

## LES POLLUANTS ORGANIQUES PERSISTANTS DANS LES ŒUFS

**Travel Angélique<sup>1</sup>, Guinvarch Joanna<sup>2</sup>, Allain Virginie<sup>3</sup>, Homo Nathalie<sup>3</sup>, Thébault Anne<sup>4</sup>, Marchand Philippe<sup>5</sup>, Chabault Marie<sup>6</sup>, Lubac Sophie<sup>7</sup>, Marze Laure<sup>7</sup>, Yves Nys<sup>6</sup>, Le Bouquin Sophie<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> ITAVI, BPI, 37380 Nouzilly <sup>2</sup> Etudiante AGROCAMPUS OUEST, 65 rue de Saint-Brieuc, 35042 Rennes <sup>3</sup> AFSSA LERAPP, Zoopôle Les Croix BP53, 22440 Ploufragan <sup>4</sup> AFSSA PASER, 23 avenue du Général de Gaulle BP 19, 94701 Maisons-Alfort <sup>5</sup> LABERCA, ENVN, Route de Gachet, BP 50707, 44307 Nantes Cedex 3 <sup>6</sup> INRA, UR83 Recherches Avicoles, 37380 Nouzilly <sup>7</sup> ITAVI Sud Est, 23 rue Baldassini, 69364 Lyon

### RÉSUMÉ

Les objectifs de notre travail étaient de dresser un bilan de la contamination de la filière œufs de consommation par les PCDD/F et PCB dl et de déterminer des marqueurs de risque de cette contamination en fonction du système d'élevage (cage, plein air et biologique). Cette étude épidémiologique a porté sur 87 élevages français de poules pondeuses répartis en effectif quasi-équivalent selon les trois systèmes. Un questionnaire a permis de décrire l'exploitation, l'alimentation, le bâtiment, le parcours, l'environnement de l'élevage et les pratiques de l'éleveur. Douze œufs du jour ont été collectés dans chaque élevage, leurs teneurs en PCDD/F et PCBs ont été déterminées. Les résultats indiquent que les œufs issus de notre panel sont en deçà des normes réglementaires fixées à 3 pg OMS-TEQ PCDD/F/g MG et 6 pg OMS-TEQ SOM-dl/g MG. En effet, les analyses révèlent des teneurs moyennes de 0,13, 0,24, 0,22 pg en PCDD/F et de 0,21, 0,46, 0,41 pg en SOM-dl respectivement en élevages cage, plein air et biologique. La variabilité des teneurs en polluant est plus grande lorsque les poules ont accès à un parcours.

Quel que soit le système d'élevage et le contaminant, l'accès au parcours serait la principale variable associée au niveau de contamination et les teneurs en POP des œufs ne sont pas significativement différentes entre élevages plein air et biologique. En conséquence, tous les facteurs influençant la contamination du parcours sont à prendre en compte : proximité d'industries, de villes et d'axes routiers. D'autre part, un temps d'accès au parcours réduit apparaît comme une piste permettant de limiter le niveau de PCB dl dans les œufs.

Quelques marqueurs et en particulier l'innocuité des intrants (eau et produits administrés) seraient à surveiller dans les élevages en cage. Vis à vis des PCB dl, l'impact environnemental semble également non négligeable dans ce système (proximité d'industries, de villes et d'axes routiers).

### ABSTRACT

The aims of this work were to find out levels of PCDD/F and PCB dl in commercial eggs and to determine risk markers of this contamination according to the breeding system used (cage, free range and organic). This epidemiological study was conducted on 87 French farms of laying hens, with approximately equal numbers for each system. A questionnaire provided information about the farm, feeding system, building, outside pasture area, environmental parameters and farming practices. Twelve day eggs were collected from each farm, their PCDD/F and PCBs contents were measured. The results show that eggs from farms inquired are below legal limits, fixed at 3 pg OMS-TEQ PCDD/F / g of egg lipid and 6 pg OMS-TEQ SOM-dl / g of egg lipid. Indeed, analyses reveal average levels 0.13, 0.24, 0.22 pg PCDD/F and of 0.21, 0.46, 0.41 pg SOM-DL respectively in cage, free range and organic systems. The variability of pollutants levels is increased when hens have access to the outside area.

For each breeding system and for each pollutant, access to the outside area is the main factor associated with the high contamination level and POP levels in eggs are not significantly different for free range or organic farms. Thus, all the factors influencing outside area contamination are risk markers: nearness of industries, cities and roads. On the other hand, an access-time to outside area reduced, appears as a mean to restrict PCB dl level of eggs.

Some markers and particularly the inputs quality (water and products) would be to watch in cage system. For PCB dl, environmental impact seems also not negligible in this system (nearness of industries, cities and road).

## INTRODUCTION

Les Polluants Organiques Persistants (POP) sont des composés produits par les activités humaines lors de la fabrication de pesticides ou de produits industriels, ou représentent des sous-produits involontaires de procédés industriels et de combustion. Les deux familles de POP ici étudiées sont de type hydrocarbure polycyclique : les polychlorodibenzo-paradioxines/furanes (PCDD/F) et les polychlorobiphényles dioxine like (PCB dl). Les POP sont des molécules organiques ubiquistes, toxiques et persistantes dans les milieux. Cette persistance dans l'environnement, au même titre que leur caractère lipophile, les rend bioaccumulables le long de la chaîne alimentaire, préférentiellement dans les matières grasses (lait, tissus adipeux, jaune d'œuf) (Rychen et al., 2005 ; Jondreville et al., 2007). Il est estimé que les produits d'origine animale contribuent pour près de 90% à l'ingestion de PCDD/F par la population française (Laurent et al., 2005 ; AFSSA, 2005) et que les œufs y contribuent à hauteur de 3 à 6% (Siddiqi et al., 2003 ; De Vries et al., 2006). Afin de limiter cette exposition, la réglementation européenne (Règlement 1881/2006/CE) fixe les teneurs maximales pour différentes substances indésirables dans les denrées alimentaires. Les niveaux de PCDD/F et SOM-dl dans les matrices sont exprimés en OMS-TEQ pour Organisation Mondiale de la Santé-Toxic Equivalent Quantity. Ce règlement impose un maximum de 3 pg OMS-TEQ PCDD/F / g de matière grasse (MG) dans les œufs de poules. Cette valeur est doublée lorsque les PCB dl sont ajoutés aux PCDD/F (SOMdl).

Les objectifs de cette étude étaient 1/ de dresser un bilan des teneurs en PCDD/F et PCB dl des œufs de la filière française à partir d'un échantillon représentatif de la production nationale; 2/ d'étudier les associations entre, les teneurs en PCDD/F, PCB dl et SOM dl des œufs et les pratiques ou l'environnement de l'élevage, en vue d'émettre des hypothèses de marqueurs de risque.

## 1. MATERIELS ET METHODES

### 1.1. Enquêtes

L'étude a porté sur 87 élevages (33 cage, 28 plein air et 26 biologique) situés dans le Grand Ouest, le Nord, le Sud, l'Est, le Centre et l'Île-de-France. L'échantillonnage s'est fait de manière aléatoire sur des élevages de poules pondeuses issus de différents groupements de producteurs français. Les exploitations enquêtées devaient respecter la contrainte suivante : animaux ayant eu accès au parcours avant la visite pour les élevages plein air et biologique.

### 1.2. Questionnaire

Un questionnaire a permis d'établir un descriptif des exploitations, de leur environnement et des pratiques mises en œuvre. Ce questionnaire a été élaboré à partir d'un document d'enquête fourni par l'AFSSA, il a été modifié au vu des éléments de la bibliographie et de l'expertise des partenaires du projet.

### 1.3. Prélèvements à l'élevage et analyses chimiques

Dans chaque site enquêté, 12 œufs du jour ont été prélevés en différentes localisations du bâtiment. Ces 12 œufs ont été cassés et poolés (blancs + jaunes), conduisant à un échantillon à analyser par élevage. Les teneurs en PCDD/F et PCB dl ont été déterminées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse haute résolution. Les dosages ont été réalisés par le laboratoire national de référence pour l'analyse de ces composés (LABERCA-ENVN).

### 1.4. Analyses statistiques

Les données d'enquêtes ont été saisies sous une base ACCESS®. Après vérification de la base de données, un descriptif des teneurs en POP et des variables du questionnaire a été effectué (proc means et proc freq sous SAS®). Ces descriptifs ont été réalisés pour l'ensemble des élevages, puis pour chaque système d'élevages.

Ce descriptif a permis d'établir une sélection des variables candidates à la partie analytique. Seules les variables présentant les caractéristiques suivantes ont été sélectionnées : fiabilité des données, nombre suffisant d'individus par modalité et nombre de données manquantes inférieures à 20%. Le descriptif des polluants par type d'élevage a permis de détecter des lots ayant des valeurs de contamination extrêmes. Ces lots ont été retirés des analyses ultérieures.

L'étape suivante a été la recherche de marqueurs de risque du niveau de contamination pour chaque polluant étudié. Les données de contamination des œufs ont été converties en log10, pour permettre la normalisation de la distribution (Harnly et al., 2000). L'analyse univariée a été réalisée entre le log10 des valeurs de contaminations et les variables explicatives présélectionnées (proc GLM, SAS 9.0). L'analyse a été réalisée sur l'ensemble des lots retenus en forçant la variable type d'élevage, puis en différenciant les lots cage et les lots avec accès parcours. Les variables retenues pour l'étape multivariée devaient présenter un  $p < 0,20$  et pour les variables quantitatives, la différence de contamination moyenne par modalité devait être supérieure à l'incertitude de mesure de l'analyse chimique. Avant de réaliser l'analyse multivariée, un dernier tri a été réalisé par l'étude des corrélations entre les variables et a permis de retirer des variables fournissant des informations redondantes. Une procédure de sélection descendante a été effectuée afin d'établir les modèles finaux. Toute variable non significative ( $p \geq 0,05$ ) était retirée du modèle.

## 2. RESULTATS ET DISCUSSION

### 2.1. Teneurs en POP des œufs

Les résultats de contamination indiquent que les œufs issus de notre panel ont des teneurs en PCDD/F et SOM dl en deçà des normes réglementaires (Tableau 1). L'intervalle des données de contamination par type d'élevage est en accord avec la bibliographie (Gallani et al., 2004 ; Tlustos et al., 2004). Il est à noter que la variabilité des teneurs en polluant (Tableau 1) est plus grande lorsque les poules ont accès à un parcours ( $0,23 \pm 0,21$  ;  $0,21 \pm 0,17$  ;  $0,44 \pm 0,35$  respectivement pour les PCDD/F, PCB dl et SOM dl).

Les niveaux de contamination bas ainsi que la faible amplitude des valeurs limitent la mise en évidence de marqueurs de risque. Les valeurs obtenues se situent dans le « bruit de fond » (1 pg OMS-TEQ /g de MG) mais au-delà de la limite de détection de la méthode d'analyse. Une grande prudence s'impose donc quant à l'interprétation des données.

## 2.2. Hypothèses de marqueurs de risque associés à la contamination

L'analyse multivariée n'a pas permis d'établir de modèles ( $p < 0,05$ ) permettant d'expliquer la contamination des œufs par les POP ici étudiés. Par conséquent, seuls les résultats de l'analyse univariée sont présentés.

### 2.2.1. Dans tous les systèmes d'élevage

L'analyse statistique effectuée sur tous les élevages, mis à part les extrêmes, montre que, quel que soit le contaminant, le système d'élevage est le principal facteur associé significativement aux contaminations (Tableau 2). La distinction de deux systèmes (élevage avec parcours vs cage) indique que, même si les teneurs sont très en deçà des normes, les valeurs moyennes en PCDD/F et PCB dl sont significativement plus élevées lorsque les poules ont accès à un parcours (respectivement  $p = 0,02$  et  $p < 0,0001$ ). Aucune différence significative de contamination n'est par contre à noter entre les œufs issus des élevages plein air et biologique et ce quelle que soit la famille de contaminant étudiée. Bien que les valeurs de contamination et les différences entre modalités soient faibles, nos résultats semblent montrer l'impact du système d'élevage sur le risque de transfert de POP vers les œufs et notamment l'impact du parcours.

En effet, cette surface extérieure permet aux poules de consommer librement des matrices environnementales susceptibles de contenir des POP. Le stockage et/ou l'utilisation de produits de traitement (antiparasitaire par exemple) et la proximité d'axes routiers semblent être associés à des niveaux supérieurs de PCDD/F dans les œufs (Tableau 3). Les teneurs PCB-dl paraissent influencées par la présence d'agglomérations, d'axes routiers et de bois traité à proximité du bâtiment.

### 2.2.2. Dans les élevages de poules en cage

Lorsque le système cage est considéré (Tableau 4), il semble que seul le stockage et/ou l'utilisation de produits de traitement (antiparasitaire par exemple) ait un impact sur le risque de contamination des œufs par les PCDD/F. D'autre part, l'approvisionnement en eau de puits/forage pour l'abreuvement des poules serait associé à des niveaux supérieurs en PCB-dl. Des critères environnementaux semblent influencer sur les teneurs en PCB-dl des œufs produits en cage : le passage de véhicules aux abords du bâtiment ( $p = 0,03$ ), la proximité d'industrie ( $p = 0,11$ ), d'agglomération ( $p = 0,15$ ), la présence de bois dans la coque du bâtiment ( $p = 0,13$ ). Les principaux vecteurs de POP en élevage de poules en cage sembleraient être les intrants (eau, traitements) ainsi que les matériaux au contact des animaux, dont il est nécessaire de valider l'innocuité. Pour les PCB-dl, l'environnement du bâtiment paraîtrait également avoir un impact.

### 2.2.3. Dans les élevages de poules ayant accès à un parcours

Des facteurs susceptibles d'émettre ou de transférer des PCDD/F et/ou PCB dl sur le parcours sont apparus comme augmentant significativement les teneurs de ces molécules dans les œufs (Tableau 5).

Les marqueurs environnementaux mis en évidence dans notre étude semblent être la présence d'agglomération et d'axes routiers à proximité de l'élevage et le stockage de bois traité à moins de 500m du bâtiment. L'environnement direct de l'animal pourrait également constituer un risque. La présence de plastique dans la structure des mangeoires aurait apparemment un impact sur la contamination des œufs en PCDD/F ( $p = 0,03$ ).

Notre enquête ne nous permet pas de certifier que le niveau moyen de contamination de l'environnement des élevages était comparable. Toutefois, dans l'hypothèse d'un niveau identique entre élevages, il semblerait que limiter la durée de sortie des animaux sur le parcours pourrait réduire le transfert de PCB-dl vers l'œuf. En effet, cette pratique, qui influence la sortie ou le temps de contact animal – parcours, permet de moduler très faiblement le niveau de contamination des œufs. Nos résultats sont en accord avec les travaux de Schuler et al. (1997); Thébault et al. (2005); Schoeters & Hoogenboom (2006) et Van Overmeire et al. (2006). Ces auteurs confirment le rôle du sol comme vecteur de POP vers les œufs et indiquent que la contamination des œufs peut être modulée en limitant le temps de contact poule-parcours. Dans notre étude, les performances de ponte apparaissent également pouvoir expliquer les différences de contamination entre élevages. En effet, lorsqu'une poule pond 1 œuf/jour, la quantité de POP excrétée dans l'œuf sera moindre que lorsque la poule pond de manière irrégulière. Dans ce dernier cas, l'œuf excrété sera plus concentré.

## CONCLUSIONS

Les concentrations en PCDD/F et PCB dl des œufs de notre panel d'élevages de poules pondeuses professionnels sont inférieures aux valeurs-limites réglementaires ; contrairement aux teneurs rapportées lors d'enquêtes en élevages familiaux (Apperry et al., 2006 et Travel et al., 2008). Cette étude a permis de fournir des pistes quant aux marqueurs de risque potentiels de la contamination des œufs par les PCDD/F et PCB dl, qui seraient l'accès au parcours et le stockage/utilisation de produits de traitements. Pour l'élevage en cage quelques pratiques sont à surveiller : innocuité de l'eau et des produits utilisés à proximité des animaux. Bien que « hors sol », l'impact environnemental semble non négligeable dans ce système. Le parcours représenterait le principal vecteur de POP, car les animaux peuvent ingérer des matrices environnementales potentiellement contaminées (sol, pédofaune, végétaux). Tous les facteurs influençant la contamination du sol seraient à risque : proximité d'industries, de villes et d'axes routiers. Par conséquent, les paramètres influençant la sortie des animaux, le temps de contact poule/parcours ou l'ingestion de matrices environnementales par les poules sembleraient être des leviers de maîtrise en cas de problème.

Travaux réalisés dans le cadre de l'UMT BIRD. Ce projet a reçu le soutien financier du CNPO, de l'Office de l'élevage et du CAS DAR

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- AFSSA, 2005. in Evaluation de l'exposition de la population française, 57 pp.
- Appery N, Roussel C, Tillier C, Condé J, Giraudeau P et Henry Y, 2006. Rapport de la DDASS, 8 pp.
- De Vries M, Kwakkel RP & Kijlstra A 2006. NJAS Wageningen Journal of Life Sciences 54, 207-222.
- Gallani B & Boix A, 2004. In Joint DG-SANCO / DG-JRC-IRMM.
- Harnly ME, Petreas MX, Flattery J & Goldman LR 2000. Environmental Science & Technology 34, 1143-1149.
- Jondreville C, Rychen G & Feidt C 2007. 7èmes JRA, Tours, 133-140.
- Laurent C, Feidt C & Laurent F 2005. In Contamination des sols : transferts des sols vers les animaux. EDP Sciences & ADEME Editions, 216pp.
- Rychen G, Ducoulombier-Crépineau C, Grova N, Jurjanz S & Feidt C 2005. INRA Prod. Anim. 18 (5), 355-366.
- Schoeters G & Hoogenboom R 2006. Mol. Nutr. Food Res, 50, 908-914.
- Schüler F, Schmid P & Schlatter Ch, 1997. Chemosphere 34 (4), 711-718.
- Siddiqi MA, Laessig RH & Reed KD 2003. Clinical Medicine & Research 1 (4), 281-290.
- Thébault A, 2005. Note technique AQR/ATH/2005-203, AFSSA, 27 septembre 2005, 17 pp.
- Tlustos C, Pratt I, Moylan R, Neilan R, White S, Fernandes A & Rose M 2004. Organ. comp. 66, 1925-1931.
- Travel A, Jondreville C, Guinvarch J, Chabault M, Lubac S, Feidt C, Marchand P, Bonnard R, Le Bouquin – Leneveu S, Allain V, Thebault A, Gonnier V & Nys Y 2008. Tema 6, 11-19.
- Van Overmeire I, Pussemier L, Hanot V, De Temmerman L, Hoenig M & Goeyens L 2006. Food Addit Contam. 23 (11), 1109-1122.

**Tableau 1.** Teneurs moyennes en PCDD/F, PCB-dl et SOM-dl (pg OMS-TEQ / g de MG) des œufs en fonction du système d'élevage (n=87).

	PCDD/F	PCB-dl	SOM-dl
<b>Cage</b>	0.13 ± 0.06	0.08 ± 0.04	0.21 ± 0.07
<b>Plein air</b>	0.24 ± 0.25	0.22 ± 0.24	0.46 ± 0.44
<b>Biologique</b>	0.22 ± 0.17	0.19 ± 0.09	0.41 ± 0.25
<b>Total</b>	0.19 ± 0.18	0.16 ± 0.16	0.35 ± 0.31

**Tableau 2.** Teneurs moyennes en PCDD/F, PCB-dl et SOM-dl (pg OMS-TEQ / g de MG) des œufs en fonction du système d'élevage sans les individus extrêmes.

	PCDD/F	PCB dl	SOM dl
<b>Cage</b>	0.12 ± 0.05	0.08 ± 0.04	0.21 ± 0.07
<b>Plein air</b>	0.19 ± 0.13	0.16 ± 0.09	0.36 ± 0.23
<b>Biologique</b>	0.17 ± 0.07	0.19 ± 0.09	0.35 ± 0.13
<b>Total</b>	0.16 ± 0.09	0.14 ± 0.09	0.30 ± 0.16

**Tableau 3.** Résultats de l'analyse univariée pour « tous les élevages » par type de POP avec la variable type d'élevage forcée pourquoi avoir enlever les erreurs moyennes d'IM des analyses ?

Variables	Modalités	N	Valeurs	proba
<b>PCDD/F</b>				
Présence d'autoroute ou RN12	oui non	32 50	0.1862 0.1464	0.087
Stockage des produits d'élevage	oui non	65 17	0.1736 0.1170	0.057
Traitements contre les parasites	oui non	52 20	0.1761 0.1385	0.121
<b>PCB-dl</b>				
Présence d'une agglomération moyenne	oui non	53 32	0.1561 0.1171	0.124
Stockage de bois traité	oui non	8 77	0.1850 0.1369	0.146
Présence de route nationale	oui non	52 33	0.1588 0.1140	0.054
<b>SOM-dl</b>				
Problème de parasites (le terme « problème » est à préciser)	oui non	63 20	0.3157 0.2647	0.174
Stockage des produits d'élevage	oui non	66 17	0.3219 0.2317	0.100

**Tableau 4.** Résultats de l'analyse univariée pour les « élevages en cage » par type de POP

Variables	Modalités	N	Valeurs	proba
PCDD/F				
Stockage des produits d'élevage	oui	22	0.1340	0.143
	non	10	0.1080	
Traitements contre les parasites	oui	15	0.1420	0.019
	non	12	0.0989	
PCB-dl				
Présence d'une petite agglomération	0-10 km	24	0.1055	0.148
	10-20 km	5	0.0744	
Circulation aux abords du bâtiment	oui	9	0.1055	0.034
	non	24	0.0744	
Origine de l'eau	public	14	0.0652	0.072
	forage - puits	18	0.0979	
Région industrielle	oui	16	0.0985	0.110
	non	16	0.0686	
Coque du bâtiment	Métal	16	0.0633	0.132
	Bois	3	0.1033	
	Bois + métal	14	0.1008	
SOM-dl				
Origine de l'eau	public	14	0.1809	0.013
	forage - puits	18	0.2473	
Traitements contre les parasites	oui	16	0.0895	0.021
	non	12	0.0728	

**Tableau 5.** Résultats de l'analyse univariée pour les « élevages avec accès à un parcours » par type de POP

Variables	Modalités	N	Valeurs	proba
<b>PCDD/F</b>				
Présence d'autoroute ou RN12	oui	22	0.2122	0.074
	non	28	0.1635	
Matériel de mangeoires	Inox acier	43	0.1716	0.035
	Inox et plastique	6	0.2716	
Stockage des produits d'élevage	oui	43	0.1939	0.178
	non	7	0.1300	
Performance de ponte	Nombre d'œufs / poules	45	-	0.196
<b>PCB-dl</b>				
Présence d'une agglomération moyenne	oui	32	0.2050	0.032
	non	20	0.1365	
Stockage de bois traité	oui	5	0.2420	0.135
	non	47	0.1719	
Mise en place de litière	oui	14	0.2300	0.009
	non	38	0.1597	
Présence de route nationale	oui	33	0.1969	0.107
	non	19	0.1468	
Performance de ponte	Nombre d'œufs / poules	46	-	0.181
Durée de sortie hebdomadaire	Heure	52	+	0.082
Durée de sortie depuis la 1 <sup>ère</sup> visite	Semaine	52	+	0.100
<b>SOM-dl</b>				
Matériel de mangeoires	Inox acier	43	0.3413	0.125
	Inox et plastique	6	0.4516	