- La biosynthèse des hormones sexuelles ;
- Le métabolisme des hormones.

♦♦ ***Parmi les organophosphorés :***

Le malathion agit au niveau de la synthèse des oestrogènes par action sur l'expression de 3 gènes impliqués dans la production de ces hormones (Gwinn et coll., 2005).

Le méthyl-parathion a pour effet (démonstré chez le rat et donc probablement applicable à l'homme) de diminuer le poids du nouveau-né, la masse des organes reproducteurs mâles, le nombre de spermatozoïdes, la quantité de certaines enzymes testiculaires, et d'accroître le pourcentage de spermatozoïdes anormaux. Au niveau hormonal, il génère une augmentation de la concentration de testostérone mais une chute de la teneur en LH (hormone lutéinique) et du nombre de tubes séminifères. De telles perturbations endocriniennes affectent donc le développement post-natal et la croissance des organes reproducteurs mâles. Ses effets faiblement génotoxiques et cytotoxiques sont liés à la baisse

de la concentration d'acide ascorbique (= vitamine C) dans le tissu testiculaire. Or cette vitamine est un agent antioxydant dont le manque entrave la lutte contre l'oxydation et pourrait donc en partie expliquer les effets néfastes de cet organophosphoré sur la fertilité mâle (Narayana et coll., 2005).

Le diazinon, le pyriproxifène, le prothiofos (organophosphorés) possèdent une activité oestrogénique démontrée et induisent donc les mêmes effets que les oestrogènes endogènes (Manabe et coll., 2006).

♦♦ ***Parmi les pyréthrinoïdes :***

La sumithrine est douée d'une faible activité œstrogène de façon dose-dépendante.

La bioalléthrine, le fenvalérate et la perméthrine auraient au contraire un potentiel anti-œstrogène d'après Kim et coll., tandis que Go et coll. attribuent un effet oestrogénique au fenvalérate.

Les pyréthrinoïdes induiraient ces effets par interaction avec les récepteurs aux oestrogènes (Kim et coll., 2004).

♦♦ ***Parmi les herbicides de la famille des triazines :***

L'atrazine admet pour cible majeure la somatostatine, neuropeptide spécifique de la sécrétion de GH (hormone de croissance) : la somatostatine, sécrétée par l'hypothalamus, inhibe la libération de GH, influe sur de nombreux facteurs neuroendocriniens et cognitifs, et stimule la libération de GABA, neurotransmetteur avec lequel interagit l'atrazine pour modifier la sécrétion pulsatile de LH (« Luteinising Hormon »). Cette triazine diminue l'activité de la somatostatine dans les zones de l'hypocampe et du cortex cérébral, ce qui mène à une incoordination motrice précoce et à des troubles des activités sensorielles et cognitives. Hayes et coll. ont en 2002 démontré que de faibles doses de cet herbicide entravent le développement sexuel chez certains vertébrés aquatiques : cette molécule altère le développement de la structure testiculaire, de la stéroïdogenèse et du comportement sexuel. L'atrazine agirait peut-être aussi sur la croissance par interaction avec la GHRH (« *Growth Hormon Releasing Hormon* ») et la TSH (« *Thyroid Stimulating Hormon* ») au niveau de l'hypothalamus (Gould et coll., 1997), d'autant qu'elle se caractérise par une forte propension à aller dans l'encéphale (principalement dans le télencéphale et le mésencéphale, régions impliquées dans la modulation de l'activité motrice et du comportement sexuel. Par ailleurs, cette substance possède des effets anti-oestrogéniques par interaction avec les récepteurs aux oestrogènes (Guisi et coll., 2006).

De plus, l'atrazine, mais aussi d'autres composés de la même famille, à savoir la simazine et la propazine, stimulent l'activité de l'aromatase, qui permet, comme expliqué précédemment, de maintenir l'équilibre entre androgènes et oestrogènes, aussi bien chez le mâle que chez la femelle, et existe dans de nombreux tissus chez l'Homme, comme les organes sexuels, le tissu adipeux, le foie, le cerveau et les seins (Morigana et coll., 2004).

L'atrazine a été interdite par l'Union Européenne à la suite de la contamination de l'eau de boisson secondaire à son usage agricole très répandu (Brodkin et coll., 2007).

♦♦ ***Parmi les composés à action fongicide :***

En cas d'exposition à la forskoline, la production de testostérone, d'oestradiol, de progestérone et de pregnénolone est amplifiée proportionnellement à la dose.

Le prochloraze et le kétoconazole induisent eux une élévation de la progestéronémie mais une chute de la testostérone et de l'oestradiol. Le prochloraze agit d'autre part *in vivo* comme un anti-androgène, ce qui a pour conséquence une réduction du poids des organes reproducteurs mâles par baisse de l'expression des gènes régulés par les androgènes dans la prostate et par élévation de la production de LH. Ainsi, chez le fœtus mâle, cette substance

fait chuter la quantité de testostérone tout en induisant une hausse du taux de progestérone testiculaire, ces phénomènes contribuant à une féminisation (effet comportemental) lors d'exposition périnatale (Vingaard et coll., 2006). Le mécanisme d'action du prochloraze repose sur une réduction du nombre de récepteurs aux oestrogènes et aux androgènes. Ce pesticide traversant la barrière mammaire pour aller dans le lait, il peut donc aussi exercer son action féminisante sur les nouveau-nés masculins via l'alimentation (Vingaard et coll., 2005).

Le fadrozole exerce lui un effet négatif léger sur la production des trois hormones stéroïdes pré-citées, et la vinclozoline augmente la concentration d'oestradiol tout en diminuant celles des deux autres hormones (Hecker et coll., 2006).

Le bénomyl induit l'activité de l'aromatase en augmentant sa sécrétion, et le carbendazime, métabolite de ce fongicide, possède le même effet. Le bénomyl est réputé pour ses effets dépresseurs de la spermatogenèse chez les rongeurs et le chien, effets non encore démontrés chez l'homme, mais permettant de suspecter une action féminisante. A l'inverse, le fadrozole et le vordozole en suppriment l'activité (Morigana et coll., 2004). Le carbendazime est aussi toxique lors du développement embryonnaire et foetal et tératogène. Il peut provoquer l'avortement à forte dose (Xue et coll., 2005).

•• *Autres pesticides :*

L'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (= 2,4-D) est l'un des herbicides les plus utilisés à travers le monde et il appartient à la famille des aryloxyacides. Malheureusement, il est pourvu d'effets néfastes puisqu'il bloque la maturation de l'ovocyte en influant sur les mécanismes de transcription et la signalisation protéique. En effet, ce produit a des propriétés de phytohormone et est parfois employé comme régulateur de croissance. Cette caractéristique explique pourquoi il perturbe l'activité de la progestérone, hormone endogène qui gère la maturation méiotique de l'ovocyte en stimulant son passage de la prophase I à la métaphase II. On comprend donc que le 2,4-D a des effets précoces sur la reproduction (La Chapelle et coll., 2007).

3. Lien entre perturbation endocrinienne et cancérogenèse

Il a été prouvé, chez les animaux, que la plupart des pesticides perturbateurs endocriniens ont une action carcinogène, ce qui a conduit au classement officiel de certains composés comme substances cancérogènes par l'Agence Internationale de la Recherche sur le Cancer. En effet, les cancers du sein, des ovaires, de la prostate, des testicules et de la thyroïde demeurent bien souvent hormono-dépendants, d'où l'intérêt grandissant qu'on porte aux pesticides perturbateurs endocriniens.

Les composés qui entravent le bon fonctionnement hormonal activent des facteurs procarcinogènes par l'intermédiaire des enzymes de détoxification dont ils requièrent l'intervention. Ils gênent aussi parfois la communication intercellulaire. Ce faisant, ces substances sont fortement soupçonnées de jouer un rôle dans les processus cancéreux. En particulier, ceux qui influent sur la composante oestrogénique doivent être surveillés car les oestrogènes agissent beaucoup sur la reproduction des Mammifères, le fonctionnement neurologique, et le développement structural et fonctionnel de nombreux organes par régulation de leur croissance et de leur différenciation (Ejaz et coll., 2004).

D. Les pesticides et la cancérogénèse

Le cancer est une maladie multifactorielle à laquelle contribuent des facteurs génétiques et environnementaux, ainsi que le mode de vie. Parmi les polluants de l'environnement, les pesticides sont maintenant clairement désignés comme facteurs de risque importants.

1. Cancers des organes génitaux:

Au cours des dernières décennies, on a vu augmenter l'incidence des cancers testiculaires chez les jeunes hommes en âge de procréer, en association avec l'exposition aux pesticides et aux résidus industriels (Queiroz et Waissmann, 2006). L'étiologie de cette tumeur met aussi en jeu les oestrogènes *in utero*. Ainsi, l'exposition à des xéno-oestrogènes pendant la grossesse multiplie par quatre le risque de cancer testiculaire chez l'enfant (Ejaz et coll., 2004).

Chez les agriculteurs en particulier, de nombreux pesticides sont mis en cause dans l'augmentation des cancers de la prostate. Parmi les molécules incriminées, on trouve : l'alachlore, l'atrazine, l'aldicarbe, l'aldrine, le bénomyl, le carbofuran, le carbaryl, le chlordane, le chlorpyrifos, le coumaphos, le dichlorvos, le diazinon, la dieldrine, le DDT, le fonofos, l'heptachlor, le lindane, le malathion, le parathion, la perméthrine, le métolachlor, le 2,4-D, le métalaxyl, le bénomyl, le captane... (Alavanja et coll., 2003). On comprend donc aisément que les risques sont assez importants étant donné la grande variété des produits utilisés en agriculture.

Les molécules à action oestrogénique tendent à accroître le rythme d'ovulation, ce qui favorise le développement des cancers de l'épithélium ovarien, alors fortement sollicité. Par exemple, les triazines font partie des pesticides mis en cause.

2. Cancer du sein

Jusqu'en 2005, l'implication des pesticides appartenait encore au domaine des hypothèses (Jaga et Dharmani, 2005), mais de nombreux xénobiotiques sont aujourd'hui mis en cause dans l'augmentation de la fréquence des cancers du sein (Mukherjee et coll., 2006). L'association entre exposition aux pesticides et augmentation du risque de cancer du sein est statistiquement significative.

Certaines molécules agissent par inhibition de l'apoptose des lignées cellulaires sensibles aux oestrogènes, d'autres induisent un stress oxydatif, et d'autres encore jouent le rôle de perturbateurs endocriniens, ces mécanismes favorisant le développement du cancer du sein (Mukherjee et coll., 2006).

Dans certains cas, c'est la surexpression des récepteurs aux oestrogènes qui participe au développement des cellules cancéreuses, surexpression parfois provoquée par certains xénobiotiques (Kim et coll., 2004).

Les organochlorés sont nettement mis en cause dans l'augmentation du risque de cancer du sein car une étude menée au Pakistan a montré que les femmes atteintes par ce type de tumeur avaient de plus fortes concentrations d'organochlorés dans le sang et le tissu adipeux que des femmes témoins saines. Les organophosphorés et les dioxines peuvent aussi favoriser ce cancer en raison de leur action sur le système endocrinien, qui influe sur le développement mammaire (Ejaz et coll., 2004).

3. Cancer du poumon

Lee et coll. (2004) ont montré que la fréquence d'exposition au chlorpyrifos est positivement corrélée à l'incidence du cancer du poumon chez l'homme.

Le DDT a lui aussi été mis en relation avec ce type de cancer (Ejaz et coll., 2004).

4. Leucémies et autres cancers

Chez l'enfant, l'exposition aux pesticides est accusée d'induire des leucémies, certains lymphomes et des neuroblastomes, mais l'évaluation du risque épidémiologique reste problématique car (Jurewicz et Hanke, 2006) :

- L'ampleur de l'exposition aux pesticides demeure partiellement inconnue ;
- Si l'on ne prend en compte que les sujets les plus exposés, le nombre d'individus est relativement restreint ;
- Il y a malgré tout encore peu d'études sur ces cancers ;
- L'estimation des fenêtres d'exposition critique est difficile.

Lee et coll. (2005) ont mis en évidence un lien entre le développement d'un cancer lympho-hématopoïétique et l'emploi d'alachlore : chez les agriculteurs, le risque de leucémie est multiplié par 2,83 et celui de myélome multiple par 5,66 par rapport à une population témoin. Les triazines auraient elles-aussi un lien avec l'apparition de certains lymphomes et de leucémies (Ejaz et coll., 2004).

On rencontre aussi des cancers de la thyroïde. L'oestradiol module la prolifération des cellules thyroïdiennes TSH-dépendantes, ce qui favorise donc la carcinogenèse. Certains organochlorés inhibent la synthèse et intensifient la dégradation des hormones thyroïdiennes chez l'Homme par leur pouvoir oestrogène. Avec le mécanisme opposé, comme la TSH est l'hormone majeure de régulation de la croissance et du fonctionnement général de la glande thyroïdienne, tout ce qui augmente sa concentration est susceptible d'encourager les cancers de la thyroïde (Ejaz et coll., 2004).

D'autres cancers pourraient aussi découler de l'exposition aux différents insecticides, herbicides et fongicides : cancers du foie, du pancréas et de divers organes (Jaga et Dharmani, 2005).

E. Les effets des pesticides sur le système immunitaire

De nombreux pesticides, seuls ou en association, et de façon dose-dépendante, ont la capacité de faire diminuer le nombre de cellules lymphoïdes dans certains organes tels que la rate, d'où des effets immunodépresseurs à long terme, même à de très faibles concentrations. Le mode d'action n'est pas encore élucidé avec précision, mais il ne mettrait pas en jeu une action cytotoxique directe sur les cellules lymphoïdes. On envisage plutôt une éventuelle cytotoxicité vis à vis des cellules souches ou à une modification des processus de l'hématopoïèse.

Les produits phytosanitaires peuvent, pour certains, diminuer les capacités de phagocytose, ce qui interfère avec l'élaboration d'une bonne réponse immunitaire à médiation cellulaire, et comme la phagocytose appartient aux premières étapes d'induction d'une réponse immunitaire acquise, ceci risque de gêner la mise en place de cette réponse.

Les xénobiotiques empêchent parfois aussi la prolifération des lymphocytes T (LT) suite à une stimulation antigénique. Le mécanisme exact reste inconnu, mais il semble que le

carbofuran peut supprimer la production des interleukines 2 et empêcher la réponse à ces cytokines, ce qui entrainerait une baisse de la prolifération des LT, à moins que celle-ci ne soit simplement due à la diminution de la phagocytose, par manque de cellules présentatrices d'antigènes aux LT (Christin et coll., 2004).

Le propanil est un perturbateur endocrinien qui exerce sur le système immunitaire une activité similaire à celle des oestrogènes : il intensifie la réponse immune humorale en induisant l'augmentation du nombre de cellules sécrétrices de certaines immunoglobulines (Salazar et coll., 2006).

Les dérivés de l'étain (ex : tributylétain) affectent le fonctionnement des lymphocytes NK (Natural Killer), ce qui amplifie la sensibilité aux infections virales et comme ces cellules sont normalement capables de tuer les cellules tumorales, le risque de cancer et de métastases augmente (Ejaz et coll., 2004).

Les pesticides ont donc une importance majeure dans le domaine de la santé publique, puisqu'ils augmentent les risques de troubles de la reproduction et de cancer et peuvent être déprimeurs immunitaires. Ces effets concernent l'ensemble de la population, même si ce sont les enfants et les agriculteurs qui restent les plus à risque. Le lait de vache étant un aliment très communément ingéré, surtout par les jeunes, la présence potentielle de résidus dedans suscite des inquiétudes majeures.

Ainsi, nous allons dans la partie suivante tenter d'examiner quels pesticides sont plus susceptibles d'y être retrouvés. Pour ce faire nous nous baserons sur leurs propriétés physico-chimiques, qui déterminent leur affinité pour le lait. Certains produits phyto-sanitaires, pourtant très connus (atrazine, glyphosate, imidaclopride...) et parfois assez fréquemment employés, ne seront pas développés car l'étude de leurs caractéristiques physico-chimique nous a révélé leur incapacité à traverser la barrière mammaire, ce que certaines études ont d'ailleurs bien démontré.

II. Pharmacocinétique et transfert des produits phytosanitaires dans le lait

Toutes les denrées alimentaires, quelle que soit leur destination, sont susceptibles de contenir des résidus de produits chimiques, mais le lait est l'aliment qui pose le plus de problèmes car la matière grasse reste le support majeur de ces xénobiotiques (Richou-Bac et coll., 1974). Même si le taux d'excrétion dans le lait est assez faible en général, il peut être suffisant pour poser des problèmes d'hygiène alimentaire (Keck, 1979). D'ailleurs, certains pesticides appartiennent à la catégorie des Polluants Organiques Persistants (POP) dont une liste a été établie lors du protocole d'Aarhus et de la convention de Stockholm en 1998 (liste en annexe 9) (Rychen et coll., 2005).

A. Origines de la contamination du lait par ces produits

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 (c)) (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).

Au niveau alimentaire, on trouve ainsi :

- des insecticides organochlorés (autrefois très largement employés, beaucoup moins aujourd'hui à l'exception de quelques uns tels que le lindane, en raison de leur très forte rémanence) pour le traitement du sol, des semences et/ou des parties aériennes des plantes cultivées ;
- des insecticides organophosphorés et des carbamates afin de traiter les sols (organophosphorés tels que le chlorfenvinphos, le chlorpyrifos, phorate... ; carbamates comme aldicarbe, carbofuran, carbosulfan...), les parties aériennes des végétaux (OP : chlorfenvinphos, chlorpyrifos, fenitrothion, malathion, parathion...) ;
- des insecticides de la famille des pyréthrinoïdes de synthèse (cyperméthrine, deltaméthrine, fenvalérate, bifenthrine, lambda-cyhalothrine...) dans le traitement des parties aériennes des cultures, des sols et des semences ;
- des herbicides, utilisés sur les semences ou en début de période végétative pour la plupart (trichlopyr, fluroxypyr...), plus rarement peu avant la récolte des céréales (glyphosate) ;
- des fongicides, généralement appliqués à proximité du moment de la récolte sur les céréales principalement (comme des carbamates de benzimidazole, des dérivés de l'imidazole...).

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). Le risque est majoré lorsque la substance en question est très rémanente, ce qui est par exemple le cas des organochlorés.

Pour les substances d'assainissement des locaux d'élevage, on retrouve ces mêmes familles de composés chimiques, mais des molécules différentes. La catégorie la plus représentée dans ce domaine est celle des insecticides (puisque fongicides et herbicides sont respectivement appliqués juste avant la moisson et inutiles une fois les végétaux récoltés !) (Milhaud et Kolf-Claw, 1994).

La répartition des divers xénobiotiques au sein des tissus dépend de l'importance du flux sanguin circulant dans ce tissu, de la masse de l'organe, de l'affinité propre du composé vis à vis de ce tissu (les molécules lipophiles tendent à s'accumuler dans le tissu adipeux), du rapport de concentrations entre ce tissu et le sang, et bien sûr de la dose initialement absorbée.

Les molécules facilement excrétées auront moins tendance à se concentrer dans les tissus, ce qui est le cas de bon nombre de pesticides, à l'exception des organo-chlorés. Cependant, lorsque l'administration se répète, comme cela peut être le cas avec une ration quotidienne d'aliment contaminé par des pesticides, le stockage de xénobiotique augmente rapidement puis plus graduellement avant de se stabiliser à un taux déterminé par la concentration dans la ration. Si l'administration du composé stocké cesse, on observe alors une diminution plus ou moins brutale de la concentration de stockage, ce qui correspond donc à un relargage et une ré-excrétion de composé en dehors de toute nouvelle assimilation (Hayes et Laws, 1991 (a)). Avec les composés tendant à rester stockés dans les tissus, et en particulier dans le tissu adipeux, on pourra craindre une excrétion dans le lait pendant une durée variable après l'arrêt de la consommation de l'aliment pollué. 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 pesticides. Si certaines substances sont solidement fixées dans la graisse corporelle, elles peuvent quand même être excrétées en cas de lipomobilisation, ce qui est justement le cas pendant la lactation, où la vache a des besoins accrus en énergie afin de produire le lait, 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 (a)). 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).

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).

La contamination atteint son maximum en fin d'hiver car les animaux sont à l'étable ou en stabulation, consommant ainsi exclusivement des végétaux potentiellement traités avant récolte et/ou lors de leur stockage, vivant dans des locaux parfois assainis au moyen de composés chimiques et ayant souvent été traités avec des antiparasitaires externes (puisque c'est quand les animaux sont rentrés qu'ils sont accessibles pour recevoir ces traitements) (Mahieu et coll., 1977).

Les pesticides et les antiparasitaires sont bien moins souvent retrouvés dans le lait à des teneurs dépassant les LMR 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). C'est pourquoi tout nouveau pesticide n'est introduit sur le marché qu'après une évaluation de 8 à 10 ans (Freydier, 2001).

B. Facteurs physico-chimiques favorisant le passage d'une substance dans 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 23 présente dans leur globalité les divers facteurs qui régissent l'absorption et l'éventuel passage d'une substance dans le lait, facteurs que nous allons développer ci-après (Baggot, 1977).

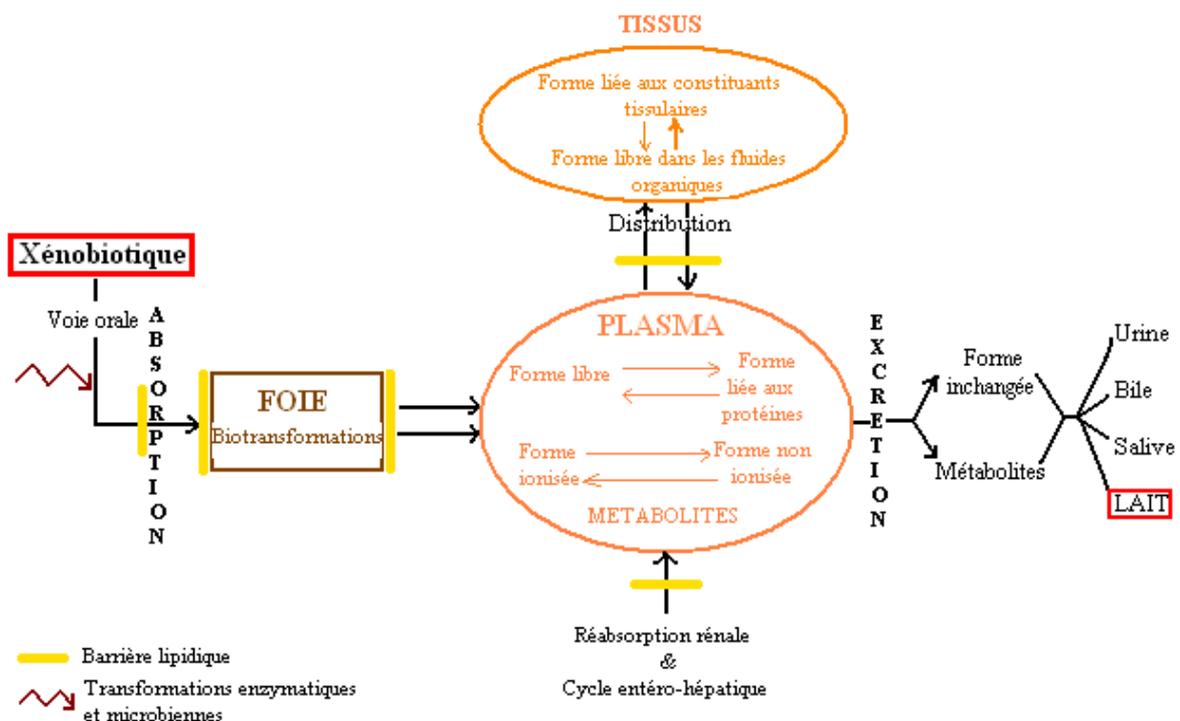


Figure 23 : Devenir d'une substance dans l'organisme lors de son ingestion (Baggot, 1977)

1. Degré 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 (a))) 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), elles, interviennent beaucoup moins et transportent plutôt les molécules très lipophiles et certains métaux (Keck, 1978).

Plus un xénobiotique présente de l'affinité vis à vis des protéines plasmatiques, c'est à dire plus il y est fortement lié, moins il aura donc de facilité à s'en détacher pour aller 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 quelque voie 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. L'inverse est aussi vrai et dans ce cas on aura une concentration du composé dans le lait. 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).

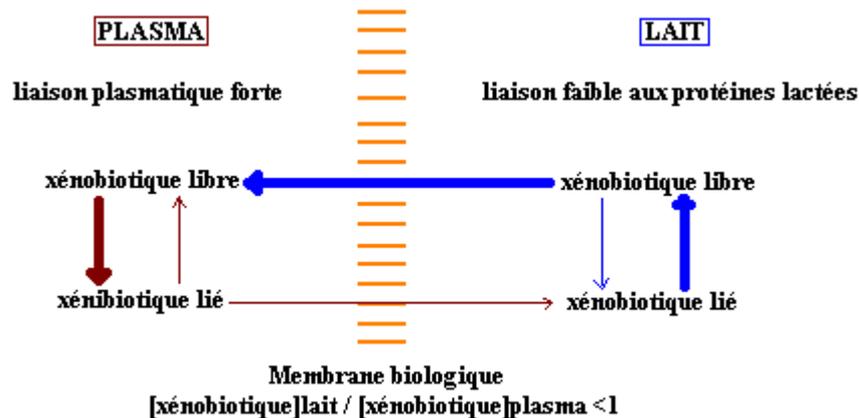


Figure 24 : Effet de la liaison d'un xénobiotique aux protéines plasmatiques sur son degré de liaison dans le lait
(Martinet et Houdebine, 1993)

2. Degré d'ionisation et caractéristiques acido-basiques

Pour pouvoir traverser les membranes biologiques, une substance doit se trouver sous forme non ionisée. Le degré d'ionisation repose ainsi 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).

La forme non ionisée peut traverser les membranes biologiques par diffusion à travers la couche lipidique et la répartition de la substance sera donc en relation avec son degré d'ionisation de part d'autre de la membrane et son niveau de liaison aux protéines et autres macromolécules présentes de part et d'autre de la membrane. La forme non ionisée, à priori plus liposoluble que la forme ionisée, ne passera cependant les membranes cellulaires que si elle est quand même suffisamment lipophile (voir 3). En milieu acide, un acide faible sera peu ionisé et donc plus apte à traverser les membranes biologiques, tandis qu'une base faible aura tendance à s'ioniser, donc à rester piégée. Ainsi les molécules basiques s'accumulent plutôt dans les tissus ou les fluides dont le pH est inférieur à leur pKa, tandis que les acides faibles ont le comportement inverse. Comme les bases faibles possèdent un pKa supérieur à 7, elles auront donc tendance à rester dans le lait, dont le pH varie, comme nous l'avons vu, entre 6,5 et 6,7 en moyenne (Kahn, 2005). Et comme après passage elles auront tendance à s'ioniser dans le lait, elles s'y concentreront 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 le plus fortement ionisée (Baggot 1977).

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

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

- ♦ $\text{pH} = \text{pKa} + \log ([\text{A}]/[\text{AH}^+])$ 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 I+NI représente la concentration totale du composé dans un ultrafiltrat et que L_{ult} est sa concentration dans l'ultrafiltrat de lait et P_{ult} sa concentration dans l'ultrafiltrat plasmatique.

Pour un acide faible, on tire au final la formule suivante :

$$\frac{L_{\text{ult}}}{P_{\text{ult}}} = \frac{1 + 10^{\text{pHL} - \text{pKa}}}{1 + 10^{\text{pHP} - \text{pKa}}}$$

Pour une base faible, on aboutit à l'équation :

$$\frac{L_{\text{ult}}}{P_{\text{ult}}} = \frac{1 + 10^{\text{pKa} - \text{pHL}}}{1 + 10^{\text{pKa} - \text{pHP}}}$$

Sachant que le pH du lait est inférieur à 7 et que le pH plasmatique 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

$pHL < pHP$, le numérateur se retrouvant donc inférieur au dénominateur, et inversement avec une base faible.

3. La liposolubilité et le gradient de concentration

Comme nous l'avons vu dans la première partie, le lait certes contient beaucoup d'eau, mais aussi environ 4% de matière grasse.

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. En effet, la membrane plasmique étant principalement constituée de lipides, une molécule liposoluble la franchira bien plus aisément qu'une molécule hydrosoluble, c'est à dire qu'un composé lipophile traversera plus 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). La vitesse de pénétration d'un composé est en réalité proportionnelle au gradient de concentration de cette substance de part et d'autre du plasmalemma et à son coefficient de partage huile-eau (Baggot, 1977) puisque lors de sa traversée, elle se retrouve en solution dans les lipides membranaires (Hayes et Laws, 1991 (a)). Ce sont donc des molécules apolaires, ou polaires mais avec un certain degré de liposolubilité, qui traverseront le plus vite (Anadon et coll., 1996). 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).

Les molécules totalement insolubles dans les lipides peuvent malgré tout franchir les membranes biologiques par diffusion passive au travers des pores qui existent dans les membranes, en fonction de leur gradient de concentration. Ainsi, avec les ions et les molécules polaires, la vitesse de diffusion est aussi liée à la répartition des charges électriques de chaque côté de la membrane et à la taille des molécules (elles doivent être suffisamment petites pour franchir les pores) (Kahn, 2005). De plus, quand il existe une différence de pression osmotique ou de pression hydrostatique entre les deux faces de la membrane, il peut se produire une entrée d'eau, qui transporte elle-même des molécules via les pores (si bien sûr ces composés en solution sont moins grands que les canaux membranaires).

La 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 $\log KOW \geq 6,3-6,5$, leur absorption étant réduite justement, en raison de cette faible hydrosolubilité 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).

4. La taille 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).

On peut globalement récapituler les capacités de passage d'un xénobiotique dans le lait avec la figure 25.

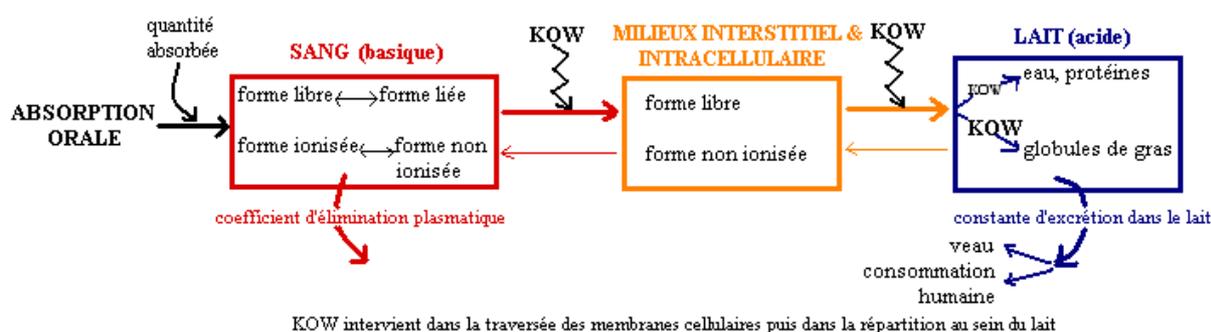


Figure 25 : les modalités d'excrétion d'un xénobiotique dans le lait de vache après absorption orale.

Remarques :

Nous avons ici considéré un composé alors qu'il se trouve déjà dans le sang, mais ce passage est bien évidemment secondaire à l'absorption digestive (dans le cas d'aliments renfermant des pesticides), qui répond aux mêmes lois. En effet, les divers facteurs intervenant dans l'absorption gastro-intestinale d'une substance est surtout corrélée à la taille et la forme de la molécule, son degré d'ionisation aux divers pH des zones du tractus digestif, à la liposolubilité de la forme non ionisée, aux interactions physico-chimiques éventuelles avec les autres substances présentes dans le tube digestif, et aux possibles biotransformations des molécules par la microflore dans la lumière du tube digestif ou dans la muqueuse digestive par intervention de systèmes enzymatiques.

S'il s'agit d'un passage secondaire à une application cutanée (cas des traitements antiparasitaires externes), on observe une traversée transcutanée des composés lipophiles et de petites tailles, la diffusion des molécules hydrosolubles étant en général très lente, mais parfois facilitée par certains solvants et lors de défaut d'intégrité de la peau (rupture de la barrière cutanée ou inflammation ou hyperhémie...) (Kahn, 2005).

Le passage dans le lait de divers composés variera aussi selon la composition du lait, composition liée à l'alimentation de la vache et à l'état de la mamelle. Ainsi la teneur en lipides et les variations de pH (alcalinisation lors de mammite aiguë et acidification en cas de mammite chronique) interviennent, tout comme l'état physiologique de la glande mammaire, l'inflammation facilitant le passage dans le lait (Keck, 1979).

C. Les molécules attendues dans le lait : propriétés physico-chimiques et données bibliographiques

Les LMR et les DJA de la plupart des molécules présentées ci-après sont répertoriées dans l'annexe 10.

1. Insecticides organochlorés

a) Présentation et caractéristiques majeures

⇒ Nature

Ces pesticides sont tous des composés aryles, carbocycliques ou hétérocycliques. On peut globalement les classer en cinq groupes : le DDT et ses analogues, le BHC, les cyclodiènes et autres composés du même type, le toxaphène et ses dérivés, et le mirex et la chlordecone (Hayes et Laws, 1991 (b)).

⇒ Toxicité

La toxicité des insecticides organochlorés se manifeste principalement par une hyperactivité neuronale, et d'autres symptômes légèrement variables selon la molécule en cause : le DDT et ses analogues provoquent des tremblements qui s'intensifient progressivement pour aboutir à des convulsions, tandis qu'avec tous les autres insecticides organochlorés, les convulsions et l'ataxie constituent l'un des premiers signes de l'intoxication (Hayes et Laws, 1991 (b)).

⇒ Modes de contamination du lait

C'est majoritairement la voie alimentaire, lors de la consommation par les vaches de végétaux traités, qui entraîne une pollution du lait et c'est surtout cette dernière que nous allons étudier. Ainsi l'épandage de diverses substances sur les cultures provoque leur ingestion par les ruminants si celles-ci sont suffisamment rémanentes ou appliquées peu de temps avant la récolte.

Bien que la présence d'organochlorés dans la ration des bovins soit surtout liée au traitement des cultures sur pied, les végétaux destinés à nourrir les vaches peuvent aussi subir des contaminations lors de leur stockage, les xénobiotiques impliqués étant alors le plus souvent le lindane ou un autre isomère de l'HCH.

En ce qui concerne le nettoyage-désinfection que les éleveurs réalisent régulièrement, un insecticide était souvent incorporé au désinfectant afin principalement de tuer les mouches, jusque dans les années 1970. Le lindane par exemple, initialement employé afin de traiter les étables, a entraîné, lors de son utilisation expérimentale aux U.S.A., des taux dans le lait variant entre 30 et 80 ppm par rapport à la matière grasse, ce qui impliquait alors que le

traitement de seulement 3% des bâtiments d'élevages aurait suffi à atteindre le seuil toléré de 0,3 ppm (Hayes et Laws, 1991 (b)).

Auparavant aussi, on appliquait parfois, directement sur la peau des vaches, certaines pommades à base d'organochlorés dans le cadre de la lutte contre le varron, mais ce parasite est actuellement très rare et les spécialités en question ont été retirées du marché. Les organochlorés ont désormais été bannis des spécialités visant à protéger des insectes les animaux de rente ou le bâtiment d'élevage (Hascoet, 1971).

⇒ Voies d'absorption et devenir

Tous les organochlorés sont absorbables à travers la peau (mais peu pour le DDT) et par voies digestive et respiratoire. Mais en raison de leur faible pression de vapeur saturante, leur inhalation est en général faible, sauf s'ils se trouvent sous forme d'aérosols de particules de taille réduite. 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 (le jeûne intensifie leur absorption) (Hayes et Laws, 1991 (b)). Cette propriété d'importante liposolubilité est, comme nous l'avons vu, un élément majeur de l'accumulation de ces produits dans les tissus riches en graisse ou dans les globules de gras du lait, d'où leur rémanence considérable. **Les organochlorés constituent donc l'un des risques majeurs vis à vis de la contamination des produits laitiers par des pesticides** (Hascoet, 1971), d'autant qu'on n'atteint jamais l'équilibre des concentrations entre sang et mamelle puisque la sécrétion constante de lait puis la traite diminue la quantité de produit dans la mamelle, maintenant ainsi un gradient de concentration favorable au passage des organochlorés dans le lait presque aussi longtemps qu'il en reste dans l'organisme (Raisbeck et coll., 1989).

C'est donc dans le tissu adipeux qu'ils atteignent leur concentration maximale et on en retrouve aussi un peu dans les autres tissus riches en lipides. La lipophilie n'explique pas à elle seule une telle accumulation : les propriétés structurales, la compétition entre sites de fixation dans le tissu adipeux ou les autres graisses corporelles et surtout l'intensité de leur métabolisation et de leur excrétion interviennent aussi. Ces substances diffèrent par leur propension à être mises en réserve dans l'organisme, même au sein d'un groupe. Par exemple, le DDT et son principal métabolite sont fortement déposés dans le tissu adipeux alors que le méthoxychlore, qui diffère assez peu du DDT, est lui rapidement éliminé et ne s'accumule que très peu. Cette différence est due au métabolisme rapide du méthoxychlore. De même, les divers isomères du BHC ne sont pas déposés proportionnellement à leur affinité pour les lipides mais d'autant plus intensément qu'ils sont faiblement métabolisés et donc lentement éliminés. C'est encore le cas des cyclodiènes : la dieldrine persiste pour une grande fraction dans les graisses, à l'inverse de son isomère l'endrine, dont les métabolites sont très vite excrétés (Hayes et Laws, 1991 (b)).

Les organochlorés peuvent donc être rangés dans l'ordre suivant si l'on tient compte de leur **propension à se concentrer dans le lait : époxyde de l'heptachlore > aldrine et dieldrine > endrine > lindane > heptachlore > méthoxychlore** (Hascoet, 1971).

Tout comme de nombreux xénobiotiques, les insecticides organochlorés sont transformés après absorption 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, comme dit précédemment, 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 (b)).

Compte tenu des différentes phases de l'excrétion des organochlorés que sont l'excrétion directe et celle qui suit le relargage depuis le tissu adipeux, on peut schématiser l'élimination lactée après une administration unique de ces pesticides selon la figure 26, où la courbe (1) représente la concentration liée à l'élimination directe et à la mise en réserve dans les tissus (qui diminue d'autant la capacité à être excrété sur le moment) et la courbe (2) symbolise la concentration liée à la libération de l'organochloré depuis les tissus où il avait été mis en réserve, libération qui intervient lorsque la concentration plasmatique chute en deçà de la concentration des tissus de stockage. La courbe pleine correspond à la concentration lactée obtenue par l'action conjointe de ces deux phases.

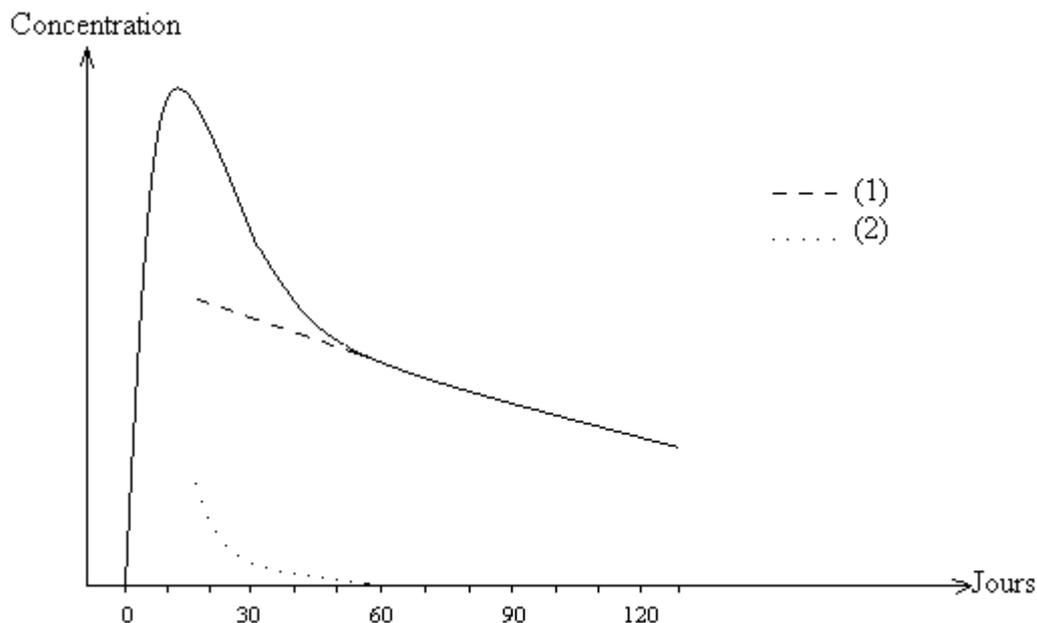


Figure 26 : Concentration théorique de résidus dans le lait après administration d'une dose unique d'un organochloré type
(Raisbeck et coll., 1989)

Le modèle précédent reste cependant assez théorique car les compartiments sont supposés sans relation entre eux alors que ce n'est pas toujours vraiment le cas, et on a aussi considéré ici un tissu adipeux moyen tandis que les différentes variétés de ce tissu admettent des « turns-over » particuliers à chacun. Ceci laisse envisager l'existence d'une troisième voire d'une quatrième phases d'élimination des organochlorés dans le lait.

En réalité, la concentration lactée semble supérieure en début de lactation et le taux d'organochlorés du lait est supérieur à celui du tissu adipeux pendant la phase où la vache

consomme des aliments contaminés. De plus, la proportion de pesticide absorbée est inversement corrélée à la quantité totale présente dans la ration et bien sûr d'autant plus importante que l'ingestion est répétée dans le temps. Après absorption, il existe toujours élimination d'une certaine fraction de l'ingéré, tandis que le reste se dirige vers le tissu adipeux, l'importance relative de ces deux phénomènes reposant sur les propriétés chimiques du composé et sur la quantité déjà déposée dans les tissus (gradient de concentration moindre lors de forte accumulation, d'où plus fort pourcentage d'élimination). L'accumulation des organochlorés selon l'exposition est représentée sur la figure 27.

Par ailleurs, lorsque l'exposition au xénobiotique est interrompue, le gradient de concentration est alors en faveur d'une exportation depuis le tissu adipeux vers le sang puis la mamelle, mais à mesure que l'élimination se produit, comme la concentration dans le tissu adipeux baisse, le gradient s'amenuise, donc la vitesse d'excrétion aussi. C'est pourquoi la demi-vie des composés est alors plus longue, avec une élimination lactée qui perdure à bas bruit. Ceci a été illustré lors de la contamination accidentelle de vaches avec de l'heptachlore : les concentrations lactées ont initialement suivi le modèle biphasique décrit précédemment pendant environ 3 mois ($T_{1/2} \approx 7$ jours en phase (1) et $T_{1/2} \approx 34$ jours en phase (2)) , puis une troisième phase d'élimination bien plus lente s'est mise en place ($T_{1/2} > 300$ jours), avec les conséquences que l'on imagine sur l'aptitude de ce lait à être à nouveau commercialisé. Cette étude est relatée par la figure 27 (Raisbeck et coll., 1989).

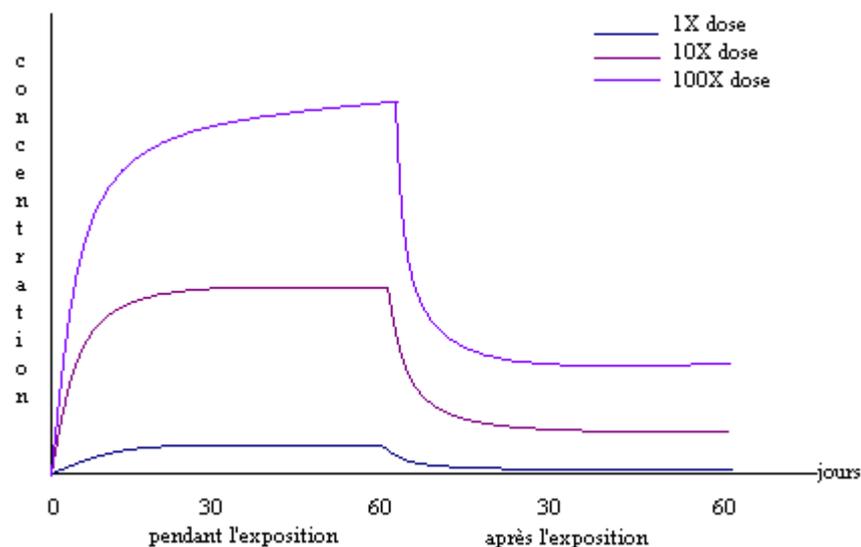


Figure 27 : Concentration d'organochloré dans le tissu adipeux selon le niveau d'exposition
(Raisbeck et coll., 1989)

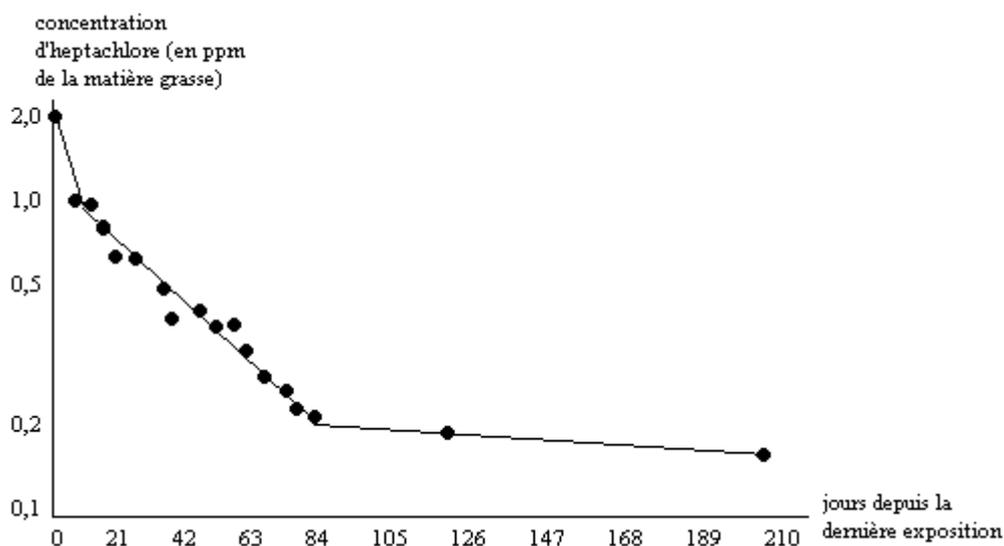


Figure 28 : Résidus d'heptachlore dans le lait suite à la contamination accidentelle d'un troupeau de vaches laitières (Raisbeck et coll., 1989)

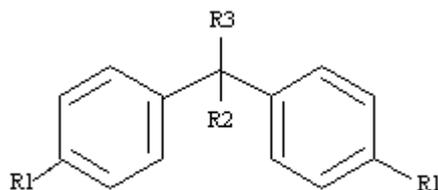
⇒ *Conséquences*

La persistance des organochlorés aussi bien dans les organismes vivants que dans l'environnement justifie leur **dédain actuel alors qu'ils étaient très largement répandus des années 1940 à 1960**, que ce soit pour traiter les cultures destinées à nourrir le bétail, comme pour traiter les étables ou pour traiter les animaux-mêmes. La prise de conscience d'un risque de contamination du lait par divers insecticides organochlorés s'est produite relativement tôt puisque l'un des premiers contrôles effectué par la FDA (« Food and Drug Administration ») fut effectué en 1955. Il permit de montrer que 62% des échantillons de lait de consommation étaient contaminés par des organochlorés (Hascoet, 1971). Cependant, la rémanence notable de ces insecticides implique que, même les terrains traités une dizaine d'années auparavant, sont susceptibles d'en renfermer, les cultures qu'ils portent pouvant alors par cette voie en contenir malgré l'absence de traitement direct. Cole et coll. ont ainsi dosé en 1966 le DDT dans les grains et fourrages de Pennsylvanie et ont mis en évidence que 55% des fourrages et 62% des grains en contenaient entre 0,01 et 0,05 ppm (malgré les mesures de restriction d'usage imposées dès 1960). Saha et ses collègues ont recherché la présence de dieldrine en 1968 au Saskatchewan dans diverses cultures et trouvé plus de 80% des échantillons à plus de 0,01 ppm (Hascoet, 1971).

Le manque d'insecticides aussi efficaces et le coût modéré de ces produits explique la pérennité de leur emploi dans de nombreux pays, encore à l'heure actuelle.

b) Le DDT et ses dérivés

La structure générale de ces composés est du type :



⇒ Le DDT

Ce composé est maintenant interdit en France.

Il permet de lutter contre divers insectes et a existé sous de nombreuses dénominations commerciales. Ses propriétés insecticides ont pour la première fois été mises en évidence en 1939 par Paul Müller et ont initialement servi au contrôle des maladies vectorielles transmises par des insectes comme le paludisme et le typhus, et à la prévention des piqûres d'insectes. Sa commercialisation pour usage agricole a débuté en 1945 aux Etats-Unis, et un peu plus tard dans d'autres pays. Son utilisation s'est ensuite répandue de plus en plus pendant près de deux décennies. Néanmoins, dès le début des années 1960, on s'est aperçu de sa capacité à laisser des résidus dans les végétaux et les productions animales (par le biais de leur alimentation elle-aussi contaminée) et des restrictions d'usage ont été imposées dans les élevages de vaches laitières, cela ne réduisant que peu la consommation totale étant donnée l'importance de la lutte contre la malaria (Hayes et Laws, 1991 (b)).

Le DDT (ou dichloro-diphényl-trichloroéthane) est aussi nommé 1,1,1-trichloro-2,2-bis(4-chlorophényl)éthane, les substituants R1, R2 et R3 étant respectivement Cl, H et Cl₃. Sa masse molaire est de 354,49 g/mol (Hayes et Laws, 1991 (b)). Il est fortement liposoluble : log KOW = 6,91.

Sous forme pure il se présente comme un solide cristallin blanc insipide et quasi-inodore. Très soluble dans les solvants organiques apolaires, il est à l'inverse totalement insoluble dans l'eau. Lorsque le DDT est ingéré, son absorption digestive est facilitée par la présence de lipides dans la ration et grâce à l'action de la bile. La taille trop importante de ses particules explique son dépôt dans les voies respiratoires supérieures puis sa déglutition, donc la voie respiratoire n'intervient pas dans l'absorption de ce composé. De même, la peau n'autorise pas le passage de cette molécule (Hayes et Laws, 1991 (b)).

Une fois absorbé, le DDT peut être mis en réserve dans n'importe quel tissu, avec une préférence pour le tissu adipeux et les autres tissus riches en lipides telles que les glandes surrénales. La concentration de ce composé dans les divers tissus dépend directement de son importance quantitative dans la ration si les autres paramètres alimentaires demeurent constants, et elle diminue si l'administration est interrompue. La majeure partie de cette substance est convertie en DDE et c'est donc surtout cette forme qui est stockée. Il est ensuite excrété sous la forme de divers métabolites (surtout le DDA, ou acide 2,2-bis(4-chlorophényl)acétique) retrouvés dans les fèces, l'urine et aussi dans le lait. Cette dernière voie d'élimination fut vérifiée pour la première fois chez divers mammifères dont la vache dès la fin des années 1940 (Hayes et Laws, 1991 (b)).

⇒ Le TDE ou tétrachlorodiphényléthane

De nom chimique 1,1-dichloro-2,2-bis(4-chlorophényl)éthane et plus communément désigné par le nom DDD, cet analogue du DDT a pour substituants R1, R2 et R3 les groupements Cl, H et CHCl₂ respectivement. Ce composé, de masse molaire 320,05 g/mol, ne peut exister qu'en milieu acide ou neutre et se caractérise par des propriétés de lipophilie semblables à celles du DDT. Par contre, sa toxicité est nettement inférieure à celle du DDT (la DL50 est de plusieurs milliers de milligrammes par kilogramme) (Hayes et Laws, 1991 (b)).

Son isomère majoritaire, l'*o,p'*-DDD, est absorbé à 75% dans le tube digestif et se dépose progressivement dans les divers tissus de l'organisme avec, comme tous les organochlorés, une affinité particulière pour le tissu adipeux et les glandes surrénales, dont élimination est plus lente que dans les autres tissus. La concentration maximale d'accumulation est atteinte en 10 à 20 jours lors de consommation régulière. L'*o,p'*-DDD est utilisé dans le traitement de l'hypercorticisme chez le chien car il diminue la production de corticostéroïdes par les corticosurrénales en provoquant l'atrophie de celles-ci (Hayes et Laws, 1991 (b)).

⇒ Le méthoxychlore

L'utilisation de ce pesticide est aujourd'hui interdite en France.

Il est utilisable pour lutter contre les insectes nuisibles aux végétaux mais aussi sur le bétail, car il est peu toxique (DL50 de plusieurs milliers de milligrammes par kilogramme de poids vif) et de courte demi-vie. C'est pourquoi son usage s'est lui beaucoup développé tandis que celui du DDT diminuait, avant d'être finalement interdit en agriculture (Hayes et Laws, 1991 (b)).

Aussi nommé 1,1,1-trichloro-2,2-bis(4-méthoxyphényl)éthane, cet insecticide se distingue du DDT par ses substituants R1, R2 et R3 qui sont respectivement OCH₃, H et CCl₃. On le nomme parfois, entre autres noms, DMDT (pour diméthoxydiphényltrichloroéthane) ou méthoxy-DDT. Le méthoxychlore a une masse molaire de 345,65 g/mol. Il se présente sous forme pure comme un solide cristallin incolore et sous sa forme technique comme une poudre lamellaire grise. Le méthoxychlore est résistant à l'oxydation et doté des mêmes caractéristiques de liposolubilité que le DDT.

Cette molécule est très facilement absorbée dans le tractus digestif, mais son accumulation dans le tissu adipeux est très restreinte et il y persiste très peu. Il est excrété sous forme de dérivés hydroxyphényles.

⇒ L'HCH

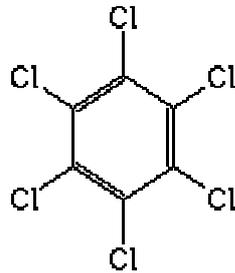
L'AMM de ce produit a été suspendue en France.

De même, à l'heure actuelle, on ne trouve plus aucune spécialité vétérinaire à base de lindane destinée au bétail, les seuls produits encore acceptés sont destinés aux carnivores domestiques et/ou au cheval.

L'hexachlorobenzène ou HCH a pour dénomination chimique 1,2,3,4,5,6-hexachlorocyclohexane. Il est encore désigné par le terme hexachlorure de benzène, ou BHC. Le composé technique est un ensemble d'isomères et de dérivés. Il existe huit isomères d'HCH, dont six sont assez stables. Le γ -HCH est aussi appelé lindane et c'est celui qui

possède des propriétés insecticides. Il a une bonne liposolubilité : $\log KOW = 3,5$ (Gouzy et Farret, 2006).

Formule plane de l'hexachlorocyclohexane :



L'HCH a pour masse molaire 290,80 g/mol et se présente, pour la forme technique, comme une poudre marron à odeur de moisi. Il résiste à l'action des acides mais est sensible aux bases qui provoquent sa déshydrochloration, libérant de l'acide chlorhydrique, ce qui a justifié sa restriction d'utilisation dans les vaporisateurs (car la chaleur entraîne le relargage d'HCl) et en tant que fumigène dès les années 1950. En effet, il a été utilisé sur les cultures et dans le cadre de la lutte contre les maladies transmises par des insectes telles que le paludisme. Sa toxicité varie, avec une DL50 de 50 à 1000mg/kg, selon l'espèce de l'animal sur lequel on l'applique (lapin très sensible) et selon la voie, étant modérément toxique par os. L'intoxication est à l'origine de polypnée, d'hyperactivité extériorisée par des tremblements, de l'ataxie, parfois des convulsions, et autres manifestations interrompues par la mort de l'animal en moins de 24h la plupart du temps (Hayes et Laws, 1991 (b)).

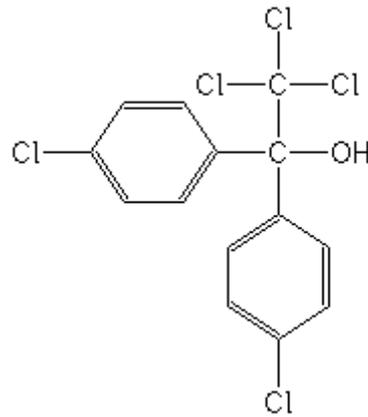
L'absorption de ce composé est possible par voies cutanée, respiratoire et digestive. Albro et Thomas ont en 1974 mesuré le taux d'absorption gastro-intestinale chez des rats de divers isomères d'HCH : ils ont montré que 90,7 à 99,4% du composé sont absorbés, la proportion la plus forte concernant le lindane. En moyenne, 94,9% de l'HCH technique est absorbé par cette voie lors d'administration pendant 14 jours dans la ration. C'est encore une fois dans le tissu adipeux que s'accumule la plus grande quantité de BHC, mais en moindre proportion comparativement à d'autres organochlorés comme le DDT et la dieldrine.

Après absorption, le BHC subit une oxydation par le cytochrome P450, puis diverses réactions telles que des conjugaisons générant des glucuronoconjugués. L'excrétion se produit par voies fécale et urinaire, plus ou moins efficacement selon l'isomère considéré (plus efficace pour le lindane). Elle est possible dans les fèces, l'urine et le lait. En 1974, Hori et Kashimoto ont évalué l'importance de l'excrétion lactée suite à l'administration de β -HCH radioactif à des souris en lactation : de 60 à 63,8% de la dose initial étaient finalement éliminés dans le lait. Cette expérience met donc en exergue l'importance quantitative de cette voie d'élimination (Hayes et Laws, 1991 (b)).

⇒ Le dicofol

Cet **acaricide** est aussi désigné par la nomenclature chimique 1,1-bis-(4-chlorophényl)-2,2,2-trichloroéthanol ($C_{14}H_9Cl_5O$). Il a un poids molaire de 370,51 g/mol et se présente comme un liquide visqueux très peu soluble dans l'eau mais beaucoup dans les solvants organiques. **C'est le seul organochloré dont l'usage soit encore autorisé actuellement.** Il reste, comme les autres organochlorés, **fortement lipophile avec $\log KOW = 4,28$** , et a tendance à se décomposer rapidement en milieu basique (AFSSA, 2007).

Formule semi-développée du dicofol :



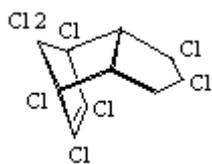
Ce composé est indiqué dans le **traitement des parties aériennes de certaines cultures** telles que le soja et le maïs, à raison de 720 g/ha (MAP, 2007).

c) Les cyclodiènes et apparentés

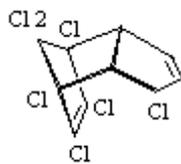
⇒ Présentation générale

On trouve en particulier parmi ces insecticides les couples d'isomères aldrine/isodrine et dieldrine/endrine, le chlordane, l'heptachlore, l'isobenzan et l'endosulfan. Malgré leurs ressemblances au niveau moléculaire, ces composés diffèrent grandement par leur métabolisme et leur stockage éventuel (Hayes et Laws, 1991 (b)).

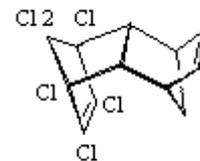
Voici la structure de quelques uns de ces insecticides :



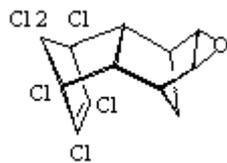
β -Chlordane



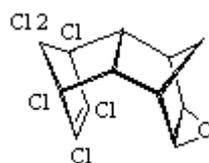
Heptachlore



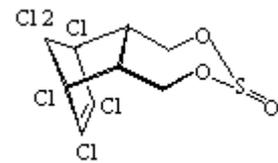
Aldrine



Dieldrine



Endrine



α -Endosulfan

⇒ Le chlordane

Il a été utilisé dès 1945, afin de traiter de nombreux végétaux (maïs, divers oléagineux, pommes de terre, fruits...) et d'éliminer les parasites à l'intérieur des habitations, en particulier contre les termites. Cette dernière indication est d'ailleurs aujourd'hui la principale et consiste en l'application d'une solution huileuse.

Sa dénomination chimique est 1,2,4,5,6,7,8,8-octachloro-3a,7,7a-tetrahydro-4,7-méthanoindane et il se présente sous la forme de deux isomères principaux, le *cis* (représenté ci-dessus) étant prépondérant. Son poids molaire s'élève à 409,80 g/mol. La forme technique de ce produit contient bien sûr principalement du chlordane, mais on y trouvait auparavant aussi d'autres substances en faibles proportions : heptachlore, nonachlore, etc... Elle apparaît comme un liquide de teinte ambrée et de consistance visqueuse. Le chlordane est instable en présence de bases faibles, il est soluble dans la plupart des solvants organiques mais quasi-totalement insolubles dans l'eau (Hayes et Laws, 1991 (b)).

Le chlordane peut pénétrer dans l'organisme par voies respiratoire et orale. Lors d'administration suffisamment importante, il s'accumule dans les différents tissus et organes avec une affinité supérieure pour le tissu adipeux et/ou le rein (selon l'isomère en cause). Les composés ainsi déposés sont ainsi du chlordane en tant que tel, mais surtout des métabolites issus de son métabolisme par le foie. Le chlordane est la cible d'importantes biotransformations générant de nombreux métabolites éliminés via les urines et les fèces (Hayes et Laws, 1991 (b)).

⇒ L'heptachlore :

Comme le chlordane, il sert beaucoup comme insecticide sur les cultures et contre les termites (cet usage est maintenant le seul autorisé). Considéré comme un polluant organique persistant, il est suspecté d'avoir des effets endocriniens, d'où son interdiction dans l'Union Européenne (Bonnomet, 2004).

Le 1,4,5,6,7,8,8-heptachloro-3a,4,7,7a-tetrahydro-4,7-méthanoindane ($C_{10}H_5Cl_7$) se présente sous sa forme pure comme un solide cristallin blanc dont l'odeur ressemble un peu à celle du camphre et a une masse molaire de 373,35 g/mol. L'heptachlore est assez peu miscible à l'eau (0,056 et 0,350 ppm respectivement pour l'heptachlore et son époxyde) mais très soluble dans les solvants organiques et doté d'une très forte lipophilie : $\log KOW = 5,44$ à 6,1 (Bonnomet, 2004). La formulation utilisée en agriculture contient 72% d'heptachlore et les 28% restant renferment des substances apparentées (Hayes et Laws, 1991 (b)).

Il est absorbable à travers la peau, lors d'inhalation et lors d'ingestion. Son métabolisme engendre toute une variété de molécules, dont l'époxyde de l'heptachlore, qui sont éliminés dans l'urine, les fèces et le lait. Il peut perdurer dans le tissu adipeux, les reins et le cerveau (Hayes et Laws, 1991 (b)). Sa biodégradation dans le milieu extérieur se déroule très lentement et ce pesticide se caractérise par une forte persistance, notamment au cours de la chaîne alimentaire, avec un grand potentiel de bioconcentration du fait de sa liposolubilité (Bonnomet, 2004).

⇒ L'aldrine et la dieldrine

Ces deux insecticides ont été employés dès les années 1950 pour traiter les végétaux et dans le cadre de la lutte contre les maladies transmises par les insectes telles que la malaria.

L'aldrine est rapidement métabolisée en dieldrine après absorption, c'est pourquoi la législation regroupe ces deux molécules. La première est aussi appelée 1,2,3,4,10,10-hexachloro-1,4,4a,5,8,8a-hexahydro-*endo*-1,4-*exo*-5,8-diméthanonaphthalène et la deuxième 1,2,3,4,10,10-hexachloro-6,7-epoxy-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octahydro-*endo*-1,4-*exo*-5,8-diméthanonaphthalène. Les poids moléculaires de l'aldrine et la dieldrine sont respectivement de 364,93 et 380,93 Daltons et toutes deux apparaissent sous forme pure comme des solides cristallins blancs inodores. En tant que produits techniques, elles prennent une couleur brune car ces composés ne sont jamais parfaitement pur : ils contiennent environ 80 à 85% de la substance elle-même et le reste se compose surtout de dérivés doués eux-aussi de propriétés insecticides. Elles résistent à l'action des bases et à celle des acides faibles, mais pas aux acides inorganiques concentrés, aux enzymes acides et oxydantes, aux phénols et aux métaux actifs. L'aldrine est moyennement soluble dans les huiles minérales, les hydrocarbures aromatiques, les solvants halogénés, les esters et les cétones, un peu plus dans les alcools et faiblement dans l'eau (à raison de 0,027 ppm). La dieldrine, elle, est bien plus soluble dans les solvants aromatiques et halogénés que dans les alcools et les hydrocarbures aliphatiques et presque insoluble dans l'eau (à raison de 0,186 ppm) (Hayes et Laws, 1991 (b)).

Absorbables dans le tube digestif, les voies respiratoires et à travers la peau, des composés sont capables de se déposer dans l'ensemble de l'organisme, avec une affinité plus marquée pour le tissu adipeux. L'aldrine est presque immédiatement convertie en dieldrine dans n'importe quel organisme vivant (animal ou végétal). Dans le sang, une importante fraction de la dieldrine se fixe sur les lipoprotéines et les globulines et une moindre proportion sur l'albumine. Le métabolisme fait intervenir une oxydation par le cytochrome P-450. Les métabolites obtenus sont majoritairement excrétés par voie urinaire, mais aussi dans les fèces et il est possible d'en retrouver dans le lait (Hayes et Laws, 1991 (b)).

⇒ L'endrine

Au début des années 1950, cet insecticide et souricide fut principalement employé sur les cultures de coton et le grain stocké.

La nomenclature chimique désigne cette substance sous le terme 1,2,3,4,10,10-hexachloro-6,7-epoxy-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octahydro-1,4-*endo-endo*-5,8-diméthnonaphthalène. De masse molaire égale à 380,93 g/mol, solide cristallin blanc lorsqu'il est sous forme pure et poudre beige sous forme technique, l'endrine se décompose sous l'action des acides, est moyennement soluble dans les solvants organiques et peu soluble dans l'eau (0,23 ppm) (Hayes et Laws, 1991 (b)).

Du fait de son important métabolisme oxydatif, l'endrine est assez peu encline à s'accumuler dans l'organisme lors d'administrations répétées. Elle est oxydée (voie dépendante des cytochromes P-450) puis éventuellement conjuguée pour donner trois métabolites principaux relativement hydrosolubles (cis-12-hydroxyendrine, 12-cétoendrine, trans-12-hydroxyendrine) éliminés pour la plus large part dans les fèces (Hayes et Laws, 1991 (b)).

⇒ L'endosulfan

Son utilisation remonte aux années 1960, exclusivement sur les cultures.

C'est en réalité un mélange de deux stéréo-isomères α et β du 3-oxyde de 6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-6,9-méthano-2,4,3-benzodioxathiepine ($C_9H_6Cl_6O_3S$) avec un poids molaire de 406,95 g/mol. L'isomère α constitue 70% du composé final et l'isomère β les 30% restant. Le produit technique est pur à 90-95% et a l'aspect d'un solide brun et cristallin qui sent le dioxyde de soufre. Il est lentement hydrolysé par l'eau et les acides, mais très sensible aux bases. Modérément soluble dans la plupart des solvants organiques, il reste complètement insoluble dans l'eau (Hayes et Laws, 1991 (b)). Sa liposolubilité est quant à elle assez élevée puisque $\log KOW = 3,6$ à $4,79$ selon les conditions d'évaluation (Gouzy et Farret, 2006).

L'absorption de ce xénobiotique est possible quelle que soit la voie et il subit de nombreuses réactions métaboliques menant à des molécules plus simples dont seulement environ 20% sont lipophiles, d'où sa rapide excrétion urinaire et fécale. Cependant, lors d'absorption d'une quantité massive, on peut en retrouver dans le lait (surtout sous la forme de sulfate) (Gorbach et coll, 1968) (Hayes et Laws, 1991 (b)).

Comme l'endrine, sa rémanence au sein de l'organisme et dans l'environnement est faible.

Les organochlorés, produits phytosanitaires fortement employés entre les années 1940 et 1960 en France du fait d'une très bonne efficacité pour un coût modeste, sont caractérisés par une forte lipophilie, une très longue rémanence, et d'autres propriétés favorisant une excellente diffusion dans le lait. La prise de conscience de leur nocivité a été bien plus précoce que pour d'autres pesticides, mais leur capacité à perdurer dans le milieu extérieur a rendu initialement inefficace l'interdiction de leur emploi (exception faite du dicofol encore autorisé) vis à vis de la contamination du lait en France.

d) Dosage dans les produits laitiers : étude bibliographique

⇒ Considérations générales

Les études portant sur ces produits sont extrêmement nombreuses en raison de leur large utilisation jusque dans les années 1970 dans les pays développés et jusqu'encore récemment (années 1990 et après) dans certains pays en voie de développement et à cause de leur faculté de bioconcentration et de leur grande rémanence, propriétés bien connues. Ces composés étaient en effet très efficaces et peu coûteux. Ainsi, nous ne chercherons absolument pas ici à être exhaustifs concernant les études faites à leur sujet, mais nous relaterons divers résultats d'époques différentes afin de donner 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 en 1969 dans le cadre de la désinsectisation des étables (arrêté du 15 octobre 1969 et circulaire du 20 juillet 1970) et en 1974 en agriculture (sauf le lindane). Malgré l'interdiction des organochlorés dans les pays développés, ces xénobiotiques représentent encore une menace sérieuse dans les pays en voie de développement car ils ont

beaucoup servi dans le cadre de la lutte antipaludéenne ainsi qu'en agriculture du fait de leur grande efficacité pour un coût relativement limité. Ceci explique peut-être en partie pourquoi on en a retrouvé récemment voire qu'on en détecte encore actuellement en tant que résidus dans certains de ces pays.

⇒ Expériences sur la contamination d'origine alimentaire

En 1959, Hayes démontra que lorsqu'on nourrit des vaches avec une ration contenant une dose de DDT relativement importante mais inférieure au seuil de toxicité, la quantité excrétée dans le lait représente 10% ou plus (parfois même jusqu'à plus de 30%) de la quantité initialement ingérée (Hayes et Laws, 1991 (b)).

Le niveau de contamination du lait et des produits laitiers aux USA a été étudié précocement : en 1962, l'analyse de plus de 40 000 prélèvements a mis en évidence une contamination de 79,1% d'entre eux par le DDT ou ses dérivés, du HCH (tous isomères confondus) dans 12,3% des prélèvements et du méthoxychlore (relativement peu rémanent) dans 5,7% des cas (Hascoet, 1971). Le même type d'étude réalisée en France en 1968 a démontré que 60% des beurres produits dans notre pays renfermaient du DDT et que tous contenaient de l'HCH (Hascoet, 1971).

Ivey, Ivie, Coppock et coll. ont montré qu'une vaporisation unique de méthoxychlore sur les aliments destinés à des vaches laitières avec un spray à 0,5% aboutissait à 3 ppm de résidus au pic d'excrétion, mais qu'on ne détectait plus rien après 14 jours (Raisbeck et coll., 1989).

Dorough et Hemken (1973) ont administré diverses concentrations de chlordane à des vaches laitières dans la ration : avec des doses de 1, 10 et 100 ppm appliquées pendant 60 jours, ils ont mis en évidence des concentrations dans la matière grasse du lait s'élevant respectivement à 0,5, 2,5 et 5 ppm. Les valeurs ainsi observées sont obtenues après une phase en plateau, où la concentration se stabilise, correspondant au moment où la concentration dans le tissu adipeux approche la teneur plasmatique. Pour 1 ppm, le plateau a été atteint en 10 jours, il fallait 35 jours avec 10 ppm et 45 jours avec 100 ppm (Raisbeck et coll., 1989).

Une étude menée sur des vaches laitières par Bruce, Link et Decker (1964) a établi des concentrations moyennes d'heptachlore dans le lait de vaches nourries avec une ration en recelant 0,2, 0,5, 1,5, 10 ou 50 ppm pendant douze semaines s'élevant respectivement à 4,25, 11,25, 21,7, 119,7 et 460 ppm par rapport à la matière grasse de ce lait. Une autre expérience de Demott, Miles, Hinton et coll. (1966) a mis en évidence des concentrations maximales dans la matière grasse du lait (après obtention du plateau de stabilisation) de 0,22 et 0,34 ppm sur des vaches ayant reçu respectivement 0,08 et 0,29 ppm de ce composé dans leur ration pendant 35 jours (Raisbeck et coll., 1989).

Une étude menée sur des vaches laitières a mis en évidence, après administration d'1, 10 et 40 ppm d'aldrine dans la ration pendant 112 jours, des concentrations dans le lait total de 0,41, 3,42 et 16,1 ppm de résidus respectivement. De même, une autre expérience chez des génisses laitières ayant reçu pendant 500 jours une dose de 1 mg/kg d'aldrine a abouti à des concentrations stables de 0,15 ppm et 10 à 40 ppm de dieldrine dans la matière grasse du lait. Chez des vaches laitières recevant 0,11 mg/kg de dieldrine pendant 56 jours, Braund, Brown et Huber (1969) ont trouvé des résidus à hauteur de 21 ppm dans la matière grasse du lait (Raisbeck et coll., 1989).

Une expérience a permis de déceler la présence de 0,01, 0,02, 0,04 et 0,1 ppm d'endrine dans le lait total de vaches nourries pendant 84 jours avec une ration en renfermant respectivement 0,1, 0,25, 0,75 et 2 ppm (Raisbeck et coll., 1989).

Willett et coll. ont en 1993 démontré le lien entre la contamination des sols et celle des vaches par des organochlorés, via la consommation de fourrages. Ils ont examiné en

particulier le DDT et ses métabolites, dont les capacités d'accumulation dans les matières grasses du tissu adipeux et du lait sont bien établies. Dans cette optique, ils ont suivi pendant 3 ans des vaches pâturant sur des parcelles dont le sol contenait divers organochlorés (DDT, DDE, DDD, dieldrine et lindane principalement) et mesuré les concentrations en résidus du lait des 30 vaches participant à cette étude, en relation avec le niveau de contamination de la parcelle sur laquelle elles se trouvaient. Les résultats obtenus montrèrent la présence d'heptachlore, de lindane et de DDT et ses métabolites, ces derniers étant majoritaires, avec plus de 0,120 µg/g (par rapport à la matière grasse du lait) de DDE pour 11 vaches sur les 30 (avec des concentrations en DDT, DDD et DDE comprises entre 0,15 et 1,90 µg/g de sol) (Willett et coll., 2004).

⇒ *Niveaux de contamination en France et dans le reste du monde*

Une enquête fut réalisée de 1975 à 1980 avec les DDSV (Directions Départementales des Services Vétérinaires) afin de rechercher les résidus d'organochlorés dans des fromages bovins et des beurres et d'en tirer une carte des départements français. L'examen des données recueillies permit de mettre en évidence une diminution du taux de contamination des produits laitiers entre 1975 et 1978, les valeurs les plus fortes se rapportant au lindane, fait logique puisque ce composé était le seul insecticide organochloré encore autorisé en agriculture, principalement sur les cultures de maïs et de betteraves. L' α -HCH était le deuxième organochloré le plus présent. Les concentrations moyennes de lindane et d' α -HCH en 1980 s'élevaient encore respectivement à 0,024 et 0,019 ppm. Il y avait donc une certaine diminution, même si elle tendait à s'infléchir sur les cinq dernières années. Pour l'HCB, les concentrations avaient nettement baissé, étant presque divisée par deux en 3 ans pour arriver à 0,020 ppm en 1978 et 0,015 ppm en 1980 (peut-être à cause de leur emploi industriel). Les cyclodiènes avaient eux-aussi bien diminué (moyenne de 0,022 ppm en 1980) et on retrouvait assez rarement le DDT. Les niveaux de contamination des départements français étaient tous semblables et en baisse, bien que l'Oise et l'Aisne fussent encore les plus touchés vis à vis des cyclodiènes en raison d'une plus grande contamination initiale. Suite à ces observations, les auteurs en ont conclu que le niveau de contamination des produits laitiers par des résidus d'organochlorés était peu important en 1980 en France, malgré la persistance particulière des isomères de l'HCH (Venant et Richou-bac, 1981).

Les résidus de **pesticides organo-chlorés** restent problématiques en **Asie** et dans **certains pays du Pacifique Sud**. Ainsi, comme le DDT et d'autres insecticides de la même famille y étaient encore souvent employés jusqu'à assez récemment, leurs concentrations au sein des divers aliments s'élevaient à des niveaux préoccupants vis à vis de la santé humaine. En Inde, depuis la fin des années 1960, l'HCH et le DDT demeurent les produits majoritairement décelés dans les denrées alimentaires, même si leurs quantités dans les aliments destinés aux animaux a été divisée par deux en vingt ans. **Le lait et les produits laitiers en restent d'ailleurs les sources les plus importantes dans ce pays**, et les quantités ingérées par les habitants de ce pays sont environ 100 fois plus élevées que dans les pays développés, les doses journalières s'approchant ou dépassant les DJA établies par la FAO et la WHO. En Asie du sud-est, le DDT est le plus communément présent dans les denrées alimentaires d'origine animale, et même si les doses absorbées par les autochtones sont bien moindres qu'en Inde, elles représentent encore 5 à 10 fois celles estimées dans les pays développés (Kannan et coll., 1997). Par exemple en Chine, en 2001, Zhong et coll. ont dosé le DDT et l'HCH dans 72 échantillons de lait achetés en grande surface et obtenu des concentrations moyennes respectives de 0,046 et 0,038 mg/kg (par rapport à la matière grasse), avec 3 cas excédant les LMR malgré l'interdiction de ces produits depuis 1983. Ces résultats seraient dus à la très longue rémanence de ces molécules dans l'environnement et

probablement à leur utilisation illégale en agriculture (Zhong et coll., 2003). L'Australie et la Nouvelle-Zélande doivent pour leur part faire face à un excès de chlordanes et de PCBs dans les aliments. Les habitants de ces pays sont ainsi très nettement surexposés aux organochlorés, en particulier les enfants par l'intermédiaire du lait de vache et de celui de leur mère. Certains facteurs tels que la malnutrition peuvent accroître le risque d'exposition dans les pays pauvres. Cette synthèse avait pour objectif de dresser un bilan des contaminations à une époque où la mondialisation croissante pourrait induire le commerce de produits insalubres vers les pays développés pourtant censés être à l'abri de ces pesticides (Kannan et coll., 1997).

L'Inde semble particulièrement affectée par les risques liés aux organochlorés. En effet, plusieurs observations dont certaines très récentes indiquent un taux d'exposition préoccupant :

- Dua et coll. ont recherché la présence de résidus de DDT et de HCH dans le lait de femme et de vache en 1997, dans des zones où ces substances étaient ou non employées pour lutter contre la malaria. Dans l'une des deux régions en question, où le contrôle de la maladie était strictement basé sur une stratégie bioenvironnementale, les teneurs moyennes en résidus de DDT et d'HCH s'élevaient respectivement à 0,027 et 0,021 mg/kg dans le lait de femme, contre 0,089 et 0,149 dans la seconde région examinée, où l'on répandait des pesticides afin d'éliminer les anophèles responsables de la transmission. Pour le lait de vache, les résultats obtenus étaient, dans le même ordre, de 0,019 et 0,008 mg/kg, et de 0,058 et 0,029 mg/kg. Les différences étaient statistiquement significatives, et 38,5% des échantillons de la zone traitée excédaient les LMR. Cette expérience a donc permis de démontrer nettement le lien entre l'exposition à ces pesticides et l'existence de résidus décelables dans le lait (Dua et coll., 1997).

- Une étude s'étalant de 1999 à 2002 à Punjab, en Inde, a établi que les résidus de DDT et de lindane dosés dans 46 échantillons de rations alimentaires globales se trouvaient en faibles quantités, c'est à dire à des niveaux proches de ceux des pays développés. Cependant, les denrées alimentaires faisaient encore l'objet d'une contamination malgré les mesures d'interdiction du DDT et de limitation du lindane, et la prédominance du lindane indiquait que le lait liquide restait la source majeure de contamination, représentant environ 21% de la dose totale ingérée quotidiennement (Battu et coll., 2005).

- De même, sur 92 échantillons de lait analysés entre 1999 et 2001 dans une région d'Inde, 7,4% renfermaient du DDT, à des concentrations supérieures à la LMR dans un tiers des cas, et 53,3% des prélèvements étaient porteurs de lindane, les teneurs excédant alors systématiquement la LMR. Avec le beurre, sur 40 échantillons, 28 étaient positifs pour le DDT contre 8 pour le lindane (lipophilie plus grande pour le DDT), mais jamais au delà des LMR. Globalement, il a été conclu de cette enquête que la dose estimée de lindane ingérée par les enfants surpassait la DJA (Battu et coll., 2004).

- Lors d'une autre recherche visant à évaluer le niveau de contamination du beurre et de la ghee en zone cotonnière, c'est de l'endosulfan qui a été révélé dans une immense majorité des échantillons, de façon encore plus marquée dans le beurre que dans la ghee (97% contre 94%) du fait de la très forte lipophilie des organochlorés. Dans environ 11% des beurres testés, la quantité d'endosulfan dépassait la LMR et pour la ghee, 20% des prélèvements contenaient plus d'endosulfan que la limite admise, et du DDT et de l'HCH ont aussi été mis en évidence, à des teneurs au delà des LMR dans 5% des cas (Kumari et coll., 2005).

Cette région du monde est cependant loin d'être la seule concernée puisque lors d'un bilan effectué en Grèce sur les années 1991 et 1992 à partir de 38 prélèvements de lait de vache et de 28 échantillons de 3 types de fromages collectés dans l'ensemble du pays, un ou

plusieurs polluants parmi le lindane, l' α -HCH et le *p,p'*-DDE ont été détectés dans 11 laits, soit 28,9% des cas (lindane 0,8 à 7 ng/g dans 5 prélèvements, α -HCH 16 à 18 ng/g dans 2 cas et *p,p'*-DDE 14 à 22 ng/g dans 4 cas par rapport à la matière grasse), et 9 fromages, soit 32,1%, étaient contaminés par du lindane (0,8 à 2 ng/g), de l' α -HCH (4 à 10 ng/g), du *p,p'*-DDE (20 à 70 ng/g) et/ou de l'aldrine (0,2 ng/g). Heureusement, toutes les concentrations moyennes se situaient en dessous des LMR fixées par l'Union Européenne (Mallatou et coll., 1997).

Ciscato et coll. (2002) ont mesuré les concentrations en résidus d'organochlorés au Brésil dans la ville de San Paulo dans 132 échantillons de lait de vache collectés soit dans des camions citernes (38), soit dans des supermarchés (94, lait pasteurisé). L'analyse portait sur plus de 70 substances, identifiées et quantifiées par chromatographie en phase gazeuse. 0,76% des laits renfermaient de l' α -HCH et 10,6% de l'endosulfan. 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'endosulfan n'est toléré que sur quelques cultures (Ciscato et coll., 2002).

Au Mexique, Waliszewski et coll. (2003) se sont intéressés à l'évolution du taux de contamination du lait de vache entre 1998 et 2001, en recueillant 150 échantillons pour chacune de ces deux années. Les dosages portaient sur l' α et le β -HCH, le *p,p'*-DDE, l'*o,p'*-DDT et le *p,p'*-DDT. Ils ont montré que le β -HCH constituait le polluants majeur (0,106 et 0,087 mg/kg de matière grasse), suivi par le *p,p'*-DDT (0,051 et 0,033 mg/kg de matière grasse) et le *p,p'*-DDE (0,078 et 0,037 mg/kg de matière grasse), les deux autres composés apparaissant à de bien plus faibles teneurs. Il en a été déduit que le niveau de DDT avait significativement diminué entre 1998 et 2001, consécutivement au remplacement des organochlorés par des pyréthriinoïdes dans le cadre de la lutte contre la malaria en 1999 (Waliszewski et coll., 2003).

En 2006, une enquête réalisée en Afrique du Sud sur 152 échantillons de lait de femmes a permis d'y déceler des résidus de DDT avec une concentration moyenne allant jusqu'à 238,23 μ g/l sur le lait entier dans une des villes testées, les quantités de cet insecticide dépassant la DJA chez les enfants (Bouwman et coll., 2006).

Les organochlorés, composés caractérisés par un fort coefficient octanol-eau et passant donc facilement dans le lait, constituent donc encore une source de préoccupation majeure principalement dans les pays en voie de développement, et même si les pays industrialisés affichent des résultats satisfaisants vis à vis de la faible pollution des denrées alimentaires, le développement des échanges internationaux les amène à rester indirectement concernés par ce problème.

2. Les pesticides organophosphorés

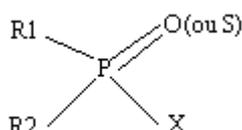
a) Généralités

\Rightarrow Propriétés physico-chimiques et usage

Les organophosphorés ont tous en commun une même structure chimique, mais ils diffèrent en réalité beaucoup dans le détail de cette structure, qui leur confère des propriétés physico-chimiques et pharmacologiques très diverses. Les propriétés insecticides de certains

d'entre eux ont été mise en évidence en 1937 par Schrader, qui a ensuite aussi découvert le premier pesticide organophosphoré commercialisé en 1941. En raison de leur faible rémanence, l'utilisation des organophosphorés s'est accrue à mesure que diminuait celle des organochlorés, ces derniers étant, comme nous l'avons vu, fortement persistants. Ce sont plus tard les carbamates qui ont vu leur usage augmenter alors que celui des organophosphorés a régressé, ce qui s'explique par la biodégradation rapide des carbamates. Ces deux dernières catégories sont depuis restées les plus utilisées en tant que pesticides (Hayes et Laws, 1991 (b)).

La formule générale des organophosphorés est du type :



A partir de cette formule, on peut diviser les organophosphorés en quatre groupes majeurs en fonction de la nature du constituant noté « X » :

- Groupe I où X contient un ammonium quaternaire
- Groupe II où X est un atome de fluor
- Groupe III où X peut être CN, OCN, SCN, ou un halogène autre que le fluor
- Groupe IV : on y trouve une multitude de molécules. Cette diversité justifie la subdivision de ce groupe en huit sous-groupes, dont le dernier rassemble des molécules à substituants R1 et R2 différents, ce qui n'est pas le cas dans les autres sous-groupes :
 - o Sous-groupe 1 : Diméthoxy
 - o Sous-groupe 2 : Diéthoxy
 - o Sous-groupe 3 : Autres dialkyloxy
 - o Sous-groupe 4 : Diamino
 - o Sous-groupe 5 : Dialkyloxy portant du chlore ou un autre substituant
 - o Sous-groupe 6 : Trithioalkyle
 - o Sous-groupe 7 : Triphényle et triphényles substitués
 - o Sous-groupe 8 : Substituants divers

⇒ Activité et toxicité

Les organophosphorés du groupe I sont aussi dénommés phosphorylcholines. Ce sont des inhibiteurs des cholinestérases et ils peuvent aussi avoir une action directement cholinergique, d'où leur très forte toxicité potentielle.

Le groupe II renferme des produits presque aussi toxiques, les fluorophosphates, dont la volatilité a permis de faire des gaz de guerre agissant sur le système nerveux pour certains d'entre eux (exemples : tabun, sarin, soman...). Rares sont les composés de ce groupe ayant servi comme pesticides, par exemple le dimefox et le mipafox.

Les constituants du groupe III ont une toxicité intermédiaire entre les fluorophosphates et la dernière catégorie, qui recèle la majorité des pesticides. Ces composés ont servi de gaz de guerre pour certains.

La quatrième classe comprend une importante proportion de pesticides divers dont la toxicité varie de faible à très forte. Les sous-groupes 1 et 2 rassemblent la plupart des produits phytosanitaires organophosphorés, doués le plus souvent de propriétés insecticides et/ou herbicides (Hayes et Laws, 1991 (b)).

On pourrait aussi ranger les organophosphorés selon leur activité, avec une distinction entre :

- Des antiparasitaires systémiques : crufomate, trichlorfon, dichlorvos, ronnel, chlorophacinone et coumaphos ont tous déjà été administrés à des mammifères.
- D'autres molécules à activité systémique ayant été utilisées en médecine humaine : paraoxon, schradan, TEPP et DFP ont servi à soigner le glaucome et la myasthénie grave.
- Des antiparasitaires topiques appliqués sur la peau, les cheveux ou les vêtements contre les poux ou les mites, par exemple le malathion et le téméphos.
- Des insecticides non herbicides : ils sont dotés de la capacité à être absorbés par certaines parties des plantes et à s'y répartir pour aller dans des organes où les insectes sucent la sève ou le nectar, ce qui les tue. En pratique, ces insecticides sont généralement déposés sur les feuilles ou le sol. Au sein de cette famille on citera par exemple le déméton, le déméphion, le crufomate, le diméfox, le diméthoate, l'endothion, le pyrazophos, le fenchlorphos, le ménazon, le phosphamidon, le thiométon...

⇒ Absorption, distribution, métabolisme et élimination

Les insecticides organophosphorés sont absorbables par voies cutanée (lente), respiratoire et digestive. Leur facilité à traverser la barrière hémato-méningée après absorption et leur activité anti-cholinestérasique détermine leur degré de toxicité. Une étude menée en 1961 par Fredriksson et Bigelow sur des souris a permis de préciser l'importance de leur concentration dans les tissus : ils s'accumulent le plus fortement dans le tissu adipeux brun et les glandes salivaires, beaucoup aussi dans le foie, les reins et le tissu adipeux banal, moyennement dans les muqueuses digestives, la thyroïde, la rate et les poumons et peu dans le système nerveux central, les muscles et la moelle osseuse. On peut donc raisonnablement extrapoler ceci aux bovins, au moins en ce qui concerne le tissu adipeux, pour lequel la lipomobilisation peut libérer un composé stocké. Le dépôt tissulaire suppose quand même une lipophilie suffisante et les composés très hydrosolubles (ex : dicrotophos) sont donc vite excrétés et non rémanents dans les tissus animaux. La métabolisation des organophosphorés est très rapide.

Dans les groupes d'organophosphorés où l'on trouve des pesticides, nous n'allons pas traiter ici toutes les molécules, mais uniquement celles qui nous ont semblées importantes du fait d'un usage très répandu, surtout si celui-ci concerne des végétaux susceptibles d'être ensuite utilisés pour nourrir le bétail, et celles dont les propriétés physico-chimiques peuvent justifier d'un certain passage dans le lait de la substance elle-même ou de ses métabolites (Hayes et Laws, 1991 (b)).

b) Pesticides de la catégorie des fluorophosphates

Mipafox, diméfox et DFP sont les trois représentants principaux de cette classe. Ces composés sont doués d'une neurotoxicité notable, mais les accidents d'intoxication liés à leur emploi restent très rares.

⇒ Le mipafox

On le désigne chimiquement par le terme fluorure *N,N'*-bis(1-méthyléthyl)-phosphordiamidique et il admet la formule brute $C_6H_{16}FN_2OP$ et la structure suivante :

c) Pesticides organophosphorés diméthoxy de quatrième catégorie

Ces substances comptent pour plus de la moitié des insecticides organophosphorés. Les structures des molécules que nous avons choisi de traiter sont schématisées figure 29.

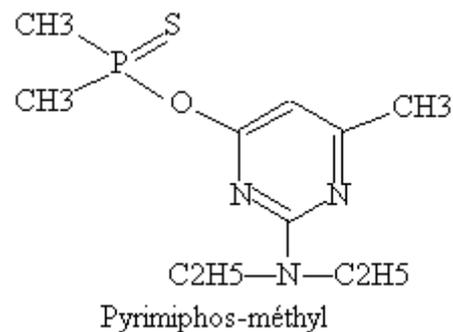
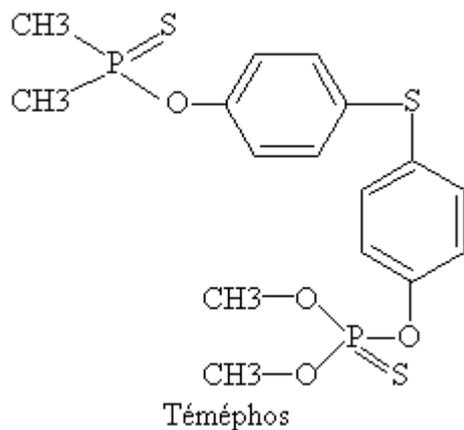
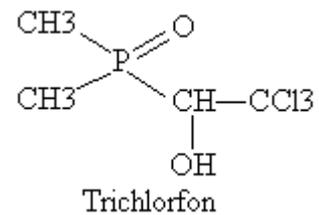
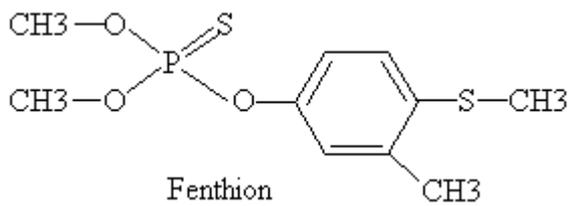
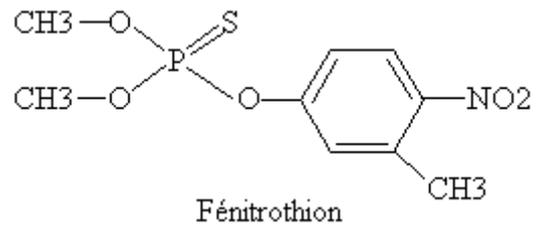
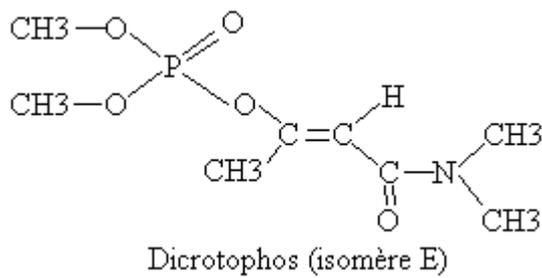
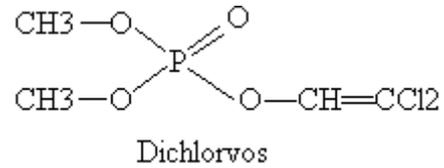
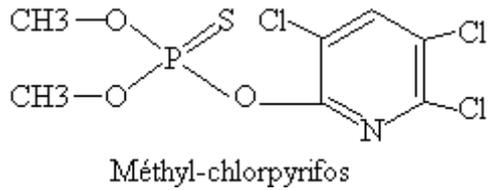


Figure 29 : Structure moléculaire de quelques organophosphorés du groupe IV et du sous-groupe diméthoxy (Hayes et Laws, 1991)

⇒ *Le dichlorvos*

Cet insecticide largement utilisé sur toutes sortes de végétaux, existe depuis 1952 et son usage en tant qu'insecticide remonte aux années 1950. On l'applique sur les parties aériennes lors de la culture de pois protéagineux et surtout dans le cadre de la conservation des céréales, du chou et du maïs après récolte, ce dernier usage menant donc directement à l'ingestion de composé lorsque les animaux consomment les aliments qui en dérivent. De plus, le dichlorvos sert à désinsectiser les parois des locaux de stockage, le matériel d'élevage, de transport et de récolte et les logements d'animaux domestiques (MAP, 2007).

Le *O,O*-diméthyl-*O*-2,2-chlorovinyle phosphate ou dichlorvos, de formule brute $C_4H_7Cl_2O_4P$ et de masse molaire 220,98 g/mol, a l'apparence d'un liquide plus ou moins ambré. Il peut se dissoudre dans l'alcool, les hydrocarbures aromatiques et chlorés, mais peu dans le kérosène et les huiles minérales (3%) et encore moins dans l'eau (1%). Sa liposolubilité est modérée : **log KOW = 1,9** (Gouzy et Farret, 2006), mais **l'application concerne directement les produits récoltés et du matériel en contact direct avec le bétail**, d'où une assez forte exposition.

Suite à son absorption, ce composé est très rapidement détoxifié par le foie, d'où l'absence de stockage. Son hydrolyse donne du *O,O*-diméthyl phosphate et du *O*-méthyl-*O*-2,2-dichlorovinyl phosphate, qui sont excrétés en tant que tels ou après dégradation plus poussée avec diverses réactions de type hydrolyse et/ou réduction. Les métabolites sont ensuite souvent conjugués afin d'être excrétés. L'élimination a principalement lieu par voie urinaire et un peu dans les fèces. L'élimination dans le lait de vache n'est pas toujours mise en évidence mais une expérience menée en 1962 a permis de retrouver ce composé ou ses métabolites dans le lait, mais uniquement peu après ingestion (2 à 48 h). Il semblerait donc qu'une certaine excrétion lactée soit possible (le coefficient octanol-eau a une valeur moyenne), mais elle resterait de toute façon modérée (Hayes et Laws, 1991 (b)).

⇒ *Le trichlorfon*

L'emploi de ce pesticide a débuté en 1952. Il est doté de propriétés insecticides et anthelminthiques.

Désigné par la nomenclature chimique sous le terme *O,O*-diméthyl(2,2,2-trichloro-1-hydroxyéthyl)-phosphonate, cet organophosphoré de formule brute $C_4H_8Cl_3O_4P$ est une poudre cristalline blanche de masse molaire 257,45 g/mol. Doué d'une bonne hydrosolubilité (15,4 g/100mL) et miscible dans de nombreux solvants organiques et les hydrocarbures chlorés, il est à l'inverse peu lipophile, avec un coefficient de partage octanol-eau tel que **log KOW = 0,43** (Gouzy et Farret, 2006). **Sa biodégradation se produit aisément** dans le milieu extérieur et il se concentre peu dans les organismes du fait de sa faible lipophilie (Bonnomet, 2004).

Après absorption rapide et biotransformation en dichlorvos pour la plus grande proportion de composé, l'excrétion emprunte principalement la voie urinaire. Malgré la mauvaise liposolubilité du trichlorfon, sa transformation en dichlorvos plus lipophile pourrait expliquer pourquoi on en retrouve une proportion non négligeable dans le lait de vaches traitées par application de ce produit en « pour-on » (Nepoklonov et Metelitsa, 1971).

⇒ *Le dicrotophos*

Ce pesticide systémique admet de très nombreuses applications depuis 1956, en particulier son isomère E, qui a le plus de pouvoir insecticide.

Ce composé est donc l'isomère E du *O,O*-diméthyl-*O*-(3-diméthylamino-1-méthyl-3-oxo-1-propényl)phosphate. De formule brute $C_8H_{16}NO_5P$ et de masse molaire 237,21 g/mol, ce produit apparaît comme un liquide brun à l'état pur. Il peut se dissoudre dans les solvants organiques et l'eau (Hayes et Laws, 1991 (b)).

Une fois absorbé, il subit une métabolisation partielle en monocrotophos et les divers métabolites sont majoritairement obtenus par oxydation. L'élimination, très rapide, se produit pour beaucoup par les urines, et **une proportion non négligeable de monocrotophos peut se retrouver dans le lait.**

⇒ *Le fénitrothion*

Cet insecticide est disponible depuis 1959 et sert à la désinsectisation du logement des animaux.

D'après la nomenclature chimique, le fénitrothion s'appelle aussi *O,O*-diméthyl-*O*-(3-méthyl-4-nitrophényl)-phosphorothioate ($C_9H_{12}NO_5PS$). De poids molaire 277,25 g/mol et ayant l'aspect d'un liquide huileux jaune-brun, ce composé est soluble dans les alcools, les esters, les cétones et les hydrocarbures aromatiques, mais quasi-insoluble dans les hydrocarbures aliphatiques et non miscible à l'eau (Hayes et Laws, 1991 (b)). Sa solubilité est bonne en milieu lipidique puisque **log KOW = 3,38** (à 20°C) (PNUE/FAO/OMS/AIEA, 1991 ; Gouzy et Farret, 2006). Il est instable en milieu alcalin.

Cet insecticide est aisément absorbé par voies orale et cutanée et **intensément métabolisé** puis conjugué pour s'éliminer en grande proportion dans l'urine.

⇒ *Le fenthion*

Cet insecticide existe depuis 1957 et s'emploie sur différents végétaux tels que des fruits mais aussi des céréales.

Son appellation chimique *O,O*-diméthyl-*O*-(4-méthylmercapto-3-méthylphényl) thiophosphate explique pourquoi on le désignait autrefois par l'acronyme DMTP. Il admet pour formule brute $C_{10}H_{15}O_3PS_2$ et pour masse molaire 278,34 g/mol. Ce liquide, incolore lorsqu'il est pur et brun et huileux sous sa forme technique, est presque insoluble dans l'eau mais facilement dans les solvants organiques et les corps gras avec **log KOW = 4,84** (Hayes et Laws, 1991; Gouzy et Farret, 2006).

Son absorption, digestive ou cutanée, permet sa biotransformation, qui fait entre autres intervenir une hydrolyse, et le fenthion et ses métabolites sont ensuite excrétés plutôt dans l'urine (45-55% après application cutanée), mais aussi dans les fèces (2-2,5%) et le lait de vache (1,5-2%) (Avrahami et White, 1975, administration cutanée de fenthion marqué radioactivement à des vaches). Une certaine accumulation peut se produire dans le tissu adipeux et perdurer pendant plusieurs jours (étude menée par Wright et Riner sur des bœufs suite à application cutanée, et abattus 10 jours plus tard) (Hayes et Laws, 1991 (b)).

⇒ *Le pyrimiphos-méthyle*

Il fut introduit dans le cadre de la conservation des grains stockés dès 1970, en raison de son activité insecticide et acaricide. On en trouve aussi dans certains sprays à usage domestique.

La nomenclature chimique le nomme aussi *O,O*-diméthyl *O*-(2-diéthylamino-6-méthylpyrimidin-4-yl)phosphorothionate, avec la formule brute $C_{11}H_{20}N_3O_3PS$ et chaque mole pèse 305,3 g. C'est un liquide de couleur paille sans odeur particulière, peu hydrosoluble (5 ppm à 30°C) mais très soluble dans la plupart des solvants organiques (Hayes et Laws, 1991 (b)). Il est doté d'une **importante liposolubilité : log KOW = 4,2** (Gouzy et Farret, 2006).

L'absorption, **le métabolisme et l'excrétion de ce composé se déroulent très vite**. Le pyrimiphos-méthyl est presque entièrement métabolisé en une douzaine de métabolites dont 99% sont éliminés dans l'urine (en grande majorité) et les fèces, tandis qu'une **très faible fraction est excrétée dans le lait** (0,35%) chez la vache.

⇒ Le téméphos

Créé en 1965, cet insecticide aux propriétés larvicides et à l'action résiduelle prolongée s'emploie sur toute une variété de cultures.

Il se nomme aussi *O,O,O',O'*-tétraméthyl-*O,O'*-thiodi-*p*-phénylène diphosphorothioate, a pour formule $C_{16}H_{20}O_6P_2S_3$ et masse molaire 466,46 g/mol. Ce composé, solide cristallin blanc quand il est pur et liquide visqueux brun comme composé technique, peut se dissoudre dans de nombreux solvants organiques excepté certains tels que l'hexane et le méthylcyclohexane, et reste totalement insoluble dans l'eau (Hayes et Laws, 1991 (b)). Il possède une **bonne liposolubilité : log KOW = 5,43** (Gouzy et Farret, 2006).

Lors de son absorption digestive, le téméphos se localise préférentiellement dans le tube digestif et le tissu adipeux, où il demeure à l'état de composé parental. **Une large fraction subit des biotransformations** pour aboutir à une dizaine de métabolites retrouvés dans l'urine et les fèces.

⇒ Le chlorpyriphos-méthyle

Cette substance insecticide et acaricide est utilisée sur les céréales après récolte afin de limiter les dégâts liés aux parasites lors de la conservation, et dans les locaux d'élevage et de stockage pour les désinsectiser.

D'un point de vue chimique, c'est le *O,O*-diméthyl *O*-(3,5,6-trichloro-2-pyridyl) phosphorothionate, de formule brute $C_7H_7Cl_3NO_3PS$ et de masse molaire 322,51 g/mol. C'est un solide cristallin peu soluble dans l'eau (5 ppm à 25°C) (Hayes et Laws, 1991 (b)), fortement miscible dans les solvants organiques et **très lipophile (log KOW = 4,23 à 20°C)** (Gouzy et Farret, 2006).

d) Pesticides organophosphorés diéthoxy de quatrième catégorie

Ils constituent, après les composés diméthoxy, par le nombre de substances doués d'un pouvoir insecticide, le deuxième groupe le plus important de pesticides organochlorés.

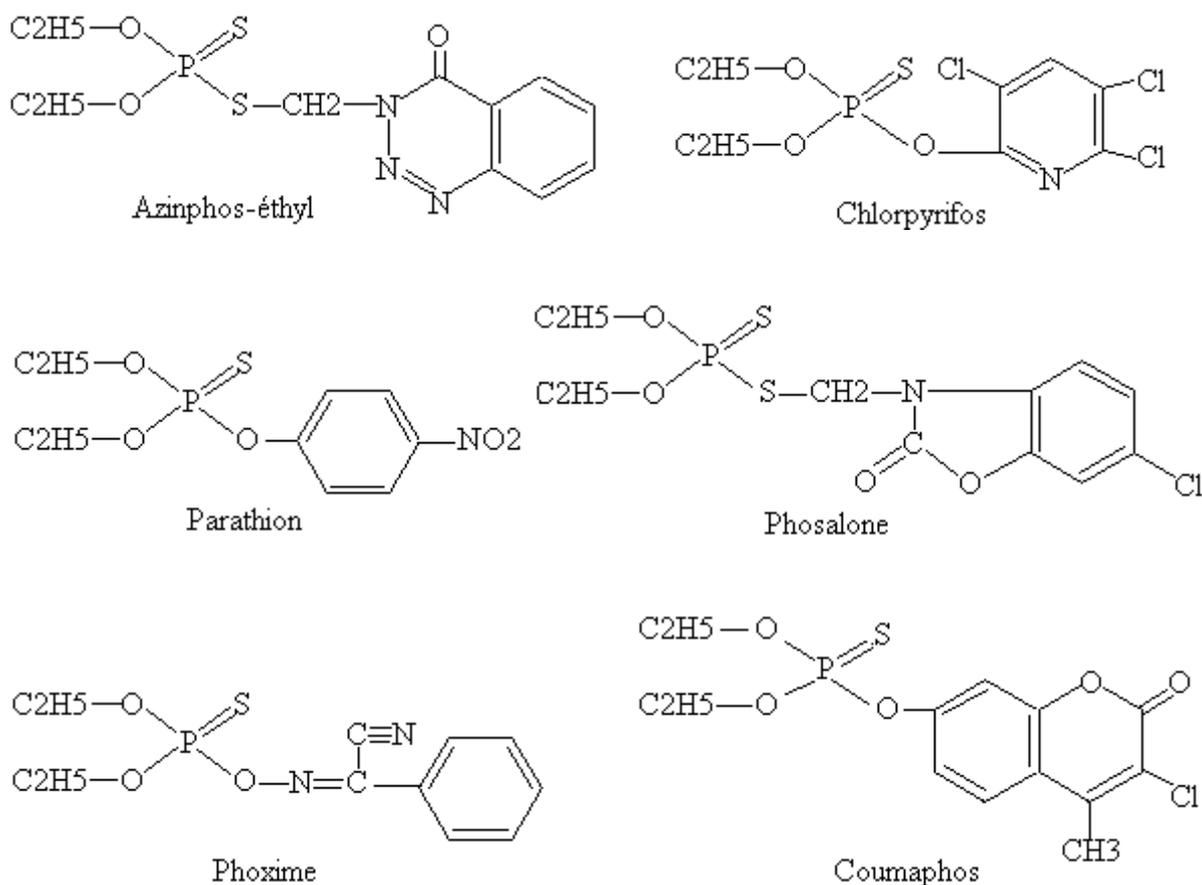


Figure 30 : Structure moléculaire de quelques organophosphorés de quatrième catégorie et de sous-groupe diéthyl oxy (Hayes et Laws, 1991)

⇒ Le parathion

Ce composé est un insecticide et acaricide utilisé pour lutter contre les organismes nuisibles présents dans le sol et contre de multiples insectes et acariens responsables de dommages causés aux cultures.

Cet organophosphoré, aussi dénommé AAT, DNTP, éthyle parathion, nitrostigine ou encore SNP selon les pays, est le *O,O*-diéthyl-*O*-(4-nitrophényl)phosphorothioate d'après la nomenclature chimique. Sa formule empirique est C₁₀H₁₄NO₅PS, sa masse molaire 291,27 g/mol, et ce composé, pur, se présente comme un liquide jaunâtre aisément miscible dans les solvants organiques mais très peu dans l'eau (20 ppm), l'éther de pétrole ou le kérosène (Hayes et Laws, 1991 (b)). Il possède une **bonne solubilité dans les lipides : log KOW = 3,4 à 3,93** (Gouzy et Farret, 2006). Le parathion est **stable dans un milieu à pH inférieur à 7,5**.

Quelle que soit la voie, l'absorption de cet organophosphoré a lieu rapidement. Il subit ensuite diverses oxydations qui mènent à trois métabolites principaux qui ne portent plus d'atome de soufre mais un atome d'oxygène à la place. Ces métabolites s'éliminent dans leur immense majorité par voie urinaire.

⇒ Le chlorpyrifos

Mis sur le marché dès 1965, cet organophosphoré sert principalement à désinsectiser les locaux de stockage, les transports et le logement des animaux (MAP, 2007).

Cet insecticide est le *O,O*-diéthyl-*O*-(3,5,6-trichloro-2-pyridyl)phosphorothioate, a pour formule brute $C_9H_{11}Cl_3NO_3PS$ et masse molaire 350,57 g/mol, et forme des cristaux blancs à l'état pur. Son hydrosolubilité est presque inexistante (2 ppm) (Hayes et Laws, 1991 (b)), mais ce composé reste miscible aux solvants organiques et **très soluble dans les lipides (log KOW = 4,7)** (AFSSA, 2007). C'est un **acide faible dont le pKa vaut 4,55**.

Suite à son absorption, le chlorpyrifos est **presque totalement métabolisé** en 3,5,6-trichloro-2-pyridyl phosphate (75-80%) et en 3,5,6-trichloro-2-pyridinol puis conjugué (surtout glucuronoconjugué) pour une importante fraction. Les produits ainsi obtenus sont excrétés dans l'urine à 90% et dans les fèces. Une faible proportion de chlorpyrifos peut s'accumuler dans le tissu adipeux et, lors d'application cutanée sur des vaches, on observe une légère élimination dans le lait (Leshev et coll, 1972).

⇒ La phosalone

Introduite en 1963, cette substance insecticide et acaricide s'applique le plus souvent sur les parties aériennes de cultures telles que la betterave, le chou et les crucifères oléagineuses (MAP, 2007). On l'utilise aussi dans les jardins et sur les arbres fruitiers.

La phosalone, ou *O,O*-diéthyl-*S*-(6-chloro-2-oxobenzoxazolin-3-yl-méthyl)-phosphorodithioate, de formule empirique $C_{12}H_{15}ClNO_4PS_2$ et masse molaire 367,80 g/mol (Hayes et Laws, 1991 (b)), se présente comme un cristal blanc quasi-insoluble dans l'eau, le cyclohexane et l'éther de pétrole, mais miscible aux autres solvants organiques et modérément hydrosoluble (**log KOW = 4,3**) (Gouzy et Farret, 2006).

Ce composé est **très fortement dégradé après absorption**, ce qui génère une grande quantité de dioxyde de carbone libéré dans l'air expiré. Ainsi, environ deux tiers des atomes de carbone du produit initial sont excrétés par cette voie tandis que le reste part dans l'urine et les fèces. Cette destruction complète du cycle aromatique implique qu'il y a très peu de chances qu'on retrouve le composé parental dans le lait de vache malgré sa lipophilie et sa bonne solubilité dans les solvants organiques.

⇒ Le phoxime

Cet insecticide est utilisé depuis 1969 dans le traitement des sols (MAP, 2007).

C'est le *O,O*-diéthyl-phénylglyoxylonitrile oxime phosphorothioate et il a pour formule brute $C_{12}H_{15}N_2O_3PS$ et poids molaire 298,30 g/mol. Ce liquide jaunâtre est très peu hydrosoluble (7 ppm), soluble dans la plupart des solvants organiques mais peu dans l'éther de pétrole. Il possède une **forte liposolubilité** puisque **log KOW = 4,39**, ce qui laisse supposer un certain potentiel de bioconcentration dans les organismes vivants. Ce composé est par ailleurs **difficilement biodégradable dans le milieu extérieur** (Bonnemet, 2004).

Après absorption, chez les animaux, le phoxime est **rapidement métabolisé**, surtout en acide carboxylique de phoxime. Cependant, son excrétion est étonnamment lente alors que

la majorité de ses métabolites sont hydrosolubles, et elle fait principalement intervenir la voie urinaire. Il semblerait qu'un cycle de réabsorption soit responsable de cette **lente élimination**.

⇒ L'azinphos-éthyle

Cette substance insecticide non systémique et acaricide employée dès 1953, aujourd'hui interdite dans de nombreux pays du fait son extrême toxicité chez l'homme, reste quand même employée dans d'autres nations sur une grande variété de plantations comme des fruits, des légumes, les prairies et les céréales. Ces deux derniers usages sont donc à considérer en particulier dans le cadre de l'alimentation bovine.

La nomenclature chimique lui attribue le nom de *S*-(3,4-dihydro-4-oxobenzo(*d*)-(1,2,3-triazin-3-ylméthyl-*O,O*-diéthyl) phosphorothiate, avec la formule empirique $C_{12}H_{16}N_3O_3PS_2$ et la masse molaire 354,4 g/mol. Le matériau pur constitue des cristaux de teinte claire insolubles dans l'eau, les hydrocarbures aliphatiques et l'éther de pétrole, mais solubles dans la plupart des autres solvants, y compris les lipides avec **log KOW = 2,96** (Gouzy et Farret, 2006). Ce composé s'hydrolyse facilement en milieu acide (Hayes et Laws, 1991 (b)).

Une fois absorbé, cet insecticide subit a priori des réactions métaboliques proches de celles observées pour l'azinphos-méthyle et aucune accumulation au sein des divers tissus n'a été mise en évidence. Ses métabolites sont excrétés dans les urines (60%) et les fèces (30%).

⇒ Le coumaphos

Cet organophosphoré aux propriétés insecticides et acaricides synthétisé pour la première fois en 1951 n'est plus autorisé en France mais servait à lutter contre les parasites externes des animaux.

Sa dénomination chimique est *O,O*-diéthyl *O*-(3-chloro-4-méthyl-7-coumarinyl) phosphorothioate, sa formule brute $C_{14}H_{16}ClO_5PS$ et sa masse molaire s'élève à 362,78 g/mol. Ce composé brut forme des cristaux bruns. Il est peu soluble dans l'eau (1,5mg/l à 20°C) mais miscible à la grande majorité des solvants organiques et **très lipophile : log KOW=4,13** (Bonnemet, 2004).

On trouve au sein de la famille des organophosphorés de nombreux composés insecticides aux comportements très différents alors que tous reposent sur la même structure chimique de base. Les risques de passage dans le lait ne sont donc pas tous équivalents. Ils sont principalement conditionnés par la lipophilie du composé (avec log KOW) et par l'intensité des biotransformations qu'il subit après absorption. Ainsi, si certains composés tels que le fénitrothion, le téméphos et le chlorpyrifos sont certes fortement lipophiles, ils sont l'objet d'un métabolisme important et ne sont donc généralement pas (ou très peu) retrouvés dans le lait. A l'inverse, d'autres molécules, comme le trichlorfon, *a priori* peu susceptibles de contaminer le lait car assez peu liposolubles, peuvent subir des réactions chimiques favorisant leur passage ou être utilisées juste avant récolte et/ou en concentration suffisamment élevée pour entraîner une pollution du lait.

e) Dosage dans les produits laitiers : étude bibliographique

Comme nous venons de le voir avec la présentation des caractéristiques physico-chimiques de diverses molécules organophosphorées, certains représentants de cette famille chimique sont susceptibles de passer dans le lait de vaches, ce qui a d'ailleurs été démontré entre autres par Cardeal et Dias Paes qui ont dosé les résidus de coumaphos et de dichlorvos dans du lait total par micro-extraction en phase solide puis chromatographie en phase gazeuse (coumaphos : 0,17 à 1,75 µg/l – dichlorvos : 0,69 à 6,9 µg/l) (Cardeal et Dias Paes, 2006).

⇒ Résidus lors d'application dans les étables

Lorsque la plupart des organochlorés ont été interdits en 1969 pour désinsectiser les étables en raison de leurs trop fortes accumulations et rémanence dans l'environnement et les produits laitiers, ils ont été remplacés par des insecticides organophosphorés, réputés moins dangereux. Afin de vérifier cette dernière affirmation, Milhaud, Bechade et Pinault se sont intéressés à la contamination du lait par les résidus de ronnel (= fenchlorophos) et de malathion, organophosphorés alors employés pour désinsectiser les étables. Pour évaluer le risque de passage de ces xénobiotiques dans le lait, ils ont réalisé la désinfection-désinsectisation de quatre fermes : après enlèvement du fumier et décapage à l'eau sous pression, ils ont ajouté à la suspension de blanchiment (kaolin et eau) une préparation insecticide constituée à 50% de ronnel (poudre à 13,2% de matière active) et à 22% de malathion (poudre à 62% de matière active), l'ont appliquée partout, et on terminé par un rinçage à l'eau crésylée. Les concentrations maximales de matières actives de ronnel et de malathion estimées à l'issue de ce processus valaient respectivement 0,88 et 1,82 g/m². Les animaux sont rentrés environ une heure après la fin de l'opération dans trois fermes (n° 1, 2, 3), et 7 heures plus tard dans la quatrième. Les prélèvements de lait furent effectués à J-15, J-8, tout de suite après la rentrée ou 7 heures après (ferme n°1) (J0), matin et soir les 2 jours suivants, puis à 3, 5, 8, 15, 21, 30, 45, 60 et 90 jours. Les dosages ont mis en évidence des concentrations de ronnel toutes inférieures à 0,008 ppm par rapport au lait entier, ce qui était inférieur à la norme de l'O.M.S. de 0,04 ppm. Dans tous les cas, la teneur la plus haute a été obtenue le jour même de la désinfection-désinsectisation, et les concentrations ont ensuite diminué, ne demeurant mesurables que pendant 15 jours en général. Pour le malathion, les résultats obtenus étaient similaires à ceux du ronnel (Milhaud et coll, 1971).

A la même époque, Pitois et Bibard (1971) se sont intéressés aux résidus de chlorfenvinphos dans la matière grasse du lait après traitement des étables. L'expérimentation fut mise en place dans deux étables représentant chacune un cas extrême : une propre et bien aérée (1), la seconde ancienne et peu ventilée (2). La bouillie appliquée contenait 0,2% de chlorfenvinphos et les doses appliquées étaient 2 (1) et 3 fois (2) plus grandes que la recommandation (0,3 g de matière active par m² de surface traitée). L'administration concernait le plafond et les parties hautes des parois verticales dans l'étable bien aérée, et l'ensemble des surfaces et du matériel dans l'autre étable. Le sol, les mangeoires et les abreuvoirs furent rincés dans le premier cas et seulement essuyés dans le deuxième. Les vaches, en stabulation entravée, sont revenues dans les locaux une demi-heure après la fin du traitement. Le lait fut prélevé deux fois par jour, chaque prélèvement dosé correspondant au mélange des deux traites de l'ensemble des vaches, ceci 1 jour avant et 1, 2, 4, 7, 15 et 30 jours après la désinfection. L'analyse par chromatographie en phase gazeuse et détection par capture d'électrons à partir de 0,01 ppm dans la matière grasse aboutit à des concentrations mesurables à J1, J2 et J4, avec une teneur maximale, obtenue à J4 dans l'ancienne étable de 0,58 ppm dans la matière grasse, soit 0,002 ppm dans le lait entier. Les auteurs en ont déduit

que la contamination du lait suite à une désinfection dans les conditions recommandées ne présentait à priori pas de risque.

⇒ Expériences de contamination du lait via l'alimentation

La fédération internationale de laiterie a tenté d'établir un bilan des risques de contamination du lait et des produits laitiers par divers xénobiotiques, dont certains organophosphorés, lorsqu'on les fait ingérer à des vaches avec leur ration :

- Du diméthoate à 0,5 mg/kg de poids vif et de l'ométhoate à 0,05 mg/kg de poids vif ont été incorporés à la ration de vaches laitières pendant 14 jours. Aucun résidu n'a pu être décelé dans le lait avec ces quantités, mais après doublement des doses et ingestion pendant 14 jours supplémentaires, de l'ométhoate a été retrouvé, à la concentration maximale de 0,125 mg/kg dans le lait. 3 jours après l'arrêt de l'expérience, il n'y en avait plus du tout.
- Des vaches laitières recevant du méthidathion à 5 mg/kg dans l'alimentation pendant 4 jours n'en ont pas excrété en quantité détectable dans le lait (limite de détection = 0,008 mg/kg), ce composé se décomposant très rapidement.
- De même, avec du dialifos donné à 5 mg/kg de ration sur 4 jours, ni cette molécule ni ses métabolites n'ont été éliminés à doses visibles dans le lait.
- D'autres organophosphorés ont été mesurés par chromatographie en phases liquide et gazeuse après administration orale :

Molécule	Dose mg/kg PV	Type de ration	Résidus dans le lait en mg/kg
Phosmet	0,22	Ensilage	ND
Dicrotophos	0,25	Ensilage	ND
Chlorpyriphos	?	Ensilage	ND
Azinphos-méthyle	0,02-0,2	Luzerne	ND
Fénitrothion	0,4-1,6	Maïs	ND
Azinphos-méthyle	0,3-2,4	Luzerne	ND
Malathion	0,8	Luzerne	ND
Leptophos	0,4-1,7	Ensilage	0,04-0,24
Diméthoate	0,7-1,8	Luzerne	0,2-0,3

ND = non détecté

Tableau 9 : Résultats de dosages de résidus d'organophosphorés dans le lait de vache après ingestion d'aliments contaminés expérimentalement (Heeshchen, 1979)

Les auteurs en ont déduit que les résidus d'organophosphorés susceptibles de parvenir à l'animal par le biais de l'alimentation n'entraînent pas de concentrations significatives dans le lait. La plupart du temps, le niveau de résidus est proche de la limite de détection, inférieur à 0,01 mg/kg ou proche de 0,1 mg/kg (Heeshchen, 1979).

Après l'application de trifenmorph, molluscicide administré préventivement sur les pâtures à 500g de matière active par hectare, dans 4 exploitations, Pitois et Bosio (1972) ont observé son taux résiduel dans le lait de tank après réintroduction des vaches sur la prairie tout de suite après traitement. Les métabolite principal était le triphényl-carbinol dans 3 cas sur 4. Dans une ferme, l'excrétion mammaire a atteint un maximum de 0,006 ppm dans le lait

entier au bout de 4 jours, puis a décru pour devenir indétectable après 10 jours (limite de détection = 0,002 ppm).

Sahali et coll. (1994) ont administré 0,82 mg/kg de poids vif par jour de DEF à une chèvre avec sa ration, ce qui équivaut à environ 25 fois le taux maximal estimé de résidus ordinairement présents dans l'alimentation animale. 16 et 21 heures après la fin du test, 0,12 ppm apparaissaient dans le lait, représentant environ 5% de la dose initiale.

Le risque lié à la présence de dichlorvos par administration de 0, 2, 6 ou 20 ppm (par rapport à la matière sèche de la ration) à des vaches laitières de race Holstein a été évalué, ces quantités correspondant à 0,062, 0,17 et 0,63 mg/kg/j. Le lait a été collecté matin et soir quotidiennement et dans tous les échantillons, la concentration des résidus est restée inférieure à la limite de quantification (0,01ppm) (Lim, 1996).

Des chèvres laitières soumises par Cannon et coll. (1996) à un régime alimentaire recelant 86 mg/kg de poids vif de malathion par jour pendant 5 jours ont permis de prouver que cet organophosphoré subit une métabolisation intense et s'élimine principalement via les urines, de telle sorte qu'on ne l'a pas détecté dans le lait.

La FAO (« Food and Agriculture Organization ») et la WHO (« World Health Organization ») ont tenté d'estimer l'importance possible de la contamination de l'alimentation, dont les produits laitiers, par divers produits phytosanitaires. Parmi ces derniers, le phorate, le terbufos et le malathion ont été évalués (WHO et FAO, 2005) :

- Des chèvres laitières ont reçu une ration avec 1,35 ou 5,40 ppm de phorate pendant 3 ou 7 jours. Après 3 et 7 jours de traitement, les quantités maximales présentes dans le lait s'élevaient respectivement à 0,26 mg/kg et 0,50 mg/kg (avec 5,4 ppm dans la ration). La concentration a augmenté de façon régulière dans le lait tout au long de l'expérience, sans atteindre de plateau, et les résidus étaient très majoritairement composés de métabolites non phosphorylés (95 à 99%).
- 14 vaches Holstein divisées en 3 groupes ont été nourries avec des rations renfermant 0, 1,39 ou 3,21 ppm (par rapport à la matière sèche) de phorate pendant 28 jours consécutifs. Chez toutes ces vaches, les résidus étaient en quantité inférieure à la limite de quantification (0,005 mg/kg).
- Du terbufos a été ajouté à la ration de 2 chèvres laitières à raison de 0,281 et 2,53 mg/kg de poids vif, une seule fois. Pendant les 7 jours suivants, des dosages ont été effectués quotidiennement sur chaque chèvre dans le lait, mais aucun n'a permis de déceler le terbufos ou ses métabolites. Il en a été de même avec des vaches (les teneurs étaient donc en dessous de la limite de détection de 0,05 mg/kg). Les niveaux maximaux de terbufos estimés dans l'alimentation des bovins laitiers (1,47 mg/kg) correspondaient bien à ceux utilisés dans les expérimentations (2 mg/kg). La FAO et la WHO en ont déduit que **les résidus présents dans le lait de vache, en situation réelle comme dans les expériences, se trouvent en quantités inférieures à la limite de quantification (0,01 mg/kg)**. En fait, la contamination moyenne des aliments pour vaches laitières est d'environ 0,76 mg/kg, ce qui aboutit à une concentration encore moins importante dans le lait.

Le malathion a été mesuré dans les végétaux participant à la ration alimentaire des vaches : ce sont les concentrés (grains de céréales) qui en contiennent le plus, mais cela reste inférieur à 1 mg/kg, donc la FAO n'attend pas de résidus de ce pesticide dans le lait dans les pays développés.

⇒ Enquêtes sur le niveau de contamination du lait

Une étude menée entre mars et juin 1991 au Portugal à partir de 21 échantillons de lait de grande surface (de 6 marques distinctes, **UHT ou pasteurisé**, entier, demi-écrémé ou écrémé) et de 4 prélèvements réalisés directement sur des vaches. Sur ces 25 échantillons, aucun ne renfermait de *cis*-mévinphos ni de méthylparathion en quantité détectable, mais **22 d'entre eux contenaient du paraoxon** (analogue oxygéné du parathion) à raison de 3,6 ppb en moyenne (1,5 à 8,5 ppb). C'est surtout dans le lait écrémé que les plus fortes teneurs ont été trouvées. Les 3 laits 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).

En Grèce, Mallaton et coll. (1997) ont trouvé du méthylparathion dans 2 échantillons de lait sur 38 (43 et 280 ng/g de matière grasse du lait) lors d'une enquête visant à estimer l'importance de la contamination sur les années 1991 et 1992. Ces teneurs étaient donc plus faibles que les LMR.

Une enquête a été réalisée au Mexique en 2003 afin de rechercher des **résidus de 13 organophosphorés largement utilisés** en tant qu'antiparasitaires externes ou produits agricoles 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 évaluées par chromatographie en phase gazeuse, par collecte bihebdomadaire du lait pendant 12 mois (n = 96). **39,6% des échantillons contenaient des organophosphorés à un niveau détectable**, 8 d'entre eux avec des concentrations supérieures aux LMR : 5 avec du dichlorvos, 1 avec du phorate, 1 avec du chlorpyrifos et 1 avec du chlorfenvinphos. Hormis ces exceptions, la moyenne des résidus des 13 organophosphorés était inférieure aux LMR, variant entre 0,0051 et 0,0203 ppm (Salas et coll., 2003).

Des observations similaires ont été faites en Italie, lors de la recherche des résidus d'organophosphorés fréquemment utilisés en agriculture. Les prélèvements, effectués dans quatre laiteries, directement depuis des camions citernes représentant 920 tonnes de lait cru, ont révélé la présence d'acéphate, chlorpyriphos, chlorpyriphos-méthyl, diazinon, méthamidophos, phorate et pirimiphos-méthyl, par une technique de séparation en phase liquide. Il y avait au total 135 échantillons, parmi lesquels 37 étaient positifs, dont 10 avec des concentrations comprises entre 5 et 10 µg/L. Acéphate et chlorpyriphos étaient les polluants principaux détectés, mais quelle que soit la quantité mesurée, elle est toujours restée inférieure aux LMR fixées par l'Union Européenne (Pagliuca et coll, 2006).

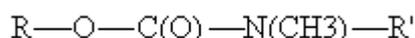
Les organophosphorés demeurent avec les carbamates les pesticides les plus utilisés, d'où l'intérêt d'une surveillance du niveau de contamination du lait par ces xénobiotiques. En effet, ils sont surtout employés pour désinsectiser des locaux d'élevage et traiter certaines cultures. Les expériences réalisées après nettoyage d'étables à l'aide de ces produits ou après ingestion par des vaches de végétaux recelant des organophosphorés apparaissent plutôt rassurantes si l'on considère que les résidus retrouvés dans le lait sont à chaque fois en dessous des LMR et le plus souvent en proportions inférieures à la limite de quantification. Cependant, des enquêtes montrent que dans certains pays, comme le Mexique, le niveau de contamination du lait de grand mélange reste important et dépasse même parfois les LMR. De tels dosages, bien que géographiquement éloignés, pourraient peut-être quand même concerner la France dans le cadre du commerce international.

3. Les carbamates

a) Généralités

⇒ Nature et mode d'action

Leur structure commune est la suivante :



R est un alcool, une oxime ou un phénol, R' est un atome d'hydrogène ou un groupement méthyle. Ils sont dotés d'une activité anticholinestérasique, aussi bien chez les insectes que chez les Mammifères (ce qui explique les symptômes observés lors d'une intoxication : ce sont ceux d'une exacerbation du système nerveux parasymphatique, avec une première phase muscarinique et une seconde nicotinique) (Hayes et Laws, 1991 (c)).

⇒ Absorption, distribution, métabolisme et élimination

Ils traversent aisément la barrière digestive lors d'ingestion, mais cette absorption dépend aussi partiellement de l'excipient avec lequel ils se trouvent (il en est de même par voie cutanée, même si l'absorption y est moins efficace). L'exposition aux carbamates reste possible par voie alimentaire à faible taux par l'intermédiaire de denrées traitées par des carbamates pour lesquels une certaine tolérance a été établie par la loi.

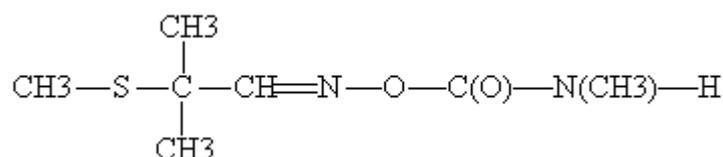
Après absorption, les carbamates se dirigent préférentiellement vers les organes où le métabolisme est très actif. La métabolisation puis l'élimination de ces composés s'effectue rapidement, il ne semble pas y avoir de réelle bioaccumulation. Il existe des différences entre espèces animales concernant le mode de biotransformation des carbamates, mais on observe quand même la plupart du temps une première phase d'oxydation suivie par une réaction de conjugaison générant des produits hydrosolubles qui sont ensuite excrétés. Les conjugués en question peuvent être des glucuronoconjugués, des sulfates et des acides mercapturiques. Il arrive aussi parfois que certaines molécules soient intégralement hydrolysées en dioxyde de carbone, une amine et un alcool, une oxime ou un phénol (Hayes et Laws, 1991 (c)).

b) Principaux représentants

⇒ L'aldicarbe

Ce carbamate a été introduit dans les années 1960 afin de lutter contre une large gamme d'insectes et de nématodes sur de nombreuses plantes dont les cultures en plein champ. De tels traitements de surface induisent un risque important de contamination.

Ce composé aussi dénommé 2-méthyl-2(méthylthio)-propionaldéhyde O-(méthylcarbamoyl)oxime possède la structure suivante :



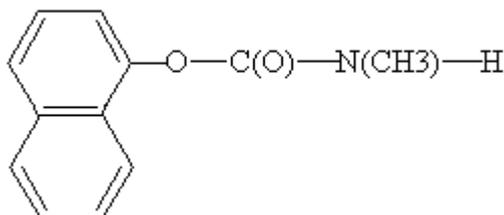
L'aldicarbe a une masse molaire de 190,3 g/mol. Ce composé se présente sous forme pure comme un solide cristallin blanc sentant légèrement le soufre. Il est très peu soluble dans l'eau (seulement 0,6% à 20°C) mais plus dans les solvants organiques tels que le toluène (10%), l'isopropanol (20%), l'éthanol (25%), le chloroforme (35%) et le benzène (40%) (Hayes et Laws, 1991 (c)). **Log KOW = 1,25, ce qui en fait un composé très modestement lipophile** (Gouzy et Farret, 2006).

Après absorption, l'aldicarbe est rapidement métabolisé en aldicarbe sulfoxyde, relativement stable, qui est lui-même plus lentement transformé en aldicarbe sulfone. Ces trois molécules finissent par être dégradées en oximes et nitriles, puis en aldéhydes, acides et alcools, que l'on retrouve principalement dans les urines (et un peu dans les fèces). En cas **d'ingestion d'une dose massive** d'aldicarbe, il est alors **possible d'en détecter surtout les principaux métabolites (oximes et nitriles) et moindrement les formes sulfone et sulfoxyde dans le lait de vache dans les douze heures suivant l'administration** (Dorough et Ivie, 1968). Une autre expérience des mêmes auteurs a mesuré l'excrétion d'aldicarbe après administration d'une dose unique à des vaches : 83% de la dose sont réapparues dans l'urine au cours des 24 premières heures et des traces ont été détectées dans le fèces et le lait, à hauteur de 0,062 ppm au maximum dans ce dernier, 3 heures après ingestion. De même, Dorough et coll. en 1970 puis Baron et Merriam en 1988 ont démontré que l'ingestion régulière de petites doses par des vaches et des chèvres donnait le même type de résultats, avec des traces résiduelles du xénobiotique dans les divers tissus. Il demeure possible de trouver des résidus dans l'organisme pendant quelques jours, mais il n'existe pas d'accumulation à proprement parler (Hayes et Laws, 1991 (c)).

⇒ *Le carbaryl*

Synthétisé pour la première fois en 1953 et commercialisé à partir de 1958, cet insecticide systémique est utilisé sur une grande variété de végétaux, y compris les cultures, sous de multiples présentations (poudre, granulés, suspensions...).

De dénomination chimique 1-naphthyl *N*-méthylcarbamate et de masse molaire 201,20 g/mol, ce matériau pur apparaît comme un solide blanc à beige. Sa formule semi-développée est la suivante :



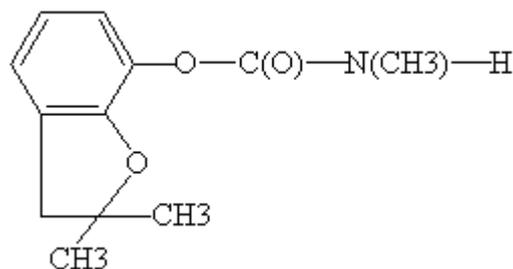
Il est assez peu hydrosoluble quoiqu'un peu plus que les deux carbamates précédemment étudiés : sa solubilité dans l'eau s'élève à 40 ppm à 30°C. Il se dissout modérément dans les solvants organiques les plus polaires (diméthylformamide, diméthyl sulfoxyde, acétone), légèrement dans l'hexane, le benzène et le méthanol, et seulement à 5% dans les huiles pétrolières (Hayes et Laws, 1991 (c)). Sa **lipophilie reste modérée** elle-aussi : **log KOW = 2,36** (Gouzy et Farret, 2006). C'est un **composé stable en conditions normales** mais rapidement hydrolysé à un pH supérieur ou égal à 10. Le carbaryl possède des **propriétés basiques** puisque son pKa est de 10,4.

Après absorption (orale, respiratoire ou cutanée), le carbaryl se répartit prioritairement dans le foie, les reins et le tissu adipeux, mais il n'y perdure pas, sauf dans les reins car son élimination a principalement lieu par voie urinaire. Cette substance se fixe partiellement sur les protéines plasmatiques, en particulier sur l'albumine et de façon moins importante sur les globulines et les lipoprotéines. Elle est pour partie hydrolysée et hydroxylée, le 1-naphthol constituant son métabolite majeur. Les produits de sa biotransformation partent souvent dans l'urine car ils sont hydrosolubles pour beaucoup d'entre eux, quelques uns s'éliminent par voie fécale et il reste possible que **certains métabolites intermédiaires passent en faibles quantités dans le lait** de vache (Hayes et Laws, 1991 (c)).

⇒ Le carbofuran

Ce xénobiotique créé dans les années 1960 fut initialement commercialisé en 1967. Cet insecticide systémique et nématocide est applicable sur de nombreuses plantes agricoles et sur les semences.

Cette molécule est aussi désignée par le nom chimique 2,3-dihydro-2,2-diméthyl-7-benzofuranyl *N*-méthylcarbamate. De masse molaire 221,26 g/mol, ce composé est un solide cristallin blanc inodore sous forme pure, et beige en tant que produit technique. Sa structure moléculaire est présentée ci-dessous :



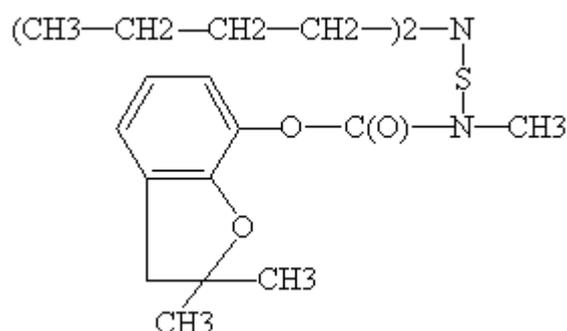
Faiblement hydrosoluble (0,07% dans l'eau), le carbofuran se dissout plus aisément dans les solvants organiques : 4% dans le benzène et l'éthanol, 9% dans le cyclohexane, 15% dans l'acétone, 25% dans le diméthylsulfoxyde, 27% dans le diméthylformamide et 30% dans la *N*-méthyl-2-pyrrolidone. Par contre, sa solubilité est inférieure à 1% dans le xylène, l'éther de pétrole et le kérosène (Hayes et Laws, 1991 (c)). De **liposolubilité modérée**, son coefficient octanol-eau est tel que **log KOW = 1,52** à 20°C (Gouzy et Farret, 2006). Il est doté d'un **pKa de 11,90**.

D'absorption rapide, surtout dans le tractus digestif, il se répartit indifféremment dans l'ensemble des organes et tissus. Il est complètement métabolisé par oxydation et hydrolyse de sa liaison ester donnant des dérivés hydroxylés dont la majorité est excrétée après conjugaison (glucurono- ou sulfo-conjugués), dans les urines et secondairement dans les fèces. La présence de métabolites est possible dans le lait, celle du carbofuran lui-même aussi mais en quantité mineure (0,001% à 0,2% selon les études et la quantité initialement ingérée) (Hayes et Laws, 1991 (c)).

⇒ *Le carbosulfan*

D'abord synthétisé au milieu des années 1970, il est disponible internationalement depuis les années 1980 pour détruire les insectes sur les cultures. On l'emploie comme traitement du sol avant culture de maïs, betterave ou tournesol (MAP, 2007).

Sa dénomination chimique est 2,3-dihydro-2,2-diméthyl-7-Benzofuranyl [(dibutylamino)thio] *N*-méthylcarbamate et sa structure moléculaire se présente comme suit :



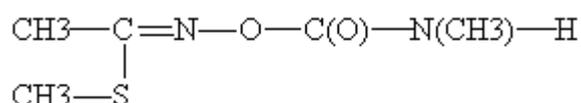
Sa masse molaire s'élève à 380,5 g/mol. Le produit technique possède une teinte brune et une consistance visqueuse. Il est, comme les autres carbamates, peu soluble dans l'eau (0,3ppm), mais parfaitement miscible aux solvants organiques (xylène, hexane, chloroforme, chlorure de méthylène, méthanol, acétone...) (Hayes et Laws, 1991 (c)). C'est un composé doué d'une **importante lipophilie : log KOW = 3,69** (Gouzy et Farret, 2006).

D'absorption et de distribution rapide à travers tout l'organisme, le carbosulfan est métabolisé par rupture de la liaison N-S pour donner du carbofuran et de la dibutylamine, par oxydation du cycle aromatique ou par hydrolyse de la liaison carbamate. La plupart de ces produits sont conjugués et excrétés dans l'urine (sauf la dibutylamine qui s'élimine par voie rénale et les autres composés non conjugués qui partent dans les fèces). Bien que le carbosulfan ou ses métabolites soient principalement rejetés dans les urines et outre la faible proportion présente dans les fèces et l'air expiré, une petite part (plus ou moins de selon les études 1%) **peut se retrouver dans le lait**, comme cela a été démontré sur des chèvres. On peut donc raisonnablement penser qu'il en serait de même chez les vaches (Hayes et Laws, 1991 (c)).

⇒ *Le méthomyl*

Cet insecticide mis sur le marché en 1966 est destiné au traitement des légumes, des fruits, des plantes d'ornement et surtout des cultures en plein champs. C'est un insecticide à large spectre appliqué sur le lin, le maïs, le chou et le matériel de transport des animaux (MAP, 2007).

Le méthomyl, ou *S*-méthyl-*N*-[(méthylcarbamoyl)oxy]thioacétimide, a une masse molaire de 162,23 g/mol et apparaît sous forme pure comme un solide blanc cristallin au parfum légèrement soufré. Chaque molécule est ainsi constituée :



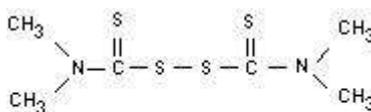
Il est **plus hydrosoluble** que les carbamates envisagés jusqu'ici, puisqu'on peut en dissoudre jusqu'à 5,8% dans l'eau. Mais il se mêle encore plus aisément à certains solvants organiques tels l'isopropanol (22%), l'éthanol (42%), l'acétone (73%) et surtout le méthanol (100%) (Hayes et Laws, 1991 (c)). Cependant, il n'est **pas très liposoluble**, ayant un coefficient octanol-eau de 1,24 (Gouzy et Farret, 2006). Il se décompose rapidement en milieu alcalin et dans les sols humides. Le méthomyl est un **composé fortement basique avec un pKa de 13,27**.

Après absorption (cutanée, orale...), le méthomyl est rapidement métabolisé, pour finalement aboutir à du dioxyde de carbone, de l'acétonitrile et quelques autres composés polaires, éliminés majoritairement dans l'urine, les fèces et l'air expiré. Consécutivement à la vitesse de biotransformation du méthomyl, il n'y a pas d'accumulation dans l'organisme, la distribution est identique quel que soit le tissu. La mamelle peut quelquefois aussi jouer le rôle d'émonctoire : une étude réalisée en 1983 par Osman et coll. sur des chèvres ayant reçu pendant quatre jours une dose orale de 0,95 mg/kg/j de méthomyl marqué radioactivement a mis en évidence 24 heures après la dernière administration la présence de résidus urinaires à 0,35 ppm et lactés à 0,13 ppm, et ces concentrations sont tombées respectivement à 0,001 et 0,01 ppm 7 jours plus tard. Par contre, un test mené chez des vaches nourries avec une ration contenant plus de 0,76 mg/kg/j de méthomyl pendant 30 jours n'a pas révélé de résidu de méthomyl-même dans les organes, la viande ou le lait, puisque ce produit était à 90% transformé en acétonitrile et à 10% converti en divers métabolites hydrosolubles (Du Pont, 1986). Il semble donc que le lait soit une source possible mais assez limitée de résidus de méthomyl ou ses métabolites (Hayes et Laws, 1991 (c)).

⇒ Le thirame

Ce carbamate possède des propriétés bactéricides, répulsives et fongicides et s'emploie pour protéger les semences de céréales, maïs, lin, pois, crucifères et betteraves.

D'un point de vue chimique, son nom systématique est le diamide tétraméthylthioperoxydicarbonique (C₆ H₁₂ N₂ S₄), avec un poids molaire de 240,44 g/mol, et une formule développée plane comme suit :



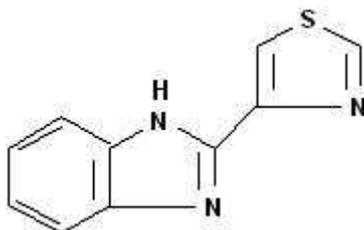
Ce solide cristallisé blanc inodore se dissout peu dans l'eau (0,0165g/l), mais bien plus dans les solvants organiques et modérément dans les lipides (**log KOW = 1,73**) (Gouzy et Farret, 2006). Cette substance est une **base faible, avec un pKa de 8,19**.

Les biotransformations consécutives à l'absorption, rapide, de ce composé, comprennent en particulier des réactions d'oxydo-réduction dont les produits de dégradation seront pour partie exhalés et pour partie éliminés dans l'urine (peu dans les fèces). Malgré sa faible propension à s'accumuler, le thirame peut laisser des résidus pendant plusieurs jours dans certains organes tels que le foie et dans le sang (AFSSA, 2007).

⇒ Le thiabendazole

Ce fongicide est destiné au traitement du matériel et des locaux d'élevage.

C'est un solide cristallisé dont le nom chimique est 2-(4-Thiazolyl)-1H-benzimidazole (formule brute $C_{10}H_7N_3S$) et qui a une masse molaire égale à 201,26 g/mol. Sa formule plane se présente comme suit :



Le thiabendazole se caractérise par trois formes acido-basiques puisqu'outre sa forme basique, il peut se trouver à l'état de monoacide ou de diacide. Ainsi, ce fongicide a deux valeurs de **pKa : 4,73 et 12**. Sa solubilité dans l'eau est très limitée (0,03 à 0,16 g/l selon le pH), mais il se dissout plus aisément dans les solvants organiques et moyennement dans les lipides : **log KOW varie de 1,62 à 2,4 selon le pH** du milieu.

Lors d'ingestion, une forte proportion de ce composé est absorbée et sera ensuite métabolisée par oxydation puis glucurono- ou sulfo-conjugaison. Il se distribue largement mais son accumulation reste faible et son élimination intervient rapidement et fait majoritairement appel à la voie rénale.

Les carbamates sont, pour la plupart, des insecticides qui traversent facilement la barrière digestive et subissent un métabolisme et une élimination rapides. Bon nombre de ces molécules ont une lipophilie modérée, mais leurs propriétés basiques permettent quand même une diffusion dans le lait. De plus, leur application directe sur certaines cultures est susceptible d'entraîner un assez fort taux d'ingestion par les bovins.

c) Dosage dans les produits laitiers : étude bibliographique

Cette famille de produits phytosanitaires est constituée de molécules aux propriétés assez différentes, avec entre autres de forts écarts de lipophilie. Leur métabolisme étant intense, le risque lié à leur passage de le lait semble modéré et le nombre d'études les concernant reste limité.

Whitehurst et coll. se sont intéressés au métabolisme du sévin, carbamate insecticide utilisable sur les fourrages. Pour ce faire, ils ont donné à 4 vaches laitières 450 ppm (par rapport à la matière sèche de fourrage ingéré au total par jour) de sévin technique (98,3% de matière active) pendant 14 jours. Ces vaches ont été traitées matin et soir de 3 jours avant à 4 jours après la période d'exposition. Quel que soit le stade de mesure, ni le sévin ni ses métabolites n'ont été décelés dans le lait (limites de détection du sévin, du 1-naphtol et des métabolites conjugués de 0,016 ppm, 0,005 ppm et 0,1 ppm respectivement) (Whitehurst et coll., 1963).

Dorough (1967) a étudié les voies d'excrétion de carbaryl radioactif lors d'administration de doses uniques de 0,25 et 3,05 mg/kg de ration à une vache laitière. Ce carbamate est employé sur les fourrages et sa teneur peut s'élever jusqu'à 100 ppm lors de la récolte. 60 heures après traitement, environ 0,35% de la dose (0,32% avec 0,25 mg/kg et 0,37% avec 3,05 mg/kg) ont été détectés dans le lait, la concentration maximale ayant été observée 6 heures après traitement (0,063 et 0,950 ppm respectivement pour 0,25 mg/kg et 3,05 mg/kg). Le métabolite principal était le 5,6-dihydro-5,6-dihydroxy-1-naphtyl *N*-méthylcarbamate, il comptait pour 30% des résidus du lait 6 heures après l'ingestion.

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) :

- Dans une étude, des vaches ont 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 ce même pesticide 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 respectivement de 0,021, 0,054 et 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 demeurait toujours nettement inférieure à la limite de quantification (0,005 mg/kg de lait).

Les carbamates ne constituent donc apparemment pas une menace majeure, l'exposition à ces substances *via* les produits laitiers restant très limitée, voire quasi-inexistante lors d'utilisation dans des conditions normales. On ne peut cependant pas nier qu'une certaine portion traverse la barrière mammaire.

4. Les pyréthrinoïdes

a) Généralités

Les pesticides de cette famille sont caractérisés par des propriétés insecticides que l'on exploite d'une part afin de traiter certaines cultures et d'autre part de déparasiter des animaux domestiques comme les chiens et les bovins. Ainsi, en ce qui concerne les bovins, le fenvalérate existe sous diverses formulations destinées à traiter les gales, l'infestation par les tiques ou les poux et à éliminer les mouches et autres insectes piqueurs. De même, on administre de la cyfluthrine, de la fluméthrine, de la deltaméthrine, ou encore de la

cyhalothrine contre divers parasites tels que les mouches, les poux et les tiques (Petit, 2007). Dans le cadre de cette thèse, nous n'envisagerons au sein de cette famille chimique que les représentants appliqués sur les cultures susceptibles de participer à l'alimentation du bétail et dont les propriétés physico-chimiques laissent entrevoir une capacité à laisser des résidus dans le lait.

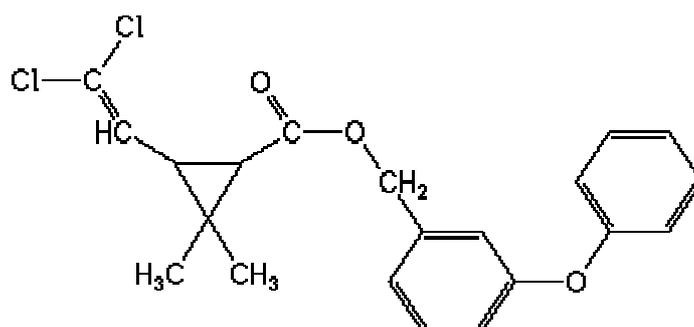
Toutes ces substances demeurent très peu hydrosolubles (solubilité de l'ordre de quelques microgrammes par litre d'eau, parfois encore moins), mais peuvent aisément se dissoudre dans les solvants organiques et sont extrêmement liposolubles (AFSSA, 2007).

b) Principaux représentants

⇒ La perméthrine

Cette substance se caractérise par des propriétés insecticides, bactéricides, virucides et fongicides, en application sur le matériel d'élevage et de transport d'animaux, le logement des animaux domestiques et le matériel de stockage. La quantité usuellement préconisée est d'environ 60 g/m² (MAP, 2007).

Sa dénomination chimique est 3-phénoxybenzyl (1*RS*,3*RS*;1*RS*,3*SR*)-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-diméthylcyclopropanecarboxylate (C₂₁H₂₀Cl₂O₃), avec pour poids molaire 391,3 g/mol et formule plane :



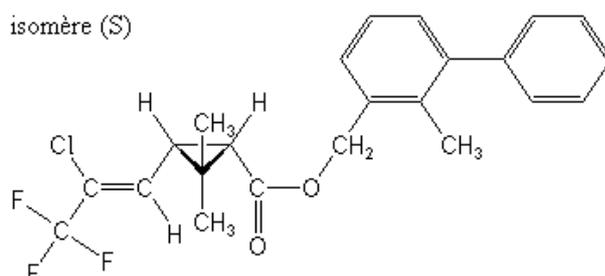
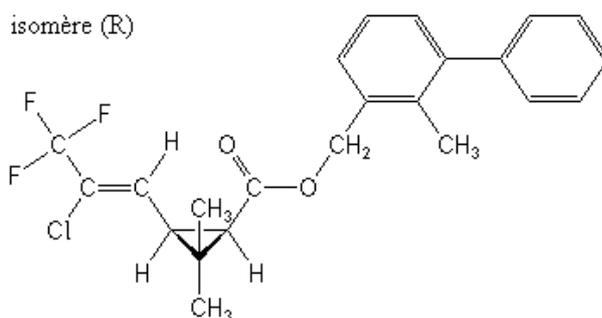
Elle est dotée d'une **très forte liposolubilité avec log KOW = 6,1** (Gouzy et Farret, 2006).

⇒ La bifenthrine

Ce pyréthrianoïde s'administre sur les parties aériennes des céréales, crucifères oléagineuses, féveroles, du maïs et des pois protéagineux et permet aussi de protéger les céréales récoltées. On en applique en général environ 5 à 8 g/ha dans la première indication et 3 g/t dans le second (MAP, 2007).

Ce composé s'appelle aussi (Z)-(*1RS*,3*RS*)-3-(2-Chloro-3,3,3-trifluoroprop-1-ènyl)-2,2-diméthylcyclopropane-1-carboxylate de (2-méthylbiphényl-3-yl)méthyle (C₂₃H₂₂Cl F₃O₂), avec un poids molaire de 422,88 g/mol. C'est un solide cireux très miscible dans les corps gras : **log KOW = 6** (Gouzy et Farret, 2006).

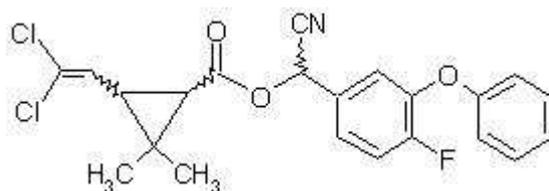
Sa structure est la suivante :



⇒ La cyfluthrine

Ce composé permet le traitement général des sols et la protection des parties aériennes des céréales, des crucifères oléagineuses, des betteraves, de la féverole et des pois protéagineux, à une dose d'environ **15 g/ha** (MAP, 2007).

Elle se nomme d'après l'IUPAC ester (*SR*)-alpha-cyano-(4-fluoro-3-phénoxyphényl)méthyl d'acide (*IRS,3RS* ; *IRS,3SR*)-3-(2,2-Dichlorovinyl)-2,2-diméthylcyclopropanecarboxylique (C₂₂H₁₈Cl₂FNO₃) et une masse molaire de 434,3 g/mol, avec la formule plane suivante :



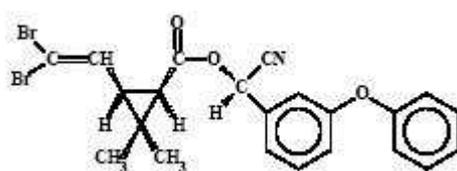
C'est un solide qui constitue des cristaux incolores et inodores et peut se dissoudre aisément dans les corps gras puisque **log KOW = 5,9** pour les isomères II et IV et log KOW = 6 pour les isomères I et III.

L'absorption orale est rapide et presque totale, avec une **large distribution** et comme pour les trois composés précédents, une **affinité plus marquée pour le tissu adipeux**, et une propension à se diriger aussi plutôt vers le foie et les reins. Cependant, la cyfluthrine ne se stocke pas vraiment dans les graisses corporelles et subit une **forte métabolisation** par clivage de la liaison ester, oxydation, hydroxylation et conjugaison. L'excrétion implique ici aussi la voie urinaire pour les deux tiers et la voie fécale pour presque un tiers des métabolites (AFSSA, 2007).

⇒ La deltaméthrine

Cette molécule traite les parties aériennes des cultures de betteraves, céréales, chou, maïs, pois protéagineux et crucifères oléagineuses contre divers insectes parasites. C'est aussi un agent de traitement général des sols, de traitement des céréales destinées à être stockées et de désinsectisation du matériel de transport de nourriture pour animaux et d'animaux domestiques. La dose d'emploi généralement préconisée est inférieure ou égale à 5 g/m² pour traiter les bâtiments et le matériel de transport, varie de 2 à 12,5 g/ha en moyenne lorsqu'on l'applique sur les champs et correspond à 1 g par quintal sur les produits récoltés.

La deltaméthrine porte aussi le nom chimique de (*S*)-alpha-cyano-3-phénoxybenzyl (*1R,3R*)-3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-diméthylcyclopropane carboxylate (C₂₂H₁₉Br₂NO₃), a un poids molaire de 505,21 g/mol et une formule développée plane comme dessinée ci-dessous :



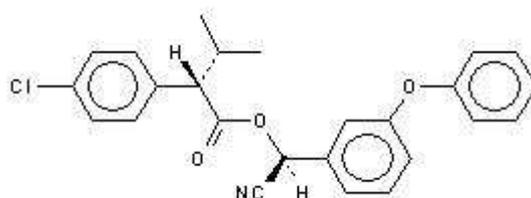
C'est un solide cristallisé blanc caractérisé par une forte lipophilie : **log KOW = 4,6** (à 25°C et pH 7,6).

D'**absorption rapide**, cet insecticide se répartit dans l'ensemble des tissus mais laisse en particulier des **résidus dans les zones plus riches en lipides**. Ce composé est **partiellement métabolisé** par clivage de la fonction ester, hydroxylation et conjugaison, puis l'**élimination** s'effectue **rapidement**, à proportions égales entre l'urine et les fèces.

⇒ L'esfenvalérate

Ce produit est destiné au traitement général du sol et à la protection des parties aériennes de betteraves, céréales, crucifères oléagineuses, féverole, lin, maïs et pois. On en applique la plupart du temps un peu plus de 6 g/ha (MAP, 2007).

Cet insecticide s'appelle aussi (*S*)-alpha-Cyano-3-phénoxybenzyl-(*S*)-2-(4-chlorophényl)-3-méthylbutyrate, a pour formule brute C₂₅H₂₂ClNO₃, pour masse molaire 419,9 g/mol, et la formule développée plane suivante :



Ce liquide est fortement liposoluble : **log KOW = 6,22** (Gouzy et Farret, 2006).

L'esfenvalérate est **presque complètement absorbé** et se distribue largement dans l'organisme. Il y subit de **multiples biotransformations**, dont une hydrolyse de la liaison ester et des oxydations menant à la production d'une vingtaine de métabolites presque totalement éliminés en quelques jours.

Les pyréthriinoïdes sont donc des composés extrêmement lipophiles, aisément absorbés dans le tube digestif et distribués principalement aux tissus les plus riches en lipides, mais ils subissent d'importantes biotransformations aboutissant à leur élimination rapide. Ils sont généralement administrés à doses faibles sur les cultures.

c) Dosage dans les produits laitiers : étude bibliographique

Ces composés sont certes fortement lipophiles, mais étant donné la faible dose répandue par hectare, il est légitime de se demander s'ils représentent effectivement une source importante de contamination du lait de vache.

⇒ Expériences avec des aliments contaminés

Gaughan et coll. ont observé l'élimination de *trans* et *cis*-perméthrine marquées par un carbone radioactif et administrées oralement à des vaches laitières pendant 3 jours à raison d'1 mg/kg. Les résidus présents dans le lait et le tissu adipeux étaient en quantités mineures et majoritairement constitués des composés inchangés, l'élimination étant totale au delà de 12 ou 13 jours. Les isomères de **perméthrine** sont très vite métabolisés et excrétés, donc **peu retrouvés dans le lait** et peu retenus au sein des tissus après quelques jours (Gaughan et coll., 1978).

Croucher et coll. ont étudié les modalités d'excrétion de la cyperméthrine par des vaches laitières après ingestion dans l'alimentation. Les doses administrées étaient de 0,2, 5 ou 10 µg/g d'aliment, alors que chaque vache consommait environ 10 kg de cet aliment par jour, ceci pendant plusieurs jours successifs, en suivant quotidiennement la teneur du lait en cyperméthrine. Les dosages ont montré que moins de 1% de la dose partait dans le lait, sous forme inchangée, ce qui représentait environ 0,03 µg/g de lait avec 10 µg/g de ration. La concentration dans le lait a atteint un plateau après 4 jours. Les résidus se sont aussi localisés dans divers tissus, à savoir par ordre d'affinité le foie, les reins, la graisse rénale, le tissu adipeux sous-cutané, le sang, les muscles et l'encéphale. Pour le lait, ils se situaient dans la matière grasse, conséquence de la forte liposolubilité (Croucher et coll., 1985).

Boyer et coll. ont exposé des vaches laitières à du **fenvalérate** via l'alimentation, à une dose deux fois plus grande que la charge maximale observée dans des aliments pour animaux. Ils ont mis en évidence une **rapide distribution des résidus 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** (Boyer et coll., 1992).

Akhtar et coll. ont administré de la deltaméthrine à des vaches laitières pendant 28 jours consécutifs à raison de 2 ou 10 mg/kg d'aliment et mesuré la teneur en résidus dans le lait et divers tissus à l'issue de cette période. La concentration en xénobiotique obtenue était proportionnelle à la dose ingérée. La quantité de deltaméthrine mesurée 1, 4 et 9 jours après la dernière dose administrée s'est révélée plus importante dans la graisse rénale, puis le tissu adipeux sous-cutané, les muscles de l'avant-main, ceux de l'arrière-main, puis le foie et enfin le rein. Pour le lait, la concentration de cette substance a rapidement diminué, sa demi-vie y étant donc estimée à un jour environ (Akhtar et coll., 1992).

⇒ Enquêtes dans divers pays

En Inde, des dosages effectués sur des échantillons de beurre et de ghee ont mis en évidence des taux de contamination par des résidus de pyréthriinoïdes supérieurs à 90%, 2% des échantillons de beurre contenant des concentrations supérieures aux LMR (Kumari et coll., 2005).

A l'inverse, une autre enquête menée dans le même pays et visant à rechercher des pyréthriinoïdes (ainsi que d'autres pesticides) dans le lait et le beurre n'a pas permis de détecter de résidus pour ces produits, ce qui suggère que s'il y en avait, c'était à des concentrations inférieures au seuil de détection de 0,01 mg/kg (Battu et coll., 2004). On n'en a pas non plus retrouvé au Brésil en examinant un panel de 132 échantillons de lait (Ciscato et coll., 2002).

En Chine, de la bifenthrine a été retrouvée dans un seul cas (2µg/l) lors de l'analyse de 10 échantillons de lait issus de marchés locaux (Zhang et coll., 2005).

Une étude menée en 2006 sur le lait de 152 femmes vivant en zone touchée par le paludisme en Afrique du Sud a révélé la présence de certains représentants de cette famille chimique à des concentrations non négligeables. Ainsi, alors que la dose journalière acceptable pour ces substances est de 10 à 20 µg/kg de poids corporel, les quantités détectées dans le lait des femmes d'une ville de cette région s'élevaient à 14,51 µg/L de perméthrine, 41,74 µg/L de cyfluthrine, 4,24 µg/L de cyperméthrine et 8,39 µg/L de deltaméthrine. La présence de ces contaminants a été reliée à leur usage agricole et de telles proportions suscitent des inquiétudes (Bouwman et coll., 2006). Il s'agit là de lait de femmes, mais on peut très bien penser que le même phénomène serait observé dans le lait de vache.

Les pyréthriinoïdes sont donc très nettement présents dans le lait lors d'usage massif, mais leur élimination mammaire reste fugace.

5. Fongicides du groupe des triazoles

a) Généralités

Les représentants de cette famille chimique 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).

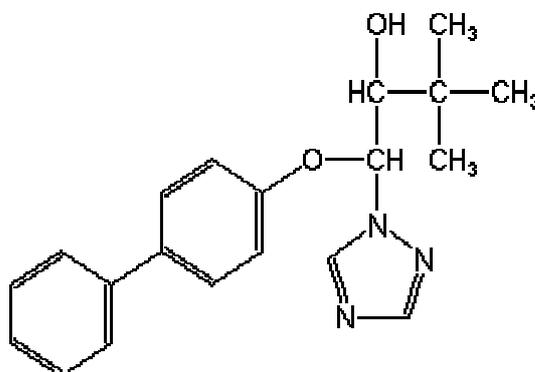
b) Principaux représentants

⇒ Le bitertanol

Cette substance s'emploie en tant que traitement des semences de céréales et des parties aériennes de cultures de betteraves. Sur les semences on en met généralement environ 15g/q et sur les parties aériennes, il faut **240 g/ha** de principe actif (MAP, 2007).

Ce triazole porte aussi le nom chimique de 1-(biphényl-4-yloxy)-3,3-diméthyl-1-(1H-1,2,4-triazol-1-yl)butan-2-ol (C₂₀H₂₃N₃O₂), avec un poids molaire de 337,4 g/mol. Ce

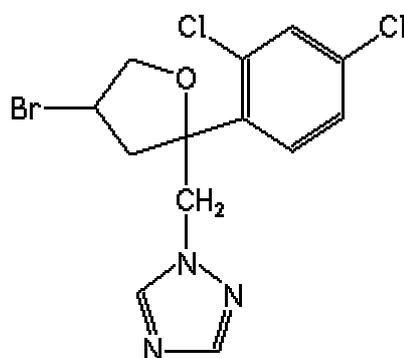
composé contient deux diastéréoisomères A et B, tous deux très lipophiles : **log KOW = 4,1** pour l'isomère A et **log KOW = 4,4** pour l'isomère B (AFSSA, 2007).



⇒ Le bromuconazole

L'application de ce composé a pour but de protéger les parties aériennes des cultures d'orge et de blé. On retrouve ce fongicide dans des préparations renfermant un ou plusieurs autres pesticides avec, et la quantité utilisée varie **entre 200 et 250 g/ha** pour le bromuconazole-même (MAP, 2007).

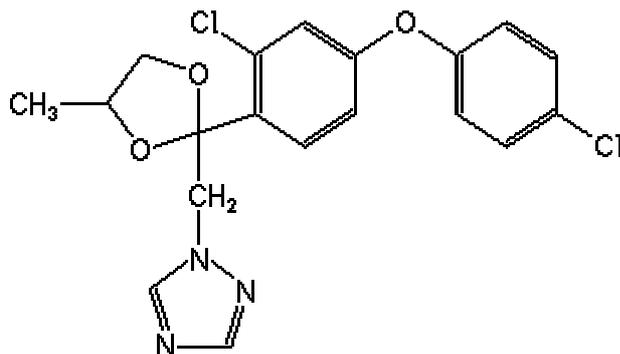
La dénomination IUPAC de cette substance est 1-[4-bromo-2-(2,4-dichlorophényl) tétrahydrofurfuryl]-1H-1,2,4-triazole, ce qui correspond à la formule chimique $C_{13}H_{13}BrCl_2N_3O$ et au poids molaire 377 g/mol. La solubilité en phase lipidique de ce fongicide est telle que **log KOW = 3,24** (Gouzy et Farret, 2006).



⇒ Le difénoconazole

Cette molécule entre dans le traitement des semences de céréales et permet de lutter contre les champignons parasites des parties aériennes des cultures de betteraves, chou, crucifères oléagineuses, tournesol, lin, pois protéagineux et maïs. On en met environ **12,5 g/q** pour les semences et **75 à 125 g/ha** lors de traitement des végétaux sur pied (MAP, 2007).

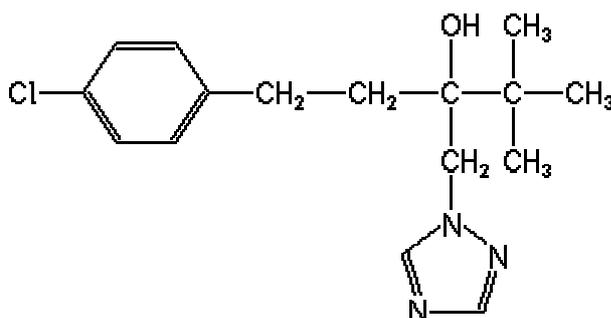
Aussi désigné par 1-{2-[2-Chloro-4-(4-chlorophenoxy)phényl]-4-méthyl-1,3-dioxolan-2-yl} méthyl}-1H-1,2,4-triazole ($C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_3$), le difénoconazole a un poids molaire s'élevant à 406,27 g/mol et un fort coefficient de partage octanol-eau : **log KOW = 4,2** (Gouzy et Farret, 2006).



⇒ Le tébuconazole

Ce triazole est utilisé pour traiter les parties aériennes des plantations d'avoine, blé, chou, crucifères oléagineuses, légumineuses fourragères, lin, pois protéagineux, seigle et triticale et pour protéger les semences de céréales. Les doses usuelles sont de **3 g/q** sur les semences et de **250 g/ha** sur les cultures (MAP, 2007).

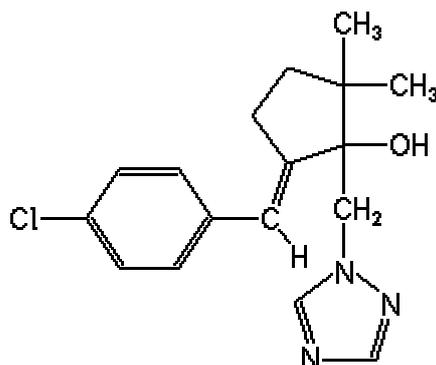
Ce composé de formule brute $C_{16}H_{22}ClN_3O$ et de nom chimique 1-(4-chlorophényl)-4,4-diméthyl-3-(1H-1,2,4-triazol-1-ylméthyl)pentan-3-ol a une masse molaire de 307,81 g/mol et une bonne liposolubilité avec **log KOW = 3,7** (Gouzy et Farret, 2006).



⇒ Le triticonazole

Il entre dans la composition de spécialités de traitement des semences de céréales, à raison d'environ **3,5 g/q**.

Chimiquement, cette poudre blanche est le (*E*) -5-(4-chlorobenzylidène) -2,2-diméthyl-1-(1H-1,2,4-triazol-1-ylméthyl)cyclopentanol ($C_{17}H_{20}ClN_3O$), de poids molaire 317,82 g/mol. Elle est **stable dans les milieux de pH variant entre 5 et 9** et miscible dans les lipides puisque **log KOW = 3,29** (Gouzy et Farret, 2006).



L'absorption, quasi-complète, se déroule **très rapidement** et le composé se distribue largement dans l'ensemble de l'organisme, sans présenter de capacité particulière de bioaccumulation. Son **métabolisme est intense** et fait surtout intervenir des hydroxylations. L'élimination suit rapidement et implique principalement la voie fécale, par excrétion biliaire pour plus de 80% du produit, et très minoritairement par voie rénale (AFSSA, 2007).

c) Dosage dans les produits laitiers : étude bibliographique

Les triazoles sont généralement répandus sur les cultures en quantités importantes, d'où la question légitime d'une éventuelle présence de ces pesticides sur les denrées alimentaires destinées au bétail et consécutivement celle du passage éventuel à l'homme via les aliments, en particulier ici par le lait.

Zhang et coll. (2005) ont testé **10 échantillons** de lait issu des marchés locaux en Chine afin d'y rechercher divers xénobiotiques couramment employés en agriculture. Sur les **deux échantillons révélés positifs**, c'est à dire avec un niveau de résidus supérieur à la limite de détection, l'un d'entre eux recelait du tétraconazole à 4 µg/L. **La contamination des produits laitiers était donc infime voire nulle.**

Malgré une forte lipophilie et des doses d'application sur les cultures importantes, les triazoles ne présenteraient finalement que peu de risques de pollution du lait.

6. Les strobilurines

a) Généralités

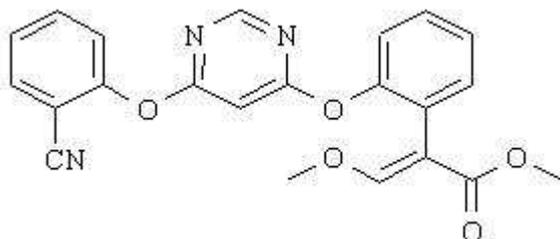
Les strobilurines constituent une **famille chimique très récemment lancée en France**, en 1998. L'efficacité et le faible coût de ces composés explique leur expansion très rapide, jusqu'à occuper **plus d'un tiers du marché français des fongicides en 2000**. Les deux premières molécules développées étaient l'azoxystrobine et le krésoxim-méthyle, puis de nombreux autres composés de cette famille ont été mis sur le marché. De plus, ces molécules sont réputées pour leur « effet vert » puisqu'elles semblent améliorer l'utilisation de l'azote par les plantes, ce qui allonge leur durée de développement et augmente ainsi les rendements (Carlier, 2000). Cependant, les premières résistances aux strobilurines ont été mises en évidence par l'INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) dès 2003 et ce phénomène s'est ensuite beaucoup aggravé.

Les représentants de cette famille possèdent un pouvoir fongicide et servent tous au traitement des parties aériennes de cultures de céréales telles que blé, avoine, orge, seigle et triticale. A quelques exceptions près (comme la fluoxastrobine qui s'emploie à raison d'environ 100 g/ha), ces substances sont appliquées à des **doses comprises entre 200 et 250 g/ha**. Ces composés ont en commun une faible hydrosolubilité (de l'ordre de quelques milligrammes par litre d'eau), une forte capacité à se dissoudre dans les solvants organiques et une liposolubilité modérée (MAP, 2007). Ils ne subissent **a priori pas de bioaccumulation** mais les quantités utilisées demeurent élevées par rapport à d'autres catégories de pesticides.

b) Principaux représentants

⇒ L'azoxystrobine

Le composé utilisé en agriculture est l'isomère E, aussi désigné selon la nomenclature chimique par le nom méthyl (E)-2-{2[6-(2-cyanophénoxy)pyrimidin-4-yloxy]phényl}-3-méthoxyacrylate, ce qui correspond à la formule brute $C_{22}H_{17}N_3O_5$ et au poids molaire 403,4 g/mol. Sa formule développée plane est :

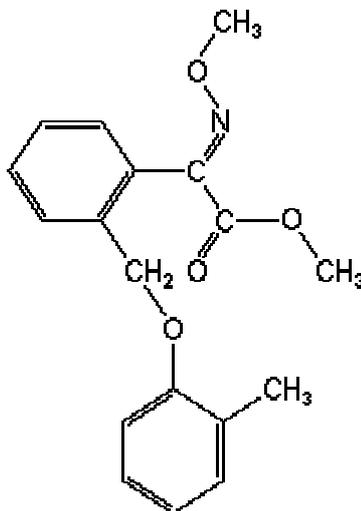


Sa **lipophilie** reste **modérée** puisque **log KOW = 2,5** (Gouzy et Farret, 2006)..

L'absorption de ce produit concerne 100% de la quantité ingérée. Il se distribue ensuite dans tout l'organisme, avec quand même une prédilection pour les reins et le foie, où sa biotransformation aboutit à plus de 18 métabolites qui s'éliminent par voie biliaire pour les trois quarts et moindrement par voie urinaire (AFSSA, 2007).

⇒ Le krésoxim-méthyle

Ce composé aussi désigné par le nom IUPAC acétate de méthyl (E)-méthoyimino[α -(o-tolyloxy)-o-tolyl] ($C_{18}H_{19}NO_4$) est un solide de masse molaire 313,3 g/mol et il a pour formule développée :



Le krésoxim-méthyle est peu hydrosoluble mais fortement miscible aux solvants organiques et doté d'une importante lipophilie avec **log KOW = 3,5**.

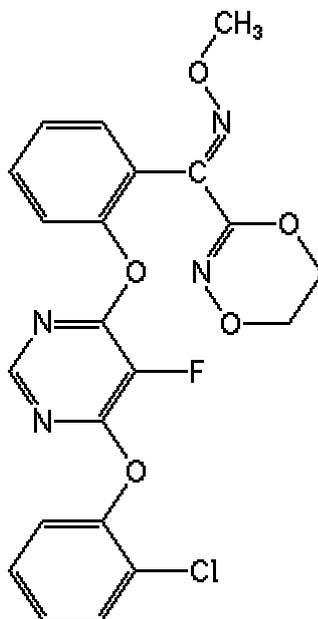
Après ingestion, il n'est que partiellement absorbé, mais se distribue largement dans l'organisme et **s'élimine rapidement**, a priori sans bioaccumulation (AFSSA, 2007).

Il s'applique sur les parties aériennes des cultures de betteraves, avoine, blé, seigle, triticale et orge, généralement en association avec un triazole (au sein d'une même présentation commerciale) à raison de 125 g/ha (MAP, 2007).

⇒ La fluoxastrobine

C'est aussi la (Z)-(2-{[6-(2-chlorophénoxy)-5-fluoropyrimidin-4-yl]oxy}phényl)(5,6-dihydro-1,4, 2-dioxazin-3-yl)méthanone O-méthoxyime (C₂₁H₁₆ClFN₄O₅), de masse molaire 458,8 g/mol et de lipophilie modérée : **log KOW = 2,86**.

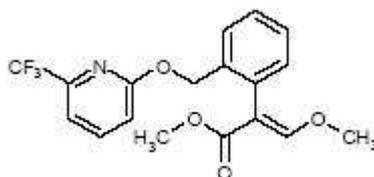
Formule développée plane :



Cette substance est presque totalement absorbée par le tractus digestif lors d'ingestion et se répartir dans tous les tissus, préférentiellement au niveau des reins, du foie, du tube digestif et de la vessie. La métabolisation concerne environ 90% du composé parental et donne naissance à une cinquantaine de métabolites excrétés via la bile (pour plus de 80%) et l'urine (AFSSA, 2007).

⇒ La picoxystrobine

Autrement dénommée méthyl (E)-2-{2-[6-(trifluorométhyl)pyridin-2-yloxy]méthyl}phényl}3-méthoxyacrylate (C₁₈H₁₆F₃NO₄), ce composé de poids molaire 367,3 g/mol admet la formule développée plane suivante :

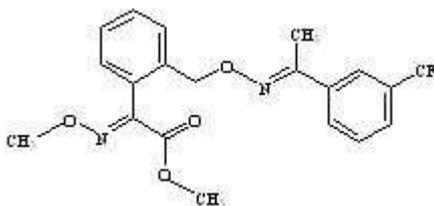


Ce fongicide est un peu plus lipophile que les deux représentants précédemment étudiés : **log KOW = 3,6**.

Après absorption digestive, qui concerne environ $\frac{3}{4}$ de la dose ingérée, la picoxystrobine se distribue largement au sein des divers tissus et subit, pour la totalité de la fraction absorbée, des réactions métaboliques à l'origine de nombreux métabolites (par hydrolyse de l'ester et glucuroconjugaison) excrétés en quelques jours par la bile et les fèces (AFSSA, 2007).

⇒ La trifloxystrobine

Il s'agit du méthyl (*E*)-méthoxyimino-{(*E*)-a-[1-a-(α,α,α -trifluoro-m-tolyl)-éthylidèneaminoxy]o-tolyl}-acétate (C₂₀H₁₉F₃N₂O₄), dont le poids molaire s'élève à 408,4 g/mol et caractérisé par la formule plane ci-dessous :



La trifloxystrobine possède une forte lipophilie avec **log KOW = 4,5**.

Seulement un peu plus de la moitié de la quantité ingérée traverse effectivement la barrière digestive, puis se répartit dans tous les tissus et subit des réactions d'hydrolyse, déméthylation, oxydation et conjugaison. L'excrétion fait intervenir les voies urinaire et biliaire (la participation de cette dernière est légèrement majoritaire) (AFSSA, 2007).

Les strobilurines, fongicides récemment introduits en France et employés à doses élevées, sont doués d'une lipophilie modérée à élevée permettant leur bonne absorption par le tractus digestif. Elles subissent ensuite un métabolisme intense et sont en général rapidement éliminées.

c) Dosage dans les produits laitiers : étude bibliographique

Les strobilurines étant des pesticides très récents, introduits en France à la fin des années 1990, les publications concernant de potentiels résidus dans le lait restent rares. Ces fongicides se sont beaucoup répandus en raison de leur efficacité pour un coût modéré.

Atkinson et coll. ont réalisé une synthèse d'études portant sur les résidus de pesticides dans les denrées alimentaires en Grande-Bretagne et, parmi les molécules étudiées, la picoxystrobine a été recherchée. Cette substance est vite dégradée dans le sol, ne s'accumule pas dans l'environnement et est a priori dénuée d'effet toxique, mais comme son introduction au Royaume-Uni ne date que de 2002, des dosages ont été effectués dans le lait et différents aliments. Il a ainsi été démontré que **la picoxystrobine ne s'accumule pas dans le lait, même lors de surdosage** par rapport aux quantités recommandées en agriculture (Atkinson et coll., 2003).

Une autre enquête menée en 2005 a cependant mis en évidence un **faible passage dans le lait** (EFSA, 2005):

- Des chèvres laitières ont été nourries avec une ration contenant de la fluoxastrobine radioactive et la radioactivité a été dosée dans le lait et divers tissus. 0,11% de radioactivité a été révélé dans le lait, c'est à dire une très faible proportion. Les composés résiduels en cause étaient principalement la fluoxastrobine elle-même et son métabolite la phénoxy-hydroxypyrimidine (M55), avec d'autres métabolites en moindres quantités.
- De même des vaches laitières recevant de la fluoxastrobine à raison de 65% d'isomère E et 35% d'isomère Z, soit un ratio représentatif de ce que l'on pourrait attendre dans

les aliments, dans leur ration, en ont excrété une faible part par voie galactophore, sous forme des isomères E et Z et de M55.

- D'autres études de ration chez des ruminants, à raison de 0,1 mg/kg de ration/j ou plus, ont permis d'aboutir à une concentration maximale dans le lait de 0,01 mg/kg.

L'importance des biotransformations subies par les strobilurines après absorption est donc telle que ces composés ne passent que peu ou pas dans le lait malgré leur lipophilie et les fortes quantités habituellement employées sur les cultures.

7. Les pesticides nitrophénoliques

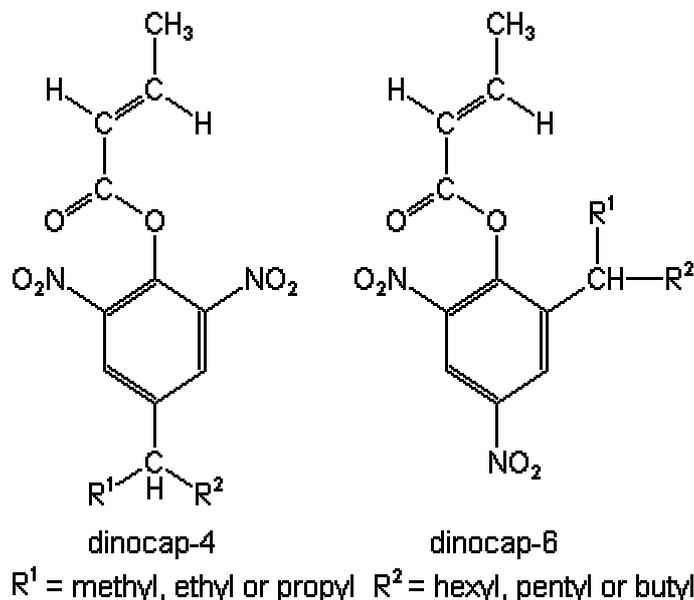
a) Dinitrophénols

Ce sont des dérivés du 2,4-dinitrophénol.

⇒ Le dinocap

Introduit dès les années 1930, il exerce une action acaricide et fongicide.

Ce composé de formule brute $C_{18}H_{24}N_2O_6$ est un mélange de crotonate de (*RS*)-2,4-dinitro-6-octylphényle et de crotonate de (*RS*)-2,4-dinitro-4-(1-méthyl-*n*-heptyl)phényle (« octyl » désigne en fait un mélange des groupes 1-méthylheptyl, 1-éthylhexyl et 1-propylpentyl) et ces molécules sont ainsi constituées :



Sa masse molaire d'élève à 364,39 g/mol et il apparaît comme un liquide brun foncé. Très peu soluble dans l'eau (4 mg/l), cette **base faible de pKa 12,70** peut se dissoudre dans les solvants organiques et les lipides puisque **log KOW = 4,53** (Gouzy et Farret, 2006).

Après absorption, il se répartit indifféremment dans l'ensemble des tissus et après métabolisation (hydrolyse et oxydation), 70% s'éliminent via l'urine.

b) Halophénols

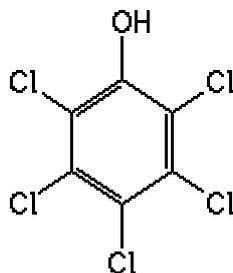
Ces dérivés du phénol (C₆H₅OH) possèdent une plus longue persistance et des propriétés insecticides et fongicides plus développées que ce dernier lorsqu'ils portent un ou des atome(s) de chlore. Le pentachlorophénol est celui qui a été le plus largement répandu, même si d'autres dérivés tels que le 2,3,4,6-tétrachlorophénol, le 2,4,6-trichlorophénol, le 2,4,5-trichlorophénol et le 2,4-dichlorophénol ont aussi été utilisés. La synthèse des chlorophénols induit souvent la production de dioxines chlorées, hautement toxiques pour l'homme.

⇒ Le pentachlorophénol

Son utilisation comme herbicide date de 1940 et son sel sodique sert de molluscicide.

De formule empirique C₆Cl₅OH et de poids molaire 266,35 g/mol, ce pesticide apparaît pur comme un solide cristallin incolore, et en tant que produit phytosanitaire, il est mélangé à du tétrachlorophénol car la fabrication de pentachlorophénol seul est beaucoup plus complexe, alors que, comme nous l'avons écrit ci-dessus, le tétrachlorophénol a le même type de propriétés. Le pentachlorophénol est un **acide faible** (pKa = 4,71) peu hydrosoluble (20 ppm à 30°C) mais facilement miscible aux solvants organiques et aux lipides, avec un fort coefficient de partage octanol/eau : **log KOW = 5,01**.

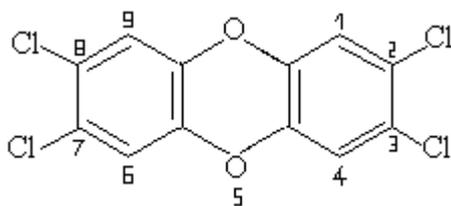
Formule développée plane :



Toute voie est envisageable pour son **absorption**, qui se révèle **très rapide et efficace**. La distribution du composé est ensuite inégale, majoritairement dirigée vers le foie et les reins, organes les plus impliqués respectivement dans sa métabolisation et son excrétion. Par conséquent, il est éliminé dans l'urine en très grande majorité, et en quantité minime dans les fèces. Le métabolisme de cet halophénol génère surtout de la tétrachloro-*p*-hydroquinone, qui s'évacue par les urines. L'excrétion a aussi lieu sous forme inchangée. Cependant, en raison du fort degré de liaison aux albumines plasmatiques, la clairance rénale du pentachlorophénol reste basse. La biotransformation de ce xénobiotique existe aussi dans le sol grâce à l'intervention de micro-organismes telluriques.

⇒ Le TCDD

La 2,3,7,8-tétrachlorodibenzo-*p*-dioxine est caractérisée au niveau moléculaire par une configuration totalement plane et l'halogénéation (par des atomes de chlore) des carbones latéraux du noyau aromatique, avec un poids molaire de 321,96 g/mol. La structure d'une molécule est la suivante :



C'est un composé très peu hydrosoluble (0,2 ppb) mais **hautement lipophile** avec un **coefficient octanol-eau de 10^5** . Il se trouve habituellement sous forme solide stable dans les conditions usuelles de stockage et, dans le sol, a tendance à s'associer aux diverses particules organiques du fait de son importante lipophilie. Ceci implique une **dégradation très lente dans le milieu extérieur** (demi-vie supérieure à 10 ans d'après certaines études). Comme toutes les dioxines, c'est une substance extrêmement toxique, d'ailleurs c'est la dioxine la plus toxique. Sa DL50 varie beaucoup selon les espèces animales mais s'exprime toujours en microgrammes par kilogramme de poids vif.

L'absorption dépend aussi, quelle que soit la voie, de l'excipient : plus celui-ci est liposoluble, plus le TCDD est facilement et complètement absorbé. Il se dépose ensuite plutôt dans le foie et encore plus dans le tissu adipeux. **Sa métabolisation se déroule lentement et très partiellement** : l'immense majorité de l'excréta est constituée de TCDD sous forme inchangée, prioritairement dans les fèces, moindrement dans l'urine, et de nombreuses études ont mis en évidence une excrétion lactée relativement marquée.

c) Dosage dans les produits laitiers : étude bibliographique

Quelques expériences ont été mises en œuvre afin de déterminer le risque potentiel représenté par la présence de ces pesticides sur les aliments pour bétail et la contamination du lait qui en découlerait éventuellement.

Des vaches ont été nourries avec une ration contenant 0,2 mg/kg PV/j de **pentachlorophénol (PCP)** technique afin de stimuler leur métabolisme et ainsi mieux détecter les résidus lors de l'expérimentation au sens strict. Puis elles ont reçu du PCP marqué radioactivement une seule fois, et encore 4 jours de PCP technique. 76 heures après l'administration de PCP radioactif, 5% de la radioactivité étaient présents dans le lait, surtout sous forme de dérivés conjugués et non-conjugués. Les auteurs en ont conclu que **le lait ne constitue qu'une voie mineure d'excrétion de ce composé** (Kinzell et coll., 1985).

Une autre étude menée par Firestone et coll. portait sur les résidus de certaines dioxines et de PCP dans le lait de trois vaches alimentées avec une ration comportant 20 mg/kg/j de PCP commercial pendant 10 jours puis 10 mg/kg/j pendant 60 jours. Le PCP commercial contient 7 dioxines différentes. **Trois dioxines ont été retrouvées dans le lait** et le tissu adipeux : la 1,2,3,6,7,8-hexachlorodioxine, la 1,2,3,4,6,7,8-heptachlorodioxine et l'octachlorodioxine. De l'hexachlorobenzène (HCB), que l'on trouve aussi dans le PCP commercial, a aussi été décelé. Les dosages aboutissaient aux concentrations maximales suivantes : 4 mg/kg de PCP sur lait entier et 200 µg/kg d'HCB et 85 µg/kg de dioxines totales par rapport à la matière grasse du lait. Lors de l'arrêt d'ajout de PCP dans la ration, sa teneur dans le lait a diminué en quelques jours pour passer en dessous de 0,1 mg/kg. La demi-vie de l'HCB et des dioxine a été estimée à 50 jours environ (Firestone et coll., 1979).

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).

Les pesticides nitrophénoliques représentent donc un risque de pollution du lait, en particulier les halophénols, dont certains sont des dioxines, composés connus pour leur toxicité et dotés d'une forte liposolubilité ainsi que d'une importante rémanence.

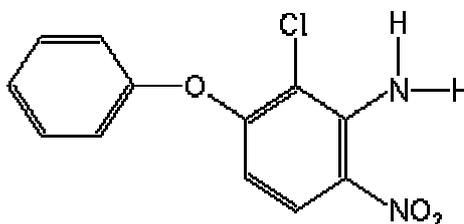
8. Les nitrophényléthers

Ces substances sont douées d'un pouvoir herbicide. Nous allons étudier deux représentants de cette famille, molécules dont les indications et les propriétés physico-chimiques nous laissent envisager des capacités de transfert dans le lait.

a) L'aclonifène

Cet herbicide est employé pour le désherbage total, mais aussi plus spécifiquement afin de détruire les plantes adventices des cultures de féverole, maïs, pois protéagineux et tournesol (MAP, 2007). La dose employée est généralement d'environ **2,7 kg/ha**.

Sa dénomination IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) est 2-Chloro-6-nitro-3-phénoxyaniline, ce qui correspond à la formule brute $C_{12}H_9ClN_2O_3$ et à un poids molaire de 264,7 g/mol. Il s'agit d'un solide cristallisé assez peu hydrosoluble (2,5 mg/L) mais très soluble dans les solvants organiques et très lipophile avec **log KOW = 4,37** (Gouzy et Farret, 2006). Il reste stable dans une gamme de pH variant entre 3 et 9 et possède un **pKa de 5**. Sa formule plane est la suivante :



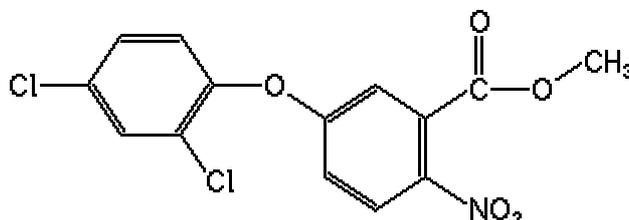
Ce composé est fortement absorbé par voie digestive.

b) Le bifénox

On utilise ce pesticide sur les cultures d'avoine, de blé, de dactyle, de fétuque, d'orge, de ray-grass, de seigle et de triticales, à des doses variant **entre 600 et 750 g/ha**.

Son appellation chimique est 5-(2,4-Dichlorophénoxy)-2-nitrobenzoate de méthyle ($C_{14}H_9Cl_2NO_5$) et une mole de bifénox pèse 342,1 g. C'est un solide cristallisé peu soluble dans l'eau (0,36 mg/L) mais très fortement miscible aux solvants organiques, avec une importante liposolubilité : **log KOW = 4,5** (Gouzy et Farret, 2006).

Formule développée :



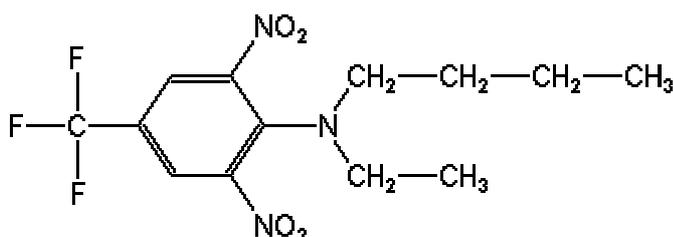
9. Les dinitroanilines ou toluidines

Les molécules appartenant à cette famille possèdent des propriétés herbicides. Il apparaissent comme des solides cristallisés très faiblement hydrosolubles (<1 mg/L d'eau) mais pouvant se dissoudre dans les solvants organiques et fortement lipophiles (AFSSA, 2007).

a) La benfluraline

Cette substance sert à désherber certaines cultures telles que les pois protéagineux et la luzerne. Les quantités de composé actif déposées sur les végétaux varient de **1,08 à 1,26 kg/ha** (MAP, 2007).

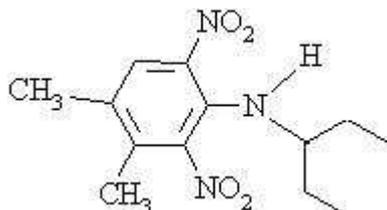
On la nomme aussi N-butyl-N-éthyl-2,6-dinitro-4-(trifluorométhyl)aniline ($C_{13}H_{16}F_3N_3O_4$) et sa masse molaire est de 335,28 g/mol. Elle se caractérise par une très forte liposolubilité : **log KOW = 5,29** (à 20°C et pH 7).



b) La pendiméthaline

Ce produit de désherbage des champs de chou, féverole, maïs, orge, pois protéagineux, seigle, soja et tournesol s'emploie à des doses comprises entre 500 g/ha et plus de 1,3 kg/ha selon l'espèce végétale concernée et selon que la pendiméthaline est combinée ou non avec un autre pesticide dans la spécialité considérée (MAP, 2007).

La nomenclature de l'IUPAC désigne cette dinitroaniline par le terme N-(1-éthylpropyl)-3,4-diméthyl-2,6-dinitro-3,4-xylidène (C₁₃H₁₉N₃O₄), avec une masse molaire de 281,3 g/mol et la formule plane suivante :



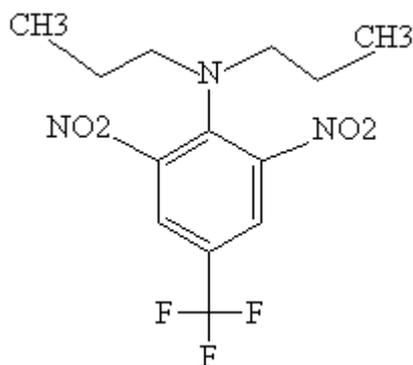
C'est un **acide faible** au pKa de 2,8 et sa lipophilie est telle que **log KOW = 5,2**.

L'absorption reste possible par n'importe quelle voie, mais lorsqu'elle s'effectue dans le tractus digestif, elle ne concerne qu'un peu plus de la moitié de la quantité ingérée. Puis la pendiméthaline se répartit dans l'ensemble de l'organisme et sa **métabolisation, importante**, met en jeu des réactions d'oxydation. L'élimination a ensuite lieu par les voies biliaire (environ aux ¾ via les fèces) et rénale (AFSSA, 2007).

c). La trifluraline

Cet herbicide permet le désherbage des cultures d'avoine, blé, chou, colza, féverole, orge, pois, seigle, soja, tournesol et triticale. Les doses généralement employées se situent **entre 1 et 1,2 kg/ha** selon que ce principe actif est seul ou avec d'autres substances dans la préparation (MAP, 2007).

Cette substance se nomme aussi α,α,α -trifluoro-2,6-dinitro-N,N-dipropyl-p-toluidine (C₁₃H₁₆F₃N₃O₄) et possède un poids molaire égal à 335,5 g/mol. Elle est plus ou moins liposoluble selon le pH (un peu moins quand il diminue) mais reste fortement miscible dans les corps gras puisque **log KOW varie entre 4,83 et 5,27** (AFSSA, 2007). Voici l'allure d'une molécule de trifluraline (Hurley, 1998):



Les dinitroanilines sont des herbicides répandus à très fortes doses sur les cultures et extrêmement lipophiles. Elles subissent ensuite des biotransformations dans l'organisme, mais leurs propriétés justifieraient que l'on s'interroge sur leur propension à polluer le lait.

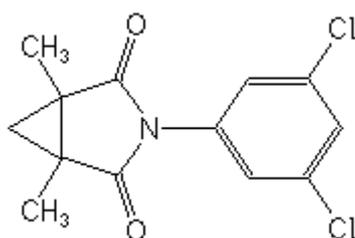
10. Les dicarboxamides

Les composés de cette famille chimique sont dotés de propriétés fongicides.

a) La procymidone

Autrement nommée 3-(3,5-dichlorophényl)-1,5-diméthyl-3-azabicyclo[3.1.0]hexane-2,4-dione (C₁₃H₁₁Cl₂NO₂), cette molécule de masse molaire 284,1 g/mol apparaît comme un solide cristallisé, en poudre granuleuse blanche peu soluble dans l'eau mais facilement dans les solvants organiques et **assez lipophile** (log KOW = 3,14) (AFSSA, 2007).

Chaque molécule a la structure suivante :

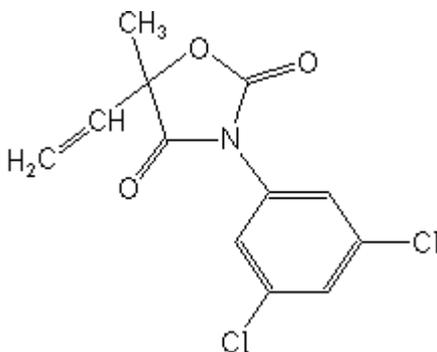


On l'emploie afin de traiter les parties aériennes des cultures de chou, de pois et de crucifères oléagineuses à raison de **750 g/ha**, et en traitement général des plants à **150 g/q** (MAP, 2007).

b) La vinclozoline

C'est aussi la (*RS*)-3-(3,5-dichlorophényl)-5-méthyl-5-vinyl-1,3-oxazolidine-2,4-dione, solide cristallisé de poids molaire 286,11 g/mol, très peu miscible à l'eau mais aisément avec les solvants organiques (AFSSA, 2007) et dans les lipides (**log KOW = 3**).

Sa formule plane est :



Ce fongicide est **maintenant interdit en France**, même s'il reste une **tolérance** pour l'utiliser **jusqu'à fin 2007**. On l'utilisait en association avec le carbendazime pour traiter les parties aériennes des plantations de pois protéagineux et de conserve (MAP, 2007).

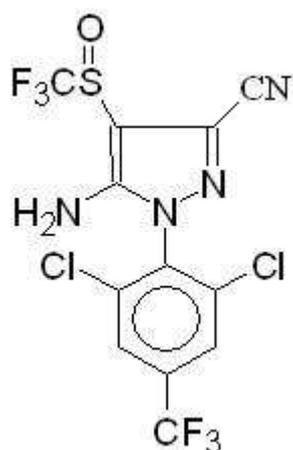
11. Pesticides de familles diverses

a) Le fipronil

⇒ Présentation

Cet insecticide appartient aux phénylpyrazoles et permet la désinsectisation des locaux de stockage et du matériel de transport. Il s'emploie aussi pour le traitement général des sols, ceci à raison de 25 g/ha dans les champs (les doses sont bien supérieures lors d'application sur un jardin, contre les fourmis) (MAP, 2007). Bien sûr, on l'administre en tant qu'antiparasitaire externe sur les animaux domestiques, mais nous ne traiterons pas ce sujet.

Le fipronil s'appelle aussi 5-amino-1-(2,6-dichloro- α,α,α -trifluoro-p-tolyl)-4-trifluoromethylsulfinylpyrazole-3-carbonitrile d'un point de vue chimique ($C_{12}H_4Cl_2F_6N_4OS$), chaque mole pèse 437,5 g et il a la formule plane suivante :



C'est un solide blanc faiblement soluble dans l'eau, variablement miscible aux solvants organiques et lipophile : **log KOW = 3,5 à 4**.

L'absorption de ce composé suite à ingestion est quasi-complète et la distribution vise préférentiellement le tissu adipeux, puis le foie, le pancréas, les glandes surrénales et la peau. Il subit des **biotransformations rapides** dont le produit principal est le fipronil sulfone. Tous les métabolites doivent être conjugués avant l'excrétion, qui implique surtout la voie fécale et beaucoup moins les urines (AFSSA, 2007). Les tissus cibles des résidus de fipronil semblent être le tissu adipeux et, dans une moindre mesure, le foie. **Le taux de transfert dans le lait reste faible mais mesurable**, la concentration (composé parental et ses métabolites sulfone et sulfure) retrouvée se situe entre 0,5% et 2% de celle du fipronil initialement présent dans l'aliment ingéré (Arnich et coll., 2005).

⇒ Dosage dans les produits laitiers : étude bibliographique

Chez trois chèvres en lactation, du fipronil a été intégré à la ration alimentaire à raison de 0,05, 2 et 10 mg/kg pendant 7 jours consécutifs. Les dosages effectués 24 heures après la dernière administration ont mis en évidence un taux de transfert de cette substance ou de ses métabolites dans le lait assez limitée, 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.

L'AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments) a fait analyser **47 échantillons de lait de vache du commerce** en vue d'y quantifier les résidus de fipronil ou de ses métabolites. Ces échantillons provenaient de différents départements, avec divers modes de production et plusieurs types de conditionnement. Seuls **deux échantillons contenaient du fipronil** (composé parental) à des teneurs comprises entre les limites de détection (LD) et de quantification (LQ) et **16 échantillons renfermaient un métabolite de fipronil** (sulfone), toujours à des concentrations variant entre les limites de détection et de quantification. Un de ces 16 échantillons comportait aussi du fipronil-même. Il y avait donc au total 17 prélèvements positifs sur 47.

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).

b) Les dérivés de l'étain

⇒ L'acétate de fentine

◆ Présentation

Aussi nommé acétate de triphényl (structure : $(C_6H_5)_3Sn-OC(O)-CH_3$), ce fongicide est utilisé sur de nombreux végétaux tels que les rutabagas, les pommes de terre, le céleri, et d'autres cultures. Sa solubilité dans l'eau est de 28 mg/L mais il est peu soluble dans les solvants organiques. Utilisé sous forme de poudre dissoute dans de l'eau, cette substance est appliquée à raison de 160 à 260 g/ha (Hayes et Laws, 1991 (c)).

◆ Dosage dans les produits laitiers : étude bibliographique

Herok et Götte ont en 1964 dosé l'acétate de fentine chez des brebis : ce composé pénètre peu par la peau, mais lors d'administration par voie orale pendant 20 jours à 10 mg/j, les dosages révèlent la présence d'étain sous forme d'acétate de fentine et de deux autres composés dans le lait à une concentration moyenne de 0,0017 ppm, quantité qui diminue jusqu'au seuil de détection en environ 17 jours (Hayes et Laws, 1991 (c)).

⇒ Les éthyles d'étain

◆ Présentation

De formule générale R_nSnX_{3-n} , R_2SnX_2 , R_3SnX et R_4Sn où R est un groupement alkyle et X un ion simple ou complexe, ce sont surtout les sels de tributyltin qui possèdent la plus forte activité.

Lors d'ingestion par un animal, on les retrouve principalement dans les fèces sous forme inchangée car ils traversent très peu la barrière gastro-intestinale (Bridges et coll., 1967). Leur passage dans le lait de vaches consommant des aliments ainsi traités est donc probablement très limité (Hayes et Laws, 1991 (c)).

◆ Dosage dans les produits laitiers : étude bibliographique

La FAO et la WHO ont évalué les risques liés à l'ingestion par les vaches d'acaricides dérivés de l'étain : l'azocyclotin et le cyhexatin (Hayes et Laws, 1991 (c)) :

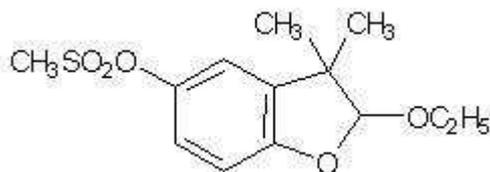
- Une étude a été menée sur une vache laitière recevant dans sa ration de l'azocyclotin pendant 5 jours consécutifs à hauteur de 0,5 mg/kg de poids vif. Le lait a été collecté une à deux fois par jour et analysé. Les résultats obtenus ont mis en évidence la **présence de résidus dans le lait**, avec un niveau maximal atteint en 4 jours et se présentant sous la forme d'azocyclotin ou de cyhexatin à 92% (soit 0,02 mg/kg).
- Des chèvres laitières ont été nourries avec une ration contenant du cyhexatin à 100 ppm pendant 4 jours. **La quantité apparue dans le lait représentait moins de 0,1% de la dose initialement ingérée**, s'élevant à 0,02 mg/kg de lait, uniquement sous forme de cyhexatin non modifié. La dose de 100 ppm équivaut à environ 3700 fois la concentration maximale observée dans les aliments pour animaux, si bien que les experts en ont déduit qu'**en situation normale, on ne retrouverait pas de résidus dans le lait**.

c) L'éthofumésate

Ce composé est un herbicide sélectif systémique de la famille des benzofurannes, utilisé pour désherber certaines cultures telles que les betteraves et les haricots. La quantité déposée sur les végétaux d'élève à **1,5 kg/ha** (MAP, 2007).

D'après la nomenclature chimique, il se nomme aussi 2-éthoxy-2,3-dihydro-3,3-diméthylbenzofuran-5-ylméthanesulfonate, a pour formule brute $C_{13}H_{18}O_5S$ et un poids molaire de 286,3 g/mol.

Chaque molécule possède la structure suivante :



L'éthofumésate est assez peu hydrosoluble (39 à 57 mg/l selon le pH), mais **soluble dans les solvants organiques et dans les lipides** (log KOW = 2,7). Il est hydrolysé en milieu acide ou basique (Gouzy et Farret, 2006 ; Babut et coll., 2001).

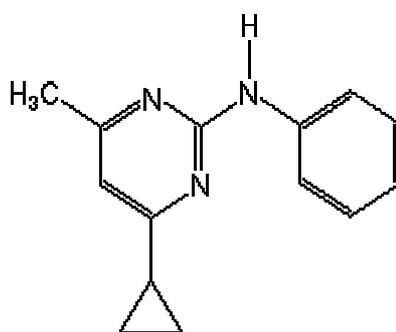
Son absorption se produit rapidement, surtout par voie orale, et le produit se distribue largement dans l'ensemble de l'organisme. Il subit une biotransformation faisant surtout intervenir des hydrolyses et des oxydations avec ouverture du cycle. L'excrétion se produit ensuite majoritairement *via* l'urine (AFSSA, 2007).

d) Le cyprodinil

⇒ Présentation

Ce fongicide de la famille des phénylaminopyrimidines est indiqué 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).

Appelé 4-cyclopropyl-6-méthyl-N-phénylpyrimidine-2-amine selon l'IUPAC, ce composé de poids molaire 225,3 g/mol (C₁₄H₁₅N₃) a la forme d'un solide cristallisé constituant une fine poudre beige, légèrement soluble dans l'eau. Il se dissout aisément dans les solvants organiques et les lipides avec **log KOW = 4** (à 25°C et pH 5 à 9). Son **pKa** est égal à **4,44** (à 20°C).



Le cyprodinil 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).

⇒ Dosage dans les produits laitiers : étude bibliographique

Ce composé a été surveillé par les diverses instances internationales qui gèrent la sécurité des denrées alimentaires et la santé publique, grâce à la mise en œuvre d'expériences sur des vaches et des chèvres laitières nourries avec des rations recelant ce xénobiotique.

La WHO et la FAO ont en 2003 établi un rapport général concernant le danger potentiel des pesticides dans l'alimentation humaine, bilan au sein duquel le cyprodinil a aussi été évalué (WHO & FAO, 2004):

- Des chèvres laitières alimentées pendant 4 jours consécutifs avec des rations renfermant des doses de ce composé égales à 0,19 ou 0,2 mg/kg PV/j, soit l'équivalent de 8 ou 8,9 ppm de la ration respectivement. 0,13 et 0,53% de la dose furent les quantités maximales respectivement dosées dans le lait.
- Une autre étude avec des chèvres recevant 100 ppm de cyprodinil dans leur ration, soit 4,1 mg/kg PV pendant 4 jours, n'a 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 phényl et ses glucurono- et sulfo-conjugués.
- Des vaches laitières recevant 5,15 ou 50 ppm de cyprodinil par rapport à la matière sèche de la ration pendant 28 jours et traitées régulièrement n'ont pas excrété de cyprodinil en quantité mesurable dans le lait, ce qui signifie que les concentrations des résidus potentiels étaient inférieures à la limite de quantification de 0,01 mg/kg.

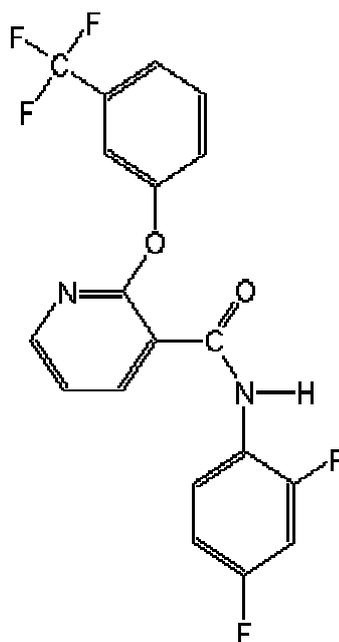
Ces résultats ont donc mené à la conclusion que **le cyprodinil ne représentait donc pas une préoccupation vis à vis de la santé publique via le lait**.

L'Agence Européenne de Sécurité des Aliments a aussi testé ce composé en l'administrant à des vaches laitières dans l'alimentation à raison de 5 mg/kg de ration, soit environ 20 fois la teneur habituellement rencontrée dans les végétaux traités. Là aussi, **le niveau maximal de résidu n'a jamais atteint la limite de quantification de 0,01 mg/kg dans le lait** (EFSA, 2005).

e) Le diflufénican

C'est un phénoxy nicotinamide, herbicide utilisé pour réaliser un désherbage total ou pour éliminer les plantes adventices des champs de blé, orge, seigle et triticale. Les quantités appliquées sont en général proches de **200 g/ha** (MAP, 2007).

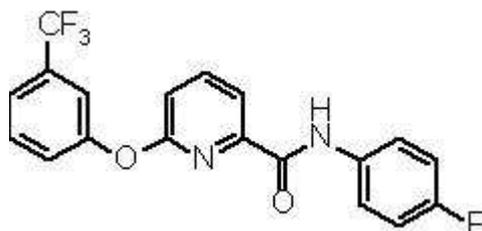
Le diflufénican ($C_{19}H_{11}F_5N_2O_2$), ou *N*-(2,4-difluorophényl)-2-[3-(trifluorométhyl)phénoxy]-nicotinamide, de poids molaire 394,3 g/mol, apparaît comme un solide cristallisé très faiblement hydrosoluble mais **facilement miscible aux solvants organiques et aux corps gras** (log KOW = 4,9) (Gouzy & Farret, 2006).



f) Le picolinafène

Cet herbicide de la famille des carboxamides permet de désherber les cultures de blé, orge, seigle et triticale, ceci grâce à l'application d'environ **40 g/ha** de principe actif, au sein d'une présentation renfermant plusieurs composés (MAP, 2007).

On désigne chimiquement cette substance par le terme 4'-fluoro-6-[(α,α,α -trifluoro-*m*-tolyl-) oxy]picolinanilide ($C_{19}H_{12}F_4N_2O_2$). Son poids molaire s'élève à 376,3 g/mol et sa structure moléculaire apparaît comme suit :



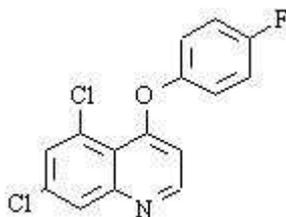
Ce solide cristallisé ne se dissout presque pas dans l'eau, mais beaucoup dans les solvants organiques et les lipides du fait d'une importante lipophilie : **log KOW = 5,36 à 5,43** selon le pH.

L'absorption de ce composé se produit rapidement mais partiellement. Il se distribue ensuite largement et est métabolisé par hydrolyse, oxydation, acétylation et conjugaison, les produits de réaction s'éliminant *via* l'urine et les fèces, généralement en deux jours environ (AFSSA, 2007).

g) Le quinoxifène

Cette molécule appartient à la famille des quinoléines et se caractérise par des propriétés fongicides. On l'emploie sur les plantations de betteraves, de blé et d'orge, à la dose moyenne de 75 à 150 g/ha selon les préparations (MAP, 2007).

L'IUPAC nomme aussi ce composé 5,7-dichloro-4-(*p*-fluorophénoxy)quinoléine ($C_{15}H_8Cl_2FNO$), avec une masse molaire de 308,14 g/mol et la formule développée :



C'est un solide peu hydrosoluble, très soluble dans les solvants organiques et **fortement lipophile** (log KOW = 4,66) (Gouzy et Farret, 2006). Cette substance a des propriétés d'**acide faible** : pKa = 3,56.

Ce fongicide est absorbé rapidement lors d'ingestion, mais ne traverse que partiellement la barrière digestive. Une importante quantité de résidus peut se déposer dans la graisse péri-rénale, les ovaires, les reins, le foie et la tractus digestif. Après métabolisation, le quinoxifène est excrété par voies rénale (nettement minoritaire) et fécale (AFSSA, 2007).

D. Conséquences : expérimentations envisageables

Les pesticides susceptibles de passer dans le lait par leurs propriétés physico-chimiques sont donc, en théorie, nombreux et de familles variées. Le **passage dans le lait** est principalement guidé par la valeur de log KOW qui indique la **lipophilie** du composé, les molécules lipophiles ayant en général plus de propension à traverser la barrière mammaire. En pratique, on note cependant que **les quantités appliquées dans des conditions normales d'utilisation sont parfois trop faibles pour induire une contamination du lait à un taux décelable** pour bon nombre d'insecticides et d'herbicides. Avec les substances utilisées lors du stockage des récoltes et la désinsectisation des étables, la présence de résidus détectables demeure quand même possible. Ce sont **surtout les fongicides, employés en grandes quantités, qui ont à priori la plus forte propension à générer une proportion non négligeable de résidus**, par exemple les dicarboxamides ou le cyprodinil.

Concernant les organochlorés, étant données la multitude d'études portant sur la contamination des produits laitiers et la restriction voire l'interdiction de leur usage, la réalisation de dosages serait peut-être peu pertinente, si ce n'est éventuellement par les autorités sanitaires lors de bilans réguliers visant à confirmer la quasi-absence de danger actuel en France.

Les organophosphorés et carbamates restent eux d'utilisation courante et sont donc toujours à surveiller, les expériences et enquêtes déjà mises en œuvre ayant mis en évidence leur présence, occasionnelle ou non, dans le lait.

Par contre, les diverses recherches effectuées sur les pyréthriinoïdes (élimination mammaire mineure et rapide), le cyprodinil ou encore le fipronil semblent indiquer que ces molécules ne constituent généralement pas un risque réel de contamination du lait dans le cadre de leur utilisation agricole. De même, les triazoles et les strobilurines, s'administrant à doses réduites et/ou à distance de la récolte, auraient, *a priori*, assez peu de chances d'être retrouvés comme résidus dans le lait (mais peut-être ceci mériterait-il d'être (re-)vérifié?).

Les dosages de résidus potentiels de molécules appartenant aux familles des nitrophényléthers et des dicarboxamides ainsi que le diflufénican, le picolinafène ou le quinoxifène sont assez rares voire absents.

Ainsi, si l'on réalisait une **enquête sur le degré de pollution du lait par des produits phytosanitaires**, il serait éventuellement intéressant qu'elle porte plus particulièrement sur des molécules attendues mais peu ou pas encore dosées. Par exemple, **on pourrait choisir** une dizaine de **molécules parmi les toluidines** (très lipophiles, appliquées en grandes quantités), les **dicarboxamides** (fongicides, répandus à fortes doses sur les cultures), les **nitrophényléthers** (administration à doses importantes, lipophilie) et quelques autres molécules sus-citées et peu testées jusqu'ici.

CONCLUSION

Le lait de vache est un produit de consommation courante présentant de nombreuses qualités nutritionnelles particulièrement intéressantes chez les jeunes en croissance. Par la diversité des formes commercialisées et l'importance quantitative que revêt cette vente, le lait de vache reste l'un des produits alimentaires d'origine animale les plus intéressants au plan économique et d'imposantes filières industrielles reposent sur ce produit. 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. Le lait a également su échapper à la méfiance des consommateurs malgré des informations de contamination du lait de vache par des agents infectieux comme celui de l'encéphalite spongiforme bovine ou de contaminants chimiques comme des dioxines, notamment en France, ou par des radionucléides en Russie. Parmi les autres contaminants potentiellement néfastes pour la santé publique, un regard attentif est actuellement porté sur les produits phytosanitaires. L'intérêt suscité par les résidus de pesticides est amplement justifié lorsqu'on considère les nombreux effets néfastes qu'ils peuvent engendrer : beaucoup sont dotés d'effets délétères sur les fonctions endocriniennes ainsi que sur le système immunitaire et certains favorisent la concérogénèse.

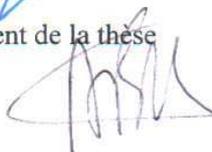
Par ses propriétés physico-chimiques, le lait est un compartiment susceptible d'excréter de nombreux composés chimiques, principalement liposolubles ou présentant des propriétés de bases faibles. Par cette analyse, nous avons montré que de nombreux produits phytosanitaires répondent à ces propriétés et sont donc compatibles avec leur excrétion lactée. Certains d'entre eux sont très largement utilisés en agriculture et il est raisonnable d'imaginer que l'on puisse les retrouver dans le lait de grand mélange. L'analyse bibliographique a montré que la présence de résidus de pesticides dans le lait de grand mélange 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 la mise en évidence de résidus 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 phytosanitaires les plus récents. Ainsi, même si les contraintes réglementaires actuelles pour l'obtention de l'autorisation de mise sur le marché sont lourdes et favorables à la santé du consommateur et prennent en compte ce risque, il apparaît raisonnable de penser que des contrôles réguliers effectués aléatoirement le long des circuits de collecte du lait devraient être mis en œuvre, en incluant dans la recherche les molécules les plus récentes et les plus utilisées.

Le Professeur responsable
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon



Thierry S. A. ...

Le Président de la thèse



P. Bergeret

Vu et permis d'imprimer

Vu : le Directeur de
l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

Pour le Directeur et par délégation,
LA DIRECTRICE DE L'ENSEIGNEMENT



Professeure Françoise GRAIN

Lyon, le 09 OCT. 2007

Pour le Président de l'Université,
Le Président du Comité de Coordination des Etudes Médicales,
Professeur F.N. GILLY



ANNEXES

Annexe 1 : concentrations des minéraux dans le lait

Minéraux majoritaires	Concentration en g/L	Minéraux minoritaires	Concentration en mg/L
Calcium	1,23	Fer	0,2-0,5
Phosphore	0,95	Zinc	2-5
Magnésium	0,12	Iode	0,015-0,05
Sodium	0,58	Cuivre	0,02-0,15
Potassium	1,41	Molybdène	0,05-0,08
Chlore	1,19	Sélénium	0,01-0,05
		Fluor	0,1-0,2

Annexe 2 : les vitamines liposolubles dans le lait de vache

Vitamine	Concentration dans le lait	Remarques
Vitamine A	48µg/100g	Varie peu. 90 à 98% estérifiés avec de l'acide palmitique. La richesse du lait en vitamine A repose sur son taux butyreux et sur la taille des globules gras car cette vitamine se fixe à leur surface.
Vitamine E	0,088mg/100g	Sa concentration varie avec la race, l'alimentation (elle augmente avec la richesse en verdure) et la saison (maximale en avril et minimale en hiver).
Vitamine D	15 à 20UI/L (1UI=0,025µg)	Existe sous deux formes : vitamine D2, dont la quantité varie avec l'exposition de la nourriture au soleil, et vitamine D3, dont la concentration dépend de l'exposition de l'animal au soleil (tend à diminuer en hiver en cas de stabulation prolongée).

Annexe 3 : les vitamines hydrosolubles du lait de vache

Vitamine	Concentration dans le lait	Caractéristiques
Vitamine C	2mg/100mL	sous forme d'acide ascorbique
Vitamine B1 = thiamine	0,05mg/100mL	70% solubles, 15% phosphorylés, 15% complexés aux protéines
Vitamine B2 = riboflavine	0,18mg/100g	jusqu'à 95% de cette quantité libres dans le lait, reste associé au FAD (Flavine Adénine Dinucléotide) et au FMN (Flavine MonoNucléotide)
Vitamine B3 = vitamine PP = nicotinamide = niacine	0,09mg/100g	0,09mg/100g sous forme amide
Vitamine B5 = acide pantothénique	0,32mg/100g	entièrement liée, à 30% sous forme de coenzyme A

Vitamine	Concentration dans le lait	Caractéristiques
Vitamine B6 = pyridoxine	0,04mg/100g	86% sous forme liée, reste fixé aux protéines et aux phosphates ; 95% sous forme pyridoxal, reste sous forme de pyridoxamine
Vitamine B8 = vitamine H = biotine	30µg/L	Libre
Vitamine B9 = vitamine M = acide folique	5,9µg/100g	2 formes : folique 83% et folinique 17% ; spécifiquement liée à certaines protéines du lait
Vitamine B12 = cobalamine	0,42µg/100g	Chélate le cobalt, seul élément pouvant faire varier la concentration de cette vitamine. 50% liés aux caséines et 50% libres dans le lactosérum.

Annexe 4 : Annexe II de la directive 86/363/CE

Résidus de pesticides	Teneurs maximales en mg/kg (ppm)		
	Dans la matière grasse contenue dans les viandes, les préparations de viandes, abats et matières grasses animales énumérées à l'annexe I sous les positions ex 02.01, 02.02, 02.03, ex 02.04, ex 02.05, 02.06, 16.01, 16.02(1)	Dans le lait de vache cru et le lait de vache entier énumérés à l'annexe I sous la position 0401 ; les autres denrées alimentaires sous les positions 04.01, 04.02, 04.03, 04.04 conformément à (2)	Dans les œufs frais dépourvus de leur coquille, les œufs d'oiseau et jaunes d'œufs repris à l'annexe I sous la position ex 04.05
1. aldrine			
2. dieldrine (HEOD) isolément ou ensemble, exprimés en dieldrine (HEOD)	0,2	0,006 (1)(2)	-
3. chlordane (somme des isomères cis et trans et de l'oxychlordane exprimés en chlordane)	0,05	0,002	-
4. DDT (somme de p,p'-DDT, o,p'-DDT, p,p'-DDE et p,p'-TDE (DDD), exprimés en DDT)	1	0,04	-
5. endrine	0,05	0,0008	-
6. heptachlore (somme de l'heptachlore et de l'heptachloroépoxyde, exprimés en heptachlore)	0,2	0,004	-
7. hexachlorobenzène (HCB)	0,2	0,02	-
8. hexachlorocyclohexane (HCH)	Isomère α	0,2	0,004
	Isomère β	0,1	0,003
	Isomère γ	2 ex 0204 viande ovine 1 autres produits	0,008

(1) Pour les denrées alimentaires ayant une teneur en matière grasse égale ou inférieure à 10 % du poids, la quantité de résidus se réfère au poids total de la denrée désossée. Dans ce cas, la teneur maximale est de 1 / 10 de la valeur exprimée par rapport à la quantité de matière grasse, mais elle doit être au moins égale à 0,01 mg/kg.

(2) Pour exprimer la teneur en résidus pour le lait de vache cru et le lait de vache entier, il convient de baser le calcul sur une teneur en matière grasse égale à 4 % du poids. Pour le lait cru et le lait entier d'une autre origine animale, les résidus sont exprimés sur la base de la matière grasse.

Pour les autres denrées alimentaires énumérées à l'annexe I sous les positions 04.01, 04.02, 04.03 et 04.04:

- ayant une teneur en matière grasse inférieure à 2 % du poids, la teneur maximale est égale à la moitié de celle fixée pour le lait cru et le lait entier,

- ayant une teneur en matière grasse égale ou supérieure à 2 % du poids, la teneur maximale est exprimée en mg/kg de matière grasse. Dans ce cas, la teneur maximale est égale à 25 fois celle pour le lait cru et le lait entier.

Annexe 5 : Annexe I de la directive 96/23/CE

Groupe A : substances ayant un effet anabolisant et substances non autorisées :

- 1) Stilbènes, dérivés de stilbènes et leurs sels et esters
- 2) Agents antithyroïdiens
- 3) Stéroïdes
- 4) Resorcyclic Acid Lactones (y compris Zeranol)
- 5) A-agonistes
- 6) Substances incluses dans l'annexe IV du règlement (CEE) n°2377/90 du Conseil du 26 juin 1990

Groupe B : médicaments vétérinaires (1) et contaminants :

- 1) Substances antibactériennes, y compris sulfamides, quinolones
- 2) Autres médicaments vétérinaires :
 - a. Anthelminthiques
 - b. Anticoccidiens, y compris nitroimidazoles
 - c. Carbamates et pyréthinoïdes
 - d. Tranquillisants
 - e. Anti-inflammatoires non stéroïdiens
 - f. Autres substances exerçant une activité pharmacologique
- 3) Autres substances et contaminants environnementaux :
 - a. Composés organochlorés, y compris PCB's
 - b. Composés organophosphorés
 - c. Éléments chimiques
 - d. Mycotoxines
 - e. Colorants
 - f. Autres

(1) Y compris les substances non enregistrées qui pourraient être utilisées à des fins vétérinaires.

Annexe 6 : Arrêté du 18 octobre 2006 modifiant l'arrêté du 5 décembre 1994 modifié relatif au retrait de la consommation humaine des denrées alimentaires d'origine animale contaminées par de résidus de pesticides

Le ministre de l'agriculture et de la pêche,

Vu la directive 86/363/CEE du Conseil du 24 juillet 1986 modifiée concernant la fixation de teneurs maximales pour les résidus de pesticides sur et dans les denrées alimentaires d'origine animale ;

Vu la directive 2006/61/CE de la Commission du 7 juillet 2006 modifiant les annexes des directives 86/362/CEE, 86/363/CEE et 90/642/CEE du Conseil ;

Vu la directive 2006/62/CE de la Commission du 12 juillet 2006 modifiant les annexes des directives 76/895/CEE, 86/362/CEE, 86/363/CEE et 90/642/CEE du Conseil ;

Vu le code rural, notamment ses articles L. 231-1, L. 231-2 et L. 261-2 ;

Vu l'arrêté du 5 décembre 1994 modifié relatif au retrait de la consommation humaine des denrées alimentaires d'origine animale contaminées par des résidus de pesticides ;

Vu l'avis de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments en date du 27 septembre 2006,

Arrête :

Art. 1er. – L'arrêté du 5 décembre 1994 susvisé est modifié ainsi qu'il suit :

A l'annexe II, partie A, les teneurs maximales pour les résidus en ce qui concerne l'azinphos-éthyl et le triazophos sont remplacées conformément à la présente annexe.

A l'annexe II, partie A, les teneurs maximales pour les résidus en ce qui concerne le fenthion et le chlorfenvinphos sont ajoutées conformément à la présente annexe.

A l'annexe II, partie B, les teneurs maximales pour les résidus en ce qui concerne le phenmediphame sont ajoutées conformément à la présente annexe.

Art. 2. – Le directeur général de l'alimentation est chargé de l'exécution du présent arrêté, qui sera publié au *Journal officiel* de la République française.

Fait à Paris, le 18 octobre 2006.

Pour le ministre et par délégation :

Le directeur général de l'alimentation,

J.-M. BOURNIGAL

**ANNEXE II :
PARTIE A :**

Résidus de pesticides	Teneur maximale en mg/kg		
	Dans la matière grasse contenue dans les viandes, les préparations de viandes, abats et matières grasses animales énumérées à l'annexe I sous les positions ex 0201, 0202, 0203, 0204, 0205 00 00, 0206, 0207, ex 0208, 0209 00, 0210, 1601 00, 1602 (1) (4)	Dans le lait de vache cru et le lait de vache entier énumérés à l'annexe I sous la position 0401 ; les autres denrées alimentaires sous les positions 0401, 0402, 040500, 0406, conformément à (2) (4)	Dans les œufs frais dépourvus de leur coquille, les œufs d'oiseau et jaunes d'œufs repris à l'annexe I sous les positions 0407 00 et 0408 (3) (4)
Azinphos-éthyl	0,01(*)	0,01(*)	0,01(*)

Triazophos	0,01(*)	0,01(*)	0,01(*)
Fenthion et son analogue oxygéné, leurs sulfoxydes et leurs sulfones, exprimés en fenthion.	0,05 (*)	0,01(*)	-
Chlorfenvinphos (somme des isomères E et Z)	0,01(*)	0,01(*)	0,01(*)

(*) Indique le seuil de détection.

PARTIE B :

Résidus de pesticides	Teneur maximale en mg/kg		
	Dans la matière grasse contenue dans les viandes, les préparations de viandes, abats et matières grasses animales énumérées à l'annexe I sous les positions ex 0201, 0202, 0203, 0204, 0205 00 00, 0206, 0207, ex 0208, 0209 00, 0210, 1601 00, 1602 (1) (4)	Dans le lait de vache cru et le lait de vache entier énumérés à l'annexe I sous la position 0401 ; les autres denrées alimentaires sous les positions 0401, 0402, 040500, 0406, conformément à (2) (4)	Dans les œufs frais dépourvus de leur coquille, les œufs d'oiseau et jaunes d'œufs repris à l'annexe I sous les positions 0407 00 et 0408 (3) (4)
Phenmediphame (méthyl-N-(3-hydroxyphényl) carbamate [MHPC] exprimé en phenmediphame)	0,05(*) (p)	0,05(*) (p)	0,05(*) (p)

(*) Indique le seuil de détection.

(p) Indique la teneur maximale en résidus provisoire conformément à l'article 4, paragraphe 1, point f, de la directive 91/414/CEE. Sauf modification, cette teneur maximale deviendra définitive le 9 août 2010.

Annexe 7 : Arrêté du 5 décembre 1994 relatif au retrait de la consommation humaine des denrées alimentaires d'origine animale contaminées par des résidus de pesticides

Le ministre de l'agriculture et de la pêche,

Vu la directive du Conseil no 86/363/C.E.E. du 24 juillet 1986 concernant la fixation de teneurs maximales pour les résidus de pesticides sur et dans les denrées alimentaires d'origine animale;

Vu la directive du Conseil no 93/57/C.E.E. du 29 juin 1993 modifiant les annexes des directives no 86/362/C.E.E. et no 86/363/C.E.E. concernant la fixation de teneurs maximales pour les résidus de pesticides sur et dans les céréales et les denrées alimentaires d'origine animale;

Vu le code rural, notamment ses articles 258 et 259;

Vu le décret no 71-636 du 21 juillet 1971 pris pour l'application des articles 258, 259 et 262 du code rural et relatif à l'inspection sanitaire et qualitative des animaux vivants et des denrées

animales ou d'origine animale, notamment son article 3,

Arrête:

Art. 1er. - Les denrées alimentaires d'origine animale énumérées à l'annexe I du présent arrêté contenant une quantité de résidus de pesticides excédant les teneurs maximales fixées à l'annexe II du présent arrêté sont retirées de la consommation humaine.

Art. 2. - Le directeur général de l'alimentation au ministère de l'agriculture et de la pêche est chargé de l'exécution du présent arrêté, qui sera publié au Journal officiel de la République française.

Fait à Paris, le 5 décembre 1994.

JEAN PUECH

Annexe 8 : Annexe IV chapitre I de la directive 96/23/CE

NIVEAUX ET FRÉQUENCES D'ÉCHANTILLONNAGE

Le but de la présente annexe est de définir le nombre minimal d'animaux devant être échantillonnés.

Chacun des échantillons peut être analysé en vue de la détection de la présence d'une ou de plusieurs substances.

CHAPITRE PREMIER Animaux bovins, porcins, ovins, caprins, équins

1. Bovins

Le nombre minimal d'animaux à contrôler chaque année pour tout type de résidus ou de substances doit être au moins égal à 0,4 % des bovins abattus l'année précédente, avec la division suivante.

Groupe A : 0,25 % divisé comme suit :

- la moitié des échantillons doit être prélevée à l'exploitation sur des animaux vivants.

Par dérogation, 25 % des échantillons analysés pour la recherche des substances du groupe A 5 peuvent être pris à partir de matériaux appropriés (aliments pour animaux, eaux de boisson, etc.),

- la moitié des échantillons doit être prélevée à l'abattoir.

Chaque sous-groupe du groupe A doit être vérifié chaque année par un minimum de 5 % du nombre total d'échantillons à collecter pour le groupe A.

Le solde doit être attribué selon l'expérience et les informations dont dispose l'État membre.

Groupe B : 0,15 % divisé comme suit :

30 % des échantillons doivent vérifier les substances du groupe B 1,

30 % des échantillons doivent vérifier les substances du groupe B 2,

10 % des échantillons doivent vérifier les substances du groupe B 3.

Le solde doit être attribué selon la situation de l'État membre.

Annexe 9 : Pesticides classés parmi les Polluants Organiques Persistants

- Hexachlorobenzène
- Mirex
- Toxaphène
- DDT
- Lindane (HCH)
- Aldrine
- Chlordane
- Dieldrine
- Heptachlor
- Endrine

Définition des POP : « substances organiques » qui :

- possèdent des caractéristiques toxiques
- sont persistantes
- sont susceptibles de bioaccumulation
- peuvent aisément être transportées dans l'atmosphère au delà des frontières sur de longues distances et se déposer loin du lieu d'émission
- risquent d'avoir des effets nocifs importants sur la santé et l'environnement aussi bien à proximité qu'à une grande distance de leur source.

Annexe 10 : tableau récapitulatif des Limites Maximales de Résidus et des Doses Journalières Acceptables pour divers pesticides

(J.O. de la C.E. des 29/10/1998, 27/07/1999, 04/05/2000, 30/06/2000, 20/07/2002, 28/10/2002, 11/12/2003, 24/08/2005, 21/10/2005, 29/06/06, 27/07/2006 (a) et (b) et European Commission, 2007)

Molécules	LMR (mg/kg)	DJA (mg/kg/j)
<i>Acétate de fentine</i>	0,05	0,0004
<i>Aclonifène</i>		0,02
<i>Aldicarbe</i>	0,01	0,003
<i>Aldrine et dieldrine</i>	0,006	0,0001
<i>Alphaméthrine</i>		0,02
<i>Azinphos-éthyle</i>	0,01	0,005
<i>Azoxystrobine</i>	0,01	0,1
<i>Benfluraline</i>		0,02
<i>Bifénox</i>		0,3

Molécules	LMR (mg/kg)	DJA (mg/kg/j)
<i>Bifenthrine</i>	0,01	0,015
<i>Bitertanol</i>	0,05	0,01
<i>Bromoxynil</i>	0,01	0,01
<i>Bromuconazole</i>		0,025
<i>Carbaryl</i>	0,05	0,00075
<i>Carbofuran</i>	0,01	0,001
<i>Chlordane</i>	0,002	0,0005
<i>Chlorpyrifos</i>	0,01	0,01
<i>Chlorpyrifos-méthyle</i>	0,01	0,01
<i>Coumaphos</i>		0,0005
<i>Cyfluthrine et bêta-cyfluthrine</i>	0,02	0,003
<i>Cyprodinil</i>	indéterminée	0,03
<i>DDT, DDE et TDE</i>	0,04	0,01
<i>Deltaméthrine</i>	0,05	0,01
<i>Dichlorvos</i>		0,00008
<i>Dicofol</i>	0,02	0,002
<i>Difénoconazole</i>		0,01
<i>Diflufenican et diflufenicanil</i>	0,01	0,25
<i>Dinocap</i>	indéterminée	0,004
<i>Endosulfan</i>	0,004	0,006
<i>Endrine</i>	0,0008	0,0002
<i>Esfenvalérate</i>	0,02	0,02
<i>Ethofumésate</i>	0,1	0,07
<i>Famoxadone</i>	0,05	0,012
<i>Fénitrothion</i>	0,05 (par rapport à la matière grasse)	0,005
<i>Fenthion</i>	0,01	0,007
<i>Fipronil</i>	indéterminée	0,0002
<i>Fluoxastrobine</i>	0,02	0,015
<i>HCH</i>	0,004	pas de DJA
<i>Heptachlore</i>	0,004	0,0001
<i>Lambda-cyhalothrine</i>	0,05	0,005
<i>Méthomyl</i>	0,02	0,025
<i>Méthoxychlor</i>	0,01	0,1
<i>Parathion</i>	0,05	0,0006
<i>Pendiméthaline</i>	0,05	0,125
<i>Perméthrine</i>	0,05	0,05
<i>Phenméphame</i>	0,05	0,03
<i>Phosalone</i>		0,01
<i>Phoxime</i>	indéterminée	0,004
<i>Picolinafène</i>	0,01	0,014
<i>Picoxystrobine</i>	0,02	0,043
<i>Procymidone</i>	0,05 (avec vinclozoline)	0,025
<i>Pyraclostrobine</i>	0,01	0,03
<i>Pyrimiphos-méthyle</i>	0,05	0,03
<i>Quinoxyfène</i>	0,05	0,2
<i>Tébuconazole</i>	0,1	0,03
<i>Téfluthrine</i>	0,001	0,013
<i>Thiabendazole</i>	0,05	0,1
<i>Thirame</i>	0,05	0,01
<i>Trichlorfon</i>	0,05	0,045

Molécules	LMR (mg/kg)	DJA (mg/kg/j)
<i>Trifloxystrobine</i>	0,02	0,1
<i>Trifluraline</i>	0,05	0,015
<i>Triticonazole</i>	0,01	0,025
<i>Vinclozoline</i>	0,05 (avec procymidone)	0,005

BIBLIOGRAPHIE

- ✓ **ADRIAN J., POTUS J., FRANGNE R.** (1995), *La science alimentaire de A à Z*, Lavoisier TEC & DOC, Paris, 477p.
- ✓ **Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments** (2005), *Evaluation des risques pour la santé humaine liés à une exposition au fipronil*, AFSSA, 173p.
- ✓ **AFSSA** (page consultée le 14 juin 2007), *AGRITOX - Base de données sur les substances actives phytopharmaceutiques*, [en ligne]
Adresse URL : <http://www.dive.afssa.fr/agritox/php/fiches.php>
- ✓ **AIMUTIS W.R.** (2004), *Bioactive properties of milk proteins with particular focus on anticariogenesis*, J. Nutr., 134, (4), 989-995
- ✓ **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
- ✓ **ALAIS C. et LINDEN G.** (1994), *Biochimie alimentaire – 3e édition*, Masson, Paris, 244p.
- ✓ **ALAVANJA M.C.R et coll.** (2003), *Use of agricultural pesticides and prostate cancer risk in the agricultural health study cohort*, Am. J. Epidemiol., 157, 800-814
- ✓ **ALVES DE OLIVEIRA L.** (Page consultée le 30 septembre 2006), *Site de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon*, [en ligne]
Adresse URL : <http://www.vet-lyon.fr/ens/nut/webbromato/cours/cmlait/cmsomlai.html>
- ✓ **ANADON A., MARTINEZ-LARRANAGA M.R., FERNANDEZ-CRUZ M.L.** (1996), *Physiologie de la mamelle et thérapeutique anti-infectieuse chez la truie*, Revue de Médecine Vétérinaire, 147, (3), 181-190
- ✓ **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.
- ✓ **ATKINSON et coll.** (2003), *The minimisation of pesticide residues in food : a review of the published literature*, Pesticide Literature Review, Scottish Agriculture College, Edinburg, 144p
- ✓ **BABUT M., BONNET C., BRAY M., FLAMMARION P., GARRIC J.** (2001), *Complément au SEQ-Eau – Seuils d'aptitude à la vie aquatique pour différentes substances prioritaires au titre de la Directive Cadre pour la gestion des eaux – Fiches substances*, Cemagref, 24p.
- ✓ **BAGGOT J.D.** (1977), *Principles of drug disposition in domestic animals : the basis of veterinary clinical pharmacology*, W.B.Saunders Company, Philadelphia, 238p.

- ✓ **BARON R.L. et MERRIAM T.L.** (1988), *Toxicology of aldicarb*, Rev. Environ. Contam. Toxicol., vol.105, 1-70
- ✓ **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
- ✓ **BOUWMAN H., SEREDA B., MEINHARDT H.M.** (2006), *Simultaneous presence of DDT and pyrethroid residues in human breast milk from a malaria endemic area in South Africa*, Environ. Pollut., 144, (3), 902-917
- ✓ **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
- ✓ **BRETSVELD R.W., THOMAS C.M.G., SCHEEPERS P.T.J., ZIELHUIS G.A., ROELEVELD N.** (2006), *Pesticide exposure : the hormonal function of the female reproductive system disrupted?*, Reprod. Biol. Endocrinol., 4, (30), 14p.
- ✓ **BRODKIN M.A., MADHOUN H., RAMESWARAN M., VATRICK J.** (2007), *atrazine is an immune disruptor in adult northern leopard frogs (Rana pipiens)*, Environ. Toxicol. Chem., 26, (1), 80-84
- ✓ **CANNON J.M., REDDY V., MURRILI E., BUTZ R.** (1996), *Characterization of malathion residues in dairy goats and poultry*, J. Agr. Food Chem., 44, (10), 3365-3373
- ✓ **CARDEAL Z.L., DIAS PAES C.M.** (2006), *Analysis in whole milk by solid phase microextraction gas chromatography method*, J. environ. Sci. Health B., 41, (4), 369-375
- ✓ **CARLIER B.** (2000), *Le gros succès des strobilurines*, Jeunes Agriculteurs, n°546
- ✓ **Centre de Formation Permanente et de Perfectionnement des Cadres des Industries du Lait** (1987), *Le lait matière première de l'industrie laitière*, CEPIL, Paris, 394p.
- ✓ **CHABANAS A.** (2005), *Contribution à l'étude des effets d'une complémentation alimentaire en iode chez la vache laitière*, Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude-Bernard, Lyon, 71p.
- ✓ **CHRISTIN M.S. et coll.** (2004), *Effects of agricultural pesticides on the immune system of Xenopus laevis and Rana pipiens*, Aquatic Toxicology, vol.67, 33-43
- ✓ **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
- ✓ **CROUCHER A., HUTSON D.H., STOYDIN G.** (1985), *Excretion and residues of the pyrethroid insecticide cypermethrin in lactating cows*, Pestic. Sci., n°16, 287-301

- ✓ **DEFORGES J., DERENS E., ROSSET R., SERRAND M., Centre National du Machinisme Agricole du Génie Rural des Eaux et des Forêts, Association Française du Froid** (1999), *Guide technique ; Maitrise de la chaîne du froid des produits laitiers réfrigérés*, CEMAGREF, Paris, 104p.
- ✓ **DEHOVE R.A.** (1984), *Réglementation des produits et services. Qualité, consommation et répression des fraudes*, Commerce éditions, Paris, 1307p.
- ✓ **DE JAGER et coll.** (2006), *Reduced seminal parameters associated with environmental DDT exposure and p,p'-DDE concentrations in men in Chiapas, Mexico : a cross-sectional study*, Journal of Andrology, 27, (1), 16-27
- ✓ **DELEPINE B., HURTAUD-PELSEL D., SANDERS P.** (2002) ,*Les méthodes récentes d'analyse physico-chimique des résidus d'antibiotiques dans le lait*, Bulletin des GTV, n°15, 191-196
- ✓ **DEN HOND E. et SCHOETERS G.** (2006), *Endocrine disruptors and human puberty*, Int. J. Androl., 29, (1), 264-290
- ✓ **DESTOUET J.L.,A.** (1989), *Les protéines du lait : variation de leurs concentrations et applications*, Thèse de doctorat vétérinaire, Université Paul-Sabatier, Toulouse, 280p.
- ✓ **DE WIT J.N.** (1998), *Nutritional and functional characteristics of whey proteins in food products*, Journal of dairy science, 81, (3), 597-608
- ✓ **DONVAL J.C.** (2002), *Les lipides dans l'alimentation des vaches laitières : aspects qualitatifs et quantitatifs*, Thèse de doctorat vétérinaire, Nantes, 131p.
- ✓ **DOROUGH H.W.** (1967), *Carbaryl-C14 metabolism in a lactating cow*, J. Agr. Food Chem., 15, (2), 261-266
- ✓ **DOROUGH H.W. et CASIDA J.E.** (1964), *Nature of certain carbamate metabolites of the insecticide sevin*, J.Agric. Food Chem., 12, 294-304
- ✓ **DOROUGH H.W., DAVIS R.B., IVIE G.W.** (1970), *Fate of Temik-carbon-14 in lactating cows during a 14 day-feeding period*, J. Agr. Food Chem., 18, (1), 135-142
- ✓ **DOROUGH H.W. et HEMKEN R.W.** (1973), *Chlordane residues in milk and fat of cows fed HCS 3260 (high purity chlordane) in the diet*, Bull. Environ.Contam.Toxicol., 10, (4), 208-216
- ✓ **DOSOGNE H., ARENDT J., GABRIEL A., BURVENICH C.** (2000), *Aspect physiologiques de la sécrétion laitière par la mamelle bovine*, Ann. Med. Vet., 144 ,(6), 357-382
- ✓ **DOUARD D.** (1989), *Qualité de l'environnement et productions animales – Les produits dérivés de l'industrie laitière*, R.Rosset, Paris, 473p.
- ✓ **DUA V.K., PANT C.S., SHARMA V.P.** (1997), *HCH and DDT residues in human and bovine milk at Hardwar, India*, Indian J. Malariol., 34, (3), 126-131

- ✓ **DUMOULIN E. et LESEUR R.** (1991), *La qualité du lait : aspects réglementaires*, In : SFB, Espinasse J (ed). Mammites des Vaches Laitières, Congrès SFB-SNGTV-INRA, Paris 18-19 décembre, 3-5
- ✓ **EFSA** (2005) (a), *Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance fluoxastrobin*, EFSA Scientific Report, 47, 81p
- ✓ **EFSA** (2005) (b), *Conclusion regarding the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance cyprodinil*, EFSA Scientific Report, 51, 78p
- ✓ **EJAZ S., AKRAM W., LIM C.W., LEE J.J., HUSSAIN I.** (2004), *Endocrine disrupting pesticides : a leading cause of cancer among rural people in Pakistan*, Experimental Oncology, 26, (2), 98-105
- ✓ **ENJALBERT F.** (1994), *Biosynthèse des constituants du lait chez la vache*, Rec. Med. Vet., 170 (6/7), 353-358
- ✓ **European Commission** (page consultée le 12 juin 2007), *Food Safety : From the farm to the fork, [en ligne]*
adresse URL : http://ec.europa.eu/food/plant/protection/pesticides/index_en.htm
- ✓ **FABRE J-M. et SERIEYS F.** (1990), *Objectifs et stratégies de l'entreprise laitière pour la gestion et la qualité de sa collecte*, Recueil de Médecine Vétérinaire, N° Spécial, 170, (6/7), 457-467
- ✓ **FABRE J-M. et SANS P.** (2000), *Le nouveau paysage de la qualité du lait en France*, Bulletin des GTV, 8, 181-185
- ✓ **FAVIER J.C.** (1985), *Composition du lait de vache – I. Lait de grand mélange*, Cahiers de nutrition et de diététique, vol.20, n°4, 283-291
- ✓ **FIRESTONE D., CLOWER M. Jr, BORSETTI A.P., TESKE R.H., LONG P.E.** (1979), *Polychlorodibenzo-p-dioxin and pentachlorophenol residues in milk and blood of cows fed technical pentachlorophenol*, J. Agr. Food Chem., 27, (6), 1171-1777
- ✓ **FRANDSON R.D. et SPURGEON T.L.** (1992), *Anatomy and physiology of farm animals, fifth edition*, Lea & Febiger, 572p.
- ✓ **FREYDIER M.** (2001), *Pesticides : un nouvel encadrement règlementaire*, Adalia, N°45-46, 8-11
- ✓ **GADOUD R. et coll.** (1992), *Nutrition et alimentation des animaux d'élevage, Voll*, LES EDITIONS FOUCHER, Paris, 286p.
- ✓ **GARCIA-REYERO N. et coll.** (2006), *Dietary exposure of largemouth bass to OCPs changes expression of genes important for reproduction*, Aquatic Toxicology, 78, (4), 358-369

- ✓ **GAUGHAN L.C. et coll.** (1978), *Distribution and metabolism of trans- and cis-permethrin in lactating Jersey cows*, J. Agr. Food Chem, 26, (3), 613-618
- ✓ **GAUTHIER V.** (2004), *Approche comparée de la carence en iode chez l'Homme et les ruminants*, Thèse de doctorat vétérinaire, Université Paul-Sabatier, Toulouse, 145p.
- ✓ **GOLDMANN L.R. et KODURU S.** (2000), *Chemicals in the environment and developmental toxicity to children : a public health and policy perspective*, Environmental Health Perspectives, 108, supplement 3, 443-448
- ✓ **GOUZY A. et FARRET R.** (2006), Rapport d'étude: détermination des pesticides à surveiller dans le compartiment aérien : approche par hiérarchisation, synthèse du comité de pilotage, Annexe H : Base de données « 390 substances », INERIS-DRC/MECO, 139p.
- ✓ **GRAY L.E. et coll.** (1989), *Correlation of sperm and endocrine measures with reproductive success in rodents*, Prog. Clin. Biol. Res., vol.302, 193-209
- ✓ **GUESDON J-C., CHOTTEAU P., KEMPF M.** (1995), *Vaches d'Europe – Lait et viande – Aspects économiques*, ECONOMICA, Paris, 245p.
- ✓ **GUISI et coll.** (2006), *The endocrine disruptor atrazine accounts for a dimorphic somatostatinergic neuronal expression pattern in mice*, Toxicological Sciences, 89, (1), 257-264
- ✓ **GWINN M.R., WHIPKEY D.L., TENNANT L.B., WESTON A.** (2005), *Differential gene expression in normal human mammary epithelial cells treated with malathion monitored by DNA microarrays*, Environmental Health Perspectives, 113, (8), 1046-1051
- ✓ **HASCOET M.** (1971), *Les résidus de pesticides dans les produits laitiers*, Revue de Médecine Vétérinaire, Vol 34 (8-9), 821-843
- ✓ **HAYES W.J. et LAWS E.R.** (1991) (a), *Handbook of pesticide toxicology, Vol 1 : General principles*, Academic Press, 496p.
- ✓ **HAYES W.J. et LAWS E.R.** (1991) (b), *Handbook of pesticide toxicology, Vol 2 : Classes of pesticides*, Academic Press, 628p.
- ✓ **HAYES W.J. et LAWS E.R.** (1991) (c), *Handbook of pesticide toxicology, Vol 3 : Classes of pesticides*, Academic Press, 403p.
- ✓ **HECKER et coll.** (2006), *Human adrenocarcinome (H295R) cells for rapid in vitro determination of effects on steroidogenesis: hormone production*, Toxicol. Appl. Pharmacol., 217, (1), 114-124
- ✓ **HEESHCHEN W.** (1979), *Chemical residues in milk and milk products*, Bull. Fed. Int. Lait, n°113, 69p.
- ✓ **HEROK J. et GÖTTE H.** (1964), *Radiometric study on the metabolism of triphenyltin acetate in milk sheep*, Zentralbl. Vet. -Med. A., n°11, 20-28

- ✓ **HOEKSTRA P.F. et coll.** (2006), *Estrogenic activity of dicofol with the human estrogen receptor : isomer- and enantiomer- specific implications*, Chemosphere, 64, (1), 174-177
- ✓ **HOERNER G.** (1995), *Contribution à l'étude de la qualité du lait : objectifs, stratégies, importance de la traite, impact de l'opération M.I.L.L.Q.*, Thèse de doctorat vétérinaire, université Claude Bernard Lyon I, 143p.
- ✓ **HUANG D-J., CHEN H-C., WU J.P., WANG S-Y.** (2006), *Reproduction obstacles for the female green neon shrimp (Neocaridina denticulata) after exposure to chlordane and lindane*, Chemosphere, vol.64, 11-16
- ✓ **HURLEY P.M.** (1998), *Mode of carcinogenic action of pesticides inducing thyroid follicular cell tumors in rodents*, Environmental Health Perspectives, 106 (8), 437-445
- ✓ **JAGA K. et DHARMANI C.** (2005), *The epidemiology of pesticide exposure and cancer : a review*, Rev. Environ. Health, 20, (1), 15-38
- ✓ **JENSEN D.J., HUMMEL R.A.** (1982), *Secretion of TCDD in milk and cream following the feeding of TCDD to lactating dairy cows*, Bull. Environ. Conta. Toxicol., 29, (4), 440-446
- ✓ **JONCOUR G.** (1998), *Pesticides et santé animale : santé animale et santé de l'homme*, Les pesticides, l'eau et la santé : Actes du colloque régional de Quéven (56), 25 avril 1998, Eau et Rivières de Bretagne, Lorient
- ✓ **JOUZIER X. et COHEN-MAUREL E.** (1986), *Manuel de référence pour la qualité du lait*, CIDIL, Paris, 199p.
- ✓ **JUREWICZ J. et coll.** (2006), *Adverse health effects of children's exposure to pesticides: what do we really know and what can be done about it*, Acta Paediatr. Suppl., 95, (453), 71-80
- ✓ **JUREWICZ J. et HANKE W.** (2006), *Exposure to pesticides and childhood cancer risk : has there been any progress in epidemiological studies?*, Int. J. Occup. Med. Environ. Health, 19, (3), 152-169
- ✓ **KAHN C.M.** (2005), *The Merck Veterinary Manual – Ninth Edition*, Merck & Co, Whitehouse Station, NJ, 2712p.
- ✓ **KANNAN K., TANABE S., GIESY J.P., TASUKAWA R.** (1997), *Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in foodstuffs from Asian and oceanic countries*, Rev. Environ. Contam. Toxicol, n°152, 1-55
- ✓ **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
- ✓ **KIM I. Y. et coll.** (2004), *Assessing estrogenic activity of pyrethroid insecticides using in vitro combination assays*, Journal of Reproduction and Development, 50, (2), 245-255

- ✓ **KINZELL J.H., MCKENZIE R.M., OLSON B.A., KISCH D.G., SCHULL L.R.** (1985), *Metabolic fate of [U-14C] pentachlorophenol in a lactating dairy cow*, J.Agr. Food Chem, 33, (5), 827-833
- ✓ **KOVACIC P. et SOMANATHAN R.** (2006), *Mechanism of teratogenesis : electron transfer, reactive oxygen species, and anti-oxidants*, Birth Defects Res. C. Embryo. Today, 78, (4), 308-325
- ✓ **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
- ✓ **LABIE Ch.** (1981), *Dispositions législatives destinées à éviter la présence de résidus d'antibiotiques dans le lait*, Recueil de Médecine Vétérinaire, 157, (2), 161-167
- ✓ **LA CHAPELLE A.M. et coll.** (2007), *The hormonal herbicide, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, inhibits Xenopus oocyte maturation by targeting translational and post translational mechanisms*, Reproductive Toxicology, vol.23, 20-31
- ✓ **LAGRANGE L.** (1989), *La commercialisation des produits agricoles et agro-alimentaires*, Lavoisier TEC & DOC, Paris, 333p.
- ✓ **LANDIER M.** (1993), *Economie et activités agricoles et agro-alimentaires*, Lavoisier TEC & DOC, Paris, 294p.
- ✓ **LANDRIGAN P.J., KIMMEL C.A., CORREA A., ESKENAZI B.** (2004), *Children's health and the environment : public health issues and challenges for risk assessment*, Environmental Health Perspectives, 112, (2), 257-265
- ✓ **LARSON B.L., SMITH V.R.** (1974) (a), *Lactation: a comprehensive treatise, Vol1: The mammary gland / development and maintenance*, ACADEMIC PRESS, New-York, 516p.
- ✓ **LARSON B.L., SMITH V.R.** (1974) (b), *Lactation: a comprehensive treatise, Vol2: Biosynthesis and secretion of milk*, ACADEMIC PRESS, New-York, 458p.
- ✓ **LARSON B.L., SMITH V.R.** (1974) (c), *Lactation: a comprehensive treatise, Vol3: Nutrition and biochemistry of milk. Maintenance*, ACADEMIC PRESS, New-York, 424p.
- ✓ **LAURENTIE M. et SANDERS P.** (2002), *Résidus de médicaments vétérinaires et temps d'attente dans le lait*, Bulletin des GTV, n°15, 197-201
- ✓ **LECLERCQ A.** (1999), *Intérêt nutritionnel du lait pour l'Homme*, Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de médecine, Créteil, 58p.
- ✓ **LEE W.J. et coll.** (2004), *Cancer incidence among pesticide applicators exposed to chlorpyrifos in the agricultural health study*, J. Nat. Cancer Inst., 96, (23), 1781-1789
- ✓ **LEE W.J. et coll.** (2005), *Cancer incidence among pesticide applicators exposed to alachlor in the agricultural health study*, Am. J. Epidemiol., 161, (1), 101-102

- ✓ **LEPOUTRE D. et PETIT C.** (2000), *Maîtrise des résidus dans le lait : le rôle du vétérinaire praticien*, Bulletin des GTV, N°8, 47-51
- ✓ **LIM L.O.** (1996), *Dichlorvos (DDVP), Risk characterization document*, 119p.
- ✓ **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
- ✓ **LUBIN D.** (1998), *Le lait et les produits laitiers dans la nutrition humaine*, Collection F.A.O. : Alimentation et nutrition : n°28
- ✓ **LUQUET F.M.** (1985) (a), *Lait et produits laitiers : vache-brebis-chèvre, vol1 : Les laits de la mamelle à la laiterie*, Lavoisier TEC&DOC, Paris, 397p.
- ✓ **LUQUET F.M.** (1985) (b), *Lait et produits laitiers : vache-brebis-chèvre, vol2 : Transformations & technologie*, Lavoisier TEC&DOC, Paris, 663p.
- ✓ **LUQUET F.M.** (1986), *Lait et produits laitiers : vache-brebis-chèvre, vol3 : Qualité-énergie & tables de composition*, Lavoisier TEC&DOC, Paris, 445p.
- ✓ **MAHIEU H., LUQUET F.M., MOUILLET L.** (1977), *A propos de l'évolution de la contamination du lait par des résidus de pesticides organochlorés entre 1970 et 1976*, Le Lait, n°568, 547-560
- ✓ **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
- ✓ **MANABE M., KANDA S., FUKUNAGA K., TSUBURA A., NISHIYAMA T.** (2006), *Evaluation of the estrogenic activities of some pesticides and their combinations using MtT/Se cell proliferation assay*, *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, vol.209, 413-421
- ✓ **MARTINET J. et HOUDEBINE L.M.** (1993), *Biologie de la lactation*, INSERM/INRA, Paris, 587p.
- ✓ **MATHIEU J.** (1998), *Initiation à la physicochimie du lait*, Lavoisier TEC&DOC, Paris, 220p.
- ✓ **MATSUURE I. et coll.** (2005), *Evaluation of a two-generation reproduction toxicity study adding endpoints to detect endocrine disrupting activity using lindane*, *The Journal of Toxicological Sciences*, vol.39, Special Issue, 135-161
- ✓ **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

- ✓ **MILHAUD G. et KOLF-CLAUW M.** (1994), *Contamination de la viande, des abats et du lait par les pesticides et les polychlorobiphényles*, Le Point Vétérinaire, n° Spécial « Ruminants et santé publique », vol.26, 137-142
- ✓ **Ministère de l'Agriculture et de la Pêche** (page consultée le 14 juin 2007), *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/>
- ✓ **MORIGANA H. et coll.** (2004), *A benzimidazole fungicide, benomyl, and its metabolite, carbendazim, induce aromatase activity in a human ovarian granulosa-like tumor cell line (KGN)*, Endocrinology, 145,(4), 1860-1869
- ✓ **MORROW D.A.** (1980), *Current therapy in theriogenology: Diagnosis, treatment and prevention of reproductive diseases in animals, section II: Clinical Pharmacology*, W.B.SAUNDERS COMPANY, USA, 23-63
- ✓ **MUKHERJEE S., KONER B.C., RAY S., RAY A.** (2006), *Environmental contaminants in pathogenesis of breast cancer*, Indian J. Exp. Biol., 44, (8), 597-617
- ✓ **NARAYANA K. et coll.** (2005), *Effects of methyl-parathion (o,o-dimethyl-o-4-nitrophenyl phosphorothioate) on rat sperm morphology and sperm count, but not fertility, are associated with decreased ascorbic acid level in the testis*, Mutation Research, vol.588, 28-34
- ✓ **NARAYANA K. et coll.** (2006), *Neonatal methyl-parathion exposure affects the growth and functions of the male reproductive system in the adult rat*, Folia Morphol., 65, (1), 26-33
- ✓ **OSMAN A.Z., HAZZA A., NAGWA I., AWAD T.M.** (1983), *Fate and metabolism of the insecticide ¹⁴C-Lannate in farm animals*, Isot. Rard. Res., 15, (2), 111-120
- ✓ **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
- ✓ **PEAKER M.** (1977), *Mechanism of milk secretion : milk composition in relation to potential difference across the mammary epithelium*, Journal of Physiology, 270, 489-505
- ✓ **PETIT S.** (2007), *Dictionnaire des médicaments vétérinaires et des produits de santé animale commercialisé en France, 14e édition*, Editions du Point Vétérinaire, Maisons-Alfort, 1807p.
- ✓ **PITTOIS 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
- ✓ **PITTOIS M., BOSIO P.** (1972), *Etude sur les résidus décelables dans le lait des vaches pâturant sur les prairies traitées avec le trifenmorph*, Rec. Med. Vet., n°3, 359-363

- ✓ **PNUE/FAO/OMS/AIEA** (1991), *Evaluation de l'état de la pollution de la mer Méditerranée par les composés organophosphorés*, MAP Technical Reports Series No 58, UNEP, Athens, 1991, 131p.
- ✓ **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.
- ✓ **QUEIROZ E.K.R. et WAISSMANN W.** (2006), *Occupational exposure and effects on the male reproductive system*, Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 22, (3), 485-493
- ✓ **RAMES J-F. et MAURISSON E.** (2006), *L'économie laitière en chiffres, édition 2006*, CNIEL (Centre National Interprofessionnel de l'Economie Laitière), Paris, 217p.
- ✓ **RAISBECK M.F., KENDALL J.D., ROTTINGHAUS G.E.** (1989), *Organochlorine insecticide problems in livestock*, Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice, Vol.5, No.2, July 1989, 391-410
- ✓ **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
- ✓ **ROMAIN J.** (1970), *Contribution à l'étude de la fixation de l'iode radioactif sur les protéines des lait de vache et de brebis*, Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de Médecine, Paris, 74p.
- ✓ **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
- ✓ **SAHALI Y., JETT C.M., MURPHY J.J.** (1994), *Metabolic fate of S,S,S-tributyl phosphorothioate (DEF) in the lactating goat*, Xenobiotica, 24, (4), 301-313
- ✓ **SALAS et coll.** (2003), *Organophosphorus pesticide residues in Mexican commercial pasteurized milk*, J. Agric. Food Chem., 51, (15), 4468-4471
- ✓ **SALAZAR K.D., MILLER M.R., BARNETT J.B., SCHAFER R.** (2006), *Evidence for a novel endocrine disruptor : the pesticide propanil requires the ovaries and steroid synthesis to enhance humoral immunity*, Toxicology Science, 93, (1), 62-74
- ✓ **SANS P. et FABRE J-M.** (2000), *Panorama économique des filières laitières françaises*, Bulletin des GTV, 8, 187-193
- ✓ **SANOVA M. et MENARD J-L.** (1994), *Contamination du lait cru par Listeria monocytogenes : origines, facteurs de risque, prévention*, Recueil de Médecine Vétérinaire, N° Spécial, 170, (6/7), 437-455
- ✓ **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

- ✓ **TOSI J-C.** (2000), *La réglementation hygiénique et sanitaire du lait cru et des produits au lait cru*, Bulletin de GTV, 8, 204-208
- ✓ **TURUSOV V., RAKITSKY V., TOMATIS L.** (2002), *Dichlorodiphenyl-trichloroethane (DDT) : ubiquity, persistence and risks*, Research Review, 110, (2), 125-128
- ✓ **VALZI G.** (1993), *Agromarché – Productions animales – Filières de produits agricoles – Les marchés des produits agricoles et agro-alimentaires dans le monde, la CEE, la France, 4e édition*, Synthèse Agricole, 123p.
- ✓ **VAN BALEN E. et coll.** (2006), *Exposure to non-arsenic pesticides is associated with lymphoma among farmers in Spain*, Occup. Environ. Med., 63, (10), 663-668
- ✓ **VIEL J.F., RICHARDSON S.T.** (1993), *Lymphoma, multiple myeloma and leukaemia among French farmers in relation to pesticide exposure*, Soc. Sci. Med., 37, (6), 771-777
- ✓ **VEISSEYRE R.** (1979), *Technologie du lait : Constitution, récolte, traitement et transformation du lait – 3e édition*, La Maison Rustique, Paris, 714p.
- ✓ **VENANT A., RICHOU-BAC L.** (1981), *Contamination des produits laitiers français par les résidus de composés organochlorés – 1. Niveaux résiduels. Mise au point 1980*, Le Lait, n°61, 619-633
- ✓ **VINGGAARD A.M. et coll.** (2005), *Perinatal exposure to the fungicide prochloraz feminizes the male rat offspring*, Toxicology Science, 85, (2), 886-897
- ✓ **VINGGAARD A.M. et coll.** (2006), *Prochloraz : an imidazole fungicide with multiple mechanisms of action*, Int. J. Androl., 29, (1), 186-192
- ✓ **WALISZEWSKI S.M., VILLALOBOS-PIETRINI R., GOMEZ-ARROVO S., INFANZON R.M.** (2003), *Persistent organochlorine pesticide levels in cow's milk samples from tropical regions of Mexico*, Food Addit. Contam., 20, (3), 270-275
- ✓ **WATTIAUX M.A.** (1997) (a), *Dairy essentials (1st edition) : Nutrition and feeding*, The Babcock Institute Publications, University of Wisconsin-Madison, 1-28
- ✓ **WATTIAUX M.A.** (1997) (b), *Dairy essentials (1st edition) : Lactation and milking*, The Babcock Publications, University of Wisconsin-Madison, 73-100
- ✓ **WHITEHEAD S.A. et RICE S.** (2006), *Endocrine-disrupting chemicals as modulators of sex steroid synthesis*, Best Practise & Research Clinical Endocrinology & Metabolism, 20, (1), 45-61
- ✓ **WHITEHURST W.E. et coll.** (1963), *The metabolism of sevin in dairy cows*, J. Agr. Food. Chem., 11, (2), 167-169
- ✓ **WILLETT L.B., O'DONNELL A.F., DURST H.I., KURZ M.M.** (1993), *Mechanisms of movement of organochlorine pesticides from soils to cows via forages*, J. Dairy Sci., 76, (6), 1635-1644

✓ **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

✓ **World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United States** (2005), *Pesticide residues in food-2005, Report of the joint meeting of the FAO panel of experts on pesticide residues, Geneva, Switzerland, 20-29 September 2005*, Rome, 353p.

✓ **XUE N., XU X., JIN Z.** (2005), *Screening 31 endocrine-disrupting pesticides in water and surface sediment samples from Beijing Guanting reservoir*, *Chemosphere*, vol.61, 1594-1606

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

✓ **ZHONG W., XU D., CHAI Z., MAO X.** (2003), *2001 survey of organochlorine pesticides in retail milk from Beijing, P R China*, *Food Addit. Contam.*, 20, (3), 254-258

TEXTES REGLEMENTAIRES :

✓ **BONNOMET V.** (2004), Détermination de normes de qualité dans l'eau pour 37 substances de la liste II de la directive 76/464/CEE : rapport technique, Annexe : fiches de données écotoxicologiques.

✓ **Code de la consommation** (2001), Appendice ; lait, produits laitiers, Editions Dalloz, Paris, 827-837

✓ **Code rural** (2006), Livre II, titre III, chapitre IV, section II : Contrôle sanitaire des animaux, Editions Dalloz, Paris, 196-198

✓ **Journal Officiel de la Communauté Européenne L317 du 6 novembre 1981** p1-15 : Directive 81/851/CEE du Conseil, du 28 septembre 1981, concernant le rapprochement des législations des États membres relatives aux médicaments vétérinaires

✓ **Journal Officiel de la Communauté Européenne C28 du 9 février 1981** p 62 : Résolution portant avis du parlement européen sur les propositions de la Communauté Européenne au conseil relative à : I. Une directive concernant la fixation de teneurs maximales pour les résidus de pesticides sur et dans les céréales destinées à l'alimentation humaine, II. Une directive concernant la fixation de teneurs maximales pour les résidus de pesticides sur et dans les denrées alimentaires d'origine animale

✓ **Journal Officiel de la Communauté Européenne L221 du 7 août 1986** p.0043-0047 : Directive 86/363/CEE du Conseil du 24 juillet 1986 concernant la fixation de teneurs maximales pour les résidus de pesticides sur et dans les denrées alimentaires d'origine animale

✓ **Journal Officiel de la Communauté Européenne L224 du 18 août 1990** p1-8 : Règlement (CEE) n° 2377/90 du Conseil, du 26 juin 1990, établissant une procédure communautaire pour la fixation des limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale

✓ **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

✓ **Journal Officiel de la Communauté Européenne L125 du 23 mai 1996** p10-32: Directive 96/23/CE du Conseil, du 29 avril 1996, relative aux mesures de contrôle à mettre en oeuvre à l'égard de certaines substances et de leurs résidus dans les animaux vivants et leurs produits et abrogeant les directives 85/358/CEE et 86/469/CEE et les décisions 89/187/CEE et 91/664/CEE

✓ **Journal Officiel de la Communauté Européenne L303 du 6 novembre 1997** p26-29 : Recommandation de l'autorité de surveillance AELE N° 167/97/COL du 17 juin 1997 concernant un programme coordonné de contrôles en 1997, destiné à garantir le respect des teneurs maximales pour les résidus de pesticides sur ou dans certains produits d'origine végétale, y compris les fruits et légumes

✓ **Journal Officiel de la Communauté Européenne L47 du 18 février 1998** p17 : 98/151/CE: Décision de la Commission du 10 février 1998 approuvant le plan de surveillance pour la recherche des résidus ou substances dans les animaux vivants et leurs produits, présenté par la France (Le texte en langue française est le seul faisant foi.) (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE)

✓ **Journal Officiel de la Communauté Européenne L290/25 du 29 octobre 1998** p 25-54 : Commission Directive 98/82/EC of 27 october 1998 amending annexes to council directives 86/362/EEC, 86/363/EEC and 90/642/EEC as regards maximum residue levels for certain pesticides in and on fruit and vegetables, cereals, foodstuffs of animal origin and certain products of plan origin, including fruit and vegetables respectively

✓ **Journal Officiel de la Communauté Européenne L194/36 du 27 juillet 1999** p 36-44 : Commission Directive 1999/71/EC of 14 july 1999 amending annexes to council directives 76/895/EEC, 86/362/EEC, 86/363/EEC and 90/642/EEC as regards maximum residue levels for certain pesticides in and on fruit and vegetables, cereals, foodstuffs of animal origin and certain products of plan origin, including fruit and vegetables respectively.

✓ **Journal Officiel de la Communauté Européenne L107/28 du 4 mai 2000** p 28-37 : Commission Directive 2000/24/EC of 28 april 2000 amending annexes to council directives 76/895/EEC, 86/362/EEC, 86/363/EEC and 90/642/EEC as regards maximum residue levels for certain pesticides in and on fruit and vegetables, cereals, foodstuffs of animal origin and certain products of plan origin, including fruit and vegetables respectively.

✓ **Journal Officiel de la Communauté Européenne L158/51 du 30 juin 2000** p 51-75 : Commission Directive 2000/42/EC of 22 june 2000 amending annexes to council directives 86/362/EEC, 86/363/EEC and 90/642/EEC as regards maximum residue levels for certain pesticides in and on fruit and vegetables, cereals, foodstuffs of animal origin and certain products of plan origin, including fruit and vegetables respectively.

✓ **Journal officiel de la Communauté Européenne L311 du 28 novembre 2001** p 1-66 : Directive 2001/82/CE du Parlement Européen et du Conseil du 6 novembre 2001 instituant un code communautaire relatif aux médicaments vétérinaires.

✓ **Journal Officiel de la Communauté Européenne L192/47 du 20 juillet 2002** p 47-53 : Commission Directive 2002/66/EC of 16 July 2002 amending annexes to Council Directives 76/895/EEC, 86/362/EEC, 86/363/EEC and 90/642/EEC as regards maximum residue levels for certain pesticides in and on fruit and vegetables, cereals, foodstuffs of animal origin and certain products of plant origin, including fruit and vegetables respectively.

✓ **Journal Officiel de la Communauté Européenne L291/5 du 28 octobre 2002** : Commission Directive 2002/79/EC of 2 October 2002 amending annexes to Council Directives 76/895/EEC, 86/362/EEC, 86/363/EEC and 90/642/EEC as regards maximum residue levels for certain pesticides in and on cereals and certain products of animal and plant origin, including fruit and vegetables.

✓ **Journal Officiel de la Communauté Européenne L324/24 du 11 décembre 2003** p 24-35 : Commission Directive 2003/113/EC of 3 December 2003 amending annexes to Council Directives 86/362/EEC, 86/363/EEC and 90/642/EEC as regards maximum residue levels for certain pesticides in and on cereals and certain products of animal and plant origin, including fruit and vegetables.

✓ **Journal Officiel de la Communauté Européenne L219/29 du 24 août 2005** p 29-42 : Commission Directive 2005/48/EC of 23 August 2005 amending annexes to Council Directives 86/362/EEC, 86/363/EEC and 90/642/EEC as regards maximum residue levels for certain pesticides in and on cereals and certain products of animal and plant origin

✓ **Journal Officiel de la Communauté Européenne L276/35 du 21 octobre 2005** p 35-53 : Commission Directive 2005/70/EC of 20 October 2005 amending annexes to Council Directives 76/895/EEC, 86/362/EEC, 86/363/EEC and 90/642/EEC as regards maximum residue levels for certain pesticides in and on cereals and certain products of animal and plant origin

✓ **Journal Officiel de la Communauté Européenne L175/61 du 29 juin 2006** p 61-76 : Commission Directive 2006/59/EC of 28 June 2006 amending annexes to Council Directives 86/362/EEC, 86/363/EEC and 90/642/EEC as regards maximum residue levels for carbaryl, deltamethrin, endosulfan, fenitrothion, methidathion and oxamyl.

✓ **Journal Officiel de la Communauté Européenne L206 du 27 juillet 2006 (a)** p12-26 : Directive 2006/61/CE de la Commission du 7 juillet 2006 modifiant les annexes des directives 86/362/CEE, 86/363/CEE et 90/642/CEE du Conseil en ce qui concerne les teneurs maximales pour les résidus d'atrazine, d'azinphos-éthyl, de cyfluthrine, d'éthéphon, de fenthion, de méthamidophos, de méthomyl, de paraquat et de triazophos (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE)

✓ **Journal Officiel de la Communauté Européenne L206 du 27 juillet 2006 (b)** p27-35 : Directive 2006/62/CE de la Commission du 12 juillet 2006 modifiant les annexes des directives 76/895/CEE, 86/362/CEE, 86/363/CEE et 90/642/CEE du Conseil en ce qui concerne les teneurs maximales pour les résidus de desmediphame, de phenmediphame et de chlorfenvinphos (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE)

✓ **Journal Officiel de la Communauté Européenne L325 du 24 novembre 2006** p6-8 : Règlement (CE) n° 1729/2006 de la Commission du 23 novembre 2006 modifiant les annexes I et III du règlement (CEE) n° 2377/90 du Conseil établissant une procédure

communautaire pour la fixation des limites maximales de résidus de médicaments vétérinaires dans les aliments d'origine animale en ce qui concerne le firocoxib et le triclabendazole (Texte présentant de l'intérêt pour l'EEE)

✓ **Journal Officiel de la République Française du 3 août 1971** p 7699 : Décret n°71-644 du 30 juillet 1971 portant application de la loi modifiée du 1er août 1905 sur la répression des fraudes dans la vente des marchandises et des falsifications des denrées alimentaires et des produits agricoles, en ce qui concerne les résidus de produits utilisés en Agriculture ou en élevage, pouvant être tolérés dans les denrées alimentaires et les boissons

✓ **Journal Officiel de la République Française n°258 du 7 novembre 2006** p16722 à 16724 : arrêté du 18 octobre 2006 modifiant l'arrêté du 5 décembre 1994 modifié relatif au retrait de la consommation humaine des denrées alimentaires d'origine animale contaminées par des résidus de pesticides

CAZET Laure

BILAN DU TAUX DE CONTAMINATION ET ETUDE PREPARATOIRE AU DOSAGE DES RESIDUS DE PRODUITS PHYTOSANITAIRES DANS LE LAIT DE GRAND MELANGE BOVIN

Thèse Vétérinaire : Lyon , 2007

RESUME : Le lait, aliment doté de très bonnes propriétés nutritionnelles, est produit à partir d'éléments synthétisés par la mamelle et de composants venus du sang de l'animal. L'alimentation peut donc influencer sur sa composition et certaines molécules présentes dans la ration de la vache, comme des pesticides, s'y retrouver. Le passage de ces produits dépend de leurs propriétés physico-chimiques et des modalités d'application sur les cultures. Leur consommation chronique à doses mineures via le lait pose un problème de santé publique car ils peuvent en particulier avoir à long terme des effets endocriniens, cancérigènes ou déprimeurs immunitaires. Des bases législatives sont censées protéger le consommateur mais il convient de maintenir la surveillance des résidus. Divers dosages ont été réalisés pour de nombreuses substances utilisées depuis longtemps, mais les composés plus récents sont relativement peu examinés et justifieraient donc des études supplémentaires.

MOTS CLES : - Lait
- Composition
- Pesticides
- Santé
- Résidus

JURY :

Président :	Monsieur le Professeur Alain BERGERET
1er Assesseur :	Monsieur le Docteur Thierry BURONFOSSE
2ème Assesseur :	Monsieur le Docteur Sylvie COLLARDELLE

DATE DE SOUTENANCE :

Le 16 octobre 2007

ADRESSE DE L'AUTEUR :

88 rue du Faubourg Raines
21000 DIJON