

SANTÉ
ENVIRONNEMENT

OCTOBRE 2022

ÉTUDES ET ENQUÊTES

IMPRÉGNATION DE LA POPULATION
FRANÇAISE PAR LES
MYCOTOXINES

Programme national de biosurveillance, Esteban 2014-2016

Résumé

Imprégnation de la population Française par les mycotoxines

Programme national de biosurveillance, Esteban 2014-2016

Les mycotoxines sont des substances secrétées par certaines souches toxigènes de plusieurs espèces de moisissures (champignons microscopiques) telles qu'*Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Byssochlamys*, *Alternaria* etc. qui contaminent notamment les céréales et les végétaux avant et ou après la récolte. La toxicité des mycotoxines dépend de l'espèce et de la nature de la toxine. Elles sont en général thermostables, résistent aux procédés de transformation et peuvent se retrouver dans de nombreuses denrées alimentaires et être responsables d'intoxications aiguës ou chroniques chez l'homme ou les animaux. Sur les 300 à 400 mycotoxines connues, une dizaine d'entre elles peuvent être à l'origine de pathologies animales ou humaines : les aflatoxines (AF), l'ochratoxine A (OTA), les fumonisines le déoxynivalénol (DON), les toxines T-2 et HT-2, les trichotécènes (TC), la zéaralénone (ZEN) et les patulines qui contaminent les fruits notamment la pomme. En 1993, le CIRC (Centre international de recherche sur le cancer) a classé les aflatoxines dans le groupe 1, cancérigène pour l'homme ; l' AFB_1 , considérée comme l'un des plus puissants cancérigènes génotoxiques naturels, est classé dans le groupe 1 (CIRC, 2002). L'organe cible est le foie. Quant à l'OTA, il est considéré comme peut-être cancérigène pour l'homme et classé dans le groupe 2B (1993) ; chez l'homme tout comme chez les animaux, le rein est le principal organe cible. L'OTA aurait aussi des effets immunotoxiques et neurotoxiques. De par leurs effets néfastes, l'exposition aux mycotoxines doit rester aussi faible que possible pour protéger la population. L'OMS encourage à surveiller les teneurs en mycotoxines dans les aliments car elles représentent un risque pour la santé humaine et animale.

En France, les données d'imprégnation de la population française par les mycotoxines sont quasi inexistantes à l'exception d'une étude réalisée dans trois régions françaises [1, 2]. L'étude transversale Esteban (Étude de santé sur l'environnement, la biosurveillance, l'activité physique et la nutrition) a permis de mesurer les niveaux d'imprégnation par les aflatoxines et l'OTA de la population en France continentale âgée de 6 à 74 ans entre avril 2014 et mars 2016. L'objet de cette note est de présenter les résultats de l'imprégnation par les AF et l'OTA, et d'analyser les déterminants de l'exposition à l'OTA chez les adultes. Les aflatoxines B_1 , B_2 , G_1 , G_2 , M_1 n'étaient pas quantifiées, ni chez les enfants ni chez les adultes. Pour l'OTA, le pourcentage de quantification était égal à 45,5% chez les enfants et à 47,8% chez les adultes. Les moyennes géométriques des niveaux d'imprégnation par l'OTA étaient inférieures à la LOQ ou non fournies compte tenu du taux de censure important. La recherche des déterminants de l'exposition par l'OTA, essentiellement alimentaire, chez les adultes montrait une augmentation de l'imprégnation avec la consommation de charcuteries. Toutes les associations n'avaient probablement pas pu être identifiées du fait de la petite taille de l'échantillon. Une prochaine étude de biosurveillance pourrait permettre d'approfondir la recherche de déterminants des imprégnations observées et d'élargir la connaissance de l'imprégnation de la population française à d'autres mycotoxines.

MOTS-CLÉS : BIOSURVEILLANCE ; ESTEBAN ; IMPRÉGNATION ; EXPOSITION ; SUBSTANCES TOXIQUES ; ENVIRONNEMENT ; POPULATION GÉNÉRALE ; OCHRATOXINE A ; AFLATOXINES ; URINES, MYCOTOXINES ; DÉTERMINANTS ; ENFANTS, BIOMARQUEURS, VALEURS DE RÉFÉRENCE D'EXPOSITION (VRE).

Citation suggérée : Imprégnation de la population française par les mycotoxines. Programme national de biosurveillance, Esteban 2014-2016. Saint-Maurice : Santé publique France, 2022. 35 p. Disponible à partir de l'URL : www.santepubliquefrance.fr

ISSN : 2609-2174 / ISBN-NET : 979-10-289-0796-9 / RÉALISÉ PAR LA DIRECTION DE LA COMMUNICATION, SANTÉ PUBLIQUE FRANCE / DÉPÔT LÉGAL : OCTOBRE 2022

Abstract

Impregnation of the French population by mycotoxins.

National human Biomonitoring Program, Esteban 2014-2016

Mycotoxins are substances secreted by certain toxigenic strains of several species of molds such as *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Byssoschlamys*, *Alternaria*, etc. that contaminate cereals and plants before and or after harvest. The toxicity of mycotoxins depends on the species and the nature of the toxin. They are generally thermostable, resist processing and can be found in many foodstuffs and be responsible for acute or chronic poisoning in humans or animals. Of the 300 to 400 known mycotoxins, about ten of them can be the cause of animal or human pathologies: aflatoxins (AF), ochratoxin A (OTA), fumonisins, deoxynivalenol (DON), T-2 and HT-2 toxins), trichothecenes (TC), zearalenone (ZEN) and patulins which contaminate fruits, especially apple. The IARC in 1993 classified aflatoxins in group 1, carcinogenic to humans; AFB₁ is considered one of the most powerful natural genotoxic carcinogens. The target organ is the liver. As for OTA, it is considered as possibly carcinogenic to humans and classified in group 2B (1993); in humans as well as in animals, the kidney remains the main target organ. OTA would also have immunotoxic and neurotoxic effects. Because of their adverse effects, exposure to mycotoxins should be kept as low as possible to protect the population. WHO encourages monitoring of mycotoxin levels in foods as they pose a risk to human and animal health.

In France, the data of impregnation of the French population by mycotoxins are almost non-existent except for a study carried out in 3 French regions [1, 2]. The Esteban (Environmental, Biomonitoring, Physical Activity, and Nutrition Health Study) cross-sectional study measured aflatoxin and OTA impregnation levels in the population in mainland France aged 6 to 74 years between April 2014 and March 2016. The purpose of this note is to present the results of FA and OTA impregnation, and to analyze the determinants of OTA exposure in adults. Aflatoxins B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ were not quantified in either children or adults. For OTA, the percentage of quantification was equal to 45.5% in children and 47.8% in adults.

The geometric means of OTA impregnation levels were lower than the LoQ or not provided given the high rate of censorship. Investigation of the determinants of OTA exposure, primarily dietary, in adults showed an increase in impregnation with consumption of deli meats. Not all associations could probably be identified because of the small sample size. The next biomonitoring study could allow to deepen the research of determinants in adults, to know those of children and to widen the knowledge of the impregnation of the French population to other mycotoxins.

KEY WORDS: BIOMONITORING; ESTEBAN; IMPREGNATION; EXPOSURE; TOXICS; ENVIRONMENT; GENERAL POPULATION; OCHRATOXIN A; AFLATOXINS; MYCOTOXINS; DETERMINANTS; CHILDREN, URINES, BIOMARKERS, EXPOSURE REFERENCE VALUE

Auteurs

Amivi Oleko, Phan Hoang, Clémence Fillol, Jessica Gane, Abdessattar Saoudi, Abdelkrim Zeghnoun,

Santé publique France, Direction santé environnement travail, Saint-Maurice, France

Santé publique France, Direction appui, traitements et analyses des données, Saint-Maurice, France

L'étude a été réalisée avec la participation des ministères des Solidarités et de la Santé et de la Transition écologique et solidaire, des centres d'examens de santé de l'Assurance maladie et du Cetaf (Centre technique d'appui et de formation des centres d'examen de santé).

Sommaire

Résumé.....	2
Abstract.....	3
Auteurs.....	4
Introduction.....	7
1. Généralités sur les mycotoxines.....	8
1.1. Les mycotoxines, origines et réglementations.....	8
1.2. Exposition de la population.....	9
1.2.1. Les expositions alimentaires.....	9
1.2.2. Les expositions environnementales.....	11
1.2.3. Les expositions professionnelles.....	11
1.2.4. Les autres sources d'exposition.....	11
1.3. Devenir dans l'organisme.....	12
1.3.1. Absorption et distribution.....	12
1.3.2. Élimination - Excrétion.....	12
1.4. Effets sanitaires.....	12
1.5. Mesure et interprétation des niveaux biologiques des mycotoxines.....	13
2. Matériel et méthodes.....	15
2.1. Contexte du programme national de biosurveillance et de l'étude Esteban.....	15
2.2. Les objectifs.....	15
2.3. Population.....	15
2.4. Recueil des données.....	16
2.5. Collecte et traitement des échantillons biologiques d'urines.....	16
2.6. Dosage des mycotoxines et de la créatinine urinaire.....	17
2.6.1. Dosage des aflatoxines et de l'ochratoxine A urinaire.....	17
2.6.2. Dosage de la créatinine urinaire.....	17
2.7. Analyses statistiques.....	18
2.7.1. Plan de sondage et pondérations.....	18
2.7.2. Traitement des données manquantes et censurées à gauche.....	18
2.7.3. Prise en compte de la dilution urinaire.....	18
2.7.4. Description des niveaux d'imprégnation.....	18
2.7.5. Recherche des déterminants des niveaux d'imprégnation.....	19
2.7.6. Logiciels utilisés.....	19
3. Résultats des analyses descriptives de l'imprégnation par l'OTA chez les enfants.....	20
3.1. Résultats du dosage de l'OTA chez les enfants.....	20
3.2. Niveaux d'ochratoxine A mesurés dans les études antérieures françaises et internationales chez les enfants.....	21
4. Résultats des analyses descriptives de l'imprégnation par l'OTA chez les adultes.....	22
4.1. Résultats du dosage chez les adultes.....	22
4.1.1. Niveaux d'OTA chez les adultes.....	22
4.1.2. Niveaux élevés.....	23
4.2. Niveaux d'ochratoxine A mesurés dans les études antérieures françaises et internationales chez les adultes.....	23
5. Déterminants de l'imprégnation par l'ochratoxine A chez les adultes.....	25
6. Discussion.....	26

7. Valeurs de référence d'exposition (VRE) en OTA, À partir des résultats d'ESTEBAN.....	28
8. Conclusion.....	29
Références bibliographiques.....	30
Annexe 1. Liste des variables testées dans le modèle multivarié chez les adultes.....	35

INTRODUCTION

Les mycotoxines sont des composés toxiques produits naturellement par certains types de moisissures ou champignons microscopiques. Ces moisissures se développent sur les céréales, les fruits séchés, les fruits secs oléagineux, les épices, le café, les fruits, le thé, etc., avant ou après la récolte, pendant la conservation. La plupart des mycotoxines sont chimiquement stables et résistent aux traitements thermiques ou de séchage des aliments. Cependant, des procédés à sec, la torréfaction ou le raffinage réduisent considérablement la teneur de certaines mycotoxines dans les aliments. Les mélanges d'aflatoxines sont classées par le CIRC (Centre international sur la recherche contre le cancer) : cancérigènes certain (groupe 1), l'aflatoxine M₁ et l'ochratoxine A sont classées dans le groupe 2B (cancérigène possible) par le CIRC depuis 1993 [3, 4]. La contamination d'un même aliment par plusieurs mycotoxines est relativement fréquente, une même espèce de moisissure peut produire plusieurs toxines et, inversement, différentes moisissures peuvent produire la même toxine, ainsi la co-exposition à plusieurs mycotoxines est probable avec des effets toxicologiques additifs ou synergiques. En effet, plus de 1 000 sortes ont été identifiées et les chercheurs d'Inrae¹ ont montré que la toxicité cumulée de plusieurs mycotoxines, est supérieure à la somme des toxicités de chacune d'elles².

Une carcinogénicité, une hépatotoxicité, une néphrotoxicité, une hématotoxicité ainsi que des troubles endocriniens sont liés à une exposition chronique à de faibles niveaux de mycotoxines [3]. De plus, les mycotoxines peuvent entraîner des déficiences métaboliques et biochimiques, des réactions allergiques, des maladies immunitaires et des troubles de la reproduction. L'effet des mycotoxines sur la santé humaine dépend du type de toxine, de son métabolisme, de la pharmacocinétique et de l'accumulation de la mycotoxine, des conditions d'exposition, de l'âge, du sexe, du système immunitaire et de l'état de santé de la personne exposée [5, 6]. Éviter les contaminations est donc un enjeu important pour la santé.

L'étude Esteban a permis pour la première fois de disposer d'une distribution des niveaux d'imprégnation par les mycotoxines (AF et OTA) urinaires sur un échantillon représentatif national d'adultes âgés de 18 à 74 ans ainsi que dans un échantillon d'enfants âgés de 6 à 17 ans vivant en France métropolitaine.

Après un rappel des généralités sur les mycotoxines, leurs principales sources d'exposition et les effets de cette exposition sur la santé (1), ce document présente la méthode utilisée pour la collecte des données et leur analyse (2), puis les résultats descriptifs des niveaux d'imprégnation par les mycotoxines observées dans le cadre de l'étude Esteban (3) et enfin les résultats de la recherche des déterminants de l'exposition à l'OTA dans la population cible des adultes (4).

¹ L'Inrae, Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement est né en janvier 2020. Il est issu de la fusion entre l'Inra, Institut national de la recherche agronomique et Irstea, Institut national de recherche en sciences et technologies pour l'environnement et l'agriculture.

² <https://www.inrae.fr/actualites/letude-fin-mycotoxines>

1. GÉNÉRALITÉS SUR LES MYCOTOXINES

1.1. Les mycotoxines, origines et réglementations

Les mycotoxines sont des métabolites secondaires produits par des souches toxigènes de diverses espèces de moisissures. La toxicité des mycotoxines chez l'homme est variable selon la nature de la toxine. On distingue plusieurs familles :

- **Les aflatoxines (AF)**, constituent un groupe de 18 composés présents dans la nature, elles sont produites par des souches de moisissures appartenant au genre *Aspergillus*. Les 4 formes les plus couramment rencontrées dans les aliments sont AFB₁, AFB₂, AFG₁, AFG₂ retrouvés dans les fruits secs dont les figues, les graines oléagineuses, les céréales et leurs produits dérivés ; l'AFM₁ un produit de métabolisation de l'AFB₁ est quant à elle retrouvée dans le lait et les produits à base de lait suite à l'alimentation des animaux par des aliments contaminés.
- **Les toxines d'*Alternaria*** : produites par le genre *Alternaria*, elles contaminent les pommes, les tomates, les agrumes et leurs produits dérivés. On les retrouve aussi sur les olives, les graines de tournesol et de colza. Les mycotoxines produites sont : l'alternariol, l'ester monométhyle d'alternariol, l'acide ténuazonique, l'alténuène et les altertoxines. Leur présence dans les aliments est faible.
- **Les fumonisines (FB)** dont les formes les plus répandues sont B1, B2 et B3, sont produites par des souches toxigènes d'espèces appartenant au genre *Fusarium*. FB₁ et FB₂ sont retrouvés dans les céréales, FB₃ est minoritaire.
- **Les ochratoxines (OT)** : Les OTA, OTB et OTC sont produites par des moisissures appartenant aux genres *Aspergillus* et *Penicillium*. L'OTA forme majoritairement répandue, contamine de nombreuses denrées végétales : blé, maïs, riz, café, cacao, graines oléagineuses, raisin etc., ainsi que dans les boissons (vins, jus de fruits, bière) dans des zones au climat plutôt tempéré. Cette contamination peut survenir au champ ou lors du stockage de ces denrées. De plus, la contamination possible de l'alimentation à destination des animaux peut entraîner une contamination des denrées animales destinées à la consommation humaine, en particuliers les abats mais aussi dans les viandes (porcs et volailles).
- **La patuline (PAT)** produite par les souches toxigènes d'*Aspergillus*, de *Penicillium* et de *Byssoschlamys* en climat tempéré, on la retrouve principalement dans les fruits en particulier la pomme et ses produits dérivés (jus, compotes, etc.)
- **Les trichotécènes (TCT)** sont des mycotoxines produites par les souches toxigènes du genre *Fusarium*. Elles contaminent les céréales (blé, maïs, riz, orge, etc) et les fruits secs produits en climat tempéré. Il existe 4 groupes de TCT ; le groupe A comprenant la toxine T-2, toxine HT-2, le diacétoxyscirpénol (DAS) le monoacétoxyscirpénol (MAS), le T-2 triol et le néosolaniol (NEO) ; le groupe B comprenant le nivalénol, le déoxynivalénol (DON) le 3-acétyldéoxynivalénol (3-Ac-DON), le 15-acétyldéoxynivalénol (15-Ac-DON) et la fusarénone X (FusX) ; le groupe C comprenant notamment la crotocine et enfin le groupe D comprenant les verrucarines, les roridines et les satratoxines. Les groupes A et B sont les plus retrouvés dans l'alimentation. D'après l'Anses, 2009 [7], les toxines T-2 et HT-2, le DAS, le nivalénol et le DON sont considérés comme les toxines les plus préoccupantes parmi la famille des trichotécènes.
- **La zéaralénone (ZEA)** sont produites par des souches toxigènes du genre *Fusarium* et dans une moindre mesure *Aspergillus* en zone tempéré. On les retrouve dans les céréales (blé, maïs, riz, etc.) mais aussi dans les produits animaux par la contamination de l'alimentation animale.

Parmi ces différentes familles de mycotoxines, l'étude d'imprégnation par les mycotoxines dans Esteban a porté sur deux familles ; les aflatoxines et l'ochratoxine A.

À cause des effets nocifs de certaines mycotoxines, il existe plusieurs règlements ou recommandations européens s'appliquant en France quant à leur présence dans les aliments notamment :

- pour l'alimentation animale :
 - ✓ Directive du parlement européen sur les substances indésirables dans les aliments pour animaux (2002/32/CE).
 - ✓ Recommandation de la Commission du 17 août 2006, concernant la présence de déoxynivalénol, de zéaralénone, d'ochratoxine A, des toxines T-2 et HT-2 et de fumonisines dans les produits destinés à l'alimentation animale (2006/576/CE).
 - ✓ Recommandation de la Commission européenne concernant la présence de toxines T-2 et HT-2 dans les céréales et les produits à base de céréales (2013/5165/CE).
- Pour l'alimentation humaine
 - ✓ Règlement (CE) N° 1881/2006 de la Commission du 19 décembre 2006 portant fixation de teneurs maximales pour certains contaminants (aflatoxines, l'ochratoxine A (OTA), la patuline (PAT), le DON, la zéaralénone (ZEN), les FBs (somme des FB1 et FB2), la somme des toxines T-2 et HT-2, et la citrinine) dans les denrées alimentaires, modifié par les règlements (CE) N°1126/2007, 565/2008, 629/2008, 105/2010, 165/2010, 420/2011. Ce règlement prévoit également des limites réglementaires beaucoup plus faibles pour les aliments destinés aux nourrissons et aux jeunes enfants en raison de leur vulnérabilité particulière et des différents modes de consommation. Outre les teneurs maximales en mycotoxines, le règlement (CE) 401/2006 de l'UE prévoit des plans d'échantillonnage en fonction de neuf groupes différents de denrées alimentaires, en tenant compte de la distribution hétérogène des mycotoxines dans les produits agricoles (CE, 2006b).

En effet, les risques potentiels pour la santé humaine et animale ont été pris en compte par différentes organisations (FAO, FDA, OMS, CE) qui sont dotées d'une réglementation déterminant les concentrations maximales autorisées pour certaines mycotoxines dans les denrées destinées à l'alimentation humaine et animale. À titre d'exemple, la teneur maximale en aflatoxine B1 autorisée par la CE est de 2 µg. kg⁻¹ dans les céréales destinées à l'alimentation humaine et de 20 µg. kg⁻¹ dans celles destinées à l'alimentation animale. En raison des effets cancérigènes génotoxiques sans seuil, il est important de réduire l'exposition à un niveau aussi faible que possible.

Enfin, la commission européenne recommande aux états membres, avec l'appui des industriels, de mettre en place une surveillance visant à détecter la présence des toxines T-2 et HT-2 produites par le groupe A des trichotécènes dans les céréales et les produits à base de céréales (2013/165/UE du 27 mars 2013) ainsi que, en cas de dépassement des valeurs indicatives proposées, de réaliser des enquêtes pour mieux comprendre l'origine des contaminations.

1.2. Exposition de la population

1.2.1. Les expositions alimentaires

La voie d'exposition la plus courante aux mycotoxines est l'ingestion par l'alimentation, soit par exposition directe via la consommation de produits agricoles directement contaminés, soit par exposition indirecte via la consommation d'aliments dérivés d'animaux nourris avec des aliments contaminés. La consommation d'aliments contaminés par l'homme est reconnue comme la principale source d'exposition.

Dans la deuxième étude de l'alimentation totale française (EAT2) réalisée entre 2006 et 2010 [8], les contributeurs pour les mycotoxines DON et ses dérivés étaient le pain et les produits de panification sèche aussi bien chez les adultes (60%) que chez les enfants (40%).

Pour la toxine T-2, les contributeurs étaient les pâtes (44%) le pain et les produits de la panification sèche (18%) chez les adultes, et les mêmes : les pâtes (46%), le pain et les produits de la panification sèche (46%) chez les enfants. Pour la Toxine HT-2, comme contributeurs, on retrouve également respectivement chez les adultes et les enfants : le pain et produits de panification sèche (61% et 40%) et les pâtes (23% et 36%).

Pour la patuline, chez les adultes, les fruits apparaissent comme le contributeur majoritaire à l'exposition à la patuline (45-50%), suivis des compotes et fruits cuits (38%) et chez les enfants, les contributeurs majoritaires à l'exposition sont les boissons fraîches sans alcool (environ 40%) et les compotes et fruits cuits (47%).

Concernant l'ochratoxine A, le nivalénol, la patuline et la zéaralénone, les résultats de l'EAT2 montrent une diminution des expositions de la population aux mycotoxines par rapport à l'EAT1. La mise en place en 2006 de la réglementation relative aux teneurs maximales en certaines mycotoxines dans les aliments (AF, OTA, déoxynivalénol, zéaralénone, fumonisines, toxines T-2 et HT-2) serait à l'origine de cette baisse.

L'exposition aux fumonisines et aux aflatoxines estimée dans l'EAT2 est équivalente à celle estimée lors de l'EAT1, alors que celle du déoxynivalénol a augmenté.

Les résultats de l'EAT2 [9] montraient que le risque peut être écarté pour la population générale pour l'ochratoxine A, les aflatoxines, la patuline, le nivalénol, les fumonisines et la zéaralénone. En revanche, il ne peut être écarté pour le déoxynivalénol et ses dérivés acétylés, pour lesquels les calculs d'exposition montrent des dépassements des VTR (valeur toxicologique de référence). Pour les toxines T-2 et HT-2, il est impossible de conclure quant au risque lié à l'exposition alimentaire en raison des performances analytiques insuffisantes. En l'absence de VTR, il n'a pas non plus été possible de conclure pour quatre autres mycotoxines (ochratoxine B, fusarénone X, diacétoxyscirpénol et monoacétoxyscirpénol).

Dans l'EATi, étude de l'alimentation totale infantile française (0-3 ans) [10], l'exposition alimentaire aux toxines T-2 et HT-2, aux DON (déoxynivalénol) et ses dérivés acétylés est jugée préoccupante. Pour ces toxines, les efforts afin de diminuer les expositions doivent être poursuivis. Par ailleurs, l'Anses considère toujours d'après les résultats de l'EATi que le risque alimentaire ne peut être écarté pour l'OTA et les aflatoxines pour lesquelles des efforts au niveau analytique doivent être réalisés afin de mieux caractériser l'exposition de la population infantile.

Par ailleurs, les mycotoxines suivantes : aflatoxines des groupes B et G et M₁, fumonisines B₁ et B₂, ochratoxine A, patuline, trichothécènes (toxine T-2, toxine HT-2, déoxynivalénol (DON) et zéaralénone sont des substances réglementées dans certaines denrées alimentaires.

Enfin, à la demande de la commission européenne, l'Efsa (*European Food Safety Authority* - Autorité européenne de sécurité des aliments) a mis à jour son avis de 2006 [11] par un nouvel avis scientifique sur l'évaluation des risques de l'ochratoxine A dans les aliments, publié en mai 2020. D'après l'Efsa, les principaux contributeurs à l'exposition alimentaire chronique à l'OTA étaient la viande en conserve, le fromage, les céréales et produits à base de céréales. Les fruits secs et frais tels que les raisins, les figues et les dattes ainsi que les jus de fruits et les nectars contribuaient également à l'exposition de certains groupes. Les confiseries non chocolatées étaient une source importante d'exposition dans les pays où les bonbons à base de réglisse sont couramment consommés.

Concernant les eaux, les eaux de pluie peuvent entraîner les mycotoxines se trouvant dans les céréales, mais également celles contenues dans le fumier. Les mycotoxines peuvent alors se retrouver dans l'eau. D'autre part, des moisissures peuvent se développer dans les systèmes de distribution d'eau [12]. L'évaluation de leurs présences dans l'eau de rivière et l'eau de boisson réalisée par l'Anses en 2015 montrait la présence des mycotoxines dans les eaux de surface, souterraines et de stations d'épuration dans des quantités plus faibles que celles détectées dans les

aliments. La présence de plusieurs mycotoxines cancérigènes (aflatoxines, ochratoxine) dans les eaux en bouteille pose la question des effets synergiques possibles entre elles [13].

1.2.2. Les expositions environnementales

Les humains et les animaux peuvent également être exposés à des mycotoxines par inhalation de poussières contaminées dans des environnements intérieurs. Les particules respirables inférieures à 1,0 micron peuvent aussi servir de vecteur de mycotoxines. Des études ont prouvé que les mycotoxines peuvent également pénétrer dans l'organisme par voie cutanée. La mesure de la cinétique de l'AFB₁, de l'OTA, de la fumonisine B1, de la citrinine, de la zéaralénone et de la toxine T-2, a montré que l'OTA avait la pénétration la plus élevée tandis que l'AFB₁ a le taux de perméabilité le plus faible [14]. Ainsi, dans une exposition environnementale plus complète l'inhalation et/ou les voies cutanées devraient également être prises en compte car elles peuvent être observées dans certains environnements agricoles (dépôts de céréales, usines d'aliments pour animaux ou entrepôts, etc.), dans les secteurs de la gestion des déchets ou dans des environnements intérieurs contaminés par les moisissures [15, 16].

L'exposition par inhalation et/ou par contact cutané est connue dans différentes branches de l'industrie, en particulier là où des environnements fortement poussiéreux sont présents et où la manipulation de produits poussiéreux (par exemple, céréales, épices ou café) est effectuée.

Quelques études décrivent cette exposition en milieu professionnel [17]. Des études épidémiologiques ont montré un rôle possible des aflatoxines comme facteur de risque professionnel avec un risque accru de cancer primaire du foie chez les travailleurs des moulins à grains en Suède par exemple [18].

1.2.3. Les expositions professionnelles

Les travailleurs peuvent potentiellement se trouver exposés à des mycotoxines essentiellement dans les secteurs suivants :

- secteur agricole ou d'élevage (fermes, silos, moulins à grains, élevages d'animaux, entrepôts à grains, récoltes et manipulations des céréales) ;
- fabrication d'aliments pour animaux (tourteaux...), manipulation de fourrage ;
- transformation de denrées alimentaires (café, épices, céréales, fruits à coque...) ;
- compostage de déchets verts ;
- interventions sur les bâtiments endommagés par l'eau ;
- laboratoire d'analyse, de recherche et de contrôle dans les industries agroalimentaires essentiellement.

En France, une étude, publiée en 2010, a permis de connaître auprès de 76 agriculteurs en Normandie (23-74 ans), les niveaux d'imprégnation urinaires au désoxynivalénol (DON) et son métabolite DON dé-époxy-désoxynivalénol (DOM-1). Le DON a été détecté dans la totalité des échantillons (intervalle de 0,5 à 28,8 ng mL⁻¹) et DOM-1 dans 26 échantillons (intervalle de 0,2 à 2,8 ng mL⁻¹) [19]. Des études d'imprégnation par les mycotoxines ont été réalisées auprès des professionnels de certains secteurs d'activités [15, 20, 21].

1.2.4. Les autres sources d'exposition

On retrouve certaines mycotoxines dans le lait maternel ou le lait de vache. Pour l'AFM₁ dans le lait, sa présence est limitée, d'après les estimations, entre 0,1% et 0,4% [22] et l'exposition de nourrissons à l'AFM₁ à partir du lait maternel a été notée dans les pays en développement [23, 24]. La présence d'AFM₁ dans le lait de vache ou de brebis consommant du fourrage contaminé par l'AFB₁ est une source supplémentaire d'exposition. L'OTA est également retrouvée dans le lait maternel [25]. Les niveaux dans le lait sont variables, compris entre 0,01 et 10 ng. mL⁻¹ pour les enquêtes menées en Europe. Certaines contaminations plus élevées ont été relevées : jusqu'à 337 ng mL⁻¹ en Sierra Leone. Ces données montrent que le nourrisson peut être exposé à l'OTA par

le lait maternel. Ces éléments doivent être pris en compte dans l'évaluation de l'exposition du nourrisson à l'OTA et la caractérisation du risque pour le nourrisson. Ainsi, il existe des données sur la surveillance de certains mycotoxines dans le lait et les aliments infantiles à base de lait [23, 26-29].

1.3. Devenir dans l'organisme

1.3.1. Absorption et distribution

L'AFB₁ est métabolisée au niveau du foie, son métabolisme se produit via les cytochromes hépatiques. L'aflatoxine M₁ (AFM₁) est un métabolite toxique de l'AFB₁ retrouvé dans le lait et les produits laitiers. La demi-vie de l'AFB₁ serait de soixante-quatre heures environ alors que celle de l'AFB₁-lys due à sa stabilité avec la lysine dans le sérum humain serait de deux à trois mois [30]. Ainsi l'AFM₁ urinaire est considérée comme le biomarqueur de l'exposition à court terme à l'AFB₁.

L'OTA est rapidement absorbée et distribuée, mais lentement éliminée et excrétée, ce qui entraîne une accumulation potentielle dans l'organisme, principalement due à la liaison aux protéines plasmatiques et à un faible taux de métabolisme. Dans le plasma, l'OTA, par son caractère lipophile, se lie aux protéines plasmatiques (principalement l'albumine à 99%), ce qui prolonge son temps de demi-vie plasmatique. Les demi-vies plasmatiques varient de plusieurs jours chez les rongeurs et les porcs à plusieurs semaines chez les primates non humains et les humains. La demi-vie de l'OTA dans le sérum chez l'homme exposé par voie orale est estimée à 35,5 jours [31]. La principale voie métabolique de l'OTA est l'hydrolyse en OT α , suivie de la conjugaison avec l'acide glucuronique. Sur la base d'une dégradation efficace dans le rumen des ruminants - forte activité microbienne, les protozoaires sont majoritairement impliqués dans le processus de dégradation de l'OTA -, les niveaux d'OTA dans le lait de vache sont faibles, ainsi donc, des concentrations d'OTA relativement élevées ont été trouvées dans le lait maternel comparativement à celles trouvées dans le lait de vache [11].

1.3.2. Élimination - Excrétion

L'élimination de l'AFB₁ est principalement biliaire. Elle représente environ 50% de la dose excrétée chez la plupart des espèces animales, tandis que la voie urinaire représente 15 à 25% de la dose ingérée.

L'OTA et ses métabolites sont excrétés par la voie urinaire qui est majoritaire mais aussi par les fèces. La voie urinaire semble prédominer chez l'homme [32]. Les deux voies sont lentes, en raison de la forte liaison de l'OTA aux protéines plasmatiques et du faible taux de métabolisme.

L'excrétion rénale de l'OTA présente un intérêt particulier car le rein est le principal organe cible de la toxicité de l'OTA. En raison de sa forte liaison aux protéines plasmatiques, l'OTA subit une sécrétion tubulaire plutôt qu'une filtration glomérulaire, suivie d'une réabsorption sur tous les segments du néphron [33]. La réabsorption de l'OTA sécrétée et filtrée conduit non seulement à son accumulation dans le tissu rénal, mais retarde également son excrétion.

1.4. Effets sanitaires

Le CIRC, dès 1993, a classé les **aflatoxines** dans le groupe 1 à savoir « cancérogène pour l'homme » [3, 4]. La cancérogénicité hépatique liée à l'AFB₁ est substantiellement plus élevée chez les porteurs du virus de l'hépatite B. Les aflatoxines ont un effet immunosuppresseur, elles peuvent donc réduire la résistance aux agents infectieux (VIH par exemple). Le CIRC considère l'AFB₁ comme « cancérogène pour l'homme » (groupe 1), l'AF M₁ comme « peut-être cancérogène pour l'homme » (groupe 2B) et l'AFG₁ dans le groupe 3.

Chez l'homme comme chez l'animal, le rein est le principal organe cible de l'OTA. Une exposition prolongée conduirait à une glucosurie, une protéinurie et une dégradation des fonctions tubulaires plus particulièrement le tubule proximal. L'exposition humaine à l'OTA par les aliments était à

l'origine de la survenue d'une pathologie nommée néphropathie endémique des Balkans (NEB) en lien avec une forte contamination des aliments dans cette région. Parmi les espèces animales, les porcins sont considérés comme les plus sensibles sur la base d'effets néphrotiques précoces chez le porc. Chez l'homme, l'OTA aurait également des effets immunotoxiques et neurotoxiques. L'OTA est considérée par le CIRC (1993) comme « peut-être cancérigène pour l'homme » (groupe 2B). Bien que des études aient montré des effets tératogènes de l'OTA, ceux-ci apparaissent à des doses très supérieures à celles auxquelles apparaissent les effets néphrotiques.

Concernant la **patuline**, les signes d'une intoxication aiguë comme chronique sont principalement neurologiques, mais aussi une perte de poids, des désordres gastro-intestinaux et des perturbations hormonales. La patuline serait aussi cytotoxique et génotoxique. Elle est considérée par le CIRC comme « inclassable quant à sa cancérigénicité pour l'homme » (groupe 3) (IARC 1986).

Pour ce qui est des **fumonisines** (FB), chez l'homme, la FB₁ a été associée à des cas de cancer de l'œsophage et à un défaut de fermeture du tube neural. Les FB₁ et FB₂ sont considérées par le CIRC depuis 2002 comme peut-être cancérigène pour l'homme (Groupe 2B).

Plusieurs données existent concernant les effets des trichotécènes (TCT) sur la santé animale (modifications hématologiques, effets sur la reproduction et le développement reprotoxique, inhibition de la sécrétion hormonales, effets immunotoxiques) mais les données sont contradictoires.

Enfin, la zéaralénone considéré du groupe 3 par le CIRC, et certains de ses métabolites ont une activité œstrogénique, ils induisent des troubles de la reproduction chez l'animal.

1.5. Mesure et interprétation des niveaux biologiques des mycotoxines

Plusieurs études ont montré la présence de mycotoxines dans différentes matrices biologiques humaines comme le sérum, le plasma, le lait maternel, l'urine ou les fèces. Toutefois, il convient de noter que la corrélation entre tout biomarqueur dans un liquide biologique et l'exposition dépend du type de matrice échantillonnée, du temps entre l'exposition et l'échantillonnage, la pharmacocinétique de la mycotoxine et la capacité de détection par la méthode analytique utilisée pour quantifier le biomarqueur. Ainsi, la sélection de la matrice biologique et du biomarqueur à analyser pour chaque mycotoxine est cruciale et doit prendre en compte le métabolisme des mycotoxines chez l'homme [6].

D'après plusieurs études, l'exposition à l'OTA peut être mesurée dans le plasma, le sérum, le sang, l'urine et le lait maternel [34-39]. En 1979, la détermination de l'OTA dans le sang total et le sérum humain a été mise au point. En 2005, Scott a décrit l'OTA dans le sérum comme un biomarqueur particulièrement utile de l'exposition à l'OTA en raison de sa liaison de haute affinité à l'albumine sérique ou à d'autres petites protéines, ce qui devrait entraîner une augmentation dans le sérum du taux d'OTA ainsi que sa persistance dans la matrice sanguine [40]. Le taux sanguin d'OTA est le reflet d'une exposition en continu dans le temps. Le sérum ou le plasma est considéré comme la matrice la plus appropriée par rapport au sang total [41]. La détermination de l'OTA dans le sang reste la méthode de référence pour surveiller l'exposition humaine à l'OTA.

Dans le rapport de l'agence européenne Efsa de 2020 [11], il est mentionné que la concentration plasmatique en OTA représente l'exposition alimentaire à l'OTA sur une plus longue période par rapport à la concentration sanguine en raison de la liaison de l'OTA avec les protéines. D'après les études présentées par l'Efsa dans ce rapport sur la base des 7 études retenues, les concentrations plasmatiques moyennes d'OTA dans le sang, le sérum ou le plasma variaient de 0,17 à 0,56 µg. L⁻¹, tandis que les concentrations sanguines individuelles variaient de 0,1 à 10 µg. L⁻¹. Il a été noté qu'il est difficile d'établir un lien entre l'apport alimentaire et l'OTA dans le sang en raison de la longue demi-vie de l'OTA dans le plasma, due à la liaison aux protéines, et que la concentration plasmatique représente l'apport alimentaire d'OTA sur une plus longue période. La détermination de l'OTA dans l'urine semble être un marqueur plus approprié pour une exposition récente car les méthodes de

détection sont plus sensibles (environ 0,01 $\mu\text{g. L}^{-1}$). L'OTA étant excrétée dans le lait maternel, l'analyse d'échantillons de lait humain pourrait servir de marqueur d'exposition supplémentaire (les niveaux d'OTA détectés dans le lait maternel varient de 1,2 à 182 ng. L^{-1}) [11].

2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1. Contexte du programme national de biosurveillance et de l'étude Esteban

En France, la loi du Grenelle de l'environnement (n° 2009-967 du 3 août 2009) a conduit à l'élaboration d'un programme national de biosurveillance de la population française. Ce programme a été inscrit dans le plan national santé environnement (PNSE) 2 puis 3. Ce programme, préparé entre mai 2009 et mars 2010 par un Comité de pilotage mis en place et animé par Santé publique France³, reposait sur la mise en place de deux études :

- **Le volet périnatal** au sein de la cohorte Elfe (Étude Longitudinale Française depuis l'Enfance, 2011). L'objectif était d'estimer l'exposition des femmes enceintes et de leurs enfants in utero à certains polluants présents dans l'environnement et les déterminants de ces niveaux d'imprégnation. Ce volet a fourni pour la première fois en France des indicateurs nationaux fiables et pertinents sur l'imprégnation aux polluants environnementaux des femmes enceintes [42-44]. Les mycotoxines n'ont pas fait l'objet d'une quantification dans ce volet.
- L'étude nationale transversale en population générale nommée **Esteban** (Étude de santé sur l'environnement, la biosurveillance, l'activité physique et la nutrition), dont un des volets a été conçu pour estimer l'imprégnation de la population générale âgée de 6 à 74 ans à diverses substances de l'environnement et pour améliorer la compréhension des déterminants de l'exposition. La phase de collecte des données de l'étude Esteban a eu lieu d'avril 2014 à mars 2016.

2.2. Les objectifs

Les objectifs principaux du volet surveillance biologique des expositions de l'étude Esteban concernant les mycotoxines étaient les suivants :

- décrire les niveaux des mycotoxines de la population française continentale, mesurés à partir du prélèvement des premières urines du matin recueilli et établir de nouvelles valeurs de référence d'exposition ;
- étudier les variations temporelles et géographiques des niveaux d'imprégnation par les mycotoxines urinaires par une comparaison avec les résultats d'études antérieures menées en France et à l'étranger ;
- analyser les déterminants des niveaux d'imprégnation de la population chez les adultes.

2.3. Population

La population cible de l'étude Esteban était constituée de l'ensemble des personnes résidant en France continentale âgées de 6 à 74 ans et vivant dans un ménage ordinaire sur la période d'étude.

Les inclusions des participants se sont déroulées entre avril 2014 et mars 2016, au cours de quatre vagues successives, de durées égales, afin d'équilibrer les inclusions en fonction de la saisonnalité des expositions environnementales et de l'alimentation. La population cible de l'étude Esteban était constituée de l'ensemble des personnes résidant en France continentale âgées de 6 à 74 ans et vivant dans un ménage ordinaire sur la période d'étude.

³ Réunissant la Direction générale de la Santé, la Direction générale de la prévention des risques, la Direction générale du Travail, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments et l'Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail aujourd'hui regroupées au sein de l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail

Pour être éligibles, les individus devaient résider au moins quatre jours par semaine dans leur résidence habituelle, maîtriser suffisamment la langue française, ne pas déménager en dehors des zones géographiques couvertes au cours de la période d'étude et ne pas souffrir d'une pathologie rendant impossible la réalisation de l'étude (alimentation artificielle entérale ou parentérale, contre-indication à un prélèvement sanguin). Le dosage des mycotoxines dans les urines a été réalisé sur un sous-échantillon aléatoire de 400 adultes de 18 à 74 ans et 200 enfants de 6 à 17 ans.

2.4. Recueil des données

Les données relatives aux trois grands thèmes étudiés dans Esteban ont principalement été recueillies par questionnaires (renseignés en face à face avec un enquêteur se rendant au domicile des participants et par auto-questionnaires papiers ou via internet selon le choix des participants).

Des données démographiques, socio-économiques, sur l'alimentation, l'activité physique, la sédentarité, l'environnement résidentiel et professionnel, la santé générale et la consommation de soins ont été recueillies à travers la passation de différents questionnaires. D'autre part, l'ensemble des mesures et des prélèvements biologiques (sang veineux, urines, mèche de cheveux) a été effectué dans le cadre d'un examen de santé. Pour ce faire, Santé publique France s'est appuyé sur le réseau des centres d'examen de santé de l'Assurance maladie (CES). Pour les enfants, et les adultes qui en avaient exprimé le choix, l'examen de santé était effectué à domicile, avec la venue d'un infirmier diplômé d'état (IDE). Les traitements immédiats des prélèvements biologiques ont été réalisés dans les laboratoires d'analyses rattachés aux CES. Des informations plus détaillées sur l'ensemble des données recueillies et sur les aspects opérationnels de la réalisation de l'étude Esteban sont disponibles dans un article spécifique décrivant le protocole de l'étude [45].

2.5. Collecte et traitement des échantillons biologiques d'urines

Le **recueil urinaire** était effectué au réveil afin de collecter les premières urines du matin. Les participants devaient remplir par miction directe, un pot en polypropylène (PP) de haute densité d'une contenance de 250 mL, remis par les enquêteurs lors de visites préalables au domicile des participants. Un volume de 200 mL était souhaité même s'il était attendu que la quantité prélevée chez les enfants soit moins importante (notamment chez les 6-10 ans). Le pot contenant les urines était ensuite placé dans un sachet opaque, puis remis aux infirmiers lors de l'examen de santé, conservé au frais entre +4°C et +10°C et à l'abri de la lumière avant le transport vers les laboratoires.

À l'arrivée des prélèvements urinaires dans les laboratoires, aucun traitement n'était nécessaire hormis leur homogénéisation. Les échantillons ont ensuite été aliquotés en petits volumes (1 mL, 2 mL, 5 mL et 10 mL) à l'aide de pipettes en verre afin d'éviter de potentielles contaminations ou adsorption pouvant impacter les dosages de certains biomarqueurs urinaires comme les bisphénols par exemple. Les cryotubes de cryoconservation sont en polypropylène (PP) de haute densité également.

L'ensemble des échantillons biologiques en provenance des laboratoires ont été transportés par camion réfrigéré au Centre de ressources biologiques (CRB) de l'hôpital Bretonneau au CHU de Tours afin d'y être conservés dans des congélateurs à -80°C pour les échantillons urines et à température ambiante pour les prélèvements de cheveux. Le transport des échantillons des laboratoires vers la biothèque était organisé de façon régulière tout au long de la phase de collecte. Une fiche de suivi et de traçabilité des prélèvements renseignée aux différentes étapes avait permis de connaître les conditions de réalisation, de traitement et de stockage des prélèvements de chaque participant et de prendre en compte les écarts ou anomalies observés.

Les échantillons urinaires ont été transportés congelés entre -80°C et -60°C sous carboglace et sonde de température, vers le laboratoire de dosage. Le temps de transport des échantillons de la biothèque vers le laboratoire en charge du dosage des métaux était inférieur à 24 heures. Les échantillons ont été conservés au sein du laboratoire à l'abri de la lumière et à une température de -20 °C. Le laboratoire Laboceva pour le dosage des mycotoxines et Chemtox pour le dosage de la

créatinine avaient respecté les procédures décrivant les conditions nécessaires pour assurer la conservation des échantillons selon les directives reconnues sur le plan international et, également, en cas de panne (alarmes, groupe de secours, etc.).

2.6. Dosage des mycotoxines et de la créatinine urinaire

2.6.1. Dosage des aflatoxines et de l'ochratoxine A urinaire

Le dosage des aflatoxines et celui de l'ochratoxine A urinaire ont été réalisés par le laboratoire **Labocea** (France, 29). Il nécessitait un volume de 5 mL d'urines, les échantillons d'urines étaient conditionnés dans des cryotubes en polypropylène (PP) de 5 mL. Le dosage a été réalisé par chromatographie en phase liquide couplée à une spectrométrie de masse en tandem (LC/MS-MS). Une extraction par un mélange acétonitrile/eau/acide acétique était appliquée, suivie d'une centrifugation puis évaporation d'une partie de la phase liquide à sec. Une reprise par 0,3 mL d'acide acétique 0,01%/méthanol/acétonitrile 80/20 était réalisée avant une étape de concentration. L'extrait était finalement injecté dans le système LC /MS-MS. La quantification a été réalisée en s'appuyant sur cinq étalons internes marqués au C13 en particulier pour les molécules d'intérêt : l'OTA et l'AFB₁.

La limite de détection (LOD) est le plus petit signal exprimé en quantité ou en concentration qui peut être observé dans un blanc de réaction, avec une probabilité donnée. Les limites de quantification (LOQ) sont déterminées selon la norme NF T 90-210 par la détermination d'une LQ choisie. Des mesures au niveau de la LQ ont été effectuées en double (répétabilité) sur 10 séries en condition de reproductibilité dans de la surine (urine synthétique). Un « blanc méthode » a été analysé tous les 10 échantillons. De même, la justesse à une concentration proche de la LOQ a été vérifiée tous les 20 échantillons. Des contrôles de qualité internes (CQI) ont été dosés au cours des séries analytiques sur plusieurs niveaux de concentration pour établir des cartes de contrôle et satisfaire aux critères de Westgard. Les calculs de fidélité intermédiaire et d'incertitude (k=2) ont été réalisés sur plusieurs niveaux de concentrations (proche LOQ et plus élevé). Les limites de détection, de quantification ainsi que les pourcentages de détection et de quantification pour chaque mycotoxine analysée sont présentés dans le tableau 1.

Tableau 1. Paramètres de la méthode analytique (LOD et LOQ), pourcentage de détection et de quantification pour les mycotoxines urinaires dosées dans Esteban

Mycotoxines	AF B₁	AF B₂	AF G₁	AF G₂	AF M₁	OTA
LOD en µg L ⁻¹	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,05
LOQ en µg L ⁻¹	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,1
% >LOD Enfants	0	0	0	0	0	85,5
% >LOQ Enfants	0	0	0	0	0	45,5
% >LOD Adultes	0	0	0	0	0	78,5
% >LOQ Adultes	0	0	0	0	0	47,7

2.6.2. Dosage de la créatinine urinaire

Le laboratoire **ChemTox** (France, 67) disposait d'un volume de 0,5 mL d'urine pour réaliser le dosage de la créatinine urinaire, facteur d'ajustement des résultats de métaux urinaire. L'analyse était réalisée par spectrophotométrie à 546 nm selon la méthode de Jaffé qui consiste à mesurer l'intensité de la coloration du complexe rouge-orangé formé par la créatinine et l'acide picrique en milieu basique. La mesure était effectuée en cinétique : la vitesse de formation de la coloration étant proportionnelle à la concentration en créatinine dans l'échantillon. Le domaine de mesure s'étendait de 0,1 à 54 mmol. L⁻¹. Les coefficients de variabilité (CV) de répétabilité et de fidélité intermédiaire étaient inférieurs à 2%. L'incertitude (k=2) était < 3% et les biais de justesse < 4%.

2.7. Analyses statistiques

2.7.1. Plan de sondage et pondérations

Le plan de sondage de l'étude Esteban est stratifié à trois degrés. Au premier degré, un échantillon stratifié d'unités primaires (communes ou regroupements de communes) a été tiré au sort. Au deuxième degré, dans chaque unité primaire, des ménages ont été tirés au sort par échantillonnage téléphonique. Au troisième degré, un seul individu (adulte ou enfant) a été tiré au sort parmi les membres éligibles du ménage (méthode Kish). La stratification a été réalisée en fonction de deux variables : la région (huit zones géographiques) et le degré d'urbanisation (cinq strates : rural ; < 20 000 habitants ; 20 000-100 000 habitants ; > 100 000 habitants, Paris). Le plan d'échantillonnage est décrit de façon détaillée dans l'article précédemment publié sur le protocole de l'étude Esteban [45].

Le dosage de mycotoxines urinaires a été réalisé sur un sous échantillon aléatoire d'enfants et d'adultes qui avaient participé au volet examen de santé de l'étude et pour lesquels on disposait d'un volume suffisant d'urines (5 mL pour l'ensemble des mycotoxines dosées dans Esteban) en biothèque pour permettre de réaliser ce dosage.

Le processus de calcul des pondérations a été effectué en trois étapes. La première étape a consisté à calculer des pondérations initiales dues au plan de sondage. Ensuite, les poids de sondage ont été ajustés par rapport à la non-réponse totale. Cette étape a été réalisée en utilisant la méthode des scores [46], méthode basée sur le principe des groupes de réponse homogènes et faisant appel à des informations disponibles à la fois pour les répondants et les non-répondants. Enfin, un calage a été effectué en utilisant les marges issues du recensement permettant à la population d'étude d'être comparable avec la population source selon certains critères (âge, sexe, niveau de diplôme, vit seul ou en couple, etc.). Devant le faible effectif du sous-échantillon d'enfants ($n = 200$), le calcul des pondérations n'a pas été réalisé.

2.7.2. Traitement des données manquantes et censurées à gauche

Les données manquantes des variables issues des différents questionnaires et les valeurs censurées à gauche des biomarqueurs (niveaux biologiques inférieurs à la LOD ou LOQ) ont été imputées en utilisant la méthode d'imputation multiple par équations chaînées. Cette méthode est très flexible permettant à la fois d'imputer des variables quantitatives, qualitatives et censurées. Elle est implémentée dans la package ICE de Stata [47]. Les valeurs imputées ne pouvant pas être traitées comme des données réelles mesurées, le processus d'imputation a été répété une dizaine de fois afin d'obtenir des jeux de données complets. Ces derniers ont été analysés séparément et les résultats ont été combinés afin de tenir compte de l'incertitude liée aux données imputées [48].

2.7.3. Prise en compte de la dilution urinaire

Pour les analyses descriptives, des tableaux séparés sont présentés pour la concentration d'OTA exprimée par volume d'urine et la concentration d'OTA exprimée par gramme de créatinine urinaire. La créatinine étant liée à différents facteurs, nous avons opté pour la solution proposée par Barr [49] qui consiste à séparer la concentration de biomarqueur et la créatinine dans le modèle. Les concentrations en créatinine après transformation logarithmique ont été introduites dans le modèle multi-variable comme variable d'ajustement. Dans cette étude, les individus présentant des concentrations en créatinine $< 0,3 \text{ g. L}^{-1}$ et $> 3 \text{ g. L}^{-1}$ ont été incluses dans les différentes analyses statistiques.

2.7.4. Description des niveaux d'imprégnation

La distribution des niveaux d'imprégnation est décrite sous forme de percentiles (10, 25, 50, 75, 90, 95) et d'une moyenne géométrique (MG) avec les intervalles de confiance à 95% (IC95%) pour la moyenne géométrique et le percentile 95. Les résultats sont présentés chez les enfants et les

adultes par tranche d'âges et par sexe pour les adultes. L'ensemble des analyses prend en compte le plan de sondage de l'étude uniquement chez les adultes. La distribution de niveaux d'imprégnation est présentée pour l'OTA urinaire à la fois en $\mu\text{g. L}^{-1}$ et en $\mu\text{g. g}^{-1}$ de créatinine.

2.7.5. Recherche des déterminants des niveaux d'imprégnation

D'une façon générale, dans l'étude Esteban, il a été fait le choix de calculer les moyennes géométriques et de faire l'analyse des déterminants de l'exposition uniquement quand le taux de données censurées était inférieur à 40% (pourcentage de quantification > 60%). Or les aflatoxines B₁, B₂, G₁, G₂, M₁ n'étaient ni quantifiés ni détectés dans le sous-échantillon aléatoire de 400 adultes et 200 enfants qui avaient fait l'objet de ce dosage par le laboratoire Labocea (29). La recherche de déterminants n'a donc pas été effectuée pour les aflatoxines. Elle a toutefois été réalisée pour l'OTA chez les adultes car les résultats présentés ici constituent les premières estimations françaises en population générale et cette recherche a été faite à visée exploratoire sachant que le pourcentage de quantification était proche de 50%.

L'étude des facteurs de risques liés aux niveaux d'imprégnation chez les adultes par l'OTA mesurés dans les urines a été réalisée à partir d'un modèle linéaire généralisé (GLM) prenant en compte le plan de sondage de l'étude. Les concentrations d'OTA ont été log-transformées afin de favoriser la normalité des résidus du modèle.

Certains facteurs de risque et d'ajustement ont été sélectionnés a priori au vu de la littérature sur les facteurs influençant les niveaux d'imprégnation par l'OTA. D'autres facteurs d'exposition ont été sélectionnés lors de la modélisation en se basant sur le critère d'information d'Akaike (AIC). La forme de la relation entre les niveaux d'imprégnation par l'OTA et les facteurs de risque et d'ajustement quantitatifs a été ajustée en utilisant des fonctions splines. La colinéarité entre les facteurs inclus dans le modèle, l'homoscédasticité et la normalité des résidus ont été examinées. Pour étudier la robustesse des résultats, en particulier l'effet des valeurs extrêmes des niveaux d'imprégnation par l'OTA, une analyse de sensibilité a été effectuée en excluant de l'analyse les individus ayant des valeurs extrêmes (99^e percentile) d'OTA.

Les résultats sont présentés sous forme de pourcentage de variation des concentrations en OTA :

- associé à une augmentation interquartile des facteurs d'exposition quantitatifs ;
- par rapport à une modalité de référence pour les facteurs d'exposition qualitatifs.

Les facteurs de risque des niveaux d'imprégnation par l'OTA testés dans les modèles construits pour les adultes sont listés en annexe 1.

2.7.6. Logiciels utilisés

L'imputation des données manquantes ou censurées a été réalisée avec le module ICE de la version 14 de Stata [50]. Les analyses statistiques (descriptives et multivariées) ont été réalisées avec le package Survey [51] du logiciel R [52].

3. RÉSULTATS DES ANALYSES DESCRIPTIVES DE L'IMPRÉGNATION PAR L'OTA CHEZ LES ENFANTS

Du fait des très faibles niveaux de quantification des aflatoxines dosés dans les urines dans l'étude Esteban (tableau 1), les résultats des analyses ici présentés porteront uniquement sur le dosage de l'OTA chez les enfants.

3.1. Résultats du dosage de l'OTA chez les enfants

Les résultats non-pondérés d'imprégnation par l'OTA sont présentés dans les tableaux 2 et 3.

L'OTA a été détectée dans 85,5% des échantillons (LOD = 50 ng. L⁻¹) et quantifiée dans 45,5% des échantillons (LOQ=100 ng. L⁻¹). La MG et la médiane étaient inférieures à la LOQ. Le 95^e percentile de la distribution des niveaux d'imprégnation par l'OTA urinaire était égal à 252,8 ng. L⁻¹ (221,7 ng. g⁻¹ de créatinine) et la valeur maximale observée était de 478,3 ng. L⁻¹ (360,45 ng. g⁻¹ de créatinine). Parmi les 200 enfants étudiés, 4 enfants âgés de 13 à 15 ans, dont 3 garçons, avaient leur concentration en OTA urinaire supérieure au 99^e percentile (403,7 ng. L⁻¹).

Tableau 2. Distribution non-pondérée des concentrations urinaires en ochratoxine A (en ng. L⁻¹) observée chez les enfants âgés de 6-17 ans, Esteban (2014-2016)

	n	MG	IC à 95% MG	P10	P25	P50	P75	P90	P95	IC à 95% P95
Total	200	< LOQ	NC	< LOQ	< LOQ	< LOQ	140,6	204,0	252,8	[218,5 ; 297,2]
Âge (ans)										
[6-10]	90	< LOQ	NC	< LOQ	< LOQ	< LOQ	127,0	173,0	203,6	[166,3 ; 242,9]
[11-14]	75	< LOQ	NC	< LOQ	< LOQ	< LOQ	152,4	216,6	283,4	[198,1 ; 433,9]
[15-17]	35	< LOQ	NC	< LOQ	< LOQ	< LOQ	138,5	232,1	282,9	[175,5 ; 382,5]
Sexe										
Garçon	105	< LOQ	NC	< LOQ	< LOQ	< LOQ	151,4	195,2	249,7	[189,7 ; 380,7]
Fille	95	< LOQ	NC	< LOQ	< LOQ	< LOQ	122,4	206,0	248,8	[205,2 ; 306,1]

LOD = 50 ng L⁻¹ % > LOD = 85,5% LOQ = 100 ng L⁻¹ % > LOQ = 45,5%
 NC = Non calculé

Tableau 3. Distribution non-pondérée des concentrations urinaires en ochratoxine A (ng g⁻¹ de créatinine) observée chez les enfants âgés de 6-17 ans, Esteban (2014-2016)

	n	MG	IC à 95% MG	P10	P25	P50	P75	P90	P95	IC à 95% P95
Total	200	< LOQ	NC	< LOQ	< LOQ	< LOQ	138,1	188,1	221,7	[196,1 ; 259,7]
Âge (ans)										
[6-10]	90	< LOQ	NC	< LOQ	< LOQ	< LOQ	151,7	189,4	229,0	[178,2 ; 281,2]
[11-14]	75	< LOQ	NC	< LOQ	< LOQ	< LOQ	131,5	191,7	220,5	[185,1 ; 268,4]
[15-17]	35	< LOQ	NC	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	123,9	159,2	[98,2 ; 215,7]
Sexe										
Garçon	105	< LOQ	NC	< LOQ	< LOQ	< LOQ	140,6	193,5	219,8	[193,3 ; 251,8]
Fille	95	< LOQ	NC	< LOQ	< LOQ	< LOQ	134,7	185,6	218,1	[167,6 ; 282,3]

3.2. Niveaux d'ochratoxine A mesurés dans les études antérieures françaises et internationales chez les enfants

Très peu d'études d'imprégnation par l'OTA ont été réalisées chez les enfants sur la matrice urinaire.

Les limites de quantification et de détection des études belge et suédoise présentées dans le tableau 4 étaient inférieures comparativement à celles de l'étude Esteban. En France, l'imprégnation par l'OTA au sein de la population des enfants n'avait pas été précédemment estimée.

En **Belgique**, l'étude de biosurveillance des mycotoxines dans la population d'enfants belge ***Biomyco Study*** [53] avait permis de connaître les niveaux d'imprégnations urinaires de 33 mycotoxines et leurs métabolites dont l'OTA chez les enfants. Ces dosages semblent avoir été effectués sans hydrolyse préalable comme c'est aussi le cas dans Esteban.

Tableau 4. Niveaux d'ochratoxine A urinaire observés dans les études antérieures chez les enfants ($\mu\text{g. L}^{-1}$ ou $\mu\text{g. g}^{-1}$ de créatinine)

Pays	Années d'étude	Étude	n	Âge (ans)	MG $\mu\text{g. L}^{-1}$ ($\mu\text{g. g}^{-1}$ créat.)	Maximum $\mu\text{g. L}^{-1}$ ($\mu\text{g. g}^{-1}$ créat.)	LOD/LOQ ($\mu\text{g. L}^{-1}$)	> LOQ %
France	2014-2016	Esteban	200	6-17	<LOQ (<LOQ)	0,48 (0,36)	LOD=0,05 ; LOQ=0,1	45,5%
Belgique	2013-2014	Biomyco [53]	155	3-12	0,08 (0,08)	3,7 (3,8)	LOD=0,001	51% (>LOD)
Portugal	2018-2019	[54]	85	2-13	0,02 (0,03)	0,05 (0,11)	LOD=0,006 ; LOQ=0,019	92,9% (>LOD)

4. RÉSULTATS DES ANALYSES DESCRIPTIVES DE L'IMPRÉGNATION PAR L'OTA CHEZ LES ADULTES

Du fait des très faibles niveaux de quantification des aflatoxines dosés dans les urines dans l'étude Esteban (tableau 1), les résultats des analyses ici présentés porteront uniquement sur le dosage de l'OTA chez les adultes.

4.1. Résultats du dosage chez les adultes

4.1.1. Niveaux d'OTA chez les adultes

Les résultats d'imprégnation par l'ochratoxine A sont présentés dans les tableaux 5 et 6.

Chez les adultes, l'OTA a été détectée dans 78,5% des échantillons et quantifiée dans 47,8% des échantillons. La limite de détection (LOD) était de 50 ng. L⁻¹ et la limite de quantification (LOQ) était de 100 ng L⁻¹. Les moyennes géométriques des niveaux d'imprégnation par l'OTA étaient pour certaines classes inférieures à la LOQ et de toutes les façons ne seraient pas présentées compte tenu du faible taux de quantification (< 60%). Le 95^e percentile de la distribution des niveaux d'imprégnation par l'OTA était égal à 305,0 ng. L⁻¹ (329,2 ng. g⁻¹ de créatinine) et la valeur maximale observée était de 1683,17 ng. L⁻¹ (1621,6 ng. g⁻¹ de créatinine).

Tableau 5. Distribution des niveaux d'ochratoxine A urinaire (ng. L⁻¹) des adultes âgés de 18 à 74 ans en France continentale (2014-2016)

	N	MG	IC à 95% MG	P10	P25	P50	P75	P90	P95	IC à 95% P95
Total	400	< LOQ	NC	< LOD	< LOQ	102,3	169,9	240,7	305,0	[248,1 ; 375,5]
Âge (ans)										
[18-29]	25	< LOQ	NC	< LOQ	< LOQ	108,1	184,6	327,9	575,7	[215,4 ; 1162,6]
[30-44]	97	< LOQ	NC	< LOQ	< LOQ	124,0	179,5	230,0	280,7	[217,9 ; 327,0]
[45-59]	143	< LOQ	NC	< LOQ	< LOQ	< LOQ	165,8	240,5	303,1	[236,8 ; 356,0]
[60-74]	135	< LOQ	NC	< LOD	< LOQ	< LOQ	131,3	205,1	263,4	[183,8 ; 303,2]
Sexe										
Femme	234	< LOQ	NC	< LOQ	< LOQ	130,6	184,3	242,2	294,0	[240,6 ; 317,1]
Homme	166	< LOQ	NC	< LOD	< LOQ	< LOQ	142,3	234,9	327,0	[233,4 ; 556,8]
LOD = 50 ng L ⁻¹ % > LOD = 78,5% LOQ = 100 ng L ⁻¹ % > LOQ = 47,8% NC = Non calculé										

Tableau 6. Distribution des niveaux d'ochratoxine A urinaire (ng. g⁻¹ de créatinine) des adultes âgés de 18 à 74 ans en France continentale (2014-2016)

	N	MG	IC à 95% MG	P10	P25	P50	P75	P90	P95	IC à 95% P95
Total	400	< LOQ	NC	< LOD	< LOQ	119,2	178,7	267,7	329,2	[289,1 ; 408,9]
Âge (ans)										
[18-29]	25	< LOQ	NC	< LOQ	< LOQ	105,7	142,0	238,8	319,7	[149,3 ; 520,0]
[30-44]	97	< LOQ	NC	< LOQ	< LOQ	115,2	167,1	238,1	277,5	[234,9 ; 300,0]
[45-59]	143	< LOQ	NC	< LOQ	< LOQ	< LOQ	178,3	259,2	326,6	[261,3 ; 412,3]
[60-74]	135	< LOQ	NC	< LOD	< LOQ	< LOQ	203,0	300,7	432,7	[304,2 ; 646,3]
Sexe										
Femme	234	< LOQ	NC	< LOQ	< LOQ	114,1	163,4	249,7	306,1	[270,2 ; 362,0]
Homme	166	< LOQ	NC	< LOD	< LOQ	< LOQ	191,1	275,8	362,8	[286,0 ; 624,3]

4.1.2. Niveaux élevés

Parmi les 400 adultes étudiés, 4 adultes âgés de 18 à 71 ans, dont 2 femmes avaient leur concentration en OTA urinaire supérieure au 99^e percentile (777,5 ng. L⁻¹). La valeur maximale était de 1 683,2 ng. L⁻¹. Quelques caractéristiques alimentaires pourraient expliquer ces niveaux d'imprégnations élevés chez ces individus à savoir la consommation de chocolats, de viandes, d'alcools, de pains et des biscottes, sources connues d'exposition alimentaires aux mycotoxines. En effet pour l'une d'entre elle, sa consommation de pains et biscottes étaient de 158 grammes par jour (g/j) (P50=92,5 g/j) et elle consommait également 338 mL par jour (mL/j) d'alcools (vins, champagne, cidre, crémant) (P50=20,3 mL/j). La 2^e personne avait une consommation de pains et biscottes de 158 grammes par jour (g/j) (P50=92,5 g/j). Le 3^e individu consommait 25,2 g/j de chocolats (P50=4,7 g/j) et le dernier consommait 45,5 g/j de charcuteries (P50=8,2 g/j).

4.2. Niveaux d'ochratoxine A mesurés dans les études antérieures françaises et internationales chez les adultes

Le tableau 7 présente les résultats d'imprégnation par l'OTA de différentes études en population générale en France ou à l'étranger exprimés en ng. L⁻¹ ou ng. g⁻¹ créatinine à des fins de comparaison. Cependant, cette comparaison est difficile à réaliser pour différentes raisons : méthodes analytiques différentes, petite taille de l'échantillon, performances analytiques. Dans le cadre d'Esteban, aucune hydrolyse préalable des urines n'a été réalisée, ce qui a pour conséquence d'omettre la part conjuguée de l'OTA dans les urines et donc de ne prendre en compte que la fraction libre de l'OTA comme c'est le cas de la plupart des études dans ce tableau. Pour ces différentes raisons, ce tableau est à interpréter avec précaution et donné à titre indicatif.

En France, l'imprégnation par l'OTA dans la population générale n'a pas été précédemment estimée.

En **Suède**, l'étude de biosurveillance des mycotoxines dans la population adulte réalisée en 2010-2011 [55] a porté sur l'analyse de 6 mycotoxines (DON, ZEA, FB₁, FB₂, OTA, NIV) et 4 métabolites (AFM₁, DOM-1, α -ZOL, β -ZOL). L'OTA était détecté dans 51% des échantillons d'urines analysés après hydrolyse avec une MG de 460 ng. L⁻¹ (730 ng. g⁻¹ de créatinine). Par ailleurs, cette étude a montré que l'exposition aux mycotoxines est courante chez les adultes suédois. La mycotoxine fréquemment détectée était le DON, suivi de l'OTA et du ZEA. Elle a également révélé que l'exposition concomitante est répandue et la combinaison de toxines la plus courante trouvée dans l'urine des participants était le DON associé à l'OTA.

En **Italie**, une étude d'évaluation de l'exposition aux mycotoxines a été réalisée dans le sud de l'Italie par la détermination urinaire après hydrolyse avec de la β glucuronidase et de la sulfatase afin d'obtenir des composés sous forme libre car les métabolites des mycotoxines sont en général sécrétés sous forme conjugués à l'acide glucuronique ou au sulfate [56]. Malgré la petite taille de l'échantillon (N=52), l'AFM₁ et l'OTA ont été respectivement détectées dans 6% et 100% des échantillons analysés. Le ZEA, l' α ZOL, FB₁, le DON étaient quant à eux détectés respectivement dans 100%, 100%, 56%, 96% des échantillons. Cette étude montrait également une co-exposition des sujets à plusieurs mycotoxines.

En **Espagne** l'étude de l'OTA et son métabolite l' α OT auprès des adultes de la ville de Lleida (Lérida) en 2009 a permis de déterminer une moyenne géométrique en OTA de 0,24 μ g L⁻¹ (%>LOD=12,5%) et la MG de l' α OT était de 0,44 μ g. L⁻¹ (> %LOD = 61%) [57]. Cette étude comme d'autres montrait que la présence de l'OTA dans l'urine était plus faible que son métabolite l' α OT pour une LOD similaire.

En **Chine** (Nanjing), l'étude réalisée en 2017 auprès de 260 adultes (18-66 ans) a permis de déterminer les niveaux d'imprégnation à 26 mycotoxines ou métabolites [58] dont les aflatoxines et l'ochratoxine A simultanément analysées sans hydrolyse préalable dans le plasma et l'urine. Le niveau moyen (MG) d'OTA observé dans cette étude dans l'urine était de 360 ng. L⁻¹, la MG était de 1210 ng. L⁻¹ dans le plasma. Il n'a pas été observé de différence d'imprégnation selon le sexe.

Tableau 7. Niveaux d'ochratoxine A urinaire observés dans les études antérieures chez les adultes à l'étranger (ng. L⁻¹ ou ng. g⁻¹ de créatinine)

Pays	Années d'étude	Étude	n	Âge (ans)	MG Ng. L ⁻¹ (ng. g ⁻¹ créat.)	P95 Ng. L ⁻¹ (ng. g ⁻¹ créat.)	LOD/LOQ (µg. L ⁻¹)	> LOQ %	Hydrolyse Oui/non
France	2014-2016	Esteban	400	18-74	<LOQ (<LOQ)	305 (329)	LOD=0,05 ; LOQ=0,1	47,8	non
Allemagne	2013-2014	[59]	50	Adulte	40 (30)	ND	LOD=0,001 ; LOQ=0,0075	15% (>LOD)	non
Bengladesh	2013-2014	[59]	95	Adulte	200 (210)	ND	LOD=0,001 ; LOQ=0,0075	72% (>LOD)	non
Haïti	2012-2013	[59]	142	Adulte	110 (90)	ND	LOD=0,001 ; LOQ=0,0075	47% (>LOD)	non
Belgique	2013-2014	Biomycos [53]	239	19-65	28 (36,4)	368 (max)	0,001 (LOD)	35% (>LOD)	non
Chine	2017	[58]	260	16-66	362 (502)	ND	ND	NP	non
Portugal	2015-2016	[60]	94	48±15*	7 (8 Méd)	80 (60)	LOD=0,01 ; LOQ=0,02	23,3	non
Suède	2010-2011	[55]	252	50±17*	460 (730)	ND	ND	51% (>LOD)	oui
Italie (Sud)	2011	[56]	52	3-85	144	ND	LOQ=0,02-0,006	98	oui
Espagne	2009	[57]	72	>18	240	560 (max)	LOD=0,034 ; LOQ=0,112	12,5 (>LOD)	oui
Turquie	2010**	[61]	233	18-65	(140)	760 (max)	LOD=0,006 ; LOQ=0,018	83% (>LOD)	non
Nigeria	2012	[62]	120	Enfants adultes	200 (600)	ND	LOD=0,05 ; LOQ=0,15	28% (>LOD)	non

Max=Maximum

* âge moyen

Méd=Médiane

ND=Non déterminé

** année de publication

5. DÉTERMINANTS DE L'IMPRÉGNATION PAR L'OCHRATOXINE A CHEZ LES ADULTES

Les facteurs de risque sont étudiés après ajustement sur les facteurs de confusion : l'indice de masse corporelle (IMC) de l'adulte, son âge et son sexe, le ressenti sur l'état financier du foyer, l'état matrimonial de l'adulte (en couple ou pas).

Les concentrations urinaires en OTA étaient augmentées avec la **consommation de charcuterie** : une augmentation de l'imprégnation par l'OTA de 15,9% était observée entre ceux qui consommaient 5,5 g/j de charcuterie et ceux qui en consommaient 12,8 g/j. Des tendances à l'augmentation étaient observées avec la consommation des céréales du petit déjeuner ainsi que la consommation de boissons alcoolisées. Une association négative des niveaux d'imprégnation par l'OTA avec la consommation de jus de fruits ou de légumes a été observée sans qu'on soit en mesure de l'expliquer. Les résultats n'ont pas montré des variations des concentrations urinaires en OTA avec les autres variables alimentaires testées.

Tableau 8. Déterminants des concentrations en ochratoxine A mesurées dans les urines chez les adultes de 18 à 74 ans (variables qualitatives)

Variables qualitatives	Effectif n (%)**	% de variation	IC95% du % de variation
Sexe du participant			
Homme	166 (47,2)	-18,3	[-35,1 ; 2,9]
Femme	234 (52,8)	Référence	-
Diplôme du participant *			
Aucun, CEP, BEP, BEPC, CAP, Brevet élémentaire, Brevet de compagnon	139 (50,6)	Référence	-
Baccalauréat (Général, Technologique)	80 (19,0)	10,38	[-14,1 ; 41,8]
1 ^{er} cycle	89 (14,6)	-8,9	[-30,1 ; 18,7]
2 ^e cycle	92 (15,8)	7,69	[-17,9 ; 41,3]
Présence d'enfant(s) dans le foyer*			
Pas d'enfant de moins de 18 ans	268 (62,8)	Référence	
Au moins un enfant de moins de 18 ans	132 (37,2)	-5,4	[-23,5 ; 16,9]

*variables d'ajustements forcés dans le modèle

** n = effectif dans l'échantillon ; % dans la population

Tableau 9. Déterminants des concentrations en ochratoxine A mesurées dans les urines chez les adultes de 18 à 74 ans (variables quantitatives)

Variables quantitatives	P50 [P25 – P75]	Variation entre P25 et P75	
		% de variation	IC95% du % de variation
Log créatinine ($\mu\text{g. L}^{-1}$)	-0,2 [-0,7 ; 0,3]	118,6	[89,4 ; 152,1]
Âge du participant (années)*	47 [35 ; 59]	-3,1	[-21,6 ; 19,8]
Pains et biscottes (g/j)	92,5 [59,9 ; 124,3]	3,5	[-6,7 ; 14,7]
Céréales du petit déjeuner (g/j)	0,3 [0 ; 2,3]	1,6	[-0,6 ; 3,9]
Charcuterie (g/j)	8,2 [5,5 ; 12,8]	15,9	[2,9 ; 30,6]
Abats (g/j)	3,0 [0 ; 5,4]	6,5	[-9,2 ; 24,9]
Chocolat (g/j)	4,7 [2,6 ; 11,7]	7,2	[-2,4 ; 17,7]
Jus de fruits ou de légumes (mL/j)	25,5 [7,2 ; 94,8]	-10,9	[-18,8 ; -2,2]
Vin, champagne, mousseux, etc. (mL/j)	20,3 [8,5 ; 69,9]	6,9	[-0,4 ; 14,8]
Viandes (poulets, lapins) (g/j)	31,9 [26,0 ; 40,0]	-4,3	[-19,1 ; 13,2]

*variables d'ajustements forcés dans le modèle

6. DISCUSSION

L'étude Esteban a permis de documenter pour la première fois la distribution des concentrations urinaires de certaines mycotoxines : aflatoxines et OTA dans la population des adultes et des enfants vivant en France métropolitaine en 2014-2016. Dans l'étude Esteban, le choix de réaliser le dosage des AF et de l'OTA dans un sous échantillon relativement faible de 400 adultes et 200 enfants a été fait car jusqu'à présent les mycotoxines n'avaient jamais été mesurées dans la population française. Ainsi, cet effectif permettait de réaliser une description de l'imprégnation dans la population française et une première recherche exploratoire des déterminants pour l'OTA chez les adultes.

Concernant les aflatoxines, les résultats de l'étude Esteban ne montrent pas d'exposition aux 5 aflatoxines (AF B₁, B₂, G₁, G₂, M₁) dans les échantillons analysés. L'étude belge ne les a pas détectées non plus. En effet l'étude *Biomyco Study* [53] réalisée en 2013-2014 montrait que sur l'ensemble des échantillons enfants et adultes (n =394), il n'a pas été possible de détecter ou de quantifier les aflatoxines (B₁, B₂, G₁, G₂, M₁) dans aucun des échantillons analysés, ce qui corrobore l'observation faite des résultats de l'étude Esteban. L'étude Italienne a également observé un taux de détection de l' AFM₁ très faible de 6% [56] avec une MG de 0,068 µg. L⁻¹.

Il est fort possible que le risque observé à un niveau faible concernant les aflatoxines et notamment celui pour l'AFB₁, cancérigène certain, ait été maîtrisé par l'objet de mesures réglementaires strictes dans l'Union européenne auxquelles se sont ajoutées des mesures de surveillance. Ces actions méritent donc d'être poursuivies.

Concernant les ochratoxines, l'OTA, dans *Biomyco*, était également détectée dans 51% des échantillons enfants et 35% des échantillons adultes. Comme pour l'étude Esteban, les échantillons de *Biomyco* n'ont pas fait l'objet d'une hydrolyse avant la réalisation des dosages.

Dans Esteban, l'OTA urinaire était détectée dans 78,5% des échantillons adultes et 85,5% des échantillons enfants, soit un taux de détection supérieur à la plupart des autres études malgré le fait que la limite de détection dans Esteban soit plus élevée que dans la plupart des études étrangères.

Par exemple, en **Suède**, *The national representative cross-sectional dietary survey* [63], réalisée en 2016-2017, a permis de mesurer plusieurs mycotoxines dont l'OTA dans la matrice sérique, auprès de 1 096 adolescents âgés de 11 à 17 ans et de réaliser la recherche des déterminants. 58,7% des échantillons étaient supérieurs à la LOQ et 100% à la LOD dans l'étude suédoise montrant que l'OTA est un contaminant ubiquitaire des aliments. Elle montrait aussi que les céréales étaient associées à une augmentation de l'imprégnation pour toutes les mycotoxines étudiées (DON, OTA, EnB). L'apport en fibres et en avoine était associé à une concentration sérique en OTA plus élevée, l'OTA était aussi associé à la consommation de raisins et du café.

En Europe, le projet **EFCOVAL** (*The European Food Consumption Validation*) [34] mené de 2006 à 2010 sur les échantillons de 6 pays choisis pour prendre en compte la diversité de l'alimentation en Europe (Belgique, République Tchèque, France, Pays-Bas, Norvège) a permis d'évaluer l'exposition aux mycotoxines par deux rappels alimentaires de 24 heures et par dosage dans le sérum et les urines de 24 heures (deux fois 24 heures) des mycotoxines. Selon les données alimentaires recueillies, les 600 individus ont été exposés entre 4 et 34 mycotoxines, dont 10 ont dépassé la dose journalière admissible. Des corrélations ont été observées entre deux points temporels, et des corrélations significatives ont été observées entre les concentrations dans le sérum et l'urine. Cependant, seules l'acétyl-déoxynivalénol, l'OTA et la stérigmatocystine (toxine, métabolite tardif des AF) présentaient des corrélations positives significatives entre l'exposition via l'alimentation et le sérum, tandis que les AFG₁ et AFG₂, la toxine HT-2 et le déoxynivalénol étaient associés entre les deux R24 simultanées et les urines de 24 heures. Des corrélations sur les niveaux quantitatifs entre le sérum et l'urine ont été observés pour les groupes Trichothécènes de type B et Zéaralénone.

La revue de littérature scientifique sur les mycotoxines montrait que l'analyse de ces dernières était effectuée par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse et l'échantillon humain le plus couramment étudié était l'urine. Toutefois, beaucoup d'études sont réalisées à partir du lait maternel, du sérum ou du plasma ce qui interroge sur le choix de la matrice adéquate pour la surveillance chez l'homme de l'exposition aux mycotoxines.

La sélection de la matrice biologique et des biomarqueurs d'exposition en fonction de ce que l'on souhaite refléter en termes d'exposition est cruciale en raison du métabolisme différent qui existe pour chaque substance mesurée. Par ailleurs, la biosurveillance de tous les métabolites et des formes bioconjuguées de chaque mycotoxine pourrait conduire à une meilleure estimation de l'imprégnation aux différentes mycotoxines [5, 6, 64]. Le dosage direct des mycotoxines sans hydrolyse pourrait être à l'origine d'une sous-estimation des niveaux d'imprégnation et des risques sanitaires qui y seraient associés. En effet, l'étude de l'OTA urinaire auprès des populations européennes sans hydrolyse a montré des concentrations moyennes allant de 0,009 à 0,04 $\mu\text{g. L}^{-1}$. Lorsque les mesures sont réalisées sur des échantillons hydrolysés, les valeurs moyennes reportées variaient pour l'OTA de 0,07 à 0,46 $\mu\text{g. L}^{-1}$. Quant à l' α OT sa concentration moyenne est passée de 1,14 $\mu\text{g. L}^{-1}$ à 2,88 $\mu\text{g. L}^{-1}$ après hydrolyse enzymatique [11, 59, 65].

Concernant la recherche de déterminants, une association négative des niveaux d'imprégnation par l'OTA avec la consommation de jus de fruits ou de légumes a été observée sans qu'on soit en mesure de l'expliquer. Cette variable serait probablement un proxy d'un autre facteur protecteur ou pas suffisamment spécifique. La non significativité de la plupart des associations s'expliquerait en partie par la petite taille de l'échantillon ($n = 400$) et la transversalité de l'étude.

Parmi les quatre types d'aliments les plus contributeurs relevés dans l'EAT2 (pains et produits de panification sèche ; pâtes, riz et blé ; charcuterie et céréales du petit déjeuner), on observe dans Esteban, une tendance à l'augmentation avec la consommation de céréales du petit déjeuner et la consommation de boissons alcoolisées et une association positive avec la consommation de charcuterie. Par ailleurs, les résultats de l'EAT2 ont montré que le risque peut être écarté pour la population générale pour l'ochratoxine A, les aflatoxines, la patuline, le nivalénol, les fumonisines et la zéaralénone. En revanche, il ne peut être écarté pour le déoxynivalénol (DON) et ses dérivés acétylés, pour lesquels les calculs d'exposition montrent des dépassements des VTR mais qui n'ont pas été dosés dans l'étude Esteban. De même, les résultats de l'EATi chez les moins de 3 ans publiés en 2016 a mis en évidence des situations jugées préoccupantes pour le DONI et ses dérivés acétylés, les toxines T2-HT2 ainsi qu'un risque ne pouvant être exclu pour l'OTA.

L'effectif de 400 adultes n'était probablement pas suffisant pour mettre en évidence toutes les associations potentielles. Par ailleurs, les tendances et la seule association mises en évidence dans l'étude Esteban chez les adultes doivent être interprétées avec précaution car les études transversales ne permettent pas à elles-seules de déterminer la causalité entre les sources d'exposition potentielles étudiées et les niveaux d'imprégnation mesurés. Aussi, l'absence d'association observée entre une source d'exposition potentielle et les niveaux d'imprégnation, ne signifie pas que cette source d'exposition doit être exclue. À l'inverse, la mise en évidence d'une association entre une source d'exposition et le niveau d'imprégnation suggère la nécessité de poursuivre l'étude de cette voie d'exposition.

Enfin, dans la stratégie de priorisation des biomarqueurs du programme européen HBM4EU, les mycotoxines ont été sélectionnées comme groupe de substances prioritaires. Étant donné la grande variété de composés compris dans le groupe des mycotoxines et suivant l'avis du Conseil d'orientation de l'Union européenne, de l'Efsa, l'accent a été mis sur le déoxynivalénol (DON) et la fumonisine B₁ (cancérogène présumé) (F B₁), or ces deux mycotoxines n'étaient pas analysées dans Esteban. Ces substances pourraient être à prendre en considération dans de futures enquêtes de biosurveillance.

7. VALEURS DE RÉFÉRENCE D'EXPOSITION (VRE) EN OTA, À PARTIR DES RÉSULTATS D'ESTEBAN

D'une manière générale, la VRE renseigne sur un niveau particulier d'imprégnation de la population générale française (population de référence) au-delà duquel on peut vraisemblablement considérer l'imprégnation comme anormalement élevée. Les VRE ne renseignent pas sur un quelconque effet sanitaire et ne doivent pas être confondues avec les valeurs limites biologiques d'imprégnation. La VRE établie à partir des données d'exposition permet de comparer les résultats mesurés chez un individu ou un sous-groupe de population par rapport à l'imprégnation de la population de référence. Ainsi, il est possible d'identifier des individus surexposés par rapport à la population de référence. L'étude Esteban, réalisée en 2014-2016, a permis de fournir pour la première fois une VRE en OTA chez les adultes âgés de 18 à 74 ans. La multiplicité des méthodes disponibles pour produire des VRE a conduit Santé publique France à définir et publier une stratégie nationale de production des VRE [66, 67]. La méthode de production des VRE françaises a été inspirée des travaux de la commission allemande de biosurveillance [68] et des travaux canadiens à partir de l'enquête ECMS [69]. C'est donc la valeur arrondie du percentile 95, comprise dans l'intervalle de confiance à 95%, qui a été choisie.

Afin de construire les VRE de l'OTA, il a été décidé pour tous les biomarqueurs urinaires, de conserver les individus ayant une créatinine $< 0,3$ ou > 3 g. L⁻¹ ainsi que les individus qui ont fumé dans les deux heures précédant le recueil urinaire. Chez les enfants, la petite taille de l'échantillon (200), ne permettait pas d'obtenir une extrapolation à la population des enfants vivant en France métropolitaine en 2014-2016 (résultats non pondérés), il n'a donc pas été établi de VRE en OTA pour les enfants. Chez les adultes, d'après les résultats de l'étude Esteban dans la population adulte âgée de 18 à 74 ans, il n'apparaissait pas pertinent de dériver une VRE spécifique par classe d'âge ou selon le sexe. En effet, il n'a pas été observé de variation des niveaux d'imprégnation selon l'âge ni le sexe pour l'OTA. La VRE proposée pour la population générale adulte âgée de 18 à 74 ans exprimée en ng. L⁻¹ d'OTA urinaire est présentée dans le tableau ci-dessous.

Tableau 10. Valeur de référence d'exposition chez les adultes à partir des concentrations urinaires en ochratoxine A (ng. L⁻¹) dans les urines de la population vivant en France continentale, Esteban 2014-2016

Biomarqueur	Effectif	Classe d'âge	P95 (IC95%)	VRE ₉₅
Ochratoxine A	400	18-74 ans	305,0 [248,08 ; 375,47]	305

8. CONCLUSION

Ces résultats malgré leurs limites restent importants car Esteban est la première enquête en population générale française qui décrit l'imprégnation de la population française aux aflatoxines et à l'OTA. Les résultats ne montraient pas d'exposition aux aflatoxines chez les adultes et chez les enfants. Cependant les résultats d'Esteban montraient une large exposition de la population à l'OTA qui est un néphrotique et un cancérigène possible (CIRC, groupe 2B). Il est probable que la non hydrolyse des échantillons avant le dosage ait eu un effet sur les résultats par une sous-estimation car la forme conjuguée de l'OTA a pu échapper au dosage. Malgré tout, l'OTA a été quantifiée dans les échantillons d'un individu sur deux aussi bien chez les enfants que chez les adultes. La comparaison des résultats de l'étude Esteban chez les adultes avec des études étrangères reste difficile à faire pour différentes raisons : taille d'échantillon faible, méthodes et performances analytiques. Par exemple, les limites de détection et de quantification utilisées lors du dosage de l'OTA dans Esteban étaient plus élevées que celles des études étrangères. Le caractère exploratoire de l'étude de l'imprégnation par les mycotoxines dans l'étude Esteban doit amener à interpréter avec précaution les résultats observés. Dans cette étude, L'imprégnation par l'OTA chez les adultes augmentait notamment avec la consommation de charcuterie. Les associations observées mériteraient d'être mieux étudiées lors des prochaines études de biosurveillance afin d'approfondir ou d'améliorer la connaissance des déterminants de l'imprégnation par l'OTA de la population française chez les adultes et d'en déterminer ceux chez les enfants. Par ailleurs, il serait souhaitable d'élargir la connaissance de l'exposition de la population aux mycotoxines et donc d'analyser d'autres mycotoxines qui sont aussi suspectés d'avoir des effets néfastes sur la santé humaine par exemple le déoxynivalenol (DON, effets immunotoxiques et hématologiques), le zéaralenone (ZEN, activité oestrogénique), la patuline (PAT, effets gastro-intestinaux, cytotoxique, immunotoxique, perturbations hormonales) ou encore la fumonisine B₁ (FB₁) comme c'est le cas dans d'autres études étrangères.

Références bibliographiques

- [1] Creppy EE, Betbeder AM, Gharbi A, Counord J, Castegnaro M, Bartsch H, *et al.* Étude de l'ochratoxicose humaine dans trois régions de France : Alsace, Aquitaine et Rhône-Alpes. In : Human ochratoxins and its pathologies. Inserm/John Libbey Eurotext Ltd, 231,1993. p. 147-58.
- [2] Creppy EE, Betbeder AM, Gharbi A, Counord J, Castegnaro M, Bartsch H, *et al.* Human ochratoxins in France. IARC Sci Publ. 1991(115):145-51.
- [3] International Agency for Research on Cancer. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Some Naturally Occurring Substances: Food Items and Constituents, Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins [En ligne]. Lyon, France : IARC ; 1993. 489–524 p.
- [4] International Agency for Research on Cancer. Fumonisin B1 in: Some Traditional Herbal Medicines, Some Mycotoxins, Naphthalene and Styrene. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans [En ligne]. Lyon, France : IARC; 2002. 301–66 p. <https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2018/06/mono82.pdf>
- [5] Al-Jaal BA, Jaganjac M, Barcaru A, Horvatovich P, Latiff A. Aflatoxin, fumonisin, ochratoxin, zearalenone and deoxynivalenol biomarkers in human biological fluids: A systematic literature review, 2001-2018. Food Chem Toxicol. 2019;129:211-28.
- [6] Arce-López B, Lizarraga E, Vettorazzi A, González-Peñas E. Human Biomonitoring of Mycotoxins in Blood, Plasma and Serum in Recent Years: A Review. Toxins (Basel). 2020;12(3).
- [7] Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation de l'environnement et du travail. Rapport de l'Afssa sur l'évaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale [En ligne]. Maisons Alfort : Anses; 2009. 308 p. <https://www.anses.fr/fr/system/files/RCCP-Ra-Mycotoxines2009.pdf>
- [8] Garon D, Andre V, Pottier D, Rioult JP, Bourreau A, Duhamel C, *et al.* Étude de la contamination fongique de bioaérosols dans des habitations dégradées par la mэрule (*Serpula lacrymans*) et les moisissures : évaluation de l'exposition humaine et impact génotoxique (Mycoerotox) Programme Primequal 2, Rapport final. Université de Caen Basse-Normandie ; 2013. 154 p. https://www.primequal.fr/sites/default/files/myco-aerotox_rf.pdf
- [9] Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation de l'environnement et du travail. Étude de l'alimentation totale française 2 (EAT 2), Tome 2. Résidus de pesticides, additifs, acrylamide, hydrocarbures aromatiques polycycliques. Avis de l'Anses Rapport d'expertise. Maisons Alfort ; 2011. 405 p. www.anses.fr
- [10] Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation de l'environnement et du travail. Étude de l'alimentation totale infantile (EATi) Tome 2 – Partie 2 Composés inorganiques Rapport d'expertise collective. Maisons-Alfort : Anses; 2016. 292 p. <https://www.anses.fr/fr/system/files/ERCA2010SA0317Ra-Tome2-Part2.pdf>
- [11] Schrenk D, Bignami M, Bodin L, Chipman JK, Del Mazo J, Grasl-Kraupp B, *et al.* Scientific Opinion on the risk assessment of ochratoxin A in food. [En ligne]. Efsa journal. 2020/09/03 éd: Efsa; 2020. p. 150. <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2020.6113>
- [12] Doggett MS. Characterization of fungal biofilms within a municipal water distribution system. Appl Environ Microbiol. 2000;66(3):1249-51.
- [13] Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation de l'environnement et du travail. Evaluation de la présence de mycotoxines dans l'eau de rivière et l'eau de boisson Bulletin de veille scientifique. 2015; n° 27(e31e):4.
- [14] Boonen J, Malysheva SV, Taevernier L, Diana Di Mavungu J, De Saeger S, De Spiegeleer B. Human skin penetration of selected model mycotoxins. Toxicology. 2012;301(1):21-32. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0300483X12002429>
- [15] Viegas S, Viegas C, Oppliger A. Occupational Exposure to Mycotoxins: Current Knowledge and Prospects. Ann Work Expo Health. 2018;62(8):923-41.

- [16] Robbins CA, Swenson LJ, Nealley ML, Gots RE, Kelman BJ. Health effects of mycotoxins in indoor air: a critical review. *Appl Occup Environ Hyg*. 2000;15(10):773-84.
- [17] Fromme H, Gareis M, Völkel W, Gottschalk C. Overall internal exposure to mycotoxins and their occurrence in occupational and residential settings – An overview. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2016;219(2):143-65.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1438463915001546>
- [18] McLaughlin JK, Malker HS, Malker BK, Stone BJ, Ericsson JL, Blot WJ, *et al*. Registry-based analysis of occupational risks for primary liver cancer in Sweden. *Cancer Res*. 1987;47(1):287-91.
- [19] Turner PC, Hopton RP, Lecluse Y, White KL, Fisher J, Lebailly P. Determinants of urinary deoxynivalenol and de-epoxy deoxynivalenol in male farmers from Normandy, France. *J Agric Food Chem*. 2010;58(8):5206-12.
- [20] De Santis B, Debegnach F, Sonogo E, Mazzilli G, Buiarelli F, Ferri F, *et al*. Biomonitoring Data for Assessing Aflatoxins and Ochratoxin A Exposure by Italian Feedstuffs Workers. *Toxins (Basel)*. 2019;11(6).
- [21] Viegas S, Assunção R, Martins C, Nunes C, Osteresch B, Twarużek M, *et al*. Occupational Exposure to Mycotoxins in Swine Production: Environmental and Biological Monitoring Approaches. *Toxins (Basel)*. 2019;11(2).
- [22] Zarba A, Wild CP, Hall AJ, Montesano R, Hudson GJ, Groopman JD. Aflatoxin M1 in human breast milk from The Gambia, west Africa, quantified by combined monoclonal antibody immunoaffinity chromatography and HPLC. *Carcinogenesis*. 1992;13(5):891-4.
- [23] Magoha H, Kimanya M, De Meulenaer B, Roberfroid D, Lachat C, Kolsteren P. Association between aflatoxin M1 exposure through breast milk and growth impairment in infants from Northern Tanzania. *World Mycotoxin Journal*. 2014;7(3):277-84.
<https://www.ingentaconnect.com/content/wagac/wmj/2014/00000007/00000003/art00005https://doi.org/10.3920/WMJ2014.1705>
- [24] Turner PC. The molecular epidemiology of chronic aflatoxin driven impaired child growth. *Scientifica (Cairo)*. 2013;2013:152879.
- [25] Pfohl-Leszkowicz A, Manderville RA. Ochratoxin A: An overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. *Mol Nutr Food Res*. 2007;51(1):61-99.
- [26] Magoha H, Kimanya M, De Meulenaer B, Roberfroid D, Lachat C, Kolsteren P. Risk of dietary exposure to aflatoxins and fumonisins in infants less than 6 months of age in Rombo, Northern Tanzania. *Matern Child Nutr*. 2016;12(3):516-27.
- [27] Radonić JR, Kocić Tanackov SD, Mihajlović IJ, Grujić ZS, Vojinović Miloradov MB, Škrinjar MM, *et al*. Occurrence of aflatoxin M1 in human milk samples in Vojvodina, Serbia: Estimation of average daily intake by babies. *J Environ Sci Health B*. 2017;52(1):59-63.
- [28] Serraino A, Bonilauri P, Kerekes K, Farkas Z, Giacometti F, Canever A, *et al*. Occurrence of Aflatoxin M1 in Raw Milk Marketed in Italy: Exposure Assessment and Risk Characterization. *Front Microbiol*. 2019;10:2516.
- [29] Ezekiel CN, Abia WA, Braun D, Šarkanj B, Ayeni KI, Oyedele OA, *et al*. Mycotoxin exposure biomonitoring in breastfed and non-exclusively breastfed Nigerian children. *Environ Int*. 2022;158:106996.
- [30] Mupunga I, Izaaks CD, Shai LJ, Katerere DR. Aflatoxin biomarkers in hair may facilitate long-term exposure studies. *J Appl Toxicol*. 2017;37(4):395-9.
- [31] Petzinger E, Ziegler K. Ochratoxin A from a toxicological perspective. *J Vet Pharmacol Ther*. 2000;23(2):91-8.
- [32] Dietrich DR, Heussner AH, O'Brien E. Ochratoxin A: comparative pharmacokinetics and toxicological implications (experimental and domestic animals and humans). *Food Addit Contam*. 2005;22 Suppl 1:45-52.

- [33] Ringot D, Chango A, Schneider YJ, Larondelle Y. Toxicokinetics and toxicodynamics of ochratoxin A, an update. *Chem Biol Interact.* 2006;159(1):18-46.
- [34] De Ruyck K, Huybrechts I, Yang S, Arcella D, Claeys L, Abbeddou S, et al. Mycotoxin exposure assessments in a multi-center European validation study by 24-hour dietary recall and biological fluid sampling. *Environment International.* 2020;137:105539.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0160412019345064>
- [35] Soto JB, Ruiz MJ, Manyes L, Juan-García A. Blood, breast milk and urine: potential biomarkers of exposure and estimated daily intake of ochratoxin A: a review. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 2016;33(2):313-28.
- [36] Ali N, Blaszkewicz M, Alim A, Hossain K, Degen GH. Urinary biomarkers of ochratoxin A and citrinin exposure in two Bangladeshi cohorts: follow-up study on regional and seasonal influences. *Arch Toxicol.* 2016;90(11):2683-97.
- [37] Ali N, Hossain K, Degen GH. Blood plasma biomarkers of citrinin and ochratoxin A exposure in young adults in Bangladesh. *Mycotoxin Res.* 2018;34(1):59-67.
- [38] Ali N, Muñoz K, Degen GH. Ochratoxin A and its metabolites in urines of German adults-An assessment of variables in biomarker analysis. *Toxicol Lett.* 2017;275:19-26.
- [39] Warth B, Braun D, Ezekiel CN, Turner PC, Degen GH, Marko D. Biomonitoring of Mycotoxins in Human Breast Milk: Current State and Future Perspectives. *Chem Res Toxicol.* 2016;29(7):1087-97.
- [40] Scott PM. Biomarkers of human exposure to ochratoxin A. *Food Addit Contam.* 2005;22 Suppl 1:99-107.
- [41] Castegnaro M, Canadas D, Vrabcheva T, Petkova-Bocharova T, Chernozemsky IN, Pfohl-Leskowicz A. Balkan endemic nephropathy: role of ochratoxins A through biomarkers. *Mol Nutr Food Res.* 2006;50(6):519-29.
- [42] Dereumeaux C, Saoudi A, Pecheux M, Berat B, de Crouy-Chanel P, Zaros C, et al. Biomarkers of exposure to environmental contaminants in French pregnant women from the Elfe cohort in 2011. *Environ Int.* 2016;97:56-67.
- [43] Dereumeaux C, Fillol C, Charles MA, Denys S. The French human biomonitoring program: First lessons from the perinatal component and future needs. *Int J Hyg Environ Health.* 2017;220(2 Pt A):64-70.
- [44] Dereumeaux C, Fillol C, Saoudi A, Pecheux M, de Crouy Chanel P, Berat B, et al. Imprégnation des femmes enceintes par les polluants de l'environnement en France en 2011 - Tome 2 : métaux et métalloïdes [En ligne]. Saint-Maurice : Santé publique France; 2017. 225 p. p. www.santepubliquefrance.fr
- [45] Balicco A, Oleko A, Szego E, Boschat L, Deschamps V, Saoudi A, et al. Protocole Esteban : une Étude transversale de santé sur l'environnement, la biosurveillance, l'activité physique et la nutrition (2014–2016) *Toxicologie analytique & clinique* 2017; 29:517-37.
- [46] Haziza. D, Beaumont. JF. On the Construction of Imputation Classes in Surveys. *International Statistical Review.* International Statistical Institute (ISI) 2007;75:25-43.
<https://www.jstor.org/stable/41508447>
- [47] Royston P, White I. Multiple imputation by chained equations (MICE): Implementation in Stata. *Journal of Statistical Software.* 2011;45:1-20.
- [48] Little RJA, Rubin DB. *Statistical analysis with missing data.* Second edition. Wiley Series in Probability and Statistics. Second edition. New York : Wiley Series in Probability and Statistics; 2002.
- [49] Barr DB, Wilder LC, Caudill SP, Gonzalez AJ, Needham LL, Pirkle JL. Urinary creatinine concentrations in the U.S. population: implications for urinary biologic monitoring measurements. *Environmental health perspectives.* 2005;113(2):192-200.
- [50] StataCorp. *Stata Statistical Software : Release 14.* College Station, TX: StataCorp LP. 2015.
- [51] Lumley T. *Survey: analysis of complex survey samples.* R package version 3.35-1, 2019.

- [52] R Core Team. A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna Australia : 2017. <https://www.R-project.org/>.
- [53] Heyndrickx E, Sioen I, Huybrechts B, Callebaut A, De Henauw S, De Saeger S. Human biomonitoring of multiple mycotoxins in the Belgian population: Results of the BIOMYCO study. *Environ Int.* 2015;84:82-9.
- [54] Silva LJG, Macedo L, Pereira AMPT, Duarte S, Lino CM, Pena A. Ochratoxin A and Portuguese children: Urine biomonitoring, intake estimation and risk assessment. *Food and Chemical Toxicology.* 2020;135:110883.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691519306738>
- [55] Wallin S, Gambacorta L, Kotova N, Lemming EW, Nälsén C, Solfrizzo M, *et al.* Biomonitoring of concurrent mycotoxin exposure among adults in Sweden through urinary multi-biomarker analysis. *Food Chem Toxicol.* 2015;83:133-9.
- [56] Solfrizzo M, Gambacorta L, Visconti A. Assessment of multi-mycotoxin exposure in southern Italy by urinary multi-biomarker determination. *Toxins (Basel).* 2014;6(2):523-38.
- [57] Coronel MB, Marin S, Tarragó M, Cano-Sancho G, Ramos AJ, Sanchis V. Ochratoxin A and its metabolite ochratoxin alpha in urine and assessment of the exposure of inhabitants of Lleida, Spain. *Food Chem Toxicol.* 2011;49(6):1436-42.
- [58] Fan K, Xu J, Jiang K, Liu X, Meng J, Di Mavungu JD, *et al.* Determination of multiple mycotoxins in paired plasma and urine samples to assess human exposure in Nanjing, China. *Environ Pollut.* 2019;248:865-73.
- [59] Gerding J, Ali N, Schwartzbord J, Cramer B, Brown DL, Degen GH, *et al.* A comparative study of the human urinary mycotoxin excretion patterns in Bangladesh, Germany, and Haiti using a rapid and sensitive LC-MS/MS approach. *Mycotoxin Res.* 2015;31(3):127-36.
- [60] Martins C, Vidal A, De Boevre M, De Saeger S, Nunes C, Torres D, *et al.* Exposure assessment of Portuguese population to multiple mycotoxins: The human biomonitoring approach. *Int J Hyg Environ Health.* 2019;222(6):913-25.
- [61] Akdemir C, Ulker OC, Basaran A, Ozkaya S, Karakaya A. Estimation of ochratoxin A in some Turkish populations: an analysis in urine as a simple, sensitive and reliable biomarker. *Food Chem Toxicol.* 2010;48(3):877-82.
- [62] Ezekiel CN, Warth B, Ogara IM, Abia WA, Ezekiel VC, Atehnkeng J, *et al.* Mycotoxin exposure in rural residents in northern Nigeria: a pilot study using multi-urinary biomarkers. *Environ Int.* 2014;66:138-45.
- [63] Warensjö Lemming E, Montano Montes A, Schmidt J, Cramer B, Humpf HU, Moraeus L, *et al.* Mycotoxins in blood and urine of Swedish adolescents-possible associations to food intake and other background characteristics. *Mycotoxin Res.* 2020;36(2):193-206.
- [64] Escrivá L, Font G, Manyes L, Berrada H. Studies on the Presence of Mycotoxins in Biological Samples: An Overview. *Toxins (Basel).* 2017;9(8).
- [65] Gerding J, Cramer B, Humpf HU. Determination of mycotoxin exposure in Germany using an LC-MS/MS multibiomarker approach. *Mol Nutr Food Res.* 2014;58(12):2358-68.
- [66] Rambaud L, Fillol C. Élaboration de valeurs de référence en population générale à partir d'études avec biomarqueurs. *Archives des maladies professionnelles et de l'environnement.* 2017;78(2):175-81. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1775878516306579>
- [67] Rambaud L, Saoudi A, Zeghnoun A, Dereumeaux C, Fillol C. Elaboration de valeurs de références d'exposition à partir de données de biosurveillance. Saint-Maurice, France : Santé publique France; 2017. 26 p. <https://www.santepubliquefrance.fr>
- [68] Schulz C, Wilhelm M, Heudorf U, Kolossa-Gehring M. Update of the reference and HBM values derived by the German Human Biomonitoring Commission. *Int J Hyg Environ Health.* 2011;215(1):26-35.

[69] Saravanabhavan G, Werry K, Walker M, Haines D, Malowany M, Khoury C. Human biomonitoring reference values for metals and trace elements in blood and urine derived from the Canadian Health Measures Survey 2007-2013. *Int J Hyg Environ Health*. 2017;220(2 Pt A):189-200.

Annexe 1. Liste des variables testées dans le modèle multivarié chez les adultes

Variables

Facteurs d'ajustements

Indice de masse corporelle - IMC

Âge

Sexe

Vie en couple du référent

Ressenti de l'état financier

Nombre d'enfants dans le foyer

Diplôme

Créatinine

Déterminants connus de l'exposition (alimentaires)

Consommation de pains blancs et pains de mie nature

Consommation d'autres types de pain ou pains de mie (campagne, céréales, complets, sons ...)

Consommation de biscottes y compris complètes, aux céréales...

Consommation de céréales du petit déjeuner peu ou pas sucrées

Consommation de céréales du petit déjeuner sucrées et barres de céréales

Consommation pâtes, riz, semoule de blé

Consommation de légumes

Consommation de bœuf et veau y compris steak haché cru

Consommation d'agneau et de mouton

Consommation de lapin

Consommation de porc cuit y compris jambon blanc et saucisses

Consommation de poulet et autres volailles

Consommation de saucisson, saucisse sèche chorizo, salami, andouille, lardons, bacon, coppa, etc.

Consommation d'abats (foie, rognons, gésiers, etc.)

Consommation d'œufs (durs, sur le plat, à la coque, omelettes, etc.)

Consommation préparation à base d'œufs (quiches, gâteaux, crêpes, etc.)

Consommation de lait entier, demi écrémé, écrémé, liquide concentré ou en poudre

Consommation de fromage de tout type y compris les fromages allégés

Consommation de yaourts, fromages blancs et petits suisses (natures, aux fruits, aromatisés, etc.)

Consommation de yaourts 0%, fromages blancs 0%, et desserts lactés 0%

Consommation de fruits

Consommation de biscuits, gâteaux et pâtisseries

Consommation de viennoiseries (croissants, pain au chocolat, aux raisins, chaussons aux pommes, etc...)

Consommation de chocolats

Consommation de bonbons, confiseries et chewing-gums y compris sans sucre

Consommation de cacahuètes, amandes, pistaches, noisettes, noix, noix de cajou, olives..., natures ou salés

Consommation de thé, infusions, tisanes, etc.

Consommation de jus de fruits ou de légumes

Consommation de sodas, limonades, boissons aux fruits, eaux aromatisées, bière sans alcool, etc.

Consommation de vin blanc, rouge ou rosé, champagne, mousseux, crémant

Consommation de cidre

Consommation de bière
