

Mémoire de stage de 5^{ème} année de Pharmacie Filière Industrie et Recherche - Spécialisation Toxicologie -

Année universitaire 2020-2021

UTILISATION DES BRACELETS EN SILICONE POUR ÉVALUER L'EXPOSITION PERSONNELLE AUX PERTURBATEURS ENDOCRINIENS : ÉTUDE COMPARATIVE AVEC L'ANALYSE CAPILLAIRE

par Céline BITTAR

Sous la direction de Mr. André CIOLELLA,
Président du Réseau Environnement Santé

Projet réalisé en partenariat avec


kudzu
SCIENCE
Région
Île de France

Table des matières

Remerciements	3
Abréviations	4
Introduction.....	5
I) Les Perturbateurs Endocriniens	6
1. Concept et définition.....	6
2. Mécanisme d'action des perturbateurs endocriniens.....	6
3. Caractéristiques spécifiques aux perturbateurs endocriniens.....	7
4. Voies d'exposition aux perturbateurs endocriniens.....	8
5. Expologie	8
a) Les cheveux	8
b) Le bracelet en silicone	9
6. Objectif et question de toxicologie.....	10
II) Matériel et Méthodes	11
1. Population étudiée et design d'étude.....	11
2. Méthodes analytiques	11
a) Échantillon de cheveux	11
b) Bracelet en silicone	12
c) Analyses chromatographiques	13
3. Substances recherchées.....	13
4. Tests statistiques.....	14
a) Statistiques descriptives	14
b) Occurrence	14
c) Concentration	15
d) Comparaison des deux méthodes (cheveux et bracelet)	15
e) Autres tests	15
III) Résultats.....	15
1. Contamination des supports pendant le stockage et le transport	15
2. Occurrences et concentrations.....	16
3. Tests statistiques.....	18
a) Comparaison de l'abondance	18
b) Comparaison de l'occurrence	19
IV) Discussion	20
1. Comparaison d'occurrences	20
2. Tests statistiques.....	22
3. Avantages, limites et perspectives	23
Conclusion	24
Annexes	26
Références.....	29

Remerciements

Merci à Monsieur **André Cicoella**, président du Réseau Environnement Santé, de m'avoir donné l'opportunité de réaliser ce stage et de m'avoir confié des responsabilités.

Merci à **David Feltz**, chargé de mission au RES, de m'avoir donné de son temps, partagé une partie de ses connaissances sur les perturbateurs endocriniens et pour sa confiance accordée.

Merci à **Nicolas Namur**, chargé de plaidoyer au RES, d'avoir été un support dans ce projet et dans les interventions aux lycées, pour ses encouragements et sa motivation contagieuse.

Merci à **Elmire Chauvière**, étudiante en M2 THERV et stagiaire au RES, de m'avoir épaulée, mais surtout apporté son aide précieuse, son soutien et ses conseils avisés du début jusqu'à la fin de mon stage.

Merci à **Lola Chupin**, étudiante à Science Po et stagiaire à la Région Ile-de-France, de m'avoir coachée et soutenue durant les interventions que nous avons menées aux lycées.

Merci à **Irvin Bida**, coordinateur des politiques publiques à la Région Ile-de-France, d'avoir permis la réalisation de ce projet.

Merci à **Vincent Peynet**, directeur du laboratoire Kudzu Science, de son aide, sa disponibilité, ses précieux conseils et de m'avoir transmis un peu de son expertise.

Merci à **Matthieu Mulot**, enseignant et chercheur en biologie et écologie numérique à l'Université de Neuchâtel (Suisse), de m'avoir consacré de son temps, son écoute et sa disponibilité.

Abréviations

AASQA : Associations agréées pour la surveillance de la qualité de l'air
ACD : Agents chimiques dangereux
BBP : n-butyl benzyl phtalate
BPA : Bisphénol A
BPS : Bisphénol S
BPF : Bisphénol F
CECOS : Centre d'étude et de conservation des œufs et du sperme humains
CMR : Cancérogènes, mutagènes, reprotoxiques
COSV : Composé organique semi-volatil
DDT : Dichlorodiphényltrichloroéthane
DEHP : Diethylhexyl phtalate
DEP : Diethyl phtalate
DiBP : Diisobutyl phtalate
DiDP : Diisodecyl phtalate
DiNP : Diisononyl phtalate
DMP : Diméthyl phtalate
DnBP (DBP) : Dibutyle phtalate
DnOP : Di-n-octyl phtalate
GC-MSMS : Gas chromatography – mass spectrometry
HCSP : Haut conseil de la santé publique
IBE : Indicateur biologique de l'exposition
IRES : Institut de recherches économiques et sociales
LC-MSMS : Liquid chromatography – mass spectrometry
LD : Limite de détection
LQ : Limite de quantification
MBeP : Monobenzylphtalate
ND : Non détecté
NOAEL : Non observed adverse effect level
OR : Odds ratio
OMS : Organisation mondiale de la santé
PE : Perturbateurs endocriniens
PFOA : Acide perfluorooctanoïque
PFOS : Acide perfluorooctanesulfonique
RES : Réseau environnement santé
SNPE : Stratégie nationale sur les perturbateurs endocriniens
TDAH : Trouble de déficit de l'attention et hyperactivité

Introduction

Les récentes études épidémiologiques ont démontré au cours de ces dernières décennies l'augmentation inquiétante de troubles de la fertilité, résultant à une élévation du nombre de recours à l'assistance médicale à la procréation. En effet, l'OMS met en exergue une diminution significative de la qualité et du nombre de spermatozoïdes et une infertilité notamment due à une augmentation des malformations génitales chez les nouveaux nés (cryptorchidisme et hypospadias)¹.

Les épidémiologistes constatent également une épidémie des maladies chroniques au XXI^{ème} siècle, notamment le diabète et l'obésité, avec une explosion des cancers « hormonodépendants » (cancer du sein, de la prostate).

Les perturbateurs endocriniens, substances capables d'altérer les fonctions du système hormonal, sont suspectés d'être en partie la cause de ces phénomènes. Ils se trouvent partout dans l'environnement quotidien et nous y serions tous constamment exposés. L'un des défis des toxicologues du XXI^{ème} siècle est l'identification de ces PE afin d'aboutir à terme à une réglementation permettant de les encadrer.

En 2014, la France met en place la première Stratégie Nationale sur les Perturbateurs Endocriniens (SNPE) pour tenter d'améliorer les connaissances et implications de l'exposition à ces substances. En 2018, la France adopte la deuxième Stratégie Nationale sur les Perturbateurs Endocriniens (SNPE 2), structurant les actions nationales relatives aux perturbateurs endocriniens et assurant leur pleine cohérence avec le cadre européen².

Le Réseau Environnement Santé est une association agréée par le Ministère des Solidarités et de la Santé et a été fondée en 2009 par André Cicoella, chimiste, toxicologue et lanceur d'alerte. Le RES organise une campagne nationale intitulée « Villes et territoires sans perturbateurs endocriniens », où une charte est proposée aux collectivités locales pour développer de bonnes pratiques afin de réduire l'exposition aux perturbateurs endocriniens. Cette charte est un engagement à tenir sur 5 points : alimentation, phytosanitaire, formation des professionnels, marchés publics et information de la population. Actuellement 4 régions, 6 départements et près de 200 villes ont signé cette charte.

Ce stage s'inscrit dans la continuité de cette campagne avec l'étude de l'exposome aux perturbateurs endocriniens grâce à deux matrices : l'analyse capillaire et le port d'un bracelet en silicone. En plus de mesurer l'exposition humaine aux perturbateurs endocriniens, l'objectif du projet est de comparer ces deux outils d'évaluation : l'analyse capillaire qui sera considérée comme la méthode de référence pour l'évaluation de l'exposition et le bracelet en silicone afin de voir si ce dernier peut devenir un outil d'évaluation fiable en tant qu'échantillonneur passif, mais aussi de caractériser ses avantages et ses limites.

Ce projet, en collaboration avec le laboratoire Kudzu Science et la région Ile de France, s'inscrit dans la continuité d'un précédent travail présenté par Elmière Chauvière dans le cadre de son master 2 Toxicologie Humaine, Évaluation des Risques et Vigilance, concernant l'évaluation de l'exposition de 186 lycéens aux PE via le port des bracelets en silicone et l'analyse de ses déterminants.

I) Les Perturbateurs Endocriniens

1. Concept et définition

Le concept de perturbateurs endocriniens trouve ses origines aux États-Unis. En 1962, la biologiste américaine Rachel Carlson publie le livre *Silent Spring*. Elle accuse le dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT), pesticide organochloré, d'être à l'origine d'une diminution de l'épaisseur des coquilles d'œuf chez les oiseaux, occasionnant une hausse de la mortalité ainsi que des problèmes de reproduction. Cela a encouragé des évaluations écotoxicologiques qui ont permis l'interdiction du DDT dans certains pays à partir des années 70.

Parmi les premiers effets sur la santé humaine observés, le scandale du Distilbène a illustré le danger d'un perturbateur endocrinien sur les patientes mais également sur leur progéniture. Le Distilbène®, ou diéthylstilbestrol, était un médicament prescrit dès les années 1950 pour prévenir les fausses couches ou les accouchements prématurés. Dans les décennies qui ont suivi les premières prescriptions, les filles ayant été exposées *in utero* ont eu 3 fois plus de risques de développer un cancer du sein après l'âge de 50 ans, 2 fois plus de risques de développement de dysplasie du col de l'utérus ou du vagin, d'anomalies de la taille et de la forme de l'utérus ou d'hypofertilité. Les garçons étaient également touchés, développant des malformations congénitales telles que l'hypospadias (ouverture de l'urètre sur la face ventrale du pénis), la cryptorchidie (absence d'un ou des deux testicules dans le scrotum) mais aussi une augmentation des cancers des testicules et de l'hypofertilité. Les effets ont également touché la troisième génération après l'exposition, les garçons naissant encore avec de l'hypospadias par exemple (1).

En 1991, 21 scientifiques inquiets de ces substances chimiques libérées dans l'environnement et capables de dérégler le fonctionnement du système endocrinien se sont réunis à Wingspread (États-Unis). C'est au cours de ce colloque qu'est apparue l'idée selon laquelle l'ensemble des phénomènes liés à différentes substances chimiques relevaient d'un même mécanisme, l'action mimétique des hormones naturelles par des produits chimiques présents dans l'environnement et conduisant ainsi à des perturbations du fonctionnement hormonal. À l'issue de la conférence, le terme « Perturbateur Endocrinien » fait sa première apparition (2).

En 2002, l'OMS définit un perturbateur endocrinien comme « *une substance (ou un mélange de substances) exogène qui altère la (les) fonction(s) du système endocrinien et induit en conséquence des effets nocifs sur la santé d'un organisme intact, de ses descendants, ou au sein de populations* » (3).

2. Mécanisme d'action des perturbateurs endocriniens

Le système endocrinien est constitué de glandes endocrines (ex : hypothalamus, hypophyse...). Celles-ci vont libérer directement dans la circulation sanguine des messagers chimiques de l'organisme, les hormones, qui vont modifier la fonction des tissus cibles, qui peuvent être une autre glande endocrine ou un organe. C'est par ce biais que le système endocrinien coordonne le fonctionnement des différents organes. Les hormones sont présentes en très faibles concentrations dans l'organisme (de l'ordre de quelques nmol/L de sang) et leurs effets sont médiés par des récepteurs spécifiques et très

sensibles. Le système hormonal a une fonction cruciale chez l'être humain, chez qui il régule la croissance, le métabolisme, les humeurs, la reproduction, le système immunitaire, le sommeil et l'ensemble des constantes physiologiques (température, glycémie, pression artérielle).

Les PE présentent les mêmes caractéristiques que les hormones et vont interférer avec leurs fonctions, entraînant des effets néfastes sur la santé. Plusieurs mécanismes d'action ont été décrits :

- Agoniste : imitation des hormones naturelles (ex : œstrogènes, androgènes, hormones thyroïdiennes) pouvant entraîner une surstimulation.
- Antagoniste : liaison aux récepteurs de l'hormone endogène, empêchant ainsi la liaison de l'hormone endogène à son récepteur. Le signal ne sera donc pas produit (4).
- Perturbation de la synthèse, du transport, de l'excrétion ou de la régulation des hormones naturelles ou de leur récepteur, par exemple en altérant leur métabolisme dans le foie (5).

Les mécanismes ne sont pas totalement élucidés aujourd'hui et ils peuvent également concerner des altérations du génome.

3. Caractéristiques spécifiques aux perturbateurs endocriniens

Si Paracelse affirmait au XVIème siècle que c'est « la dose [qui] fait le poison », les PE changent complètement ce paradigme et il faut désormais considérer pour ces substances que c'est « la période [qui] fait le poison ». En effet, les PE présentent certaines caractéristiques qui leur sont spécifiques.

- **Action à très faibles doses**

En toxicologie, on parle de dose seuil (NOAEL) à partir de laquelle les effets délétères seront visibles et l'organisme incapable de se défendre contre ces agressions. Pour les PE, cette théorie ne s'applique pas car ils présenteraient une efficacité et une affinité importante envers différents isoformes de récepteurs hormonaux. En effet, l'activité maximale pourrait être atteinte en peu de temps et sans l'occupation de l'ensemble des récepteurs. Ainsi, une très faible dose pourrait suffire à déclencher une réponse hormonale (6).

- **Relations doses-réponses non monotones**

Certains PE peuvent présenter des doses-réponses non-monotones, les courbes dose-effets dessinant un U (*Figure 1*). Les PE peuvent ainsi avoir des effets plus importants à faibles doses qu'à doses moyennes (7).

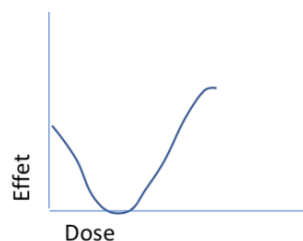


Figure 1 Courbe dose-réponse en U

- **Fenêtre d'exposition et latence des effets**

Ce ne serait pas la sévérité de la dose d'exposition au PE qui entraînerait des effets néfastes mais une exposition à une certaine période de la vie. En effet, certaines « fenêtres d'exposition » vont entraîner les effets les plus critiques, notamment lors du développement *in utero*, lors des périodes post-natale, pré-conceptionnelle et pubertaire, car la sensibilité de l'exposition est accrue durant les périodes de développement. Il a été de plus montré que les effets dus à une exposition aux PE avant la naissance ou en début de vie peuvent se manifester plus tard dans la vie.

- **Effet transgénérationnel**

Les PE pouvant agir sur l'épigénome par la modification de mécanismes épigénétiques hormono-dépendants, sont capables d'induire des effets persistants sur plusieurs générations, comme le cas du Distilbène énoncé précédemment, c'est ce qu'on appelle l'effet transgénérationnel (5).

- **Effet cocktail**

L'exposition environnementale impliquant plusieurs substances chimiques, les PE peuvent exercer une action les uns avec les autres et induire un effet « cocktail ». C'est-à-dire que l'effet, désormais combiné, sera modifié. L'interaction peut être synergique, c'est-à-dire qu'elle induira une potentialisation de l'effet comparé aux effets de chaque substance isolément ; elle peut être additive, l'effet néfaste correspondra à la somme des deux effets ; et enfin l'interaction peut être antagoniste, diminuant l'effet commun en comparaison aux effets isolés³.

4. Voies d'exposition aux perturbateurs endocriniens

Les PE sont principalement issus de produits manufacturés, c'est-à-dire produits par l'homme. Ils sont contenus dans de nombreux produits provenant de l'industrie chimique et de biens de consommation courants (ex : cosmétiques, détergents, matières plastiques, médicaments, pesticides, textiles³). Ils sont ainsi présents dans notre environnement quotidien, qu'il soit intérieur ou extérieur. L'exposome se définit par l'exposition de l'organisme humain à des facteurs environnementaux tout au long de sa vie.

Les expositions aux PE peuvent se faire par différentes voies : l'inhalation (fumées, vapeurs, poussières fines (PM10 fraction inhalable, PM2.5 fraction alvéolaire)), l'ingestion (alimentation, ingestion de poussières déposées au sol pour les jeunes enfants par le contact main-bouche), l'absorption cutanée (cosmétiques) et la voie maternelle (placenta et lait maternel)⁴.

5. Expologie

a) Les cheveux

Afin de pouvoir mesurer l'exposition aux substances chimiques et leurs effets sur les organismes, des outils de biométrie sont utilisés. Ils ont pour but d'identifier et mesurer ces substances dans les liquides biologiques (sang, urine), les cheveux ou l'air expiré, afin d'évaluer la quantité de substances ayant réellement pénétré l'organisme et donc le risque pour la santé⁵. L'analyse capillaire est

aujourd'hui considérée comme un outil bioméтроlogique, permettant la surveillance biologique de l'exposition à des substances chimiques. L'avantage de cet outil est qu'il permet de mesurer la dose interne dans un organisme. Il intègre ainsi toutes les voies d'absorption, ce qui est intéressant pour une estimation globale de l'imprégnation. De plus, il prend en compte les caractéristiques personnelles liées à l'individu, notamment sa pharmacocinétique de la substance (absorption, métabolisme, élimination), ses habitudes personnelles (tabagisme, régime), son hygiène, ses potentielles pathologies sous-jacentes etc. Cela permet d'identifier des variations inter-individus et les individus présentant une exposition à risque, mais aussi de tenir compte des conditions réelles d'exposition. Cependant, cet outil peut s'avérer inadapté si la demi-vie de l'Indication Biologique de l'Exposition (IBE) est trop courte et ne permet pas de discerner les sources d'exposition à ces substances (8).

La matrice capillaire constitue une véritable sauvegarde des molécules avec lesquelles un organisme a été exposé. Lors de la croissance du cheveu, il va accumuler au sein de sa structure protéique énormément de données correspondant à l'alimentation, au milieu de vie, aux activités (professionnelles)⁶. Les vaisseaux sanguins situés au niveau du cuir chevelu apportent les nutriments nécessaires à la synthèse des cheveux, ainsi que les résidus des polluants présents dans la circulation sanguine et qui s'incorporent en continu dans la structure des cheveux au moment de leur synthèse. En conséquence, les polluants absorbés par inhalation, par ingestion ou par contact cutané (9) se retrouvent dans le sang, qui va irriguer les cheveux à la racine, et seront incorporés dans la structure des cheveux.

Les cheveux poussent avec une vitesse moyenne d'un centimètre par mois (10). Ainsi, analyser un segment d'1 cm revient à évaluer une exposition à des substances chimiques sur une période de 1 mois environ. Étant donné que 0,5 cm des cheveux ne sont pas accessibles lors du prélèvement, il y a un décalage de 15 jours ($\frac{1}{2}$ cm = 15 jours) entre le moment du prélèvement capillaire et le début de la période d'évaluation. De plus, l'analyse capillaire pouvant également prendre en compte le dépôt externe des substances sur les cheveux, elle peut révéler une exposition plus récente à ces substances. Avec une fenêtre de détection inégalée pouvant s'étendre de quelques jours à plusieurs mois, la recherche de toxiques dans les cheveux présente un avantage unique.

Cette matrice est utilisée depuis plus de 25 ans dans le domaine médico-légal pour évaluer la consommation d'alcool et de stupéfiants et plus récemment pour étudier l'exposition à des contaminants de l'environnement tels que les polluants organiques persistants (POP), les pesticides, les retardateurs de flamme, les métaux lourds et les hormones.

Le prélèvement du cheveu étant simple et non invasif, sa conservation aisée (dans une feuille d'aluminium et une enveloppe à température ambiante) et sa très bonne stabilité dans le temps (matrice biologique non biodégradable) en font un très bon outil bioméтроlogique pour la recherche d'exposition aux toxiques⁶. C'est d'ailleurs la matrice de référence en termes d'analyse chronique de l'exposition aux polluants. Cependant, elle présente certaines contraintes, notamment un processus d'analyse long et coûteux. De plus, le prélèvement nécessite la coupe d'une certaine quantité de mèches capillaires, pouvant dissuader certains individus. Il est aussi complexe de réaliser ces prélèvements sur certaines populations, telles que les nourrissons qui ne présentent pas de masse capillaire suffisante.

b) Le bracelet en silicone

Le bracelet en silicone est un outil décrit par O'Connell et al. (11) en tant qu'échantillonneur passif. Les dispositifs d'échantillonnage passif consistent à absorber, dans la matrice silicone pour le bracelet, les molécules organiques par diffusion passive à partir de l'eau ou de l'air. Ces substances s'accumulent continuellement dans cet outil, la sensibilité de la détection serait accrue. L'échantillonnage passif permettrait ainsi d'obtenir une représentation des concentrations moyennes dans le temps plutôt

qu'une contamination épisodique (11). Ainsi, l'échantillonnage passif permet d'évaluer les expositions sous un nouvel angle et d'améliorer les connaissances sur les sources de contaminations potentielles. Le développement de tels outils semble déterminant dans la problématique émergente de santé environnementale.

Le bracelet en silicone est une matrice innovante qui, par le port de celle-ci durant 7 jours consécutifs, permettrait de refléter l'exposition à différentes substances présentes dans l'environnement sur une semaine. En tant qu'échantillonneur passif, le bracelet en silicone fonctionne par absorption d'un contaminant environnemental dans le polymère de silicone au fil du temps (12). En effet, le silicone est un polymère inorganique qui va permettre de lier des composés organiques semi-volatiles (COSV) de l'environnement et les séquestrer dans la matrice. L'espace entre les structures en chaîne du polymère formant environ 1nm de diamètre, est ainsi similaire aux pores créés par les polymères biologiques de membranes cellulaires humaines (13).

Le bracelet en silicone suscite un intérêt croissant lié à sa simplicité de mise en œuvre, faisant l'objet de recherches récentes. Une première publication en 2014 par O'Connel et al. (11) a émis la première fois la possibilité d'utiliser les bracelets en silicone en tant qu'échantillonneur passif. La majeure partie des études utilisant les bracelets en tant que méthode d'évaluation de l'exposition à certains produits chimiques (14)(15) sont réalisées depuis 2019, ce qui en fait une approche très innovante.

De plus, Wang et al. ont constaté que le bracelet en silicone permettait de prendre en compte une exposition par la voie d'inhalation et par absorption cutanée. Cette constatation a été faite après avoir mis en place une étude comparant les concentrations de substances retrouvées au niveau de l'air inspiré (mesurées par une broche en silicone placée au niveau du col et un dispositif d'échantillonnage actif), au niveau de la peau (prélevées par des lingettes) et au niveau du bracelet en silicone (14). Certaines études permettant la comparaison du bracelet en silicone avec des matrices biologiques ont été également réalisées. Levasseur et al. ont notamment mesuré l'exposition aux phénols par le port du bracelet en silicone et a comparé les concentrations avec celles mesurées dans les urines (15). Le projet de ce stage se porte sur l'analyse comparative du port du bracelet en silicone et de l'analyse capillaire pour étudier l'exposition aux PE. Cette étude, suggérée par Wang et al. (14), n'a à notre connaissance encore jamais été réalisée. Les analyses capillaires et les bracelets en silicone devraient relater une exposition chronique aux PE. Le laboratoire analysant 3 cm de cheveux à partir de la racine, les résultats révéleront l'exposition environ des 3 derniers mois. Le port du bracelet se réalisant sur une durée de 7 jours, les résultats représenteront l'exposition durant ces jours de port.

6. Objectif et question de toxicologie

Dans le cadre de ce projet, l'imprégnation à quatre familles de PE (les pesticides, les perfluorés, les phtalates et les phénols) de 32 volontaires est étudiée. Pour cette étude, deux matrices ont été utilisées : les cheveux, matrice de référence utilisée pour mesurer l'exposition chronique, et le bracelet en silicone, outil innovant et très simple d'utilisation.

La réalisation de ce projet a pour objectif de répondre à la question suivante : **La mesure de l'exposition aux PE par les bracelets en silicone est-elle représentative de l'exposition chronique de l'organisme à ces substances ?**

II) Matériel et Méthodes

1. Population étudiée et design d'étude

Cette étude inclut 32 participants volontaires, recrutés selon les critères suivants :

- Âge > 18 ans
- Sexe : idéalement homme (50%) et femme (50%) [40-60%]

Les individus présentant une allergie au silicone et les personnes vulnérables (les personnes majeures protégées par la loi et les femmes enceintes) ont été exclus de l'étude.

La participation à l'étude a été proposée sur le volontariat. Un kit comprenant un bracelet en silicone, un kit « prélèvement capillaire », un formulaire de consentement et un questionnaire (*Annexe 1 et 2*) ont été envoyés par courrier postal à l'adresse de chaque participant. Après le port du bracelet pendant une semaine et le prélèvement capillaire, les participants ont renvoyé eux même leur bracelet et leur prélèvement capillaire à l'aide d'une enveloppe prépayée à destination du laboratoire Kudzu Science à Strasbourg.

Un protocole de recherche a été rédigé afin de constituer le dossier de notification de la mise en place de l'étude. Ce dossier a été soumis à la CNIL et à la déléguée de la protection des données de l'Université de Paris (dpo@u-paris.fr) qui a donné son accord pour la réalisation de cette étude.

L'anonymat des participants est strictement préservé. Chaque participant s'est vu assigner un numéro d'identification dont lui seul est le détenteur. Aucun moyen n'est mis à disposition permettant de relier un numéro d'identification à l'identité d'un participant.

2. Méthodes analytiques

a) Échantillon de cheveux

Concernant l'échantillon capillaire, un prélèvement de mèches de cheveux d'au minimum 3 cm à partir de la racine est nécessaire (*Figure 1*). Les participants n'ayant pas la longueur recommandée sont autorisés à couper plusieurs mèches de cheveux d'une certaine masse, contrôlée par une balance en carton fournie dans le kit « prélèvement capillaire » (*Figure 3*).

RÉALISEZ VOTRE PRÉLÈVEMENT

Lavez-vous soigneusement les mains et munissez-vous de ciseaux propres. Le prélèvement s'effectue plus facilement à l'aide d'une tierce personne, mais il peut également se réaliser seul. Veillez dans tous les cas à effectuer celui-ci dans une pièce fermée sans courants d'air.

Pour des cheveux d'une longueur supérieure à 3 cm :

Si besoin, utilisez la graduation indiquée sur le support carré pour vérifier votre longueur de cheveux.

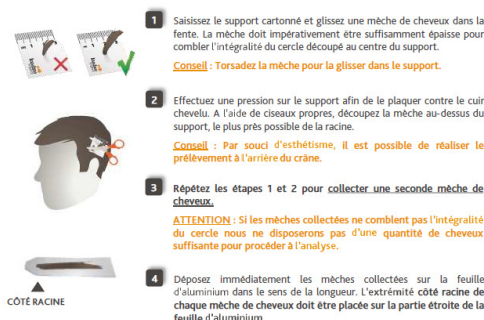


Figure 2 Notice de prélèvement de cheveux > 3 cm

REALISER VOTRE PRELEVEMENT

Lavez-vous soigneusement les mains et munissez-vous de ciseaux propres. Le prélèvement s'effectue plus facilement à l'aide d'une tierce personne, mais il peut également se réaliser seul. Veillez dans tous les cas à effectuer celui-ci dans une pièce fermée sans courants d'air.

Pour des cheveux d'une longueur inférieure à 3 cm :

Pour des cheveux d'une longueur supérieure à 3 cm, reportez-vous au paragraphe suivant.

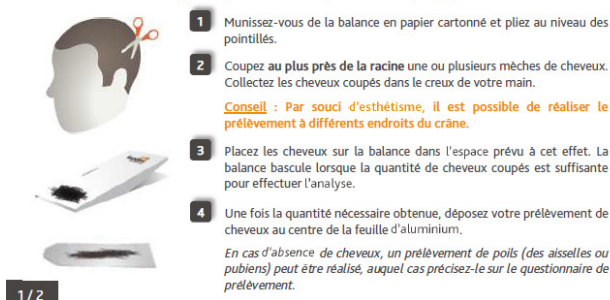


Figure 3 Notice de prélèvement de cheveux < 3 cm

Les échantillons de cheveux sont coupés de manière à conserver 3 cm du segment proximal lorsque la longueur est supérieure à 3 cm. Dans le cas d'un segment inférieur à 3 cm, la totalité du segment est conservée. Le segment proximal est broyé pour obtenir une poudre fine.

Une masse précise de poudre de cheveux est pesée dans un tube à essais en verre. Un volume fixe de solvant organique est ajouté. La suspension est incubée dans un bain à ultrasons pendant une durée prédéterminée. Après centrifugation de la suspension, le surnageant est recueilli pour être analysé par chromatographie liquide couplée à une détection par spectrométrie de masse en tandem (LC-MSMS) et une chromatographie en phase gazeuse couplée à une détection par spectrométrie de masse en tandem (GC-MSMS).

L'échantillon de cheveu ne sera pas lavé avant l'analyse, car le solvant permettant le lavage le plus efficace entraînera aussi une extraction des substances. De plus, l'efficacité du lavage n'atteindrait que 90%, et pourrait donc induire des erreurs d'interprétation. L'analyse capillaire prendra donc en compte, en plus des substances présentes dans le cheveu, des substances ayant été extérieurement déposées sur le cheveu. Celles-ci, régulièrement éliminées par le lavage capillaire, pourraient ainsi refléter une exposition plus récente.

Les résultats sont présentés en pg/mg.

b) Bracelet en silicone

Avant le prélèvement : les bracelets en silicone ont été commandés chez 24hwristband et ont fait l'objet d'une procédure de décontamination, les plastifiants étant omniprésents et pouvant contaminer les bracelets avant le début de l'étude. Les bracelets ont été lavés avec un mélange de solvants organiques contenant du méthanol et de l'acétate d'éthyle. Ce mélange permet un rendement de décontamination élevé ($R > 90\%$) et une absence de détérioration physique des bracelets.

Transport et conservation : chaque bracelet est emballé individuellement dans du papier aluminium afin d'éviter le contact avec la pochette plastique qui le contient. Afin de vérifier l'efficacité des mesures de précaution pour le transport et le stockage des échantillons depuis l'envoi du bracelet jusqu'à l'analyse, il y a eu une analyse de blancs de terrains qui ont été comparés au blanc de lot.

Après le prélèvement : après le port du bracelet pendant une durée de 7 jours consécutifs, celui-ci est envoyé au laboratoire dans une enveloppe, protégé par de l'aluminium afin de limiter la contamination. Le bracelet est ensuite découpé en segments de 0,5 à 1 cm, placés dans un flacon en

verre de 50mL. Un mélange de standard interne puis 10mL d'un mélange de solvants organiques sont ajoutés. Le flacon est ensuite agité pendant une durée précise pour extraire les substances d'intérêt.

Un volume de 1mL de la solution est transféré dans un flacon de chromatographie et analysé par chromatographie liquide couplée à une détection par spectrométrie de masse en tandem (LC-MSMS) ou une chromatographie gazeuse couplée à une détection par spectrométrie de masse en tandem (GC-MSMS).

Les résultats sont présentés en ng/bracelet.

c) Analyses chromatographiques

Pour l'analyse des phtalates (hormis le DiNP et le DiDP) et de la perméthrine, une analyse par GC-MSMS sera réalisée. Les autres substances recherchées seront analysées par LC-MSMS. Pour les analyses en LC-MSMS, un total de 4 méthodes d'analyse est nécessaire, en raison de la nature des phases mobiles à utiliser et du gradient de phase mobile à appliquer.

3. Substances recherchées

Quatre familles de substance : les phtalates, les pesticides (biocides et produits phytopharmaceutiques), les phénols et les perfluorés (*Tableau 1*) ont été recherchées et quantifiées dans les échantillons de cheveux et sur les bracelets. Elles ont été sélectionnées selon plusieurs critères : leur présence dans les différentes matrices biologiques (études ESTEBAN et données IRES), les poussières domestiques (données IRES), leur caractère PE avéré ou suspecté (base de données TEDX), la faisabilité analytique et les coûts d'analyse.

Tableau 1 : Liste des substances recherchées

Substances	CAS	Principales applications	Effets perturbateurs endocriniens décrits (16)(17)
<u>PHTALATES</u>			
BBP	85-68-7	Assouplissant plastique : PVC, mastics, joints, revêtements, peintures (18)	Reproduction 03/09/2021 10:45:00
DnBP	84-74-2	Plastifiant : PVC, acétate de vinyle, cellulose (19)	Reproduction, développement, neurologique
DEHP	117-81-7	Parfum, produits flexibles en PVC : rideaux de douche, films/récipients plastiques pour conserver les aliments, matériels médicaux ⁷	Reproduction, développement, neurologique, métabolique
DEP	84-66-2	Fragrance, déodorants, gels/mousses pour les cheveux, shampoings, fixatifs pour cheveux, vernis à ongle (20)	Reproduction, métabolique, neurologique
DiBP	84-69-5	Fragrances, déodorants, fixatifs pour cheveux, vernis à ongle, encre pour imprimante (20)	Reproduction, métabolique, développement
DMP	131-11-3	Déodorants (20)	Reproduction
DnOP	117-84-0	Produits flexibles à base de plastique : revêtements de sols, tuyaux d'arrosage, jouets, gants, chaussures (20)	Développement
DiDP	26761-40-0	PVC : fils électriques, revêtements de sol, cuirs synthétiques (21)	Reproduction
DiNP	68515-48-0	Utilisé pour remplacer le DEHP dans : jouets, revêtements de sols, gants, produits d'emballage alimentaires (20)	Reproduction, développement, neurologique

PESTICIDES			
Diazinon	333-41-5	Insecticide	Reproduction, métabolique, neurologique
Fipronil	120068-37-3	Insecticide, acaricide	Reproduction, métabolique
Fipronil Sulfone	120068-36-2	Métabolite du Fipronil	
Imidaclopride	138261-41-3	Insecticide	Reproduction, métabolique, neurologique
Isoproturon	34123-59-6	Herbicide	Métabolique
Perméthrine	52645-53-1	Insecticide	Reproduction
Propiconazole	60207-90-1	Fongicide	Reproduction, neurologique
Propoxur	114-26-1	Insecticide	Reproduction, métabolique
Tebuconazole	107534-96-3	Fongicide	Reproduction, développement
PERFLUORÉS			
PFOA	3825-26-1	Revêtement anti-adhésif : poêles, emballages alimentaires, ustensiles de cuisine	Reproduction, métabolique, neurologique
PFOS	1763-23-1	Avant la réglementation : imprégnation de tissus, emballages, cires et produits de polissage pour l'automobile et les sols...	Reproduction, métabolique, neurologique
PHÉNOLS			
BPA	80-05-7	Plastique de type polycarbonate, résine époxyde, polyester, tickets de caisse ⁸	Reproduction, métabolique, développement, neurologique
BPF	620-92-8	Revêtements de l'emballage alimentaire, peinture, électrique et électronique (22)	Reproduction, métabolique
BPS	80-09-1	Papier thermique, teinture, résine phénolique et polyester (22)	Reproduction, métabolique, développement, neurologique
Triclosan	620-92-8	Conservateur : savons, dentifrices, bains de bouche, déodorants en stick, parfums (23)	Reproduction, métabolique, développement

4. Tests statistiques

Les analyses ont été effectuées sur R 4.0.5 (<https://www.r-project.org/>). Le risque alpha est fixé à 5%.

a) Statistiques descriptives

Les paramètres statistiques suivants : occurrence (fréquence de détection), concentration minimale et maximale, P10, P25, P50 (médiane), P75 et P90 ont été déterminés (*Annexe 3 et 4*).

b) Occurrence

L'occurrence d'une substance ou fréquence de détection représente en % la proportion de bracelets et/ou d'échantillons capillaires dans l'ensemble de la population de l'étude dans laquelle la substance est présente (détectée ou quantifiée).

c) Concentration

Les concentrations des substances dans les bracelets sont mesurées en ng/bracelet et les concentrations des substances dans les cheveux sont mesurées en pg/mg.

Lorsque la concentration était supérieure à la limite de détection (LD) mais inférieure à la limite de quantification (LQ), la valeur assignée a été fixée arbitrairement à $(LD+LQ) / 2$. Lorsque la concentration était $< LD$, la valeur assignée a été fixée à 0. Les distributions des concentrations des différents PE sont majoritairement non normales (test de Shapiro-Wilk). Des tests non paramétriques ont donc été utilisés pour l'ensemble des PE afin de conserver une homogénéité dans le traitement des données.

d) Comparaison des deux méthodes (cheveux et bracelet)

- *Comparaison des quantités de PE*

La similarité des abondances des PE a été investiguée en calculant la corrélation de Spearman (Rho) (les données étant non paramétriques), l'indice est bootstrappé 100 fois en Leave-One-Out. La significativité de la corrélation a été testée en utilisant un t-test bilatéral des coefficients de corrélation bootstrappés sous l'hypothèse nulle d'une moyenne de 0.

- *Comparaison des occurrences de PE*

La similarité des distributions des occurrences de chaque PE est calculée en calculant l'indice de Jaccard entre la série de mesures issues des cheveux et la série de mesures issue du bracelet. L'indice de Jaccard est borné entre 0 et 1 avec une similarité maximale à 1. Pour chaque PE, l'indice est bootstrappé 100 fois en Leave-One-Out. Les PE présents chez tous les participants sont exclus de cette analyse.

e) Autres tests

D'autres tests ont été réalisés, tels que le calcul de la sensibilité et de la spécificité (*Annexe 5*) afin de compléter les interprétations des résultats obtenus.

III) Résultats

1. Contamination des supports pendant le stockage et le transport

Afin de vérifier l'efficacité des mesures de précaution, telles que l'emballage aluminium, pour le transport et le stockage des échantillons, il y a eu une analyse de blancs de terrains qui ont été comparés au blanc de lot. Les analyses (*Tableau 2*) ont montré une absence de contamination significative liée au transport et à la conservation des bracelets.

Tableau 2 Concentration moyenne des blancs de terrains et des blancs de lot de chaque substance

Phtalates	BBP	DnBP	DEHP	DEP	DiBP	DMP	DnOP	DiDP	DiNP
Concentration	ND	480	150	60	350	ND	ND	ND	<LQ
Pesticides	Perméthrine	Diazinon	Fipronil	Fipronil Sulfone	Imidaclopride	Isoproturon	Propiconazole	Propoxur	Tebuconazole
[C]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Perfluorés	PFOA	PFOS							
[C]	ND	ND							
Phénols	BPA	BPF	BPS	Triclosan					
[C]	ND	ND	<LQ	ND					

2. Occurrences et concentrations

Les résultats présentés concernent les 32 bracelets et échantillons capillaires analysés, dont 13 hommes (43%), 17 femmes (57%) et 2 personnes qui n'ont pas précisé leur genre. Les individus ont entre 22 ans et 57 ans.

Sur l'ensemble des données brutes des 32 échantillons de bracelets (*Annexe 3*) et des 32 échantillons de cheveux (*Annexe 4*), sont déterminés les occurrences, les concentrations minimales, les concentrations maximales, les médianes (P50) et les percentiles P10, P25, P75 et P90. Le Tableau 3 permet de comparer les occurrences, les concentrations minimales et maximales et la médiane (P50) des deux matrices.

Tableau 3 Statistiques descriptives sur 32 bracelets et 32 échantillons capillaires

	Bracelet	Cheveux	Bracelet	Cheveux	Bracelet	Cheveux	Bracelet	Cheveux
	Occurrence		[C] Minimum		[C] Maximum		[C] Médiane (P50)	
PHTALATES								
BBP	100%	83,3%	<LQ	ND	30875	1302	864	<LQ
DnBP	100%	100%	730	391	8628	2620	3594	844
DEHP	100%	100%	5743	413	240288	41058	71889	2882
DEP	100%	100%	680	151	66878	81178	2899	756
DiBP	100%	100%	2040	818	297879	25358	5006	1601
DMP	100%	36,7%	ND	ND	813	426	82	ND
DnOP	0%	0%	ND	ND	ND	ND	ND	ND
DiDP	100%	100%	1088	179	289591	19078	10376	2387
DiNP	100%	100%	5980	621	286773	18374	23649	4382
PESTICIDES								
Diazinon	20%	0%	ND	ND	<LQ	ND	ND	ND
Fipronil	23,3%	23,3%	ND	ND	47	89	ND	ND
Fipronil sulfone	56,7%	30%	ND	ND	653	1080	<LQ	ND
Imidacloprid	6,7%	6,7%	ND	ND	175	60	ND	ND
Isoproturon	0%	0%	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Perméthrine	100%	53,3%	<LQ	ND	5726	561	657	<LQ
Propiconazole	20%	3,3%	ND	ND	211	<LQ	ND	ND
Propoxur	0%	0%	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Tebuconazole	3,3%	0%	ND	ND	53	ND	ND	ND
PERFLUORÉS								
PFOA	0%	0%	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PFOS	0%	0%	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PHÉNOLS								
BPA	16,7%	13,3%	ND	ND	49	151	ND	ND
BPF	0%	0%	ND	ND	ND	ND	ND	ND
BPS	83,3%	60%	ND	ND	59	269	<LQ	<LQ
Triclosan	56,7%	13,3%	ND	ND	67	32	<LQ	ND

[C] Concentration en ng/bracelet (bracelet) et pg/mg (cheveux) ; LQ : Limite de Quantification ; ND : Non Détecté

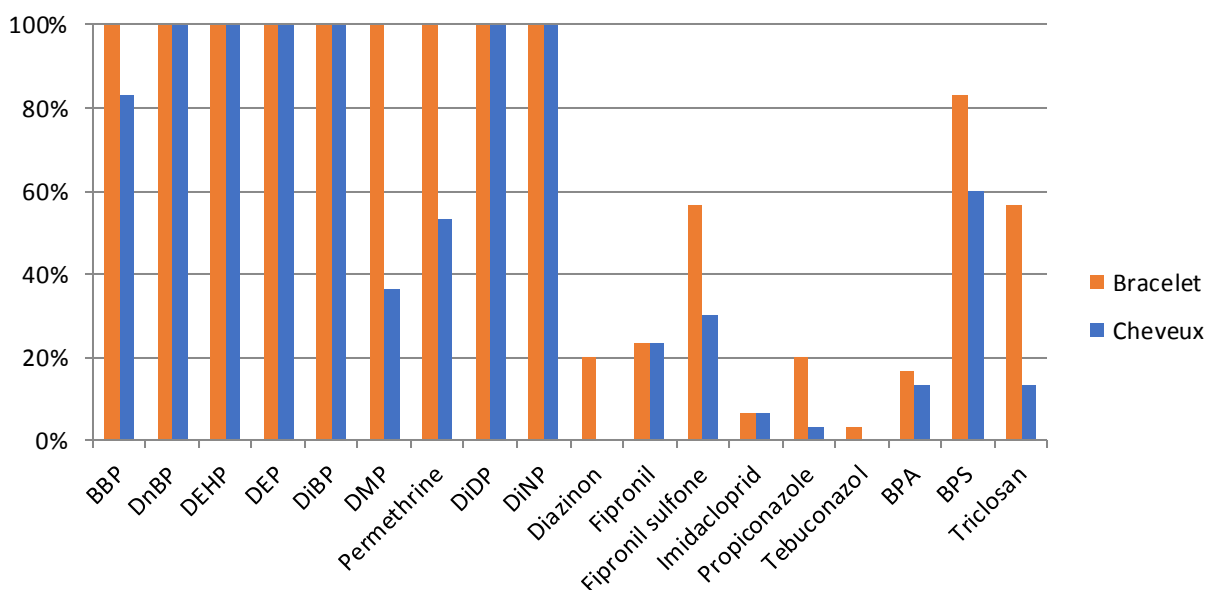


Figure 2 Comparaison des occurrences de chaque substance dans les bracelets et les cheveux

Ces résultats mettent en évidence la présence de 16 substances dans les prélèvements capillaires et de 18 substances dans les bracelets. Le bracelet a détecté tous les composés présents dans les cheveux, mais aussi le diazinon et le tebuconazole qui n'ont pas été détectés dans les cheveux. Les perfluorés (PFOA, PFOS), le BPF, le DnOP, l'isoproturon et le propoxur n'ont jamais été détectés dans les deux matrices.

Excepté le DnOP qui n'a jamais été détecté, tous les phtalates ont été détectés dans tous les bracelets. Dans les échantillons capillaires, ils ont tous été détectés à 100% d'occurrence hormis le BBP à 83,3% et le DMP à 36,7%. De plus, les phtalates représentent les concentrations médianes les plus importantes mesurées, notamment le DEHP avec une concentration à 71 889 ng/bracelet dans les bracelets et 2 882 pg/mg dans les cheveux.

Parmi les pesticides, la perméthrine se démarque avec une occurrence de 100% dans les bracelets et de 53,3% dans les échantillons capillaires. Le diazinon et le tebuconazole sont détectés respectivement dans 20,0% et 3,3% des bracelets, tandis qu'ils ne sont pas détectés dans les cheveux. Le propiconazole a une occurrence supérieure dans les bracelets (20%) comparé à l'occurrence dans les cheveux (3,3%). Le fipronil est identiquement détecté 23,3% d'occurrence dans les bracelets en silicone et dans les cheveux. Le fipronil sulfone est quant à lui détecté dans 56,7% des bracelets et 30% des cheveux. L'imidaclopride a été détecté de façon similaire dans 6,7% des bracelets et des cheveux.

Les pesticides sont généralement détectés en quantités très faibles, voire inférieures à la limite de quantification dans les bracelets et les cheveux, à l'exception de la perméthrine qui est quantifiable avec une médiane de 657 ng/bracelet dans les bracelets.

Enfin, les phénols ont un profil plus varié. Le triclosan est détecté dans 56,7% des bracelets tandis qu'il est détecté dans 13,3% des cheveux. Le BPS a des occurrences de 83,3% et 60,0% respectivement dans

les bracelets et les cheveux. Le BPA est détecté dans 16,7% des bracelets et 13,3% des cheveux. Les phénols restent tout de même détectés en très faibles quantités dans les échantillons, la plupart n'étant pas quantifiables.

3. Tests statistiques

Les tests statistiques ont été réalisés uniquement sur les substances présentes simultanément dans les deux matrices.

a) Comparaison de l'abondance

La Figure 3 représente les coefficients de corrélations de Spearman qui ont été calculées.

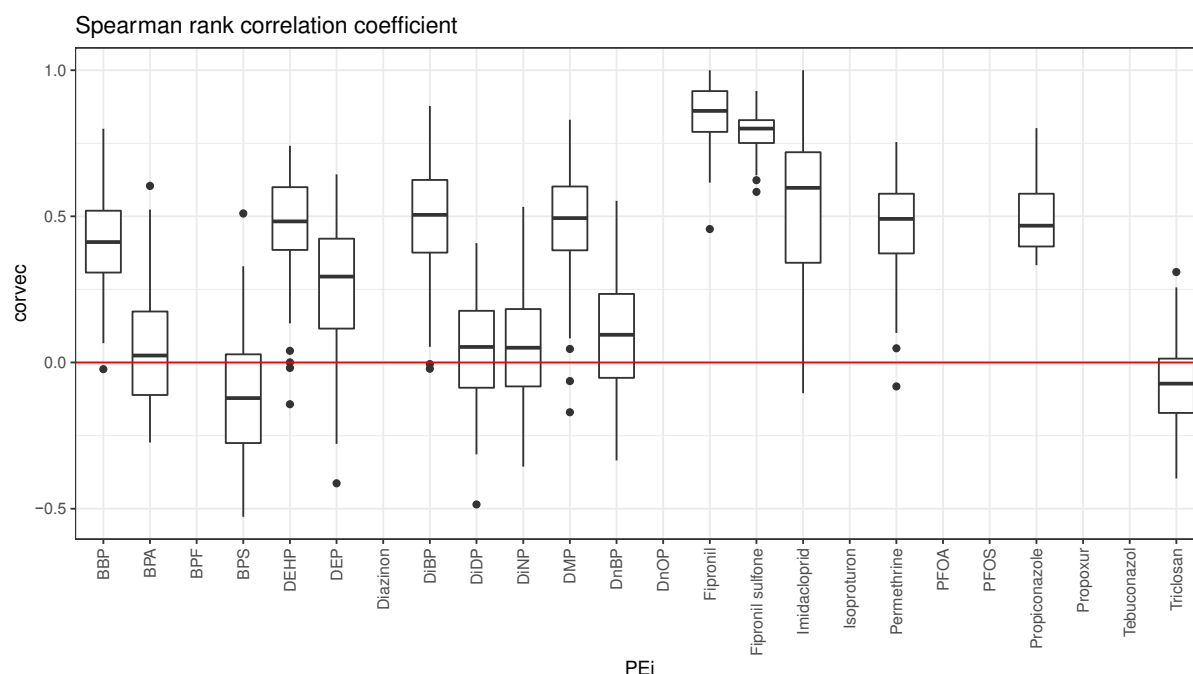


Figure 3 Coefficients de corrélation de Spearman pour toutes les substances mesurées dans les bracelets en silicone et dans les prélèvements capillaires

La corrélation de Spearman permet de mettre en évidence des corrélations positives (proches de 1) et négatives (inférieures à 0) en prenant en compte les concentrations des substances entre les deux matrices.

Un test de Student (*Annexe 6*) a été réalisé afin de vérifier si les corrélations de Spearman sont significativement différentes de 0.

Pour les phtalates, les corrélations de Spearman observées sont toutes positives. Le DEHP et le DiBP, quantifiés en grandes quantités, présentent des corrélations respectives de 0,47 et 0,50.

Pour les pesticides, de très bonnes corrélations sont observées. Le fipronil se démarque avec une valeur d'environ 0,85, suivi de son métabolite le fipronil sulfone à environ 0,79. L'imidaclopride suit avec une valeur à 0,51, puis le propiconazole à 0,49 et enfin la perméthrine à 0,47.

Concernant la famille des phénols, seul le BPA présente une corrélation positive, d'environ 0,05. Bien qu'elle soit significativement différente de 0, elle reste très faible. De plus, on observe pour le BPS et le triclosan des corrélations respectives de -0,12 et -0,07, ce sont ainsi des corrélations inverses.

b) Comparaison de l'occurrence

La Figure 4 représente l'indice de Jaccard calculé pour les substances ayant été détectées simultanément dans les cheveux et les bracelets en silicone.

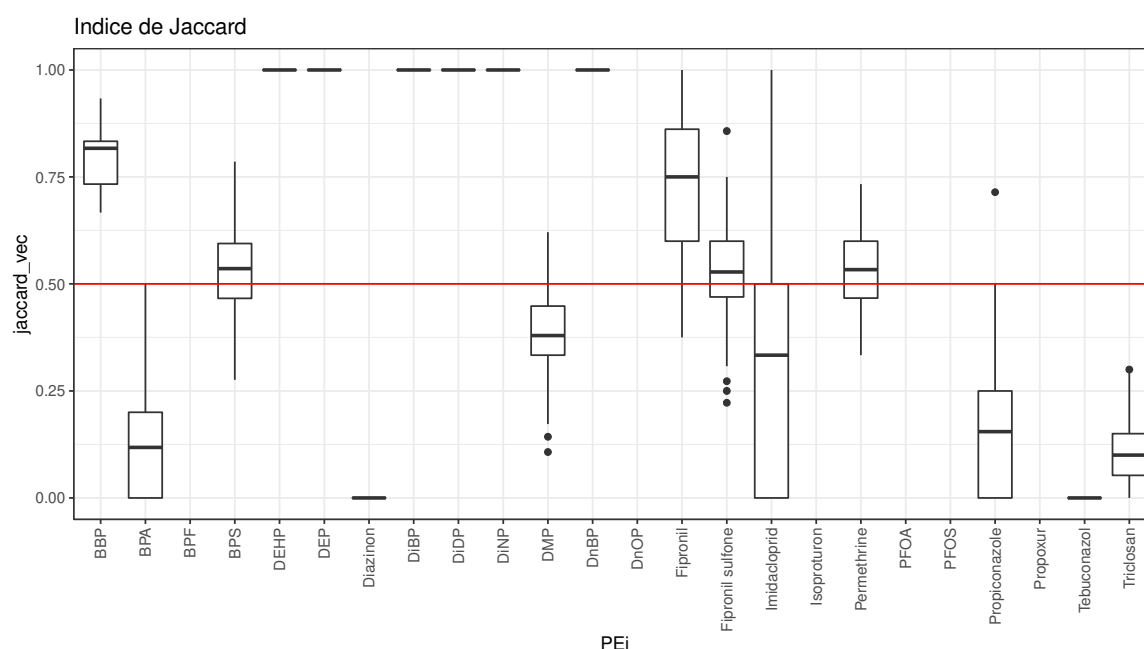


Figure 4 Indice de Jaccard mesuré pour la série de mesures issues des cheveux et la série de mesures issues des bracelets

Concernant les phtalates, le BBP présente un très bon indice à 0,80 et le DMP un indice à 0,38.

Pour les pesticides, le fipronil, le fipronil sulfone et la perméthrine présentent respectivement des bons indices à 0,75, 0,53 et 0,53. L'imidaclopride et le propiconazole sont en dessous de la barre des 0,50, avec des indices à 0,35 et 0,16.

Enfin, pour les phénols seul le BPS a un bon indice à 0,53, tandis que le BPA et le triclosan ont un indice à 0,12 et 0,11.

IV) Discussion

1. Comparaison d'occurrences

Les phtalates représentent une très forte proportion des substances analysées. En effet, la mesure de seulement 4 phtalates : le DEHP, du DiBP, du DiDP et du DiNP représentent à eux seuls 95% de la quantité totale mesurée. Ce sont donc des substances sur lesquelles la législation et la prévention doivent être une priorité.

Le Réseau Environnement Santé a mené une opération « zéro phtalates », mesurant l'exposition de 14 volontaires aux phtalates via des prélèvements capillaires. Bien que l'échantillon soit inférieur à celui de notre étude, cela est intéressant de comparer les résultats obtenus (*Tableau 4*) avec ceux de notre étude.

Tableau 4 Occurrences observées dans l'opération "zéro phtalates"

	DEHP	DiNP	DiDP	DiBP	BBP	DnBP	DEP	DMP	DnOP
Occurrence	100%	100%	100%	100%	57,1%	100%	100%	14,3%	0%

Certains profils d'occurrence semblent assez similaires pour l'échantillon capillaire et le bracelet en silicone, notamment le DnBP, DEHP, DEP, DiBP, DiDP et DiNP qui ont 100% d'occurrence dans ces deux matrices. Ces substances présentent de même une occurrence à 100% dans l'opération « zéro phtalates ».

Cependant, certains phtalates ont des profils différents. Le BBP est observé dans 100% des bracelets analysés, tandis qu'il est dans 83,3% des échantillons capillaires. Il n'est pas surprenant d'observer 57,1% dans les prélèvements capillaires de l'opération « zéro phtalates ».

Le DMP est de même mesuré dans 100% des bracelets, et seulement 36,7% des échantillons capillaires. Dans l'opération « zéro phtalates », il n'est mesuré que dans 14,3% des échantillons.

Il est probable que les paramètres pharmacocinétiques du BBP et du DMP jouent un rôle pour leur moindre présence dans les cheveux. En effet, bien qu'il n'y ait encore que très peu d'informations décrites chez l'homme, il s'avère que 78% de la dose de BBP (18) ingérée par des volontaires serait éliminée dans les urines sous forme de son métabolite principal chez l'homme : le MBeP (monobenzylphtalate). Il est ainsi important de prendre en considération l'absorption, les métabolites et la voie d'excrétion des substances recherchées afin de pouvoir évaluer l'intérêt du bracelet en silicone.

Le DnOP est le seul phtalate parmi ceux recherchés qui n'a été détecté ni dans les bracelets, ni dans les cheveux. Il n'est pas non plus détecté dans l'étude opération « zéro phtalates ». Cependant, dans l'étude ESTEBAN qui quantifie les métabolites urinaires des phtalates chez de jeunes français, l'un des métabolites du DnOP, le MCPP (mono-3-carboxypropyl phtalate) est retrouvé dans 96,8% des échantillons (24). Peut-être aurait-il fallu mesurer son métabolite, qui reflèterait ainsi plus véritablement l'exposition au DnOP. Cependant, l'incorporation de la mesure de métabolites dans l'étude est complexe, car ils peuvent être non spécifiques à la molécule mère et être issus de produits de dégradation, faussant ainsi les résultats. De plus, l'analyse de métabolites est particulièrement coûteuse.

Parmi les 9 pesticides recherchés dont 1 métabolite, 5 ont été retrouvés dans les échantillons capillaires et 7 dans les bracelets en silicone. Contrairement à la majorité des phtalates, cette fois-ci les profils d'exposition en fonction de la matrice sont plus disparates.

Le diazinon, substance pourtant interdite en Europe en tant que produit phyto-pharmaceutique mais aussi biocide, est retrouvé dans 20% des bracelets, tandis qu'il n'est pas du tout retrouvé dans le cheveu. Cela pourrait éventuellement s'expliquer par le caractère non persistant du diazinon, le Pesticide Properties DataBase (PPDB) relatant un temps de demi-vie entre 9 à 18 jours (25).

Le tebuconazole est également retrouvé dans 3,3% des bracelets tandis qu'il n'est pas du tout présent dans le cheveu. De juin 2018 à juin 2019, les Associations Agréées pour la Surveillance de la Qualité de l'Air (AASQA) ont réalisé une campagne nationale exploratoire des pesticides (CNEP), avec pour objectif de réaliser des mesures de pesticides dans l'air ambiant sur 50 sites. Cette étude a mesuré une fréquence de quantification du tébuconazole à 4,08% dans l'air ambiant (26), pouvant expliquer la présence tébuconazole sur le bracelet, mais cette substance ne rentrerait pas spécialement dans l'organisme et donc dans le cheveu. De plus, le tebuconazole est un biocide très utilisé pour le traitement du bois, pouvant établir un contact direct avec le bracelet.

La perméthrine a été détectée dans 100% des bracelets tandis qu'elle est présente dans 53,3% des cheveux. Cela pourrait s'expliquer par le fait qu'elle est retrouvée dans 98% des poussières domestiques (27), il serait ainsi possible que la poussière soit en contact plus direct avec le bracelet qu'avec le cheveu. Bien que lors de l'analyse capillaire par le laboratoire Kudzu Science, le cheveu ne soit pas lavé, il reste moins accessible à la poussière que le bracelet porté au poignet. De plus, l'étude CNEP a détecté une fréquence de quantification de 5,09% de la perméthrine dans l'air ambiant (26). La perméthrine est utilisée uniquement en tant que biocide (traitement contre les moustiques, les nuisibles, traitement du bois et des literies) et est interdite en agriculture, ce qui peut expliquer son exposition via l'air ambiant.

Ce qui est informatif, c'est la détection du fipronil sulfone dans 56,7% des bracelets. Le fipronil sulfone est le principal métabolite du fipronil, et suggère ainsi une métabolisation par l'organisme humain ou bien par l'ingestion d'un organisme animal via l'alimentation. Cependant, d'après les données de l'étude de Wang et al. (12), le bracelet est censé prendre en compte les substances auxquelles est exposé l'homme par inhalation et contact cutané. Il est possible que ce métabolite soit excrété par la peau via la sueur, qui rentrerait en contact cutané avec le bracelet. Si tel est le cas, le bracelet pourrait ainsi prendre également en compte l'exposition par l'ingestion. Les travaux d'Aerts et al. (28) mentionnent aussi cette hypothèse car du fipronil sulfone a été retrouvé sur les bracelets portés par les individus mais pas sur les bracelets non portés, déposés aux domiciles ou au bureaux des individus. Si cette hypothèse s'avère vraie, le bracelet serait capable de prendre en compte l'exposition par la voie d'ingestion, cela lui conférerait l'avantage d'être un outil de biométrie en plus d'être un échantillonneur passif.

Les perfluorés n'ont pas du tout été détectés dans les bracelets et dans les cheveux. Le PFOA est absorbé principalement par voie orale et, dans une moindre mesure, par les voies cutanée et respiratoire (29). Si cela peut expliquer pourquoi on ne le retrouvera pas dans les bracelets en silicone, il est étonnant de n'en trouver aucune trace dans les cheveux, prenant eux en compte l'exposition par ingestion. Il se peut que cela soit lié au caractère lipophile des perfluorés ($\log P$ (PFOA) = 4,44 ; $\log P$ (PFOS) = 4,84), les incitant à se stocker rapidement et durablement dans les graisses préférentiellement aux cheveux. Les réglementations peuvent aussi avoir un rôle à jouer dans cette exposition nulle, notamment la convention internationale de Stockholm en 2009 et les restrictions d'utilisation croissantes du PFOA et PFOS depuis 2007.

Les phénols sont la famille qui présente le plus de profils différents parmi les 4 familles étudiées. Le bracelet en silicone a une occurrence pour le BPS à 83,3% tandis qu'elle est de 60,0% dans le cheveu. Cela pourrait s'expliquer par le fait que ces substances sont rapidement éliminées de l'organisme ou stockées dans le tissu adipeux (30), laissant peu de trace dans le sang, et donc dans le cheveu.

L'étude de Levasseur et al. (15) a comparé l'analyse de l'exposition aux phénols via plusieurs matrices dont le bracelet en silicone et l'analyse d'urine. Pour les bracelets et l'urine, le BPA était retrouvé à 100% d'occurrence tandis qu'il n'était retrouvé qu'à 83% dans les poussières et 57% dans les lingettes. L'étude a conclu que les bracelets permettaient mieux de capturer l'exposition globale aux phénols étant donné qu'ils ont tendance à avoir une demi-vie métabolique courte. En comparaison avec les résultats observés dans cette étude, il n'y a pas de différence significative des occurrences du BPA entre le bracelet et le cheveu. Les occurrences différentes de l'étude de Levasseur et al. peuvent s'expliquer par le fait que cette dernière se soit déroulée aux États-Unis. Il n'est pas question du même continent : le mode de vie et les réglementations vis-à-vis du BPA diffèrent.

Enfin, le triclosan, comme les autres substances de sa famille, a une meilleure occurrence dans les bracelets à 56,7% que dans les cheveux à 13,3%. Étant donné que 85% de l'utilisation du triclosan concerne les articles d'hygiène et de cosmétique (savons, déodorants, parfums...) (23), cela entraînerait un contact direct avec le bracelet et pourrait expliquer que celui-ci présente une meilleure occurrence que dans le cheveu. De plus, le contact direct peut aussi être lié par le fait que le triclosan se stocke dans les poussières domestiques (15). Les études de Levasseur et al. (15) ont observé une occurrence de 99% de triclosan dans les bracelets, tandis que l'occurrence était de 76% dans les urines. Lorsque le triclosan est absorbé dans l'organisme, il va subir une phase I d'hydroxylation, puis une phase II de glucuroconjugaison ou de sulfonation. Son métabolite principal retrouvé sera le triclosan-glucuronide (31). Il est possible que l'occurrence du triclosan mesurée dans le cheveu ne soit pas représentative de l'exposition car le triclosan aurait été déjà métabolisé, d'où l'intérêt de mesurer soit tous les métabolites soit de précéder à une étape de déconjugaison avant l'analyse. Cependant, comme énoncé précédemment, l'analyse de métabolites présente de nombreuses limites ne permettant pas à cette étude d'y avoir recours.

2. Tests statistiques

Les corrélations de Spearman observées pour les phtalates et les pesticides sont globalement positives. Cela est très intéressant car l'analyse du bracelet permettrait de tendre vers une évaluation d'une exposition chronique, relatant possiblement une source et une voie d'exposition similaire avec les substances détectées par l'analyse capillaire, y compris leurs propriétés physico-chimiques et leur métabolisme. C'est ainsi un argument pouvant valider l'utilisation du bracelet en silicone afin de mesurer l'exposition de l'organisme aux phtalates et aux pesticides. De plus, le fipronil sulfone présente la plus forte corrélation observée après celle du fipronil, il en est de même pour l'indice de Jaccard. Cela laisse supposer que la source et la voie d'exposition du métabolite semblent similaires chez ces deux matrices, et ainsi une preuve que le bracelet serait capable de prendre en compte l'exposition de l'organisme aux substances chimiques par la voie de l'ingestion.

Les corrélations de Spearman et les indices de Jaccard observés pour les phénols sont moins probants. Étant donné que le bracelet reflète une exposition de 7 jours tandis que le cheveu reflète une exposition de 3 mois, il se pourrait que la différence du temps d'exposition analysé explique ces dissimilarités. En effet, les phénols ont une demi-vie courte dans l'organisme (quelques heures (30)), il est donc possible que l'échantillon capillaire, relatant une exposition plus ancienne, ne soit plus capable de détecter ces composés car ils auraient été rapidement éliminés. Il n'est pas à exclure non plus que l'organisme, notamment via le métabolisme et la toxicocinétique, y ait joué un rôle

également. Enfin, des voies d'exposition différentes pourraient expliquer ces corrélations inverses et ces indices faibles, par exemple 80% de l'exposition aux bisphénols semblerait être liée à l'alimentation selon les données ESTEBAN (30), une voie que le bracelet n'est pas censée prendre en compte.

3. Avantages, limites et perspectives

Lors de cette étude expérimentale, les bracelets en silicone ont permis la détection de 18 substances, soit 2 substances de plus que dans les échantillons capillaires. Les occurrences observées ont toujours été plus élevées dans les bracelets que dans les cheveux. Sachant que pour les PE, ce n'est pas la dose qui fait le poison mais la période, la mesure de la fréquence de détection a une importance supérieure à la mesure de la concentration. L'utilisation des bracelets en silicone présente l'avantage majeur de mesurer l'exposition durant la durée du port du bracelet. De plus, il prend en considération l'exposition à plusieurs substances, renseignant l'effet cocktail des PE. Ces mesures semblent être représentatives des milieux dans lesquels un individu est exposé par voie d'inhalation et par absorption cutanée. Ainsi, dans un contexte de santé environnementale, cette technique apporte un nouvel angle de surveillance des expositions.

Les substances ayant été mesurées dans 100% des bracelets et des cheveux tel les que la quasi-totalité des phtalates laissent penser que bien que ce ne soit pas la même période mesurée pour chaque matrice, la proportion de fréquence de détection est la même, permettant de conclure sur la chronicité de l'exposition à ces substances. Pourtant, il existe des réglementations à certaines de ces substances, telles que le DEHP. Cela prouve qu'actuellement, ces réglementations ne sont pas encore au point et que la prévention doit être une priorité.

La détection du fipronil sulfone, principal métabolite du fipronil, dans plus de la moitié des bracelets est très intéressante et suggère un passage dans un organisme. Cela en fait un argument pour l'hypothèse selon laquelle les substances ingérées par l'alimentation sont par la suite excrétées par la peau via de la sueur, puis rentrent en contact avec le bracelet en silicone. Cette hypothèse doit être évaluée avec des études complémentaires et si elle se confirme, cela ferait du bracelet en silicone non seulement un échantillonneur passif mais aussi un outil de biométrie.

De plus, certaines familles de substances telles que les phtalates ou les phénols ont un temps de demi-vie courte lié à leur métabolisation et à une élimination rapide. Le bracelet serait possiblement plus à même de détecter ces substances en comparaison aux cheveux qui reflètent une exposition plus ancienne, pour lesquels il y a un décalage de 15 jours entre le moment du prélèvement capillaire et le début de la période d'évaluation. Néanmoins, il est important de prendre en considération le fait que le cheveu n'est pas lavé avant l'analyse, et peut ainsi refléter une exposition externe récente à ces substances.

Cependant, certaines limites peuvent être relevées. En effet, certaines substances sont rapidement métabolisées dans l'organisme, diminuant ainsi la concentration de la molécule mère dans celui-ci. Si l'on se fie uniquement à la mesure de la molécule mère sans prendre en compte celle de ses métabolites, cela peut induire une sous-estimation de cette mesure. Cependant, la mesure des métabolites est complexe car ils doivent être spécifiques à ces substances. En effet, certains métabolites peuvent être également issus de produits de dégradation. De plus, leur mesure est particulièrement coûteuse.

Les substances mesurées qui ont eu une occurrence différente selon les deux matrices, ont toujours une occurrence plus élevée dans le bracelet en silicone. Cela pourrait s'expliquer par un filtre organique auxquelles seraient confrontées les substances, limitant ainsi leur passage dans l'organisme.

Ainsi, les substances retrouvées dans les cheveux seraient exposées à une barrière biologique que le bracelet en silicone ne présente pas.

De plus, le bracelet reflète une exposition d'une durée de 7 jours, tandis que l'analyse capillaire correspond à une exposition sur 3 mois. La période d'exposition analysée n'est pas la même, et cela peut ainsi entraîner un biais dans la comparaison de résultats.

Cette étude est exploratoire et l'effectif (n=32) étudié est assez faible. Cependant, les résultats obtenus permettent d'envisager une étude avec une cohorte plus importante afin d'améliorer la robustesse des tests statistiques et ainsi obtenir des données plus fiables.

Enfin, l'utilisation du bracelet amène à de nouvelles perspectives. En effet, ils sont non-invasifs, très simples à utiliser et ne présentent que peu de contraintes notables. En comparaison, l'analyse capillaire a nécessité la coupe de mèches de cheveux qui peut s'avérer être un facteur limitant pour les nourrissons et son analyse est également plus délicate que le bracelet. Il serait ainsi envisageable de proposer cet outil à des populations présentant une exposition à risque tels que les femmes enceintes ou les enfants, mais aussi élargir le champ d'application aux rendez-vous médicaux « pré-conceptionnels » ou aux corps de métiers particulièrement exposés (ouvriers, agriculteurs...) à des substances chimiques ACD (Agents Chimiques Dangereux) et CMR (Cancérigènes, Mutagènes, Reprotoxiques) dans le cadre de l'évaluation de l'exposition professionnelle. Par ailleurs, les bracelets sont des échantillonneurs passifs et beaucoup moins contraignants sur des aspects réglementaires que l'utilisation d'une matrice biologique.

La décontamination préliminaire en laboratoire et l'utilisation de l'aluminium permettent de garantir l'absence de contamination lors du transport et de la conservation des bracelets.

Enfin, le processus analytique du bracelet est bien plus simple à réaliser en comparaison à l'analyse capillaire, rendant l'utilisation du bracelet plus économique.

Conclusion

Cette étude s'est portée sur l'analyse de 24 substances sélectionnées selon plusieurs critères dont leur caractère PE avéré ou suspecté et leur présence dans les différentes matrices biologiques. Les individus se prêtant à l'étude ont porté le bracelet en silicone durant 7 jours consécutifs et ont réalisé un prélèvement capillaire qu'ils ont envoyé au laboratoire Kudzu Science par enveloppe prépayée. Cette étude a permis de porter à notre connaissance la première analyse comparative du bracelet en silicone avec le prélèvement capillaire, suggérée par Wang et al.

L'analyse des substances chimiques par le bracelet en silicone a mis en évidence des profils globalement similaires d'occurrence et de concentration, en comparaison avec l'analyse capillaire et d'autres études (opération « zéro phtalates », ESTEBAN). Les comparaisons des résultats les plus pertinents en termes d'occurrences, de concentrations, de corrélations de Spearman et d'indices de Jaccard ont été notamment observées dans la famille des phtalates et des pesticides. De plus, la détection du fipronil sulfone laisse à penser que le bracelet pourrait prendre en compte l'exposition par la voie orale.

Cette étude a ainsi permis de rendre compte de la détection de substances par le bracelet en silicone. En outre, des corrélations de Spearman et des indices de Jaccard s'avèrent globalement positifs avec l'analyse capillaire, matrice de référence en termes d'analyse d'une exposition chronique. Cela ferait du bracelet en silicone une preuve d'une exposition environnementale aux PE et également d'une exposition de l'organisme à ces substances. Sachant que pour les PE : ce n'est pas la dose qui fait le

poison, l'utilisation du bracelet en silicone présente un intérêt dans l'évaluation de l'exposition à ces substances perturbatrices endocriniennes. Cependant, il faudrait réaliser des études supplémentaires afin de vérifier l'utilisation du bracelet en tant que reflet d'une exposition de l'organisme, notamment sur la prise en considération de la voie cutanée pour laquelle il manque des données dans la littérature scientifique.

En comparaison à d'autres méthodes d'analyse par biométrie (capillaire, urinaire), le bracelet présente l'avantage d'être simple d'utilisation, pouvant convenir à n'importe quelle population telles que les nourrissons. De plus, le bracelet est facile à stocker et à transporter, son processus d'analyse au laboratoire est plus simple, ce qui en fait un outil plus économique.

À terme, le bracelet en silicone pourrait être utilisé comme outil de prévention et de sensibilisation à l'exposition environnementale aux PE. La santé environnementale est un concept récent, et bien que des réglementations commencent à être mises en place, cela ne reste pas suffisant comme le démontre la détection de DEHP dans tous les échantillons de cette étude. Le Haut Conseil de la Santé Publique (HCSP)(32) suspecte notamment un impact significatif de l'environnement sur la santé et le développement du cerveau et de l'organisme des enfants. En conséquence, le HCSP recommande d'approfondir les études sur les effets des PE sur le développement global des enfants. La méta-analyse de Nilsen et al. (33) met en évidence un lien entre exposition aux phtalates et trouble de déficit de l'attention et hyperactivité (TDAH) avec un odds ratio (OR) de 3,48 pour les garçons et 3,11 pour les filles. Les études épidémiologiques analysant généralement la différence entre le quartile supérieur et le quartile inférieur, cela signifie que faire passer la population la plus contaminée du 4^{ème} quartile au niveau du 1^{er} permet un gain de santé considérable. Le bracelet en silicone, permettant l'accompagnement des personnes pour diminuer leur contamination, pourrait s'avérer être un outil efficace.

De ce fait, l'utilisation du bracelet en silicone pourrait être étendue aux populations plus vulnérables dont les enfants. La prévention peut également s'élargir à d'autres perspectives telles que des rendez-vous médicaux pré-conceptionnels afin de relever le pari de diminuer les pathologies chroniques environnementales des futurs enfants (34). Le bracelet en silicone est également intéressant en tant qu'outil de sensibilisation du grand public. Le RES a par ailleurs mené un travail de sensibilisation aux PE via cet outil sur 7 lycées. Le bracelet en silicone a été porté par 186 lycéens, permettant de rendre compte de leur exposition environnementale. Après ces interventions de sensibilisation, 89,7% des lycéens ont affirmé vouloir changer leur mode de consommation afin de diminuer leur exposition. Ce projet a permis de rendre visible la pollution invisible causée par ces substances en fournissant un ordre de grandeur de la contamination.

Annexes

Annexe 1 : Kits d'utilisation du prélèvement capillaire et du bracelet en silicone

FR

MODE D'EMPLOI
CAM-DOC-ENR-012a_v1



Kit prélèvement cheveux

Lire attentivement ce document avant de débuter votre prélèvement.

CONTENU DE VOTRE KIT



Deux supports de prélèvement : Une balance cartonnée et un support carré.



Une petite enveloppe pour protéger votre échantillon lors de l'envoi retour.



Une feuille d'aluminium biseautée.

Si un élément de votre kit venait à manquer, contactez-nous à l'adresse info@kudzuscience.com ou au 03.69.61.46.00.

REALISER VOTRE PRELEVEMENT

Lavez-vous soigneusement les mains et munissez-vous de ciseaux propres. Le prélèvement s'effectue plus facilement à l'aide d'une tierce personne, mais il peut également se réaliser seul. Veillez dans tous les cas à effectuer celui-ci dans une pièce fermée sans courants d'air.

Pour des cheveux d'une longueur inférieure à 3 cm :

Pour des cheveux d'une longueur supérieure à 3 cm, reportez-vous au paragraphe suivant.



- Munissez-vous de la balance en papier cartonné et pliez au niveau des pointillés.
- Coupez au plus près de la racine une ou plusieurs mèches de cheveux. Collectez les cheveux coupés dans le creux de votre main.
Conseil : Par souci d'esthétisme, il est possible de réaliser le prélèvement à différents endroits du crâne.
- Placez les cheveux sur la balance dans l'espace prévu à cet effet. La balance bascule lorsque la quantité de cheveux coupés est suffisante pour effectuer l'analyse.
- Une fois la quantité nécessaire obtenue, déposez votre prélèvement de cheveux au centre de la feuille d'aluminium.

En cas d'absence de cheveux, un prélèvement de poils (des aisselles ou pubiens) peut être réalisé, auquel cas précisez-le sur le questionnaire de prélèvement.

1 / 2

RÉALISEZ VOTRE PRÉLEVEMENT

Lavez-vous soigneusement les mains et munissez-vous de ciseaux propres. Le prélèvement s'effectue plus facilement à l'aide d'une tierce personne, mais il peut également se réaliser seul. Veillez dans tous les cas à effectuer celui-ci dans une pièce fermée sans courants d'air.

Pour des cheveux d'une longueur supérieure à 3 cm :

Si besoin, utilisez la graduation indiquée sur le support carré pour vérifier votre longueur de cheveux.



- Saisissez le support cartonné et glissez une mèche de cheveux dans la fente. La mèche doit impérativement être suffisamment épaisse pour combler l'intégralité du cercle découpé au centre du support.
Conseil : Torsadez la mèche pour la glisser dans le support.
- Effectuez une pression sur le support afin de le plaquer contre le cuir chevelu. À l'aide de ciseaux propres, découpez la mèche au-dessus du support, le plus près possible de la racine.
Conseil : Par souci d'esthétisme, il est possible de réaliser le prélèvement à l'arrière du crâne.
- Répétez les étapes 1 et 2 pour collecter une seconde mèche de cheveux.
ATTENTION : Si les mèches collectées ne comblient pas l'intégralité du cercle nous ne disposerons pas d'une quantité de cheveux suffisante pour procéder à l'analyse.
- Déposez immédiatement les mèches collectées sur la feuille d'aluminium dans le sens de la longueur. L'extrémité côté racine de chaque mèche de cheveux doit être placée sur la partie étroite de la feuille d'aluminium.

CÔTÉ RACINE

2 / 2

PROTEGER VOTRE PRELEVEMENT



- Pliez un premier 1/3 de la feuille d'aluminium dans le sens de la longueur pour recouvrir votre prélèvement.
Pliez le tiers restant, puis pincez chaque extrémité de la feuille d'aluminium afin de bien envelopper votre prélèvement.
- Glissez le tout dans l'enveloppe de protection prévue à cet effet.

2 / 2

MODE D'EMPLOI



Kit Kudzu Bracelet

1

Vérifiez le contenu de votre kit Kudzu

Si vous ne réalisez pas votre prélèvement immédiatement, ne déballez pas le matériel.

Votre kit Kudzu Bracelet contient :



Une pochette plastique avec fermeture zip contenant :



Le bracelet en silicone servant au prélèvement, emballé dans du papier aluminium. À conserver impérativement pour le retour de l'échantillon.



Une fiche de prélèvement. À retourner avec votre prélèvement.



Une enveloppe retour prépayée, pour l'envoi de votre prélèvement à Kudzu Science (depuis la France métropolitaine uniquement).

Si un élément de votre kit venait à manquer, contactez-nous à l'adresse info@kudzuscience.com ou au 03.69.61.46.00

2

Réalisez votre prélèvement



- Sortez le bracelet du papier aluminium. Gardez précieusement le papier aluminium et la pochette plastique car ils sont indispensables pour l'envoi de votre prélèvement au laboratoire.
- Mettez le bracelet à votre poignet. Votre prélèvement débute.
→ Continuez à vivre normalement
- Vous devez porter le bracelet pendant 7 jours consécutifs. Ce délai est indispensable pour garantir des résultats fiables.
→ Gardez-le même pour dormir et prendre des douches
- Indiquez la date et l'heure du début du prélèvement sur la fiche de prélèvement. Le reste des informations est à compléter à la fin des 7 jours.

1 / 2

3

Votre prélèvement est terminé

Le délai de 7 jours est écoulé.



- Enlevez le bracelet de votre poignet, et emballez-le dans le papier aluminium.
- Insérez le tout dans la pochette plastique et refermez-la.
- Indiquez sur la fiche de prélèvement la date et l'heure de la fin du prélèvement.

Attention : De la fin du prélèvement à l'envoi au laboratoire, il est indispensable de conserver le prélèvement au réfrigérateur (pochette fermée).

4

Renvoyez votre prélèvement au laboratoire



- Préparez l'enveloppe retour prépayée. Vous pouvez noter le numéro de Lettre Suivie pour suivre l'acheminement de votre prélèvement vers le laboratoire.
- Glissez-y la pochette plastique contenant le bracelet emballé dans le papier aluminium ainsi que la fiche de prélèvement.
- Fermez l'enveloppe et déposez-la dans une boîte aux lettres ou dans un bureau de Poste.

Vous avez une question ? Besoin d'un renseignement ou d'un conseil ?

N'hésitez pas à contacter notre Service Client par email à l'adresse info@kudzuscience.com ou par téléphone au 03.69.61.46.00.


kudzu
SCIENCE

Annexe 2 : Pochette contenant les kits « bracelet » et « cheveux », le questionnaire et l'enveloppe prépayée



Annexe 3 : Statistiques descriptives pour les 32 échantillons de bracelets

	Occurrence	[C] Minimum	[C] Maximum	[C] P10	[C] P25	[C] P50 (Médiane)	[C] P75	[C] P90
PHTALATES								
BBP	100,0%	<LQ	30875	208	468	864	1579	3217
DnBP	100,0%	730	8628	1854	2746	3594	4345	5653
DEHP	100,0%	5743	240288	24112	36538	71889	121046	173582
DEP	100,0%	680	66878	1120	1624	2899	8510	19434
DiBP	100,0%	2040	297879	2889	3893	5006	8594	34830
DMP	100,0%	ND	813	<LQ	<LQ	82	195	286
DnOP	0,0%	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
DiDP	100,0%	1088	289591	3533	5409	10376	28840	49674
DiNP	100,0%	5980	286773	8321	12803	23649	42849	153608
PESTICIDES								
Diazinon	20,0%	ND	<LQ	ND	ND	ND	ND	<LQ
Fipronil	23,3%	ND	47	ND	ND	ND	ND	26
Fipronil sulfone	56,7%	ND	653	ND	ND	<LQ	57	187
Imidacloprid	6,7%	ND	175	ND	ND	ND	ND	ND
Isoproturon	0,0%	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Permethrine	100,0%	<LQ	5726	65	201	657	963	1644
Propiconazole	20,0%	ND	211	ND	ND	ND	ND	<LQ
Propoxur	0,0%	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Tebuconazole	3,3%	ND	53	ND	ND	ND	ND	ND
PERFLUORES								
PFOA	0,0%	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PFOS	0,0%	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PHENOLS								
BPA	16,7%	ND	49	ND	ND	ND	ND	<LQ
BPF	0,0%	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
BPS	83,3%	ND	59	ND	<LQ	<LQ	<LQ	15
Triclosan	56,7%	ND	67	ND	ND	<LQ	<LQ	<LQ

[C] Concentration en ng/bracelet ; LQ : Limite de Quantification ; ND : Non Détecté

Annexe 4 : Statistiques descriptives pour les 32 échantillons capillaires

	Occurrence	[C] Minimum	[C] Maximum	[C] P10	[C] P25	[C] P50	[C] P75	[C] P90
PHTALATES								
BBP	83,3%	ND	1302	ND	<LQ	<LQ	110	169
DnBP	100,0%	391	2620	583	753	844	1189	1434
DEHP	100,0%	413	41058	821	1327	2882	5176	13600
DEP	100,0%	151	81178	213	268	756	1368	5771
DiBP	100,0%	818	25358	937	1075	1601	1957	6186
DMP	36,7%	ND	426	ND	ND	ND	<LQ	<LQ
DnOP	0,0%	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
DiDP	100,0%	179	19078	477	1190	2387	7963	11194
DiNP	100,0%	621	18374	1875	2639	4382	8175	15492
PESTICIDES								

Diazinon	0,0%	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Fipronil	23,3%	ND	89	ND	ND	ND	ND	<LQ
Fipronil sulfone	30,0%	ND	1080	ND	ND	ND	54	190
Imidacloprid	6,7%	ND	60	ND	ND	ND	ND	ND
Isoproturon	0,0%	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Perméthrine	53,3%	ND	561	ND	ND	<LQ	196	381
Propiconazole	3,3%	ND	<LQ	ND	ND	ND	ND	ND
Propoxur	0,0%	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Tebuconazole	0,0%	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PERFLUORES								
PFOA	0,0%	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PFOS	0,0%	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
PHENOLS								
BPA	13,3%	ND	151	ND	ND	ND	ND	<LQ
BPF	0,0%	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
BPS	60,0%	ND	269	ND	ND	<LQ	36	123
Triclosan	13,3%	ND	32	ND	ND	ND	ND	<LQ

[C] Concentration pg/mg ; LQ : Limite de Quantification ; ND : Non Détecté

Annexe 5 : Test de sensibilité et de spécificité

	Sensibilité	Spécificité
BBP	1	0
DMP	1	0.0526315789473684
Perméthrine	1	0
Fipronil	0.857142857142857	0.956521739130435
Fipronil sulfone	1	0.619047619047619
Imidacloprid	0.5	0.964285714285714
Propiconazole	1	0.827586206896552
BPA	0.25	0.846153846153846
BPS	0.833333333333333	0.166666666666667
Triclosan	0.5	0.423076923076923

Annexe 6 : Test de Student pour la Corrélation de Spearman

Substances	p.value	rho
PHTALATES		
BBP	0	0,405124504
DEHP	0	0,465299253
DEP	0	0,257612940
DiBP	0	0,497252444
DiDP	0,008152962	0,048415250
DiNP	0,004628775	0,057029643
DMP	0	0,468417332
DnBP	0,000006910	0,093752897
PESTICIDES		
Fipronil	0	0,850795165
Fipronil sulfone	0	0,788639776
Imidacloprid	0	0,514375761
Perméthrine	0	0,466810913
Propiconazole	0	0,489183451
PHENOLS		
BPA	0,004454202	0,058607988
BPS	0,000000045	-0,116694694
Triclosan	0,000011205	-0,073154058

Rho : valeur de la corrélation ; p.value : significatif si p.value < 0,05

Références

1. Fénichel P, Brucker-Davis F, Chevalier N. The history of Distilbène® (Diethylstilbestrol) told to grandchildren – the transgenerational effect. *Annales d'Endocrinologie*. juill 2015;76(3):253- 9.
2. La Déclaration de Wingspread. 1991. :5.
3. Bergman A, Heindel J, Jobling S, Kidd K, Zoeller R. State of the science of endocrine disrupting chemicals. 2012.
4. Kabir ER, Rahman MS, Rahman I. A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. juill 2015;40(1):241- 58.
5. Futran Fuhrman V, Tal A, Arnon S. Why endocrine disrupting chemicals (EDCs) challenge traditional risk assessment and how to respond. *Journal of Hazardous Materials*. avr 2015;286:589- 611.
6. Borgert CJ, Baker SP, Matthews JC. Potency matters: Thresholds govern endocrine activity. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. oct 2013;67(1):83- 8.
7. Santé et sécurité au travail. Perturbateurs endocriniens. INRS. 2020
8. Nisse C, de Lille C-U. Place de la biométrie dans la surveillance des expositions professionnelles à des agents chimiques : indications et limites. :23.
9. Cuypers E, Flanagan RJ. The interpretation of hair analysis for drugs and drug metabolites. *Clinical Toxicology*. 1 févr 2018;56(2):90- 100.
10. Usman M, Naseer A, Baig Y, Jamshaid T, Shahwar M, Khurshid S. Forensic toxicological analysis of hair: a review. *Egypt J Forensic Sci*. déc 2019;9(1):17.
11. O'Connell SG, Kincl LD, Anderson KA. Silicone Wristbands as Personal Passive Samplers. *Environ Sci Technol*. 18 mars 2014;48(6):3327- 35.
12. Romanak KA, Wang S, Stubbings WA, Hendryx M, Venier M, Salamova A. Analysis of brominated and chlorinated flame retardants, organophosphate esters, and polycyclic aromatic hydrocarbons in silicone wristbands used as personal passive samplers. *Journal of Chromatography A*. mars 2019;1588:41- 7.
13. Huckins JN, Petty JD, Booij K. Monitors of organic chemicals in the environment: semipermeable membrane devices. New York: Springer; 2006. 223 p.
14. Wang S, Romanak KA, Tarallo S, Francavilla A, Viviani M, Vineis P, et al. The use of silicone wristbands to evaluate personal exposure to semi-volatile organic chemicals (SVOCs) in France and Italy. *Environmental Pollution*. déc 2020;267:115490.
15. Levasseur JL, Hammel SC, Hoffman K, Phillips AL, Zhang S, Ye X, et al. Young children's exposure to phenols in the home: Associations between house dust, hand wipes, silicone wristbands, and urinary biomarkers. *Environment International*. févr 2021;147:106317.
16. Karthikeyan BS, Ravichandran J, Aparna SR, Samal A. DEDuCT 2.0: An updated knowledgebase and an exploration of the current regulations and guidelines from the perspective of endocrine disrupting chemicals. *Chemosphere*. mars 2021;267:128898.
17. Karthikeyan BS, Ravichandran J, Mohanraj K, Vivek-Ananth RP, Samal A. A curated knowledgebase on endocrine disrupting chemicals and their biological systems-level perturbations. *Science of The Total Environment*. nov 2019;692:281- 96.
18. Base de données. Fiche Toxicologique 317 Phtalate de benzyle et de butyle. INRS.
19. Base de données. Fiche Toxicologique 98 Phtalate de dibutyle. INRS.
20. Sources d'imprégnation aux phtalates. RES. 2012.
21. Base de données. Fiche Toxicologique 246 Phtalate de diisodécyle. INRS.
22. Bisphénol F et S. INERIS Données technico-économiques sur les substances chimiques en France. 2015.
23. Triclosan. INERIS. Données technico-économiques sur les substances chimiques en France. 2015.
24. Imprégnation de la population française par les phtalates. Programme national de biosurveillance, Esteban 2014-2016. :52.
25. Lewis KA, Tzilivakis J, Warner DJ, Green A. An international database for pesticide risk assessments and management. *Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal*. 18 mai 2016;22(4):1050- 64.
26. Campagne nationale exploratoire des pesticides dans l'air ambiant. Premières interprétations sanitaires. ANSES. 2020.

27. Blondeau P, Fervers B, Seta N, Lecureur V. Contamination des logements français en composés organiques semi-volatils en phase particulaire. Thèse présentée par Corrine Mandin. 2015. :223.
28. Aerts R, Joly L, Sztternfeld P, Tsilikas K, De Cremer K, Castelain P, et al. Silicone Wristband Passive Samplers Yield Highly Individualized Pesticide Residue Exposure Profiles. Environ Sci Technol. 2 janv 2018;52(1):298- 307.
29. Imprégnation de la population française par les composés perfluorés. Programme national de biosurveillance, Esteban 2014-2016. :59.
30. Imprégnation de la population française par les bisphénols A, S et F. Programme national de biosurveillance. Esteban 2014-2016. :58.
31. Weatherly LM, Gosse JA. Triclosan exposure, transformation, and human health effects. Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B. 17 nov 2017;20(8):447- 69.
32. Avis commun HCSP et HCFEA relatif aux données de recherche et études sur la santé et le développement global de l'enfant. 2019;4.
33. Nilsen FM, Tulve NS. A systematic review and meta-analysis examining the interrelationships between chemical and non-chemical stressors and inherent characteristics in children with ADHD. Environmental Research. janv 2020;180:108884.
34. Thérèse Greck PF. La consultation préconceptionnelle environnementale. Mise au point. 2019;3.

Sites internet:

- ¹ Bergman Å, United Nations Environment Programme, World Health Organization. State of the science of endocrine disrupting chemicals - 2012 an assessment of the state of the science of endocrine disruptors [Internet]. Geneva: WHO : UNEP; 2013 [cité 28 mai 2021]. Disponible sur: <http://www.who.int/ceh/publications/endocrine/en/index.html>
- ² Stratégie Nationale Perturbateurs Endocriniens 2 - Document de référence.pdf [Internet]. [cité 26 mai 2021]. Disponible sur: <https://www.ecologie.gouv.fr/sites/default/files/SNPE%202%20-%20Document%20de%20r%C3%A9f%C3%A9rence.pdf>
- ³ Rapport ANSES Perturbateurs Endocriniens 2019 [Internet]. [cité 25 mai 2021]. Disponible sur: <https://www.anses.fr/fr/system/files/CDLR-mg-PerturbateursEndocriniens13.pdf>
- ⁴ Perturbateurs endocriniens. Sources d'exposition - Risques - INRS [Internet]. [cité 4 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.inrs.fr/risques/perturbateurs-endocriniens/sources-exposition.html>
- ⁵ Mesure des expositions aux agents chimiques et biologiques. Surveillance biologique des expositions aux agents chimiques - Risques - INRS [Internet]. [cité 4 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.inrs.fr/risques/mesure-expositions-agents-chimiques-biologiques/surveillance-biologique-exposition.html>
- ⁶ Analyse de cheveux [Internet]. [cité 21 juin 2021]. Disponible sur: <https://www.labochemtox.com/fr/expertises/analyse-de-cheveux>
- ⁷ Glossaire : Di(2-ethylhexyl) phtalate (DEHP) [Internet]. [cité 9 juill 2021]. Disponible sur: https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/opinions_layman/fr/phtalates-fournitures-scolaires/glossaire/def/di-ethylhexyl-phtalate-dehp.htm
- ⁸ Bisphénol A | Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail [Internet]. [cité 9 juill 2021]. Disponible sur: <https://www.anses.fr/fr/content/bisph%C3%A9nol>

RÉSUMÉ

Les perturbateurs endocriniens sont une problématique émergente des dernières décennies, dont les caractéristiques diffèrent des toxiques « classiques ». La totalité de la population étant exposée à ces substances, des outils permettant l'évaluation de cette exposition sont développés. Le bracelet en silicone, outil novateur d'échantillonnage passif, est comparé dans cette étude avec l'analyse capillaire. 32 volontaires ont porté le bracelet en silicone durant 7 jours consécutifs et ont de plus réalisé un prélèvement capillaire. Quatre familles de substances (les phtalates, les pesticides, les perfluorés et les phénols), suspectées d'être perturbatrices endocriniennes, ont été recherchées. L'analyse des substances chimiques par le bracelet en silicone a mis en évidence des profils globalement similaires d'occurrence et de concentration, en comparaison avec l'analyse capillaire et avec d'autres études s'intéressant à ces substances. Les comparaisons des résultats les plus pertinents en termes d'occurrences, de concentrations, de corrélations de Spearman et d'indices de Jaccard ont été notamment observées dans la famille des phtalates et des pesticides. Cette étude suggère que le bracelet, non-invasif, simple d'utilisation et peu coûteux, est un outil d'intérêt pour l'évaluation de l'exposition environnementale aux perturbateurs endocriniens, et semble refléter en outre l'exposition de l'organisme à ces substances.