

**ETAT DES LIEUX DE LA CONTAMINATION DES ŒUFS DE CONSOMMATION
PAR DES POLLUANTS ORGANIQUES PERSISTANTS, LES RETARDATEURS
DE FLAMME BROMES**

Adeline Huneau-Salaün¹, Angélique Travel², Ronan Cariou³, Loïc Balaine¹, Christophe Souchet², Anaïs Vénisseau³, Philippe Marchand³, Gaud Dervilly-Pinel³, Gérard Amand², Alicia Charpiot², Bruno Le Bizec³, Catherine Jondreville⁴, Sophie Le Bouquin¹

¹*ANSES-UMT Sanivol - Laboratoire de Ploufragan-Plouzané - BP 53,
22440 Ploufragan, France ;*

²*ITAVI, Unité de Recherches Avicoles, Centre INRA de Tours, 37380 Nouzilly, France;*

³*LUNAM Université, Oniris, Laboratoire d'Etude des Résidus et Contaminants
dans les Aliments (LABERCA), USC INRA 1329, 44307 Nantes, France;*

⁴*INRA, Université de Lorraine, USC340, URAFPA, Unité de Recherches Animal
et Fonctionnalités des Produits Animaux, 54500 Vandoeuvre-lès-Nancy, France*

adeline.huneau@anses.fr

RESUME

Les Retardateurs de Flamme Bromés (RFB) sont des substances chimiques ignifuges incorporées notamment dans les matériaux isolants de construction. Ces produits lipophiles sont susceptibles de s'accumuler dans les tissus animaux et d'être ingérés par les consommateurs. Bien que leur concentration dans les denrées alimentaires ne soit pas réglementée à ce jour, ces polluants organiques persistants sont suspectés d'être des perturbateurs endocriniens. L'un des objectifs de l'étude Braviporc est de quantifier certains RFB dans les produits avicoles et porcins et d'en identifier les sources potentielles dans l'environnement d'élevage. Une étude épidémiologique a donc été menée en 2014 dans 60 élevages français de poules (30 en cage, 16 en plein-air, 7 en production biologique et 7 en volière) pour déterminer la concentration dans les œufs de deux familles de RFB (l'hexabromocyclododécane, HBCD et les polybromodiphényles éthers, PBDE). Pour chaque troupeau, âgé de plus de 50 semaines, douze œufs ont été prélevés et poolés en omelette. Les concentrations de 8 congénères de PBDE et 3 stéréoisomères d'HBCD dans la matière grasse des œufs ont été déterminées respectivement par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse haute résolution (GC-HRMS) et par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS). Au moins un PBDE a été détecté dans 33 des 56 échantillons actuellement analysés (59%) mais la concentration totale pour les 8 molécules ne dépasse pas 1,2 ng/g de matière grasse (MG). Au moins un des isomères d'HBCD a pu être quantifié dans 14 échantillons (25%), mais les concentrations demeurent extrêmement faibles (<0,5 ng/g MG). Ces valeurs sont inférieures à celle révélées dans les plans de contrôle et de surveillance de la DGAL. Cette étude montre que l'élevage de volailles dans des bâtiments intègres ne présente pas de risque pour la qualité des œufs. L'œuf est donc un faible contributeur à l'exposition humaine aux HBCD via l'alimentation en France.

ABSTRACT

Brominated Flame Retardants in eggs

Brominated Flame Retardants (RFB) are primarily used as additive flame retardants in insulating materials. These lipophilic compounds can bioaccumulate in animal tissues leading to human exposition via food ingestion. Although their concentration in food is not regulated yet, these persistent organic pollutants are suspected to act as endocrine disruptors. The present study aimed to quantify two families of RFB (hexabromocyclododecane, HBCDD and polybrominated diphenyl ethers, PBDE) in eggs and to identify potential sources of RFB in laying hens' environment. In 2014, an epidemiological study was carried out in 60 egg farms (30 in cages, 16 free-range farms, 7 in organic farms and 7 aviaries) in France. When the hens were older than 50 weeks, 12 eggs were sampled and pooled in omelet. Eight PBDE-congeners and 3 HBCDD-stereoisomers were quantified in egg fat using respectively Gas Chromatography – High Resolution Mass Spectrometry (GC-HRMS) and High-Performance Liquid Chromatography – tandem Mass Spectrometry (HPLC-MS/MS).

At least one PBDE-congener was detected in 33 samples out of 56 (59%) but the total concentration for the 8 congeners was lower than 1.2 ng/g fat. At least of one stereoisomer of HBCDD was quantified in 14 samples (25%) but the concentration remained lower than 0.5 ng/g fat. These values are lower than those revealed by French monitoring control. This study shows that poultry production in buildings without damages presents no risk for egg quality. Egg is a low contributor to human exposure to HBCD via food in France.

INTRODUCTION

Les retardateurs de flamme bromés (RFB) sont des substances chimiques incorporées dans certains plastiques, textiles et matériaux de construction pour leur conférer une propriété ignifuge. Certains sont listés parmi les Polluants Organiques Persistants (POP) (Convention de Stockholm, 2014) en raison de leur persistance dans l'environnement, leur bioaccumulation dans les tissus lipidiques des organismes vivants et leur toxicité pour l'homme et la faune. A faible dose, ces composés sont considérés comme des neurotoxiques et des perturbateurs endocriniens, c'est-à-dire qu'ils interagiraient ou interfèreraient négativement avec l'activité hormonale normale des hommes et des animaux. La consommation d'aliments contaminés serait la principale voie d'exposition humaine à ces produits, avec l'ingestion de poussières environnementales (EFSA 2011, a, b). De ce fait, la présence de plusieurs RFB (HBCD, PBDE et PBB) est recherchée dans les produits animaux depuis 2008 dans le cadre de plans de surveillance européens. Les plans français en 2008 et 2009 ont révélé l'existence, très rare, d'œufs et de viandes de volailles contaminés par les HBCD à des niveaux plus de 1000 fois supérieurs au bruit de fond habituel. Bien qu'il n'existe actuellement aucune valeur maximale réglementaire pour les RFB dans les aliments, l'existence de produits, avec d'assez fortes concentrations, pose un problème réel pour la sécurité sanitaire des consommateurs (Anses, 2011 et 2012). Le projet BrAviPorc a été développé afin de mieux comprendre les modalités de transfert des RFB de l'environnement vers les produits animaux pour prévenir les contaminations. Dans ce cadre, une étude épidémiologique a été menée en 2014 en élevages de poudeuses, de poulets et de porcs afin de mesurer les concentrations de RFB dans les œufs et les muscles. Cet article présente les résultats obtenus pour les troupeaux de poules poudeuses.

1. MATERIELS ET METHODES

1.1. Elevages enquêtés

L'étude a porté sur 60 élevages de poules poudeuses d'œufs de consommation (30 en cage, 16 en plein air, 7 en volières et 7 biologiques) situés dans toute la France. L'échantillon d'élevages a été stratifié sur le mode de logement (50% en cages, 50% en systèmes alternatifs). Au niveau géographique, quatre zones de production ont été définies (Bretagne, Pays de la Loire, Rhône-Alpes et le reste de la France) puis le nombre d'élevages à enquêter par zone a été déterminé proportionnellement à la part de chaque région dans les productions d'œufs conventionnel et alternatif en France (Figure). Les élevages ont été sélectionnés aléatoirement parmi les adhérents des différents groupements de production ayant accepté

de participer à ce projet. Les troupeaux de poules poudeuses enquêtés devaient être âgés de plus de 50 semaines au moment de la visite.

1.2. Prélèvements et collecte des informations

Chaque élevage a été visité par un enquêteur de l'ITAVI ou de l'Anses entre novembre 2013 et octobre 2014. Un questionnaire a été complété avec l'éleveur sur le poulailler (âge, type de matériaux, état et entretien) et la conduite d'élevage des animaux. Douze œufs ont été prélevés pour analyse ainsi que des échantillons d'aliment et de poussières (2 chiffonnettes sur les parois du poulailler). Les œufs ont été cassés et mélangés pour former une omelette dont 1 litre a été conservé au froid négatif avant analyse. Les échantillons environnementaux complémentaires ont été conservés pour être analysés en seconde intention en cas de détection d'une concentration élevée de RFB dans les œufs correspondants.

1.3. Méthodes d'analyse

Conformément aux recommandations de l'Anses (2012), deux familles de RFB ont été recherchées dans la matière grasse (MG) des œufs : les polybromo-diphényléthers (PBDE) et l'hexabromocyclododécane (HBCD). Après lyophilisation de l'omelette, la matière grasse contenant les composés d'intérêt a été extraite par un mélange de solvants organiques toluène/acétone (70:30, v/v) sous pression (100 bars) et à chaud (120 °C). L'extrait a ensuite été purifié suivant une succession de colonnes d'extraction sur phase solide contenant de la silice acide et du Florisil®, aboutissant à la collecte de deux fractions (PBDE et HBCD). Une purification supplémentaire a eu lieu, sur colonne de charbon pour la fraction PBDE ou par partage liquide/liquide entre hexane et soude 1N pour la fraction HBCD. Les concentrations de 8 congénères de PBDE (BDE-28, 47, 99, 100, 153, 154, 183, 209) et des 3 stéréoisomères d'HBCD (α , β et γ) ont été déterminées respectivement par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse haute résolution (GC-HRMS) et par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS), selon des méthodes validées et accréditées (norme ISO 17025) ; la quantification des molécules repose sur le principe de dilution isotopique. Le seuil de quantification (statistiquement significatif) a été déterminé en tenant compte du niveau de contamination analytique rencontré pour ce type de molécule (blancs d'analyses systématiquement contaminés), une attention particulière et drastique ayant été portée à la maîtrise de ce phénomène. Les résultats sont disponibles pour 56 des 60 échantillons prélevés.

2. RESULTATS ET DISCUSSION

La teneur en matière grasse (MG) des omelettes variait de 6,8 à 11,2 % de la matière fraîche (moyenne 9.5 ± 0.8 %). Au moins un congénère de PBDE a été isolé à un niveau supérieur au bruit de fond dans 33 omelettes sur 56 (59 %), avec jusqu'à 6 congénères détectés dans un échantillon. Le congénère le plus fréquent est le BDE-153 (présent dans 31 échantillons) suivi du BDE-209 (15 échantillons) (Tableau) mais leurs concentrations demeurent inférieures à 1,2 ng/g MG. Bien qu'il faille comparer avec prudence des résultats issus de différentes origines et méthodes d'analyse, la fréquence de détection des PBDE dans les œufs prélevés semble plus faible que celle reportée par l'EFSA au niveau européen (EFSA, 2011 a), où au moins l'un des congénères recherchés était présent dans plus des quatre cinquièmes des échantillons étudiés. Les concentrations moyennes de PBDE observées sont aussi inférieures aux niveaux européens et comparables à celles des derniers plans de surveillance français en 2012 et 2013 (Direction Générale de l'Alimentation, 2013, 2014). La concentration moyenne de BDE-209, lorsqu'il est détecté, est plus élevée que celles des autres congénères faisant de cette molécule la plus abondante des PBDE isolés, comme déjà reporté auparavant (Covaci et al., 2009 ; Rawn et al. 2011). Les concentrations observées de PBDE, comparables à celles obtenues dans l'étude EAT 2 (Anses, 2011), tendent donc à prouver que l'œuf contribuerait à moins de 3 % de l'exposition alimentaire d'un adulte français aux PBDE. En particulier, le BDE-99, identifié comme étant le congénère pouvant avoir un impact significatif sur la santé via l'exposition alimentaire par l'EFSA (2011b), a été détecté bien plus rarement qu'au niveau européen (13% vs. 78%) et à une concentration dix fois inférieure.

La présence d'HBCD a été détectée dans 14 omelettes (25 %), le stéréoisomère α étant le plus fréquent (13 échantillons). En effet, si le γ -HBCD est la forme majoritaire utilisée dans les mélanges techniques, la prédominance de l'isomère α - dans les denrées alimentaire d'origine animale a souvent été rapportée (Rivière et al., 2014). Cette modification du profil d'HBCD pourrait être due à la transformation de l'isomère γ - en isomère α - sous l'effet de la chaleur lors du processus de fabrication de certains polystyrènes, menant à une exposition des animaux à l'isomère α -. Bien qu'incomplète, la biotransformation de l'isomère γ - en isomère α - après ingestion par la poule pondeuse (Fournier et al., 2012) pourrait aussi contribuer à l'enrichissement des produits avicoles en isomère α -.

La fréquence de détection des HBCD (25%) apparaît plus faible dans notre étude qu'en Europe (environ 50

% d'œufs positifs) ou dans les plans de surveillance français (56 à 86 % de détection selon les années). La concentration totale d'HBCD dans les 14 échantillons était inférieure à 0,5 ng/g MG, sauf pour un échantillon où la teneur en α -HBCD atteignait 3,4 ng/g MG. Il s'agissait d'œufs provenant d'un élevage au sol avec parcours, équipé d'un poulailler, datant de 1991 et auto-construit par l'éleveur. Bien que plus élevée, cette concentration est comparable à d'autres teneurs précédemment reportées en France et reste 1000 fois inférieure aux contaminations extrêmes ponctuellement observées en 2008 et en 2009. L'analyse des échantillons complémentaires pourrait permettre de déterminer la source d'exposition des animaux (alimentaire ou environnementale) et, le cas échéant, de mettre en œuvre une mesure correctrice.

L'objectif opérationnel de l'étude épidémiologique était d'intervenir en élevage au cas où des contaminations extrêmes des œufs auraient été détectées afin d'en identifier la source et de proposer des mesures correctives. Cependant, l'enquête n'a pas permis de mettre en évidence des situations atypiques telles que précédemment détectées en France ou en Allemagne (Hiebl et Vetter, 2007). De ce fait, cet objectif n'est pas pour l'instant atteint.

L'analyse des résultats par système d'élevage montre que la fréquence de détection d'HBCD (au moins un stéréoisomère) est plus élevée dans les élevages alternatifs (11 élevages sur 30, 44 %) que dans les poulaillers en cage (3 sur 26, 10 %, test χ^2 $p=0,03$). De même, les œufs contenant des PBDE (au moins 1 congénère isolé) provenaient plus souvent de poulaillers alternatifs (24/30, 80 %) que de conventionnels (9/26, 35 %, $p<0.001$). Le reclassement des élevages en volière sans accès à un parcours (5 sur 7 volières étudiées) avec les élevages en cage montre que l'HBCD est détecté dans 44% des élevages ménageant un accès à un parcours contre 10% pour les élevages en claustration ($p<0,01$). Pour les PBDE, ces fréquences atteignent respectivement 92 et 32% ($P<0,001$). Cette observation suggère que l'accès à un parcours pourrait contribuer à l'exposition des animaux à ces RFB. Covaci et al. (2009) ont suggéré que l'ingestion de sol par les poules serait une des voies majeures d'exposition des animaux aux RFB, comme à d'autres POP. Ainsi, Travel et al. (2009) ont observé que les teneurs en dioxines-furanes (PCDD/F) et en polychlorobiphényles dioxine like (PCB dl) étaient significativement supérieures dans les œufs venant d'élevages avec accès à un parcours que dans les œufs conventionnels. Cependant, aucune différence de contamination par les PBDE et les HBCD n'avait été mise en évidence entre des œufs conventionnels, enrichis en oméga-3, plein-air et biologiques au Canada (Rawn et al., 2011).

CONCLUSION

Les résultats actuellement disponibles pour 56 élevages de poules pondeuses, montrent que 75 % de notre échantillon ne présente aucune trace d'HBCD, et 41 % aucune trace de PBDE. L'accès des poules à l'extérieur semble accroître la fréquence de détection des RFB dans les œufs, certainement expliqué par le bruit de fond environnemental et le picotage de particules de sol sur le parcours. Lorsque ces composés sont détectés, ils le sont à des concentrations très faibles, quel que soit le système d'élevage ; les teneurs retrouvées dans les œufs étaient généralement inférieures à 1 ng/g MG pour les PBDE et les HBCD. Ces valeurs sont plus faibles que celles révélées dans les plans de contrôle et de surveillance français et européens.

Aucune contamination atypique n'a été détectée, limitant la possibilité d'investiguer les sources potentielles de ces composés dans l'environnement des poules. Notre enquête ne nous a pas permis de

statuer sur l'origine d'œufs contaminés à des niveaux de l'ordre de plusieurs centaines de ng/g de lipides, comme ceux qui ont été retrouvés dans les plans de surveillance français en 2008 et 2009.

Ce travail montre que l'élevage de volailles dans des bâtiments intègres ne présente pas de risque pour la qualité des œufs vis-à-vis des RFB. L'œuf est donc un faible contributeur à l'exposition humaine aux HBCD via l'alimentation en France.

Cette étude a été réalisée avec le soutien financier du Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt (CAS DAR AAP n°1256). Les auteurs remercient les structures de production d'œufs qui ont accepté de participer à l'enquête. Ces travaux ont été menés dans le cadre de l'Unité Mixte Technologique Sanivol.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Anses, 2011. Rapport d'expertise Etude de l'alimentation totale française 2. <https://www.anses.fr/fr/documents/PASER2006sa0361Ra1.pdf>
2. Anses, 2012. Avis Saisine n°2010-SA-0225. <https://www.anses.fr/sites/default/files/documents/RCCP2010sa0225.pdf>
3. Stockholm convention, 2014. <http://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/ListingofPOPs/tabid/2509/Default.aspx>
4. Covaci A., 2009. Sci. Total Environ., 407, 4387-4396.
5. Direction Générale de l'Alimentation, 2013. http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/PSPC_Bilan_2012_20131023_cle8dd8bf.pdf
6. Direction Générale de l'Alimentation, 2014. http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/Bilan_PSPC_2013_cle0e1631.pdf
7. EFSA, 2011a. EFSA Journal, 9 (7), 2296. www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/doc/2296.pdf
8. EFSA, 2011b. EFSA Journal, 9 (5), 2156. www.efsa.europa.eu/fr/efsajournal/doc/2156.pdf
9. Fournier, A., et al., 2012. Environ. Sci. Pollution Res., 19, 440-447.
10. Hiebl J, Vetter W, 2007. J. Agr. Food Chem., 55, 3319-3324
11. Rawn, D. F. K., 2011. Food Additives Contam., 28 (6), 807-815.
12. Travel A. et al., 2009. In : Huitièmes Journées de la Recherche Avicole, St Malo, pp 87-91.
13. Riviere, G. et al., 2014. Sci. Total Environ., 491-492, 176-183.

Tableau. Concentration de polybromodiphényles éthers (PBDE) et d'hexabromocyclododécane (HBCD) dans les matières grasses d'œufs de consommation (56 élevages, 2014, France). Les moyennes et médianes sont calculées sur les échantillons positifs pour la molécule considérée.

	N ¹ détecté	% ND ²	Concentration ng/g matière grasse			
			moyenne	médiane	maximum	seuil ³
PBDE						
BDE- 28	0	100				0,003
BDE- 47	0	100				0,060
BDE- 99	8	87	0,079	0,069	0,122	0,040
BDE- 100	10	83	0,015	0,014	0,022	0,010
BDE- 153	31	48	0,014	0,008	0,063	0,005
BDE- 154	5	92	0,012	0,0011	0,015	0,008
BDE- 183	2	95	0,203	0,266	0,274	0,030
BDE-209	15	75	0,606	0,509	0,963	0,400
HBCD						
α-HBCD	13	78	0,442	0,142	3,428	0,050
β-HBCD	1	98	0,035	0,035	0,035	0,020
γ-HBCD	2	97	0,079	0,079	0,099	0,050

¹Nombre d'élevage où la molécule est détectée

²Non détecté

³Seuil de quantification pour la molécule

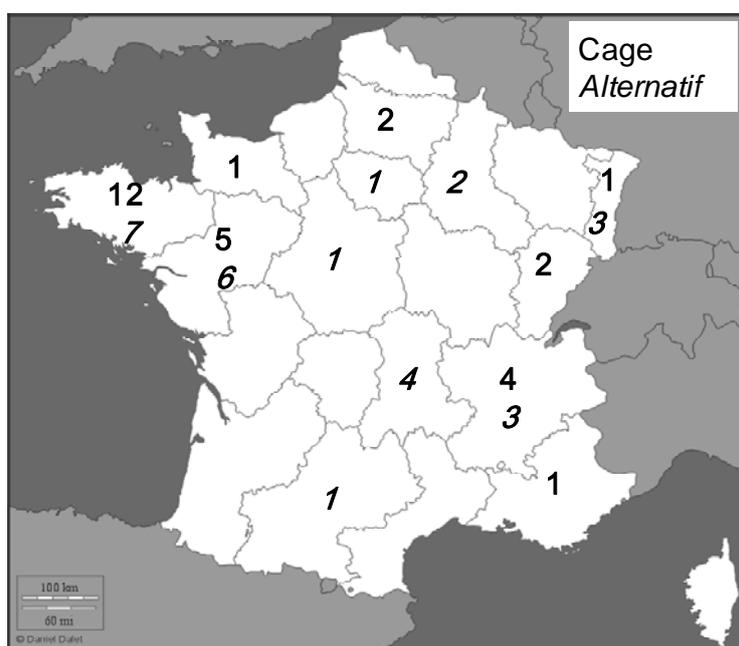


Figure. Répartition géographique par système de production des élevages de poules pondeuses d'œufs de consommation enquêtés (56 élevages, 2014, France). Les deux types d'élevages peuvent être présents dans une région.