الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة وهران 1 أحمد بن بلة
Université d'Oran 1
كلية الطب
Faculté de médecine

Département de Pharmacie

Thèse de Doctorat en Sciences Médicales

Hydrologie-Bromatologie

EVALUATION DES TENEURS EN RESIDUS DE PESTICIDES DANS LES ALIMENTS ET LA NAPPE PHREATIQUE

Présentée par :

Mr GAOUAR ZAKARIA LOTFI

Composition du Jury

Professeur REGGABI M.	Président	Faculté de Médecine d'Alger
Professeur HADJOUDJ O.	Membre	Faculté de Médecine d'Alger
Professeur MOUFFOK B.	Membre	Faculté des sciences exactes S.B.A
Docteur ABOU O.	Membre	Faculté de Médecine d'Oran

Directrice de thèse

Professeur REZK-KALLAH H.

Faculté de Médecine d'Oran

Octobre 2017

DEDICACES

A la mémoire de mes parents, de mon frère M'hammed et de ma mère adoptive ARBAOUI Yamina. Que dieu ait vos âmes dans sa sainte miséricorde.

Je dédie ce travail à ma femme et mes enfants : Rayène Abdelkrim, Narimène et Feriel Fatima Zohra.

A mon fils Mohammed Arselane auquel je souhaite plein de succès dans ses études et dans sa vie professionnelle.

A mes frères et sœurs : Amine, Omar, Abdelmadjid, Chakib, Kamila, Latifa, Fewzia et Ahlem.

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier ma directrice de thèse Professeur ***REZK-KALLAH HACIBA****, sans qui cette aventure n'aurait pu commencer. Je tiens à la remercier pour son soutient, sa disponibilité et ses qualités scientifiques dont j'ai pu profiter. Merci de m'avoir accueillie au sein de votre équipe et pour avoir mis à ma disposition des moyens performants pour réaliser ces travaux.*

J'adresse mes sincères remerciements au Professeur ***REGGABI M.*** *pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider le jury de cette thèse.*

J'exprime toute ma gratitude aux Professeur ***HADJOUDJ O.****, Professeur* ***MOUFFOK B*** *et le Professeur* ***ABOU O.*** *pour avoir accepté de lire et d'évaluer ce travail.*

Je remercie aussi chaleureusement le ***Dr. CHEFIRAT BILEL*** *pour ses conseils techniques et pour m'avoir appuyé dans la réalisation de ce projet.*

Mes remerciements vont également à toute l'équipe du service de toxicologie du CHU d'Oran et en particulier le ***Dr. Saadi Rachida***

et le ***Dr. Djelad-Kaddour Sanae*** *pour leur partage de connaissances et avec qui j'ai eu un grand plaisir de travailler.*

Merci également au ***Dr. Bendjamaa Atika*** *pour sa contribution à la réalisation de la présentation Power Point lors de ma soutenance.*

Je tiens à exprimer aussi ma reconnaissance aux responsables des Directions des Services Agricoles des wilayas de Tlemcen, Oran, Mostaganem, Sidi-Bel-Abbès, Aïn-Témouchent et Mascara.

Mes remerciements vont également à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de cette thèse.

Mr.GAOUAR ZAKARIA LOTFI

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES :

Préambule..... 1

PARTIE THEORIQUE

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES PESTICIDES :

I.1. Historique..... 3
I.2. Définitions..... 4
I.3. Classification et principales familles des pesticides 5
I.4. Caractéristiques phytosanitaires des pesticides 7
I.5. Formes et modalités d'utilisation des pesticides..... 7

CHAPITRE II : DEVENIR DES PESTICIDES DANS L'ENVIRONNEMENT

Introduction 9
II.1 Comportement et effets des pesticides sur les différents compartiments Environnementaux 10
II.1.1 Le compartiment aquatique 10
II.1.2. Le sol 11
II.1.3. Le compartiment aérien 12
II.2. Facteurs influençant le devenir des pesticides dans l'environnement 12
II.2.1. Les facteurs anthropiques 13
II.2.2. Les facteurs physico-chimiques 14
II.2.3. Les facteurs environnementaux 15

CHAPITRE III : EFFETS DES PESTICIDES SUR LA SANTE

Introduction 16
III.1. Exposition chronique aux pesticides et populations d'études 19
III.1.1. Population professionnellement exposée 20
III.1.2. Population générale 21
III.1.3. Enfants 21
III.2. Effets chroniques des pesticides 22
III.2.1. Pesticides et cancers 22
III.2.1.1Population professionnellement exposée 24
III.2.1.1.a Cancers hématopoïétiques 28
III.2.1.1.b Cancers de la prostate 28
III.2.1.1.c Tumeurs cérébrales 29
III.2.1.1.d Cancers de l'enfant 29
III.2.1.2 Population générale 29
III.2.1.2.a Cancers de l'adulte 31
III.2.1.2.b Cancers de l'enfant 31
III.2.2. Pesticides et troubles de la reproduction 32
III.2.2.1. Population professionnellement exposée 39

TABLE DES MATIERES

III.2.2.1. a. Développement embryonnaire et fœtal 40
III.2.2.1.b. Fertilité masculine et/ou féminine 40
III.2.2.2. Population générale 40
III.2.3. pesticides et pathologies neurologiques 41
III.2.3.1. Maladies neurodégénératives 44
III.2.3.2. Troubles neurologiques et psychiques 45

CHAPITRE IV : ASPECTS REGLEMENTAIRES

Introduction 47
IV.1. La limite Maximale de Résidus (LMR) 47
IV.2. Principes généraux de l'établissement d'une LMR 48
IV.3. Harmonisation des LMR 50
IV.4. Contrôle des LMR 51
IV.5. Etudes alimentaires totales (EAT) 51
IV.6. Lois relatives aux teneurs maximales en résidus de pesticides dans les denrées Alimentaires 54
IV.7. Législation Algérienne 55

Chapitre V : Aspects analytiques

V.1. Introduction 58
V.2. Extraction des résidus de pesticides 61
V.2.1. Solvants d'extraction 63
V.2.2. Extraction en phase solide 64
V.2.3. Méthode d'extraction et de purification QuEChERS 65
V.3. Méthodes d'analyse 66
V.3.1. La chromatographie en phase gazeuse 67
V.3.1.1. Instrumentation en CPG 68
V.3.1.1.a. Source de gaz 68
V.3.1.1.b. Le four 68
V.3.1.1.c. La colonne 68
V.3.1.1.d. Systèmes d'injection 69
V.3.1.1.e. Détecteurs 70
V.3.2. La chromatographie en phase liquide 71
V.3.3. La spectrométrie de masse 72
V.3.3.1. La source d'ionisation 73
V.3.3.1.a. La source d'ionisation par éléctrospray 74
V.3.3. 1.b. La source d'ionisation par impact électronique 75
V.3.3.2. Analyseurs 76
V.3.3.2.a. Les principales caractéristiques d'un analyseur 76
V.3.3.2.b. Types d'analyseurs 77
V.3.3.2.c. Les analyseurs à champ quadripolaire : Le filtre de masse quadripolaire (QMF) ou quadripôle (Q) 77
V.3.3.2.d. Trappe ionique 78
V.3.3.3. Détecteurs 79

TABLE DES MATIERES

V.3.4. La spectrométrie de masse en tandem 79
V.3.4. 1. Les Modes de scans..... 80
V.3.4.1. a. Mode balayageou « Full Scan » 81
V.3.4.1.b. Mode Single Ion Monitoring (SIM)..... 81
V.3.4.1.c. Le « SelectedReaction Monitoring » (SRM) ou le Multiple Reaction Monitoring..... 82
V.3.4.1.d. Le « Product Ions Scan » (PI) et l'« Enhanced Product Ions Scan (EPI) 82

PARTIE PRATIQUE

Objectifs de l'étude..... 84

CHAPITRE I : Etude descriptive de l'usage des pesticides en milieu agricole

I.1 Matériel et méthodes..... 85
I.1.1. Localisation et description du terrain d'étude..... 85
I.1.2. Déroulement de l'étude..... 86
I.1.3. Recueil des informations..... 87
I.2. Résultats de l'étude descriptive sur terrain..... 87
I.2.1. Caractérisation des ennemis des cultures..... 87
I.2.2. Produits phytosanitaires utilisés..... 88
I.2.3. Modalités d'utilisation des produits phytosanitaires..... 90
I.2.4. Situation particulière des pesticides stockés dans la région de Mostaganem..... 90
I.2.5.Caractéristiques des puits échantillonnés..... 91
I.3. Discussion des résultats..... 92
I.4.Critères de choix de la matrice et des pesticides à analyser..... 93
I.5. Conclusion..... 98

Chapitre II : Niveau de contamination des tomates par les pesticides

II.1. Matériel et méthodes..... 99
II.1.1. Appareillage..... 99
II.1.2. Matériels..... 99
II.1.3. Réactifs chimiques..... 100
II.1.4. Préparation des solutions..... 101

TABLE DES MATIERES

II.1.4.1. Phase mobile..... 101

II. 1.4.2. Solution mère et solutions de travail 101

II.1.4.3. Solution étalon interne..... 101

II.1.5. Echantillonnage 102

II.1.6. Procédure générale d'extraction 103

II.2. Méthode d'analyse en chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem 106

II.3. Résultats 108

II.3.1. Performance de la technique d'extraction (rendement d'extraction) 108

II.3.2. Performances de la méthode d'analyse par CL-SM/SM 108

II.3.2.1. Résultats de la validation analytique de la méthode d'analyse de pesticides dans les tomates par CLHP-SM/SM 109

II.3.2.1.1. Etude de la linéarité 109

II.3.2.1.2. Effet matrice 114

II.3.2.1.3. Justesse (exactitude) 115

II.3.2.1.4. Répétabilité (fidélité) 115

II.3.2.1.5. Limites de détection (LDD) et de quantification(LDQ)... 117

II.4. Application de la méthode : analyse des échantillons de tomates 117

II.5. Discussion des résultats d'analyse des échantillons de tomates..... ... 126

Chapitre III : NIVEAU DE CONTAMINATION DES EAUX DE PUITS PAR LES PESTICIDES

III.1. Matériel et méthodes 131

III.1.1. Appareillage 131

III.1.2. Matériel 131

III.1.3. Produits Chimiques 132

III.1.4 .Echantillonnage 132

III.1.5. Procédure générale d'extraction 133

III.2. Méthode d'analyse en chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse 136

III.2.1. Conditions analytiques de la CPG 136

III.2.2. Conditions de spectrométrie de masse 136

TABLE DES MATIERES

III.3. Résultats 138

III.3.1. Performance de la technique d'extraction (rendement d'extraction).... 138

III.3.2. Performances de la méthode d'analyse par CG/MS 139

III.3.2.1. Résultats de la validation analytique de la méthode de dosage par CG /MS 139

III.3.2.1.1. Etude de la linéarité 139

III.3.2.1.1.a. Justesse (exactitude)..... 142

III.3.2.1.1. b. Répétabilité (fidélité)..... 142

III.3.2.1.2. Limite de détection et limite de quantification..... 143

III.4. Application de la méthode : Analyse des échantillons d'eaux de puits 144

III.5. Discussions 145

CHAPITRE IV : GUIDE D'UTILISATION DES PRODUITS PHYTOSANITAIRES

Introduction 150

IV.1. Stockage des produits phytosanitaires 150

IV.1.1. Produits phytosanitaires en grande quantité..... 151

IV.1.2. Produits phytosanitaires en petite quantité..... 154

IV.2. Utilisation des produits phytosanitaires 155

IV.2.1. Bonnes pratiques agricole avant le traitement 155

IV.2.1.1. Le choix du produit phytosanitaire 155

IV.2.1.2. Etiquetage des emballages des produits phytosanitaires..... 156

IV.2.1.3. Vérification du matériel d'épandage : exemple du pulvérisateur à rampe 157

IV.2.1.3.1. Réglage du pulvérisateur 157

IV.2.1.3.1.a. Choix des buses 157

IV.2.1.3.1.b. Vérification du manomètre 159

IV.2.1.3.1.c. Etalonnage du pulvérisateur 159

IV.2.1.4. Calcul de la dose à épandre 160

IV.2.1.5 Préparation de la bouillie 161

IV.2.2. Bonnes pratiques agricoles pendant le traitement 162

IV.2.3. Bonnes pratiques agricoles après le traitement 163

TABLE DES MATIERES

Conclusion générale 165

Références bibliographiques 166

Annexes

LISTE DES ABREVIATIONS

Liste des abréviations :

% :	Pourcentage.
[C] :	Concentration.
°C :	Degré Celsius.
µg/L :	Microgramme par litre.
µL :	Microlitre.
A.C. T.A :	Association de Coordination Technique Agricole, éditrice de l'Index Phytosanitaire.
A.P.C :	Assemblée Populaire Communal.
AEP :	Alimentation en Eau Potable.
AFNOR :	Association Française de normalisation.
AUC :	Air Under Courbe.
C.C.L.S :	Coopératives de Céréales et de Légumes Secs
C.E :	Commission Européenne.
C.E :	Energies de collision
C.E.E :	Communauté Economique Européenne.
C.H.U :	Centre Hospitalo-Universitaire.
C.L.H.P :	Chromatographie Liquide Haute Performance
C.N.C.C :	Centre National de Contrôle et de Certification des semences et des plants.
C.P.G :	Chromatographie en Phase Gazeuse.
C.X.P :	Tensions de sorties du Q3
CSC :	Commission de la Sécurité des Consommateurs.
CV :	Coefficient de Variation.
D.J.A :	Dose journalière admissible.
D.P :	Tension de déclusterisation.
D.P.V.C.T :	Direction de la Protection des Végétaux et des Contrôles Techniques.
D.S.A :	Direction des Services Agricoles.
DC :	courant continu
E.C.D :	Dissociation par capture d'électrons (Electron Capture Dissociation).
E.F.S.A:	European Food Safety Authority.
E.I :	Ionisation par impact électronique (Electron Ionization).
E.S.I:	Electronébulisation (ElectroSpray Ionization).
F.A.O :	Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.
F.I.D:	Flame Ionization Detector.
F.S.A:	Food Standars Agency.
g :	gramme.
GABA :	Acide γ-aminobutyrique.
GREPP :	Groupe Régional d'Etudes des pollutions par les Produits Phytosanitaires.
hm^3:	hectomètre cube= 10 6 mètre cubes.
I.N.P.V :	Institut National de la Protection des Végétaux.
I.P.P.U.A :	Index des Produits Phytosanitaires à Usage Agricole.
I.P.W :	Inspection Phytosanitaire de Wilaya.
I.T.A.F.V :	Institut Technique de l'Arboriculture Fruitières et de la Vigne.

LISTE DES ABREVIATIONS

I.T.C.M.I :	Institut National des Cultures Maraîchères Industrielles.
I.T.G.C :	Institut Technique des Grandes Cultures.
I.U.P.A.C :	Union internationale de chimie pure et appliquée.
INSERM :	Institut national de la santé et de la recherche médicale.
J.O.R.A.D.P :	Journal Officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire.
L.M.R :	Limite Maximale de Résidus.
L.N.H :	Lymphome Non Hodgkinien
M.A.D.R :	Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et de la pèche.
M.R.M:	Multiple Reaction Monitoring.
m/z :	masse/charge
mM :	milli mole
O.A.I.C :	Office Algérien Interprofessionnel des Céréales.
O.M.S :	Organisation Mondial de la Santé.
O.P :	organophosphorés.
O.R.P :	Observatoire des Résidus de Pesticides.
P.N.M :	Plan National de Mise en œuvre.
P.P :	Produits Phytosanitaires.
Ppb :	partie par billon = µg/Kg ou µg/L.
Ppm =	partie par million = mg/Kg ou mg/L.
Q :	quadripôle
QqQLIT:	système hybride triple quadripôle/trappe d'ion linéaire.
Q-TOF :	système hybride quadripôle/détecteur à temps de vol.
QuChERS:	QuEChERS: Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe
RCIU :	Retard de la croissance intra-utérin.
RF :	radiofréquence.
S.I.R:	Single Ion Reasearch
S.M :	Spectrométrie de Masse.
S.P.E :	Extraction sur phase solide.
S/N :	Rapport Signal to Noise.
SANCO :	Direction générale Santé et sécurité alimentaire (commission européenne).
T.I.C:	ThermoIonic Detector.
TPP:	Triphényle phosphate.
Tr :	Temps de rétention.
U.E :	Union Européenne.
U.I.P.P :	Union des industries de la protection des plantes

LISTE DES TABLEAUX

Liste des tableaux :

Tableau n° 1 : Propriétés des pesticides indiquant leur fort potentiel de contamination des eaux souterraines…….. 15

Tableau n° 2 : Toxicité aiguë des pesticides …….. 16

Tableau n°3 : Exemples d'études épidémiologiques montrant une incidence élevée de certains pesticides sur les différents cancers …….. 23

Tableau n°4 : Exemples d'études sur les pesticides et cancers chez les populations professionnellement exposées …….. 26

Tableau n°5 : Exemples d'études sur les pesticides et cancers chez la population générale. 30

Tableau n°6 : Exemples d'études sur les pesticides et les troubles de la reproduction chez les populations professionnellement exposées …….. 34

Tableau n°7 : Exemples d'études sur les pesticides et les troubles de la reproduction chez la population générale …….. 36

Tableau n°8 : Exemples d'études sur les pesticides et les pathologies neurologiques chez les populations professionnellement exposées et en population générale …. 42

Tableau n°9 : Familles et substances actives impliquées dans la maladie de Parkinson : hypothèses mécanistiques…… 46

Tableau n°10 : Paramètres de qualité de l'eau de consommation humaine …….. 57

Tableau n°11 : Comparaison de la source ESI à l'APCI et APPI …….. 75

Tableau n°12 : Familles chimiques répertoriées lors de l'étude descriptive …….. 89

Tableau n°13 : Répartition des puits analysés selon leurs profondeurs et leurs usages…….. 91

Tableau n°14 : Superficies, productions des cultures maraîchères (tomates) en Algérie…… 93

Tableau n°15 : Caractéristiques des molécules concernées par notre étude…….. 95

Tableau n°16 : Concentrations et volumes des solutions de travail utilisés pour la préparation des solutions d'étalonnage …….. 102

Tableau n°17 : Récapitulatif des MRM pour toutes les molécules (analytique tomates)…… 107

Tableau n°18 : Rendements d'extractions obtenus pour les 11 molécules à trois niveaux de dopage pendant trois jours consécutifs (analytique tomate)..... 108

Tableau n°19 : Equations et coefficients de corrélation des courbes d'étalonnage moyennes (analytique tomates)…… 110

Tableau n°20 : Pourcentages des effets de matrice…… 114

LISTE DES TABLEAUX

Tableau n°21 : Tableau récapitulatif des taux de recouvrements (exactitudes) (analytique tomates) 115

Tableau n°22 : Tableau récapitulatif des coefficients de variation inter-jour (analytique tomates) 116

Tableau n°23 : LDD et LDQ de la méthode HPLC/MS/MS 117

Tableau n°24 : Equations et coefficients de corrélation des courbes d'étalonnage moyennes (analytique tomates) 118

Tableau n°25 : Résultats d'analyse des échantillons de tomate par HPLC/MS/MS 119

Tableau n°26 : LMR des pesticides détectés dans nos échantillons de tomates 128

Tableau n°27 : Protocole de préparation de la gamme étalon (analytique eaux de puits) 132

Tableau n°28 : Protocole d'extraction des pesticides (analytique eaux de puits) 134

Tableau n°29 : Protocole de chargement de la matrice (analytique eaux de puits)..... 135

Tableau n°30 : Paramètres du mode SIR (analytique eaux de puits) 138

Tableau n°31 : Rendements d'extraction (analytique eaux de puits)..... 138

Tableau n°32 : Equations et coefficients de corrélation (r^2) des courbes moyennes..... 140

Tableau n°33 : Taux de recouvrement (analytique eaux de puits) 142

Tableau n°34 : Coefficients de variation inter-jours (analytique eaux de puits)..... 142

Tableau n°35 : Limites de détection et de quantification (analytique eaux de puits) 143

Tableau n°36 : Résultats d'analyse des échantillons des eaux de puits par CPG/MS..... 144

Tableau n°37 : Qualité des eaux de puits analysées 146

Tableau n°38 : Pictogrammes de produits chimiques dangereux..... 153

LISTE DES FIGURES

Liste des figures

Figure n° 1 : Schéma de la diffusion des pesticides après leur application sur les végétaux vers les différents compartiments de l'environnement…… 9

Figure n° 2 : Illustration de l'influence des facteurs environnementaux sur les pesticides après leur application…… 13

Figure n° 3 : Principe de l'extraction sur phase solide…… 65

Figure n° 4 : Structure d'un spectromètre de masse…… 73

Figure n° 5 : Source d'ionisation par electrospray …… 74

Figure n° 6 : Source d'ionisation par impact électronique …… 76

Figure n° 7 : Illustration globale (à gauche) et coupe transversale (à droite) d'un quadripôle…… 78

Figure n° 8 : Schéma de la trajectoire des ions dans un piège ionique …… 79

Figure n° 9 : Triple quadripôles …… 80

Figure n° 10 : Formation des ions fils à partir d'ion parent…… 80

Figure n° 11 : Représentation schématique des modes d'acquisition full scan (à gauche) et SIM (à droite) …… 81

Figure n° 12 : Représentation schématique du mode « Selected Reaction Monitoring » …… 82

Figure n° 13 : Représentation schématique des modes « Product Ions Scan « (à gauche) et « Enhanced Product Ions Scan » (à droite) …… 83

Figure n° 14 : Localisation de la zone d'étude…… 85

Figure n° 15 : Classification des pesticides utilisés en fonction de la cible visée…….. 88

Figure n° 16 : Classification des pesticides utilisés en fonction de la famille Chimique… 89

Figure n° 17 : CLHP/SM/SM du service de toxicologie CHU Oran…… 99

Figure n° 18 : Mode schématique de la méthode d'extraction QuEChERS…… 105

Figure n° 19 : Résultats final de l'optimisation de la méthode…… 109

Figure n° 20 : Courbes moyennes d'étalonnage (étalon et matrice) des 11 pesticides……. 111

Figure n° 21 : Courbe de calibration sur matrice dopée (Matrix matched calibration)… 118

Figure n° 22 : Répartition des échantillons de tomates selon la présence ou l'absence des pesticides…… 126

Figure n° 23 : Répartition des pesticides détectés dans les échantillons de tomates selon le pesticide trouvé…… 126

Figure n° 24 : Répartition des échantillons de tomates positifs selon la cible…… 127

Figure n° 25 : Appareil de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse du service de toxicologie du CHU d'Oran…… 131

Figure n° 26 : Modalités de prélèvements des eaux de puits…… 133

Figure n° 27 : Protocole d'extraction des pesticides de l'eau de puits…… 135

LISTE DES FIGURES

Figure n° 28 : Chromatogrammes du Lindane obtenus après injection d'une solution à 500µg/l …… 137
Figure n° 29 : Chromatogrammes des différents pesticides du mélange obtenu après injection d'une solution à 500µg/l…….. 139
Figure n° 30 : Courbe d'étalonnage de la Simazine…… 140
Figure n° 31 : Courbe d'étalonnage de l'Atrazine…… 140
Figure n° 32 : Courbe d'étalonnage du Lindane…….. 140
Figure n° 33 : Courbe d'étalonnage de l'Alachlor…… 140
Figure n° 34 : Courbe d'étalonnage du Métolachlor…… 141
Figure n° 35 : Courbe d'étalonnage de l'Heptachlore Epoxyde…… 141
Figure n° 36 : Courbe d'étalonnage de l'Endrine…….. 141
Figure n° 37 : Courbe d'étalonnage de l'Endrine Aldéhyde…….. 141
Figure n° 38 : Courbe d'étalonnage de l'Endrine Kétone…….. 141
Figure n° 39 : Chromatographe de l'échantillon n°7 d'eau de puits…….. 145
Figure n° 40 : Caractéristiques d'un local de stockage des produits phytosanitaires…… 152
Figure n° 41 : Armoires de sécurité pour le stockage des produits phytosanitaires en petites quantités…… 155
Figure n° 42 : Etiquetage de l'emballage des produits phytosanitaires…….. 157
Figure n° 43 : Types de buses…… 158
Figure n° 44 : Vérification du débit des buses…… 158
Figure n° 45 : Equipements de protection individuelle…… 162

PREAMBULE

Préambule

Les pesticides, substances chimiques d'origine naturelle ou synthétique, encore appelés produits phytosanitaires, sont utilisées pour la croissance, la protection et la conservation des végétaux. A la fin de la seconde guerre mondiale, ces substances furent très largement employées dans le secteur agricole pour augmenter les rendements des cultures en protégeant les plantes, au cours de leur développement, des différents ravageurs.

L'utilisation intensive et anarchique de ces substances, au cours des années, a conduit à l'apparition de multiples problèmes d'ordres écologiques, environnementaux et sanitaires. En effet, la présence de ces substances même à de faibles quantités dans les produits agricoles et les eaux, peut poser d'éventuels risques sanitaires.Les preuves, du lien entre l'exposition aux pesticides et l'incidence des maladies chroniques, sont rapportées dans de nombreuses publications scientifiques. Les pathologies les mieux étudiées, avec une incidence élevée du lien pesticides-maladies chroniques, sont le cancer (Leucémie, cancer du poumon...), les anomalies congénitales, les troubles de la reproduction, la maladie de Parkinson et la maladie d'Alzheimer, la sclérose latérale amyotrophique...etc.

Dès lors, la mise en place d'une législation réglant l'utilisation de ces produits phytosanitaires devint plus que nécessaire afin de protéger la santé du consommateur et de l'environnement. Cette mesure visant la régulation des produits phytosanitaires a été rendu possible par une collaboration établie entre les organisations et les communautés internationales. Celle-ci s'est traduite par une tolérance des résidus de ces micropolluants sous un certain seuil maximal (limite maximale de résidus) dans les denrées alimentaires traitées et les eaux. Ces limites sont établies à partir des données toxicologiques et agronomiques, elles reflètent les bonnes pratiques agricoles qui aboutissent à des niveaux de résidus sans effet sur la santé.

Dans ce contexte, l'Algérie accuse un retard considérable concernant les niveaux tolérés de résidus de pesticides dans les denrées alimentaires traitées et dans les eaux. Ce n'est que récemment qu'il y a eu une prise de conscience de ce vide juridique par la mise en place d'une réglementation pour les paramètres de qualité de l'eau de consommation humaine **(J.O.R.A.D.P n°13 du 09/03/2014).** Les produits phytosanitaires sont régis par des lois et des décrets exécutifs, et notamment la **LOI N° 87-17 DU 1er AOUT 1987.**

PREAMBULE

De nombreux programmes de suivi des résidus de pesticides dans des matrices alimentaires et des échantillons environnementaux (eaux, sols et air) sont menés dans de nombreux pays. L'accroissement du nombre de polluants à l'état de traces nécessite des méthodes analytiques très sensibles afin de pouvoir les détecter et les quantifier.

Le présent travail s'articule autour des axes suivants :

La première partie est une synthèse bibliographique, qui comporte des données générales sur les produits phytosanitaires, leur devenir dans l'environnement, leur mode d'action et leurs effets sur la santé humaine liés à l'exposition chronique de la population générale. Nous aborderons également dans cette partie les aspects réglementaires et analytiques des résidus de pesticides, les techniques utilisées pour le dosage en l'occurrence la chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) et la chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS).

La seconde partie correspond à l'étude pratique reposant principalement sur une évaluation des teneurs en résidus de pesticides dans les aliments (tomates) et dans la nappe phréatique (eaux de puits) par des méthodes sensibles et spécifiques. Pour ce faire, une étude descriptive de l'usage des pesticides en milieu agricole a été nécessaire afin de déterminer les pesticides les plus utilisés et les modalités de leur utilisation ainsi que pour corréler entre ces traitements et les teneurs en résidus de pesticides retrouvés. Ces dernières ne seront conformes aux indications de l'UE que si les bonnes pratiques agricoles sont respectées. De ce fait, un guide d'utilisation des produits phytosanitaires sera élaboré et remis aux agriculteurs à l'issue de ce travail.

PARTIE THEORIQUE

Chapitre I

Généralités sur les pesticides

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES PESTICIDES

I.1 Historique

L'utilisation des pesticides en agriculture remonte à l'antiquité. L'usage du soufre paraît remonter à 1000 ans av J,-C ; l'arsenic était recommandé par Pline (L'Histoire Naturelle de Pline, au Ier siècle, sera longtemps considérée comme le symbole de tout le savoir humain). C'est à cette époque que sont signalées les propriétés insecticides du tabac et des racines de Derris et de Lonchocarpus.

L'utilisation plus généralisée des pesticides a suivi les progrès de la chimie minérale. Au XIXe siècle, les traitements fongicides sont à base de sulfate de cuivre (dont la célèbre bouillie bordelaise) ou à base de mercure ; les insecticides tels l'arsénite de cuivre, l'acétoarsénite de cuivre, l'arséniate de plomb font aussi leur apparition. Le pyrèthre, une poudre provenant de fleurs du genre chrysanthemum est introduit comme insecticide à cette même époque (**Observatoire des Résidus de Pesticides).**

Au XXe siècle, beaucoup d'efforts scientifiques ont été orientés vers la production d'armes chimiques pour la deuxième guerre mondiale. Ces efforts ont éventuellement conduit à la production de pesticides de synthèse. L'avènement des insecticides organiques de synthèse est généralement associé à la découverte des propriétés insecticides du DDT (dichlorodiphényltrichloroéthane) en 1939 par Müller dans les laboratoires de la société Geigy à Bâle, soit 60 ans après qu'il eut été synthétisé par le strasbourgeois Zeidler **(Regnault-Roger *et al.*, 2005).** L'expansion de ces derniers fut accélérée dans les années 1940 avec la découverte du BHC (β Benzène-Hexachloride), Aldrine, Dieldrine (utilisé comme une alternative au DDT), Endrine, Chlordane, Parathion et le Captane. Le DDT fut très en vogue du fait de son large spectre d'activité qui a permis la réduction de nombreuses maladies dont les vecteurs sont des insectes (malaria, fièvre jaune entre autres). Ces organochlorés ont servi de façon intensive partout en agriculture et en aménagement forestier, dans la protection des bâtiments et du bois, face à une vaste gamme d'insectes nuisibles.

Cette nouvelle génération de pesticides paraissait sans danger spécialement en la comparant avec les formes d'arsenic responsables de beaucoup de décès au cours des années 1920 et 1930. En revanche, du fait de la large application du DDT, des résistances y ont apparus vers 1946 en plus d'effets néfastes sur des végétaux et animaux non ciblés par ce dernier.

La découverte d'un deuxième groupe de produits plus puissants en termes de lutte antiparasitaire, les composés organophosphorés (plus toxiques, actions rapides et plus rapidement dégradés : Malathion en 1950) a mené au remplacement d'une majorité d'organochlorés.

Les carbamates (Aldicarbe…) sont des insecticides apparus plus tard que les organochlorés et les organophosphorés ; ils sont par ailleurs moins utilisés en termes de quantité. Le groupe synthétique des pyréthrinoïdes (Bifenthrine, Deltaméthrine…) est apparu plus récemment, au début des années 1970. Les pyréthrinoïdes synthétiques sont plus stables à la lumière que les groupes précédents et possèdent une activité insecticide plus forte, d'environ 10 fois celle de la plupart des organophosphorés et des carbamates **(Davenport *et al.*, 2000).**

Au cours des années 1990, les activités de recherches se sont concentrées sur l'obligation de trouver des pesticides avec une grande sélectivité et de meilleurs profils environnementaux et toxicologiques : Il y a ainsi eu l'introduction de la triazolopyrimidine et de l'isoxazole. Quelques années après, des produits spécifiques impliquant une connaissance poussée de la physiologie du ravageur ou de sa cible ont été mis sur le marché **(Tissut *et al.*, 2006).**

Aujourd'hui, les scientifiques essayent de manipuler le système génétique des plantes pour qu'elles deviennent plus résistantes aux pesticides à large spectre ainsi qu'aux organismes indésirables. De nouvelles approches sont aussi conçues pour l'application des pesticides afin de réduire le risque d'intoxications chroniques.

I.2 Définitions

Le terme pesticide est un anglicisme, issu du latin *pestis* (peste, fléau) et *caedere* (tuer). L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (ou Food and Agriculture Organisation – FAO) entendent par 'pesticide' toute substance destinée à prévenir, détruire, attirer, repousser ou combattre tout élément nuisible y compris toute espèce indésirable de plantes ou d'insectes pendant la production, le stockage, le transport, la distribution et la préparation d'aliments, de denrées agricoles ou de produits pour l'alimentation animale, ou pouvant être appliquée aux animaux pour les débarrasser d'ectoparasites. Ce terme englobe les substances utilisées comme régulateurs de la croissance végétale, défoliants, agents d'ébourgeonnement ou inhibiteurs de germination, ainsi que les substances appliquées aux cultures avant ou après la récolte pour

protéger la production contre toute détérioration pendant le stockage et le transport. **(FAO et OMS, 1997).**

Les pesticides sont aussi appelés « produits phytosanitaires ». La **directive européenne91/414/CE du 15 juillet 1991**(relative à la mise sur le marché des produits phytosanitaires), abrogée et remplacée par le **règlement européenCE 541/2011**, les définit comme étant : « Les substances actives et les préparations contenant une ou plusieurs substances actives qui sont présentes sous la forme dans laquelle elles sont livrées à l'utilisateur et qui sont destinées à :

- Protéger les végétaux ou les produits végétaux contre tous les organismes nuisibles ou à prévenir leur action,
- Exercer une action sur les processus vitaux des végétaux, pour autant qu'il ne s'agisse pas de substances nutritives,
- Assurer la conservation des produits végétaux, pour autant que les substances ou produits ne fassent pas l'objet de dispositions particulières du Conseil ou de la Commission concernant les agents conservateurs,
- Détruire les végétaux indésirables,
- Détruire les parties de végétaux, freiner ou prévenir une croissance indésirable des végétaux ».

Les pesticides sont encore désignés par le terme « produits phytopharmaceutiques » au sens de la **directive91/414 /CEE** (remplacée par le règlement **n° 1107/2009/CE** du 21 octobre 2009) appelés en France plus communément « produits phytosanitaires », les produits utilisés principalement pour la protection des végétaux en agriculture ou dans d'autres secteurs. Les substances actives, dont l'incorporation est autorisée dans les produits (inscrites à l'annexe I du règlement **1107/2009/CE** et anciennement directive 91/414/CE), sont au nombre de 365 substances chimiques et 36 microorganismes **(Index Phytosanitaire ACTA, 2014).**

I.3 Classification et principales familles de pesticides

Actuellement, les pesticides sont séparés en deux groupes, selon leurs utilisations :

- Les pesticides à usage non agricole ou biocides, utilisés par exemple en hygiène publique (lutte anti-vectorielle) et dans d'autres applications comme la conservation du bois, la désinfection, ou certains usages domestiques.

CHAPITRE I : GENERALITES SUR LES PESTICIDES

➢ Les pesticides à usage agricole ou produits phytopharmaceutiques ou produits phytosanitaires qui sont des substances chimiques minérales ou organiques, de synthèse ou naturelles.

Les pesticides disponibles aujourd'hui sur le marché sont caractérisés par une telle variété de structures chimiques, de groupes fonctionnels et d'activités que leur classification est complexe. D'une manière générale, les substances actives peuvent être classées soit en fonction de la nature de l'espèce à combattre, soit en fonction de la nature chimique de la principale substance active qui les compose, soit en fonction du mécanisme de transfert dans la plante. Pour ce dernier (classification la plus simple), il existe deux catégories principales de pesticides : les pesticides non systémiques et les pesticides systémiques. Les pesticides non systémiques ou de contact n'ont pas, ou alors très faiblement, la capacité de pénétrer dans les tissus des plantes et d'être transférés du site de contact vers les parties distales de la plante. Les pesticides systémiques, eux, peuvent pénétrer dans les tissus des plantes et être transférés vers d'autres parties de la plante que la zone traitée ; le produit chimique pénètre dans la plante au travers de la cuticule des feuilles après pulvérisation ou est absorbé par les racines après traitement du sol **(Regnault-Roger *et al.*, 2005).**

En fonction de la nature de l'espèce à combattre ou de la cible visée, on distingue plusieurs catégories :

- ✓ Les insecticides (contre les insectes nuisibles) ;
- ✓ Les fongicides (contre les champignons parasites) ;
- ✓ Les herbicides (contre les mauvaises herbes ou adventices) ;
- ✓ Les nématicides (contre les nématodes) ;
- ✓ Les corvicides (contre les oiseaux) ;
- ✓ Les acaricides (contre les acariens) ;
- ✓ Les rodenticides ou raticides (pour lutter contre les rongeurs) ;
- ✓ Les molluscides (pour tuer les mollusques : limaces et escargots) ;
- ✓ Les algicides (pour lutter contre le développement des algues) **(Ramade, 1998).**

La troisième possibilité de classement est une classification en fonction de la nature chimique de la principale substance active qui compose les produits phytopharmaceutiques. A ce titre, les principaux groupes chimiques sont :

- Les organochlorés,
- Les organophosphorés,
- Les carbamates,
- Les pyréthrénoïdes,
- Les triazines,
- Les urées substituées (néonicotinoïdes)…etc.

I.4 Caractéristiques phytosanitaires des pesticides

Un pesticide commercialisé se compose d'une ou de plusieurs **substances** ou **matières actives** (que sont les molécules disposant des propriétés phytosanitaires requises) ; **d'adjuvants** destinés à accompagner les effets des substances actives, d'une charge inerte qui peut être de l'argile ou de la cellulose. L'adjuvant est une substance dépourvue d'activité biologique jugée suffisante dans la pratique mais capable de modifier les propriétés physiques, chimiques ou biologiques des produits phytosanitaires. Il renforce l'efficacité, la sécurité du produit et sa facilité d'utilisation. On trouve aussi des **dénaturants** : ils évitent la confusion avec un produit alimentaire ou empêchent l'absorption accidentelle (colorant, vomitif) **(Index ACTA. 2014).**

I.5 Formes et modalités d'utilisation des pesticides

Les produits phytosanitaires sont appliqués sous forme :

- Solide lorsqu'ils sont épandus en pré-semis ou en prélevée sur un sol nu. Les granulés diffusent alors lentement dans le sol. Les substances actives peuvent être incluses dans des microcapsules poreuses de polymères et sont dispersées en suspension dans l'eau,
- liquide ou émulsifiable pour un épandage en post-levée qui est déterminé le plus souvent par le nombre de feuilles des plants,
- Enrobée : les semences sont enrobées de fongicides ou d'insecticides pour les préserver des nuisibles durant le stockage et après le semis.

Tout ou une partie des principes actifs ainsi libérés atteint donc le sol. Les polluants de l'eau se répartissent suivant leurs caractéristiques physicochimiques, dissouts (phase dissoute) ou

adsorbés aux particules solides (phase particulaire). Les molécules sont ensuite transférées vers les eaux de nappe et de surface, en fonction de leurs propriétés physico-chimiques (solubilité, demi-vie, etc.), des évènements météorologiques (occurrence et intensité de la pluie), de la structure et de la texture des sols traités, et des pratiques culturales en vigueur dans la zone concernée (labour, irrigation, etc.) **(Boithias, 2012).**

Il existe plusieurs modes d'épandage des pesticides. Les plus courants sont :

- La pulvérisation foliaire qui est l'épandage d'une bouillie de pesticide sur les feuilles.
- La pulvérisation corticale consiste à épandre une solution d'herbicide à la base des tiges à 0,5 mètre du sol environ.
- Le traitement de surfaces consiste lui à pulvériser des herbicides sur le cambium des espèces ligneuses.
- L'épandage au sol consiste à épandre des herbicides qui seront absorbés par les racines directement sur le sol.
- L'épandage aérien consiste à pulvériser des pesticides à partir d'un hélicoptère ou d'un avion. **(Ministère de l'environnement -Canada- manuel de sécurité d'utilisation des pesticides, 1999)**

Chapitre II
Devenir des pesticides dans l'environnement

Introduction

La contamination de l'air, des sols et des eaux par les pesticides largement utilisés en agriculture est aujourd'hui plus que jamais au centre de tous les débats relatifs à une protection de l'environnement. On s'intéresse à la présence de pesticides dans les eaux superficielles depuis les années 1960, depuis qu'on s'est aperçu de la toxicité directe d'insecticides organochlorés pour des animaux aquatiques. Durant les deux décennies suivantes, on a trouvé de plus en plus de pesticides dans les eaux souterraines ce qui a inévitablement provoqué une grande inquiétude puisque l'eau de boisson est dans bien des cas puisée dans les nappes **(Schiavon *et al.*, 1995).**

Dans les années 1970 et 1980, on a commencé à s'intéresser au passage des pesticides dans l'atmosphère. En effet, lors d'un épandage aérien, près de 50% du produit n'atteint pas la cible et se disperse dans l'air environnant. A cette contamination directe, il faut ajouter les molécules provenant de l'évaporation, une fois le pesticide déposé sur la plante, le sol ou l'eau **(Figure 1).**

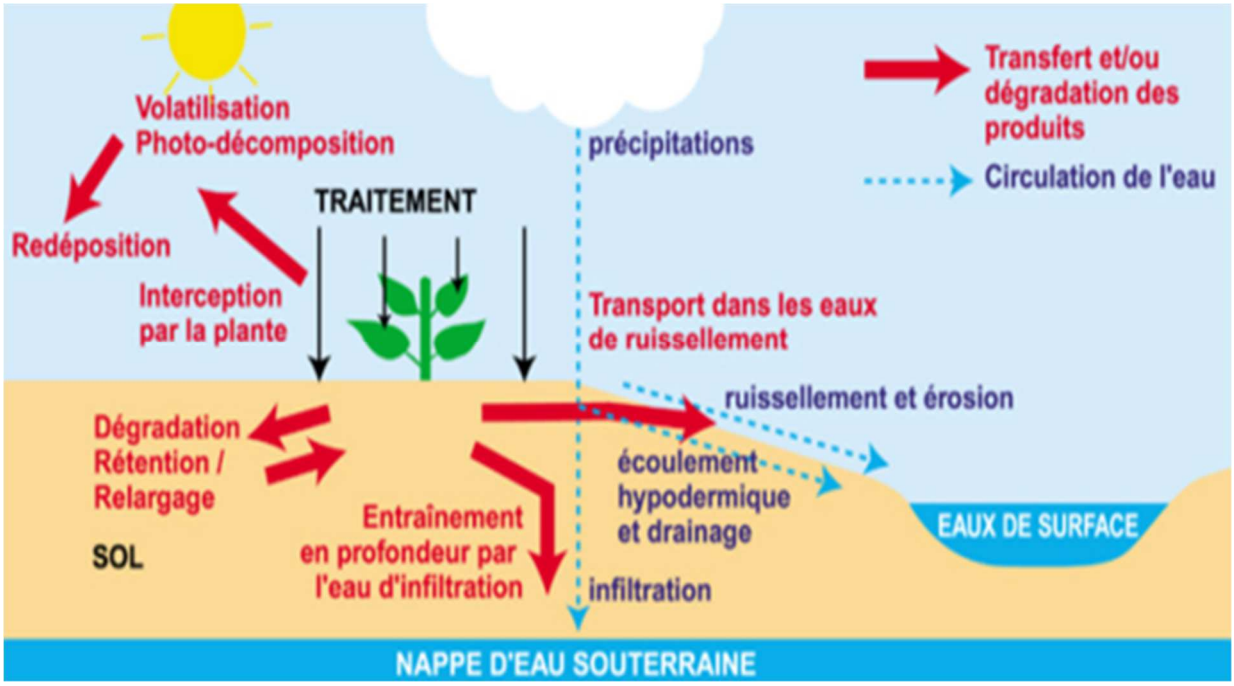


Figure 1. Schéma de la diffusion des pesticides après leur application sur des végétaux vers les différents compartiments de l'environnement (Observatoire des Résidus de Pesticides)

Ceci explique en bonne partie la présence des polluants organiques persistants dans l'Arctique canadien, alors que cette région n'a jamais été traitée par ces molécules **(Regnault-Roger *et al.*, 2005).**

Selon les pesticides et les modalités de leur épandage, une fraction seulement des pesticides épandus par voie aérienne atteint leurs cibles agricoles. Entre 30 et 99 % des quantités utilisées contaminent ainsi l'eau, l'air ou le sol **(Ricoux, 2009).**

Le devenir des produits phytosanitaires dans les sols constitue une préoccupation majeure, notamment en ce qui concerne la pollution des nappes phréatiques. En effet, le sol par ses propriétés physicochimiques, va intervenir sur la rétention des produits : la rétention limite la mobilité de la matière active vers l'atmosphère, les eaux de surface par ruissellement et les eaux profondes par lessivage **(Hasset *et al.*, 1989)** tandis que ce processus sera contrarié par ses propriétés biologiques et hydrodynamiques. La sorption du sol est l'un de la plupart des processus qui influent sur le devenir des pesticides **(McCarthy *et al.*, 1985).** La nature chimique du sol joue aussi un rôle. Il a été montré que la présence de carbone organique dissous dans le sol calcaire peut diminuer le potentiel de sorption de l'Imidaclopride, et donc d'augmenter le potentiel de lessivage de cette molécule et de contamination des eaux souterraines **(Flores-Cespedes *et al.*, 2002).**

II.1 Comportement et effets des pesticides sur les différents compartiments environnementaux

II.1.1 Le compartiment aquatique

Le transfert par lixiviation peut causer la pollution des eaux souterraines. L'importance de cette pollution dépendra entre autres, des propriétés du pesticide (hydrosolubilité, coefficient de partage octanol/eau…), de celles du sol, de la vitesse d'infiltration et de l'épaisseur des différentes couches du sol. Dans beaucoup de sols, la présence de macrospores (fissures, galeries de vers de terre, passage de racines) favorise l'entraînement des pesticides par lixiviation, lesquels sont emportés rapidement vers le sous-sol et la nappe. Une fois qu'ils sont dans le milieu aquatique, les pesticides sont soumis à une variété de processus :

- Physiques (accumulation, dépôt, dilution et diffusion) ;
- Chimiques (hydrolyse et oxydation) ;
- Photochimiques (photolyse et photodégradation) ;

- Biochimiques (biodégradation, biotransformation, bioaccumulation). **(Tankiewicz *et al.*, 2010)**

Le milieu aquatique est justement caractérisé par la longueur de ses chaînes trophiques (phytoplancton, zooplancton, invertébrés, poissons non carnivores, poissons carnivores, oiseaux riverains, humains). C'est pourquoi les contaminations les plus critiques ont toujours été observées dans des réseaux trophiques associés au milieu aquatique, étant donné que la contamination des chaînes trophiques dépend de la contamination des biotopes. **(Boithias, 2012)**

Pour les eaux en général et les eaux souterraines en particulier, les pesticides après application, traversent le sol et se retrouvent dans les eaux souterraines après transformations, sous formes de métabolites **(Reemtsma *et al.*, 2013) .** Certains de ces métabolites sont plus toxiques que la molécule mère **(Tiwari *et al.*, 2014)**

II.1.2 Le sol

Dans le compartiment sol, la mobilité de la substance active est réduite par son adsorption sur les particules du sol. Les micro-organismes du sol (actinomycètes, bactéries, champignons) interviendront sur la dégradation et l'élimination du produit par minéralisation, ce qui confère au sol un pouvoir de détoxification particulièrement élevé **(Pons *et al.*, 1998)** alors que la circulation de l'eau libre du sol contribuera par son entraînement vers des compartiments non-cibles. Le taux de dégradation de pesticides par les micro-organismes du sol ou des réactions chimiques augmente généralement avec la température et avec la teneur en eau du sol. La persistance des substances actives peut être très longue dans un sol sec.

Pour un pesticide, la demi-vie au sol représente le temps nécessaire pour que la moitié (de la quantité du pesticide) se dégrade. Cette demi-vie est régie par :

- Les types d'organismes du sol qui sont présents et qui peuvent dégrader le pesticide,
- Le type de sol (sable, limon, argile) : le sol argileux tend à adsorber d'avantage les pesticides que le sol sablonneux qui lui, facilite leur descente vers la nappe phréatique **(Root, 1990).**

➢ Le pH et la température : Le Dicofol, organochlorés utilisé à grande échelle, perdure dans les sols acides **(Anonyme, 1999).** Ainsi donc, le pH du sol est un facteur qui affecte la persistance des pesticides.

Le taux de dégradation de pesticides par les micro-organismes du sol ou des réactions chimiques augmente généralement avec la température et avec la teneur en eau du sol. La dégradation c'est le processus qui conduit à la disparition réelle de la matière active, soit par transformation partielle soit par transformation totale de la molécule d'origine en composés minéraux tels que CO_2, H_2O, NO_3^-**(Yaduraju *et al.*, 1994).**Elle peut être abiotique c'est-à-dire d'origine chimique et/ou photochimique.

Tous ces processus peuvent intervenir de manière indépendante, mais agissent le plus souvent de manière simultanée voire complémentaire.

II.1.3 Le compartiment aérien

Lors d'un traitement, une certaine proportion de la substance active épandue passe directement dans l'atmosphère. Ce passage est important lors d'applications effectuées par hélicoptère ou par avion, et reste plus limité lors d'applications terrestres classiques.

Des résidus de pesticides peuvent passer des cultures vers le compartiment aérien par des phénomènes d'évaporation, de co-distillation avec l'eau. La volatilisation est l'une des causes principales de fuites de pesticides hors de la zone cible, notamment quand les traitements visent la surface du sol ou celle des végétaux.

Le transport aérien de molécules de pesticide consécutif à leur volatilisation est la voie principale de transfert vers les plantes et donc vers les animaux et les hommes, et est responsable d'effets toxiques indirects par action néfaste sur des espèces autres que les cibles originales **(Periquet *et al.*, 2004).**

II.2 Facteurs influençant le devenir des pesticides dans l'environnement

L'influence des facteurs environnementaux (température, vent, précipitation et concentration de l'air en CO_2) sur les pesticides après leurs applications, est représentée par la **Figure 2.**

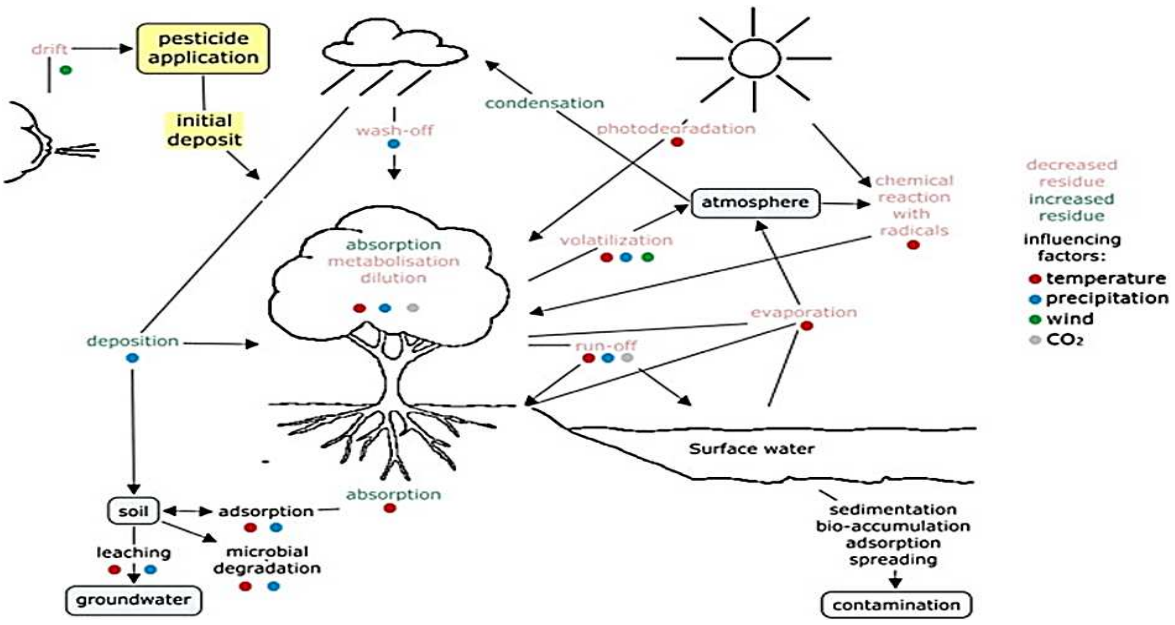


Figure 2 : **Illustration de l'influence des facteurs environnementaux sur les pesticides après leur application (Delcour *et al.*, 2014).**

La volatilisation vers l'atmosphère, du pesticide déposé sur l'arbre par exemple, est fonction de la température, des précipitations et du vent.

Les processus de dégradation, minéralisation, adsorption, fixation, ainsi que de translocation ayant lieu dans le sol sont dépendants de nombreux facteurs, principalement climatiques, tels que la température, l'humidité, l'aération, et des caractéristiques propres au sol, comme la variété des minéraux argileux, l'acidité, la teneur en fertilisants et le contenu en substances humiques **(Senhaji, 1996).**

II.2.1 Les facteurs anthropiques

Le premier facteur induisant la présence de pesticides dans l'environnement est bien sûr l'homme. Le transfert vers l'environnement des produits appliqués en plein champ et la contamination des eaux de surface et souterraines dépend du choix des espèces cultivées et traitées, donc de l'occupation du sol du bassin versant, de l'état du sol (nu ou non, récemment labouré ou non), du stade de développement des cultures en place, de la date d'application en fonction des prévisions météorologiques **(Lewan *et al.*, 2009).**

La volatilisation lors du traitement des sols dépend de la formulation (solide, liquide) des pesticides épandus et des machines d'épandages utilisées. En Europe, les épandages aériens à

vocation agricole ne sont plus pratiqués, aussi pour des questions de coût élevé pour des zones réduites.

L'état du sol conditionne la dégradation. S'il n'est pas travaillé (prairie), le sol est recouvert de matières organiques riches en microorganismes capables de métaboliser les pesticides, mais les fissures qui le structurent facilitent le drainage vers la nappe. Au contraire, le champ, nu ou non, présente un couvert de matières organiques moindre mais le labour permet de déstructurer le sol et d'éliminer les chemins préférentiels de l'eau, diminuant ainsi le drainage (**Carluer *et al.*, 2003).**

II.2.2 Les facteurs physico-chimiques

Dans le sol, la molécule circule entre les compartiments eau, sol ou air, en fonction de ses propriétés physico-chimiques (solubilité, constante de Henry, coefficient de partition octanol/eau, coefficient d'adsorption sur la matière organique).

Les molécules de solubilité inférieure à 2 mg/L sont majoritairement transportées sous forme particulaire et celles de solubilité supérieure à 10 mg/L sont majoritairement transportées en solution. Le devenir des pesticides dépend de la capacité de transfert de chaque substance active : une molécule est moins mobile si elle est adsorbée. Sa capacité d'adsorption accroît sa rémanence et donc la pollution à long terme des sols et des eaux souterraines. La demi-vie de dissipation connue sous l'abréviation DT50 d'une molécule dépend en partie des pesticides eux-mêmes. Les facteurs qui contrôlent la mobilité et la dégradation dans les cours d'eau sont sensiblement les mêmes. **(Dur *et al.*, 1998).**

D'autres auteurs, en se basant sur les propriétés physico-chimiques des pesticides, ont établi une liste de paramètres indiquant le fort potentiel de contamination des eaux souterraines par ces produits. Ces paramètres sont résumés dans le **Tableau 1**.

Tableau 1 : **Propriétés des pesticides indiquant leur fort potentiel de contamination des eaux souterraines (Sabik *et al.*, 2000)**

Paramètres	Valeurs
Solubilité dans l'eau	> 30mg/L
Kd	< 5, habituellement < 1
Koc	< 300
Constante d'HENRY	$< 10^{-2}$ atm m^3 mol^{-1}
Demi-vie d'hydrolyse	> 25 semaines
Demi-vie de photolyse	> 1 semaine
Demi-vie de dissipation	> 3 semaines
Spéciation	Négativement, totalement ou partiellement chargée au pH ambiant

Kd= Constante de dissociation ; Koc= coefficient de partage carbone organique/eau ; Constante d'HENRY = rapport entre la concentration maximale d'un produit et de la pression partielle du gaz ; Spéciation= apparition d'une nouvelle molécule.

II.2.3 Les facteurs environnementaux

Des températures élevées favorisent la volatilisation dans l'air des pesticides. Le lessivage et la contamination de l'eau par les pesticides dépendent de leur disponibilité dans le sol au cours du temps, de la topographie des parcelles et de l'éloignement au cours d'eau, des propriétés du sol, de l'intensité et de la durée du ruissellement induit par les précipitations et l'irrigation, et de la durée séparant le traitement et les premières pluies. La quantité exportée avec le ruissellement peut atteindre 90% de l'apport de pesticide en cas de pluie violente sur une parcelle récemment traitée **(Louchart *et al.*, 2000).**

Dans la rivière, les phénomènes d'adsorption et de dégradation dépendent du débit, des concentrations en carbone organique dissout (COD), carbone organique particulaire (COP), des matières en suspension et de la granulométrie des particules, qui sont les vecteurs du transport des molécules des pesticides **(Taghavi *et al.*, 2010**

Chapitre III
Effets des pesticides sur la santé

CHAPITRE III : EFFETS DES PESTICIDES SUR LA SANTE

Introduction

Il est établi que la toxicité des pesticides dépend de la dose, des modalités d'exposition, du degré d'absorption, de la nature des effets induits par le produit actif et ses métabolites, de la capacité d'accumulation et de persistance dans l'organisme ainsi que de l'état de santé du sujet **(Dich *et al.*, 1997).** La toxicité aiguë résultant d'une mauvaise utilisation ou d'un usage accidentel des pesticides est un phénomène connu, mais qui ne concerne qu'un contingent peu important des maladies professionnelles et des accidents domestiques **(de Jaeger *et al.*, 2012).** Le tableau suivant **(Tableau 2)** récapitule les principaux effets manifestés lors d'intoxication aiguë par les différentes classes de pesticides **(Descotes *et al.*, 1994).**

Tableau 2.Toxicité aiguë des pesticides.

Classe/ pesticide	Effets aiguës
Organophosphorés	Les effets des OP sont liés à leur capacité d'inhiber les cholinestérases dans le SNC, le SNA et les jonctions neuromusculaires. Les symptômes incluent : vertiges, anxiété, agitation, céphalée, confusion, salivation, transpiration, larmoiement, vision trouble, diarrhée et tremblements musculaires suivis de faiblesse et de paralysie. Dans les formes graves, surviennent coma et décès.
Carbamates	Modalités d'intoxications similaires à celles des OP.
Organochlorés	L'intoxication aiguë par les OC se manifeste par des troubles digestifs, des signes neurologiques (céphalées, malaise général, agitation, tremblements, confusion mentale voire coma), des signes musculaires et des atteintes viscérales (cytolyse hépatique, atteinte rénale).
Pyrèthres	Des signes irritatifs cutanés et cutanéomuqueux, digestifs et respiratoires, ainsi que des signes neurologiques (incoordination motrice, clonies généralisées et crises hypertoniques en cas d'ingestion massive).
Paraquat	Effets caustiques puis insuffisance rénale aigue, cytolyse hépatique, myocardite, hémorragies conduisant au décès, par fibrose pulmonaire extensive en quelques jours.

Tableau 2.Toxicité aiguë des pesticides (suite)

Classe/ pesticide	Effets aiguës
Chlorate de sodium	Puissant oxydant, le chlorate de sodium provoque une hémolyse massive, l'hémoglobine libérée devenant méthémoglobine de façon irréversible, puis une insuffisance rénale aiguëanurique soit par néphrotoxicité directe, soit du fait de l'hémoglobinémie. L'ingestion de 25 à 30 g de chlorate de sodium est potentiellement mortelle chez l'homme.
Pentachlorophénol	Les formes mineures de l'intoxication aiguë par le Pentachlorophénol se traduisent par un état de malaise et des douleurs abdominales en cas d'ingestion. les formes graves sont marquées par une hyperthermie majeure réfractaire avec sudation intense évoluant vers la déshydratation globale, un collapsus et une défaillance myocardique, un coma convulsif. Une insuffisance rénale fonctionnelle est quasi-constante.
Benzonitriles et dérivés nitrophénoliques	Mêmes caractéristiques que celles du Pentachlorophénol, dont ils sont proches chimiquement.
glyphosate	Peu toxique pour l'homme. L'ingestion provoque une irritation digestive marquée, une obnubilation, une hypotension et parfois une acidose métabolique ou une insuffisance rénale aiguë par nécrose tubulaire.
Triazines et triazoles	Ces herbicides sont peu toxiques. Leur ingestion massive peut provoquer des troubles digestifs, un syndrome adrénergique, une cytolyse hépatique, une insuffisance rénale aiguë.
Urée et dérivés	Très peu toxiques, ces herbicides peuvent provoquer des lésions digestives irritatives mais pas de signe systémique d'intoxication.
Dithiocarbamates	De faible toxicité, les Dithiocarbamates conduisent à des dermites de contact, troubles digestifs et en cas d'ingestion simultanée d'alcool, à un effet antabuse.
Anticoagulants	Ces AVK sont, comme ceux utilisés en thérapeutique, des antagonistes compétitifs de la synthèse hépatique des facteurs K-dépendants de la coagulation. L'absorption de grains enrobés est bénigne, compte tenu des quantités de toxique ingérées. L'absorption de solutés concentrés pour la préparation d'appâts provoque des hémorragies diffuses qui peuvent engager le pronostic vital selon leur abondance et leurs localisations.

Tableau 2.Toxicité aiguë des pesticides (suite)

Classe/ pesticide	Effets aiguës
strychnine	Antagoniste compétitif de la glycine, neurotransmetteur de régulation des réflexes médullaires, la strychnine provoque une hyperexcitabilité musculaire généralisée, exacerbée par toute stimulation. Le décès survient par tétanisation des muscles respiratoires, apnée et arrêt cardiaque.
Bromure de méthyl	Ce gaz est un irritant cutanéomuqueux et respiratoire. Les formes mineures sont marquées par des troubles irritatifs et trachéo-bronchiques, des céphalées, des nausées et une sensation de malaise général. Les formes graves se traduisant par un œdème aigu pulmonaire lésionnel et surtout un coma myoclonique ou convulsif, et sont caractérisées par une longue durée d'évolution et de possibles séquelles déficitaires, motrices, intellectuelles.
Phythormones de synthèse	L'intoxication aigue est classiquement considérée comme bénigne. Cependant, l'ingestion volontaire de fortes doses peut provoquer des troubles digestifs précoces, des signes neurologiques (confusion, coma hypotonique, parfois accompagné de dépression respiratoire, fasciculations, myoclonies, plus rarement convulsions) et plus rarement hyperthermie, hyper salivation, flush du visage, signes cardiovasculaires faisant la gravité de l'intoxication, cytolyse hépatique, rhabdomyolyse.

L'exposition régulière à des petites doses conduit à l'accumulation de ces produits dans l'organisme et peuvent avoir des effets néfastes à long terme. De plus, dans l'organisme, ces produits chimiques ont probablement des effets cumulés et synergiques ; c'est « l'effet cocktail». Néanmoins, très peu d'études sont menées sur le sujet **(de Jaeger *et al.*, 2012).**

L'étude des effets à long terme des pesticides fait l'objet d'une abondante littérature scientifique et de nombreux rapports. Cependant, ces études sont confrontées à une triple hétérogénéité :

1. Des pesticides : plusieurs centaines de substances actives appartenant à quelques dizaines de familles chimiques, imprégnées de solvant, d'additifs et d'impuretés, utilisées parfois seules ou en association.
2. Des types d'effets étudiés : cancers, type de cancer (LNH, leucémies…), effets sur la reproduction (quel paramètre suivre…), effets neurologiques…

3. Des personnes exposées aux pesticides : exposition variable au cours du temps et souvent associée à d'autres facteurs de risque de l'effet étudié (facteurs de confusion) mais aussi la modalité d'évaluer cette exposition (rétrospective, prospective, autoévaluation par des questionnaires…) :

- ✓ Travailleurs de l'industrie de fabrication des pesticides parfois exposés à d'autres substances chimiques dangereuses.
- ✓ Cultivateurs utilisant les pesticides et exposés à d'autres facteurs de risque, en particulier, biologiques ou infectieux mais aussi vivant selon un mode de vie bien particulier
- ✓ Conjoints et enfants des travailleurs professionnellement exposées.
- ✓ Toute personne touchée par la contamination de l'eau, de l'air ou des aliments ou lors de travaux de jardinage (contact avec les produits et le sol).

Suite à cette analyse des faits, les effets à long terme des pesticides sur la santé vont être traités en deux volets :

- ✓ Exposition : sources d'exposition et populations exposées.
- ✓ Effets chroniques des pesticides : hypothèses retenues.

III.1 Exposition chronique aux pesticides et populations d'études

La majorité des problèmes de santé liés aux pesticides repose sur l'exposition prolongée et l'intoxication chronique à ces produits phytosanitaires, sachant que leurs effets tardifs sont d'autant plus dangereux qu'ils sont difficiles à cerner **(de Jaeger *et al.*, 2012; Mostafalou *et al.*, 2013).**

Les pesticides regroupent un grand nombre de spécialités de toxicité variable pour l'homme. D'une manière générale, l'OMS retient comme facteurs influençant la toxicité des pesticides pour l'Homme : la dose, les modalités de l'exposition, le degré d'absorption, la nature des effets de la substance active et de ses métabolites et l'accumulation et la persistance du produit dans l'organisme **(de Jaeger *al.*, 2012).**Après pénétration dans l'organisme par voie oculaire, digestive, respiratoire ou cutanée, les pesticides atteignent alors leurs organes cibles par voie essentiellement sanguine, pour agir et éventuellement y être stockés (organochlorés).

En effet, certains pesticides sont stockés pendant des décennies dans les tissus adipeux et l'on ne connaît pas encore leur niveau d'élimination **(de Jaeger *et al.*, 2012).**

Outre l'exposition professionnelle aux pesticides, les analyses effectuées sur l'ensemble des sources d'exposition mettent en avant une contamination par les pesticides généralisée et diffuse de tous les milieux. Les usages agricoles, domestiques ou collectifs conduisent à une contamination de tout l'environnement humain (alimentation, eau, air, sol) **(de Jaeger *et al.*, 2012 ; Tron *et al.*, 2001).**

Les données sur les risques sanitaires liés à l'exposition à ces contaminations restent cependant trop parcellaires pour permettre des conclusions formelles du fait que la problématique essentielle demeure l'incertitude et l'imprécision de l'évaluation de l'exposition qui est très peu et mal mesurée**(de Jaeger *et al.*, 2012; Chubilleau *et al.*, 2011).**

III.1.1 Population professionnellement exposée

Les expositions professionnelles aux pesticides surviennent lors de la fabrication des pesticides, lors de leur préparation et lors de leur utilisation, notamment en aspersion.

Ainsi, lors de mesures d'exposition chez des agriculteurs Français, il a été constaté **(Chubilleau *et al.*, 2011) :**

- L'étape de mélange et chargement est le travail le plus contaminant en plein champ, constituant les deux tiers de l'exposition quotidienne ;
- Il y a une corrélation positive entre les paramètres suivants : surface de l'exploitation, quantité de substance active manipulée, surface aspergée et durée de l'application classiquement utilisée pour évaluer le niveau d'exposition.
- Les paramètres qui apparaissent les plus pertinents sont le type d'équipement d'aspersion, le nombre de travaux de préparation et d'application effectués, la présence ou l'absence de problème technique ou les cas de débordement, et le nombre de moments où les buses sont débranchées.

Cependant, la plupart des études souffrent d'une imprécision sur l'exposition aux pesticides, souvent réduite à la notion d'utilisation ou pas de pesticides ou des grandes familles tels les insecticides, fongicides, herbicides. La réalité de l'exposition en milieu agricole est beaucoup plus complexe, à cause de la diversité des secteurs, des cultures, des tâches et du matériel

utilisé, mais aussi du rôle probablement synergique du cumul de pesticides utilisés **(de Jaeger *et al.*, 2012).**

III.1.2 Population générale

L'exposition aux pesticides en population générale est une exposition multi-milieux avec des interactions complexes. Selon l'institut de veille sanitaire(INVS) parmi les facteurs favorisant l'imprégnation aux pesticides, figurent l'alimentation, le fait d'utiliser des pesticides à son domicile, le fait de résider à proximité de zones agricoles…etc. Les pesticides peuvent être présents dans tous les milieux sans que la part de chacune de ces sources de contamination soit connue alors qu'elle varie probablement selon la substance et les circonstances d'exposition. **(INVS 2011).**

En l'absence de connaissances sur la contamination par les pesticides présents dans l'air intérieur et extérieur, il est classiquement considéré que la principale voie de contamination est la voie alimentaire : la consommation d'eau en représente 10% de la contamination, les 90% restants par les aliments **(Chubilleau *et al.*, 2011).** Toutefois, certains auteurs suggèrent que la voie de contamination par les aliments est surestimée alors que celle par l'eau est sous-estimée. Ainsi, des LMR et DJA ont été fixées pour protéger les consommateurs.

III.1.3 Enfants

Les enfants et nourrissons de la population générale constituent les individus les plus sensibles et les plus exposés à la contamination orale par les pesticides **(WHO/FAO, 2004).**Le comportement des enfants représente un facteur majeur de leur contamination non alimentaire par les pesticides. En effet, des études ont montré que les mains des enfants représentent un véhicule et une source importante de contamination de pesticides dans les communautés agricoles **(Shalat *et al.*, 2005)** mais également en zones urbaines **(Coignard *et al.*, 2006).**

Les enfants de parents professionnellement exposés s'avèrent particulièrement une bonne population d'étude. Il faut surtout tenir compte de la période d'exposition. En effet, une exposition des parents même avant la conception ne s'avère pas sans effet sur le fœtus. L'exposition maternelle durant la grossesse est évidemment intéressante à étudier mais aussi

celle paternelle (passage des résidus du sperme du père vers la circulation sanguine de la maman à travers les muqueuses vaginales) **(de Jaeger *et al.*, 2012).**

III. 2 Effets chroniques des pesticides

Les pesticides ont été supposés à l'origine d'un grand nombre de maladies chroniques, incluant de nombreux types de cancer, des anémies aplasiques, la maladie de parkinson, des neuropathies périphériques et des malformations congénitales, bien que le lien ait été rarement clairement établi. Néanmoins, dans certains cas, suspicions et incertitudes ont généré d'importantes préoccupations du public **(Coggon, 2002).**

Ainsi, même si documenter les relations entre une exposition aux pesticides et certaines pathologies paraît difficile, il semble que les effets chroniques des pesticides sur la santé humaine seraient principalement des cancers, des troubles de la reproduction et des troubles neurologiques. Dans une moindre mesure, d'autres pathologies comme des troubles de l'immunité, des troubles ophtalmologiques, des pathologies cardiovasculaires, des pathologies respiratoires et des troubles cutanés sont aussi rapportées **(Multigner *et al.*, 2005; Ferragu *et al.*, 2010; INCA.2009).**

Suite à cette analyse des faits, les effets vont être abordés en trois chapitres :

- Pesticides et cancer.
- Pesticides et troubles de la reproduction.
- Pesticides et pathologies neurologiques.

III.2.1 Pesticides et cancers

Les premiers rapports sur l'association des pesticides avec le cancer ont été présentés il y a environ 50 ans concernant une prévalence plus élevée de cancer du poumon et de la peau chez les agriculteurs utilisant des insecticides dans les champs de vigne **(Mostafalou *et al.*, 2013).**

Les pesticides sont classés parmi les substances dont la cancérogénicité est fortement suspectée, mais non démontrée **(Chubilleau *et al.*, 2011).** D'après l'INCA **(INCA 2009),** les principaux cancers étudiés en lien avec les expositions aux pesticides sont :

- Les cancers hématopoïétiques comprenant les lymphomes malins (LNH et LH), les leucémies et les myélomes multiples : ils font l'objet du plus grand nombre des travaux chez les adultes et chez les enfants ;
- Les tumeurs cérébrales ;
- Les cancers hormonaux-dépendants tels que : prostate, sein, ovaire, testicules…
- Et dans une moindre mesure les cancers du rein, des poumons ou de la thyroïde.

Le **tableau 3** indique les données extraites des études épidémiologiques impliquant la relation entre l'exposition à des pesticides spécifiques et le risque accru de certains types de cancers.

Tableau 3 : **Exemples d'études épidémiologiques montrant une incidence élevée de certains pesticides sur les différents cancers (Mostafalou *et al.,* 2013).**

Type de cancer	Pesticide	Référence
Leucémies	Chlordane/ Heptachlore	Purdue et al. (2007)
	Chlorpyriphos	Lee et al. (2004b)
	Diazinon	Beane Freeman et al. (2005) Van
	EPTC	Bemmel et al. (2008)
	Fonofos	Mahajan et al. (2006)
lymphome non Hodgkinien	Lindane	Purdue et al. (2007)
	Oxychlordane/ chlordane	Spinelli et al. (2007)
Myélome multiple	Perméthrine	Rusiecki et al. (2009)
Cancer du cerveau	Chlorpyriphos	Lee et al. (2004b)
Cancer de la prostate	Fonofos	Mahajan et al. (2006)
	Bromure de méthyle	Alavanja et al. (2003)
	Butylate	Lynch et al. (2009)
	Chlordécone	Multigner et al. (2010)
	DDT, Lindane, Simazine	Band et al. (2011)
Cancer du côlon	Aldicarbe	Lee et al. (2007)
	Dicamba	Samanic et al. (2006)
	EPTC	Van Bemmel et al. (2008)
	Imazethapyre	Koutros et al. (2008)
	Trifluraline	Kang et al. (2008)
Cancer du rectum	Chlordane	Purdue et al. (2007)
	Chlorpyriphos	Lee et al. (2004b)
		Lee et al. (2007)

Cancer du pancréas	Pendiméthaline EPTC, Pendiméthaline DDT	Hou et al. (2006) Andreotti et al. (2009) Garabrant et al. (1992)
Cancer du poumon	Chlorpyriphos Diazinon Dicamba Dieldrine Métolachlore Pendiméthaline	Lee et al. (2004b) Beane Freeman et al.(2005) Alavanja et al. (2004) Purdue et al. (2007) Alavanja et al. (2004) Hou et al. (2006)
Cancer de la vessie Mélanome	Imazethapyre Carbaryl Toxaphène Carbaryl, Parathion, Manèbe / Mancozèbe	Koutros et al. (2009) Mahajan et al. (2007) Purdue et al. (2007) Dennis et al. (2010)

Le cancer lié à l'exposition aux pesticides est une pathologie très étudiée. En effet, 33 différents types de cancers, listés de différentes études (cas témoins, cohortes et écologiques) ont été répertoriés dans cette étude.

Les cancers sont essentiellement étudiés dans les populations professionnellement exposées, l'exposition dans la population générale est bien moins connue justifiant d'intensifier au plus vite les recherches dans le domaine.

III.2.1.1 Population professionnellement exposée

Le mode de vie des sujets exposés peut influencer le risque de survenue d'un cancer. Ainsi, aux Etats Unis, on observe globalement un déficit du nombre des cancers d'environ 10% chez les agriculteurs et leurs conjoints comparés à la population générale. Cette sous incidence concerne des cancers liés au tabac (poumons, œsophage, vessie), mais également les cancers du foie, du côlon et des reins. On observe une sur-incidence des cancers cutanés et des lèvres (exposition au soleil), de l'estomac, du cerveau, de la prostate, des lymphomes, des myélomes multiples et de certaines leucémies pour lesquelles le rôle des pesticides est fortement suspecté. Mais ces variations sont probablement multifactorielles, avec un rôle possible des contacts avec les animaux (virus), la sur-incidence des lymphomes étant également retrouvée chez les personnels des abattoirs et les bouchers **(Tron *et al.*, 2010).**

Les études concernant le cancer du sein semblent plus contradictoires, même si la dernière étude réalisée en Espagne en 2012 **(Tron *et al.*, 2010)** est en faveur d'une association positive entre pesticides et cancer du sein notamment avec les organochlorés.

Plusieurs raisons expliquent cela. Tout d'abord une meilleure hygiène de vie : outre l'activité physique et le type de l'alimentation, les exploitants agricoles fument beaucoup moins que le reste de la population. Puis les facteurs environnementaux : a contrario, les facteurs de risque (pesticides, exposition à l'ensoleillement) expliquent très certainement la légère surmortalité par des mélanomes malins de la peau, les cancers digestifs et hématologiques.

Les agriculteurs ne sont pas exposés aux seuls pesticides mais également aux zoonoses, aux poussières de grain, aux gaz d'échappement diesel, aux solvants… leur exposition aux pesticides n'est pas uniquement d'ordre professionnel car ils vivent où ils travaillent et contaminent leurs habitations avec les pesticides dont sont imprégnés les vêtements. Plusieurs études ont été prises en compte dans l'incrimination des pesticides dans la survenue des cancers chez les agriculteurs. Le **Tableau 4** résume les principales études menées dans ce sens.

Tableau 4 : Exemples d'études sur les pesticides et cancers chez les populations professionnellement exposées (Tron I *et al.*, 2010; Van Maele-fabry *et al.*, 2011; Schinasi *et al.*, 2015)

Auteurs et année	Titre	Type d'étude	Lieu	Population	Durée de l'étude	Effectifs
Schinasi 2015	Insecticide exposure and farm history in relation to risk of Lymphomas and Leukemias in the Women's health Initiative observational study cohort.	Etude Prospective De cohort	USA	Femmes exposées aux insecticides	1993-1998	76493 femmes et 822 cas de NHL; Questionnaires: Avoir vécu ou travailler à la ferme, Applicatrices d'insecticides.
Van Maele-fabry 2011	Residential exposure to pesticides and Childhood leukaemia. A systematic review and meta-analysis	Revue de la Literature 1966-2009	Belgique	Enfants exposés aux pesticides	1987-2009	13 études cas-témoins.
Ndong 2009	Pesticides et cancer de la prostate : données épidémiologiques.	Revue	France	Population professionnelle agricole et non agricole	Articles entre 1992 à 2008	2 méta-analyses ; 2 études de cohorte ; 6 études de cas-témoins
Orsi 2009	Occupation and lymphoid malignancies: results from a french case contrôle study	Cas-témoins	France	Population professionnelle agricole et non agricole.	2000-2004	824 cas de lymphomes malins 752 témoins (Recrutement : dossiers hospitaliers)
Merhi 2008	Occupational exposure to pesticides and risk of hématopoietic cancers: metaanalysis of case contro studies.	Revue des études de cas-témoins	France	Population professionnelle agricole et non agricole	Articles entre 1990 et 2005	13 études de cas-témoins

Van Maele-Fabry 2008	Risk of leukeamia among pesticide manufacturing workers: a review and meta analys of cohort studies	Revue des études de cohorte	Belgique	Population professionnelle du secteur industriel	Articles entre 1984 et 2004	14 études publiées entre 1984 et 2004
Mink 2008	Pesticides and prostate cancer: a review of epidemiologic sudies with specific agricultural exposure information.	Revue	USA	Population agricole	Articles entre 1987 à 2006	8 études de cohort et 5 cas-témoins
Provost 2007	Brain tumours and exposure to pesticides: a case-control study in south western France	Cas-témoins	France	Population professionnelle (essentiellementagricole)	1999-2001	221 cas / 442 témoins (identification à partir des cas diagnostiqués et recrutés dans l'étude CEREPHY en Gironde)
Samanic 2007	Occupational exposure to pesticides and risk of adult brain tumors	Cas-témoins	USA	Population professionnelle	1994-1998	462 gliomes et 195 méningiomes/ 765 témoins (identification des sujets à partir des registres hospitaliers de trois sites américains différents
Van Balen 2006	Exposure to non-arsenic pesticides in associated with lymphoma among farmers in Spain.	Cas-témoins	Espagne	Population agricole	1998-2002	587 cas de lymphomes / 628 témoins (Recrutement : dossiers hospitaliers)
Chen 2005	Parental occupational exposure to pesticides and childhood germcell tumors.	Cas-témoins	USA	Population professionnelle	1993-2001	253 cas/394 témoins (Recrutement à partir d'une base de donnée statistique issue du COG : Cooperative pediatric clinical trials group qui traite plus de 93% des cancers de l'enfant aux Etats-Unis)
Flower 2004	Cancer risk and parental pesticide application in children of HAS participants	Cohorte (HAS)	USA	Population agricole	1993-1997	17357 enfants (Recrutement : Recoupement entre le suivi de la cohorte et les registres américains du cancer)

Compte tenu des aspects méthodologiques imprécis, les résultats observés sont assez divergents, traduisant la complexité du problème. En effet, l'association entre l'exposition aux pesticides et certains cancers apparait souvent contradictoire **(Chubilleau *et al.*, 2011; de Jaeger *et al.*, 2012; Lebailly *et al* ., 2007).**

III.2.1.1.aCancers hématopoïétiques

Les expositions professionnelles aux pesticides semblent être un facteur de risque dans la survenue de cancers hématopoïétiques. A partir des études réalisées sur ce sujet, les analyses par localisations indiquent des associations en particulier avec les lymphomes malins (LNH notamment) et les leucémies. Les augmentations de risque seraient plus importantes pour les expositions fréquentes (au moins une fois par semaine) ou de longue durée : de 9 à 10 ans **(Cherin *et al.*, 2012).**

Bien que les résultats établissent un lien entre les expositions professionnelles aux pesticides et la survenue des cancers hématopoïétiques, la majorité des études n'identifie pas de produits ou de famille de pesticides précis. Cependant, dans les revues de littérature réalisées par MEHRI et VAN MAELE-FABRY **(Tableau 4),** les auteurs rappellent que les travaux ont mis en évidence certaines associations telles que :

- L'alachlore et le Diazinon avec les leucémies.
- Le lindane et le chlordane avec les LNH et leucémies.
- Le phénoxy herbicide et les LNH…

Enfin, les données actuelles demeurent insuffisantes pour **conclure avec certitude** du lien entre les cancers hématopoïétiques et les expositions aux pesticides.

III.2.1.1.b Cancers de la prostate

De nombreuses études épidémiologiques mentionnent un excès de risque de cancer de la prostate dans les populations utilisatrices de pesticides (agricoles et non agricoles) par rapport à la population générale. Cependant le lien avec les pesticides n'est pas encore formellement démontré, les études présentent des résultats contradictoires et peu de produits impliqués dans la survenue de cancer de la prostate ont pu être identifiés.

L'exposition à l'herbicide Alachlore est associée à une augmentation de 16% du risque de cancer de la prostate (SIR[1]=1,16) **(Lee *et al.*, 2003).**

Certaines de ces associations n'apparaissent que chez les sujets présentant des antécédents familiaux de cancers de la prostate **(de Jaeger *et al.*, 2012; Cherin *et al.*, 2012).**

III.2.1.1.c Tumeurs cérébrales

Les femmes professionnellement exposées aux herbicides présentent un risque accru de survenue de méningiomes. Ce risque est renforcé pour les expositions les plus fréquentes et celles de longue durée **(de Jaeger *et al.*, 2012 ; Cherin *et al.*, 2012).** Les résultats issus de l'étude française (PROVOST) montrent une augmentation significative du risque de tumeurs cérébrales, hommes et femmes confondus, pour les plus fortes expositions et en particulier pour les cas de gliomes.

III.2.1.1.d Cancers de l'enfant

Les expositions parentales agricoles aux pesticides augmenteraient le risque des cancers de l'enfant (tous types confondus et particulièrement le LNH) par rapport à la population générale. Les études suggèrent que l'exposition paternelle semble être la plus influente et en particulier lors de la période de la préconception alors que les résultats relatifs aux expositions maternelles n'indiquent pas des associations positives avec la survenue de cancers des enfants **(Tron *et al.*, 2010).**

III.2.1.2 Population générale

Les études en population générale sont moins nombreuses que les études réalisées auprès des populations professionnellement exposées, la mesure de l'exposition s'avère encore plus imprécise dans le contexte de l'utilisation à usage domestique. Le **tableau 5** résume les principales études menées dans ce sens.

[1]SIR, standardized incidence ratio

Tableau 5 : Exemples d'études sur les pesticides et cancers chez la population générale (Tron I *et al.*, 2010 ; Sharma *et al.*, 2015 ; Parrón *et al.*, 2014).

Auteurs année	Titre	Type d'étude	Lieu	Population	Durée de l'étude	Effectifs
Sharma 2015	Association of organochlorine pesticides and risk of epithelial ovarien cancer: A case control study	Cas-témoins	Inde	Population générale	Non précisée	120 sujets (60 cas de cancer de l'ovaire, 60 cas contrôles). Quantification du niveau sanguin des organochlorés.
Parrón 2014	Environmental exposure to pesticides and cancer risk in multiple human organ systems	Cas-témoins	Sud de l'Espagne	Population générale	1998-2005	34 205 cas de cancers et 1832969 personnes agées du district de santé. Données collectées à partir des registres (informatisés) des hôpitaux.
Carroza 2009	Agricultural pesticides and childhood cancers	Cas-témoins	USA (Texas)	Population rurale (Résidant à proximité d'exploitation agricole)	1990-1998	1778 cas / 1802 témoins (Recrutement: registre TCR -Texas Cancer Registry-)
Rudant 2008	Household exposure to pesticides and risk of childhood hematopoietic malignancies: the ESCALE study (SFCE)	Cas-témoins	France	Population générale	2003-2004	764 leucémies, 130 LH et 166 LNH / 1681 témoins (Recrutement: registre de l'étude ESCALE sur les cancers de l'enfant)
Teitelbaum 2007	Reported residential pesticide use and breast cancer risk on long island, New York	Cas-témoins	USA (New York)	Population urbaine	1996 - 1997	1508 cas / 1556 témoins (Recrutement: registre des cancers du sein de l'étude LIBCSP -Long Island Breast Cancer Study Project)
Cooney 2007	Household pesticides and risk of Wilmstumor	Cas-témoins	USA	Population générale	1999-2002	523cas/517 témoins (Recrutement : registre de l'étude NWTS - National WilmsTumorestudy)
Colt 2006	Residential insecticide use and risk of Non-Hodgkin's Lymphoma	Cas-témoins	USA (4 villes de 4 états différents)	Population urbaine	1998-2000	1321 cas / 1057 témoins (Recrutement : registres de surveillance épidémiologique)

Ménégaux 2006	Household exposure to pesticides and risk of childhood acute leukemia	Cas-témoins	France (Lyon, Nancy, Paris et Lille	Population générale	1995-1997	280 cas / 288 témoins (Recrutement : dossiers hosptaliers issus de quatre établissements différents)
Hartge 2005	Residential herbicide use and risk of Non-Hodgkin Lymphoma	Cas-témoins	USA (4 villes de 4 états différents)	Population urbaine	1998-2000	1321 cas / 1057 témoins (Recrutement : registres de surveillance épidémiologique)
Reynolds 2005	Agricultural pesticide use and childhood cancer in california	Cas-témoins	USA (Californie)	Population rurale (Résidant à proximité d'exploitation agricole)	1990 - 1997	2189 cas / 4335 témoins (Recrutement : registre des cancers)

III.2.1.2.a Cancers de l'adulte

Les résultats de l'étude d' HARTGE (**Tableau5**) ne montrent pas d'augmentation de risque de LNH chez les personnes exposées aux herbicides. A l'inverse, les données spécifiques aux insecticides dans l'étude de COLT indiquent une élévation du risque de LNH (OR=1,3) chez les personnes ayant déclaré avoir utilisé à leur domicile des traitements contre les termites.

L'enquête de TIETELBAUM **(Tableau5)** conclut à une élévation du risque du cancer du sein chez les femmes ayant déclaré les plus fortes expositions à des pesticides à usage domestique en particulier ceux liés à des activités de jardinage. Par ailleurs, aucune association avec les traitements insecticides (anti-poux, anti-moustiques, tiques...) n'est mise en évidence.

III.2.1.2.b Cancers de l'enfant

Globalement, l'ensemble des études relatives aux cancers de l'enfant présentent des résultats discordants et aucune conclusion ne peut être formellement établie quelle que soit l'histologie cancéreuse considérée. Cependant, les différentes études tendent à établir un lien entre la survenue de certains cancers chez les enfants et l'exposition parentale avant, pendant la grossesse mais aussi pendant l'enfance.

Une association positive a été prouvée entre l'exposition maternelle aux insecticides à l'intérieur des maisons et la survenue de leucémie aiguë, LNH et lymphome de Burkitt. Le recours à des shampoings anti-poux apparait également associé à des leucémies aiguës. Les conclusions demeurent incertaines et qu'aucun produit spécifique ne peut être incriminé.

De nos jours, l'exposition chronique à de faible dose aux pesticides est considérée comme l'un des principaux facteurs de risque importants pour l'expansion du cancer.

III.2.2 Pesticides et troubles de la reproduction

Plusieurs études épidémiologiques (Cohortes, Cas-Témoins et revues de la littérature) ont tenté d'établir une relation entre la survenue des troubles de la reproduction et une exposition à long terme aux pesticides, soit paternelle soit maternelle.

Les mécanismes d'action des pesticides sur la fonction reproductrice sont mal connus. Il est probable que des substances chimiques tels les pesticides interfèrent avec les hormones, les facteurs de croissance ou les neurotransmetteurs ou peuvent modifier le génome. Cependant, ces effets sont probablement modérés et difficiles à mettre en évidence.

L'effet du pesticide pourrait également varier selon que l'exposition a eu lieu avant ou après la conception. Ainsi, avant la conception, le produit phytosanitaire peut avoir une action de mutation sur les cellules germinales, le plus souvent de l'homme que de la femme, qui serait responsable d'avortement spontané ou de malformations congénitales **(de Jaeger*et al.*2012; Cherin *et al.*, 2012; Tron *et al.*, 2010)** ou une action directe sur les fonctions gonadiques masculines responsables d'atrophie des glandes reproductrices, d'anomalie de la qualité de sperme, provoquant une infertilité masculine.

De plus, différentes études ont mis en évidence les propriétés œstrogénomimétiques des pesticides et en particulier le DDT et les phénols. Il ne semble pas exister de fixation directe individuelle des composés œstrogèniques des pesticides sur les récepteurs humains aux œstrogènes mais une fixation collective dans le cas d'une exposition multiple aux pesticides associés entre eux (importante synergie de l'activité œstrogénique si utilisation en association) **(Tron *et al.*,2010).**

L'interférence des pesticides, des métaux lourds et des solvents avec les fonctions du système endocrinien a été la cause de la plupart des effets toxiques observés sur la reproduction **(Figà-Talamanca et al.,2001 ; Tiemann, 2008).**

Les **tableaux 6 et 7** résument les principales études à propos des troubles de la reproduction chez la population professionnellement exposée et la population générale.

Tableau 6 : Exemples d'études sur les pesticides et les troubles de la reproduction chez les populations professionnellement exposées (Tron *et al.*, 2010 ; Cleber *et al.*, 2017 ; Bapayeva *et al.*, 2016).

Auteur et année	Titre	Type d'étude	Lieu	Population	Durée de l'étude	Effectifs
Cleber 2017	Occupational exposure to pesticides, reproductive hormone levels and sperm quality in young Brazilian men.	Etude transversale	Brésil	Exposition professionnelle aux pesticides à usage courant	2012-2013	800 personnes âgées entre 18 et 23 ans.
Bapayeva 2016	Organochlorine Pesticides and female puberty in South Kazakhstan	Etude transversale	Kazakhstan	Exposition professionnelle aux pesticides organochlorés	2013-2015	524 femmes : 253 résidentes au District SaryAgach où plus de 20 pesticides OC furent utilisés pour la culture du coton ; 271 femmes témoins.
Roeleveld 2008	The impact of pesticides on male fertility	Revue	Pays bas	Population agricole et générale	Publications depuis 2000	
Bretveld 2008	Reproductive disorders among male and female greenhouse workers	Cas-témoins	Pays bas	Population professionnelle (travailleurs en serre-fleurs)	2002	957 couples dont l'homme travaille en serre, 101 couples dont la femme travaille en serre, 1408 référents (recrutement :base de données de la chambre du commerce ; informations relatives aux effets : questionnaires)
Weselak 2008	Pre and post conception pesticide exposure and the risk of birth defects in an Ontario farm population	Cohorte OFFHS : Ontario farm family Health study	Canada	Population agricole	1990-1994	3412 grossesses dont 118 naissances avec anomalies congénitales (identification : questionnaires)

Testud 2007	Effets à long terme des produits phytosanitaires : le point sur les données épidémiologiques récentes	Revue de la littérature	France	Population agricole		Maladies neurodégénératives, les cancers et les hémopathies malignes, ainsi que les échecs de la reproduction
Lacasana 2006	Maternal and paternal occupational exposure to agricultural work and the risk of anencephaly	Cas-témoins	Méxique	Population professionnelle (principalement agricole)	2000-2002	151 cas de mort fœtale/151 contrôles (identification : registre national des NTD)
Ronda 2005	Association between congenital anomalies and paternal exposure to agricultural pesticides depending on mother's employment status	Cas-témoins	Espagne	Population agricole	1995-1999	Total de 587 360 naissances (identification : registre national des naissances et de la mortalité)
Norby 2005	Indicators of mancozeb exposure in relation to thyroid cancer and neural tube defects in farmer's families	Cohorte	Norvève	Population agricole	1973-1991	102703 naissances dont 131 avec malformations du développement du tube neural (identification : registre national des naissances)
Farr 2004	Pesticide use and menstrual cycle characteristics among premenopausal women in the AHS	Cohorte (HAS[2])	USA (Caroline du Nord et Iowa)	Population agricole	1993-1997	3103(dont 43% classées non exposées) : questionnaires.

[2] HAS: Agricultural Health Study.

Tableau 7 : Exemples d'études sur les pesticides et les troubles de la reproduction chez la population générale (Tron *et al.*, 2010 ; Perry *et al.*, 2011 ; Neghab *et al.*, 2014).

Auteur et année	Titre	Type d'étude	Lieu	Population	Durée de l'étude	Effectifs
Neghab 2014	The effects of exposure to pesticides on the fecundity status of farm workers resident in a rural region of Fars province, southern Iran.	Etude transversale	Sud de l'Iran	travailleurs résidents agricoles de sexe masculin mariés	Etude réalisée en 2010	268 travailleurs agricoles de sexe masculin, questionnaire direct.
Perry 2011	Organophosphorous pesticide exposures and sperm quality	Cas-témoins	Chine	Hommes mariés résidents à côté d'une région agricole	2003-2005	345 hommes mariés, sélectionnés d'une étude de cohorte
Clementi 2008	Pesticides and fertility: an epidemiological study in northeast italy and review of the literature.	Correlation	Italie (Région du nord-est)	Population générale (région rurale)	1998 -2005	Etude populationnelle (2,4 millions d'habitants) 195997 naissances (Identification : registre des naissances

Clementi 2007	A study of the impact of agricultural pesticide use on the prevalence of birth defects in northeast italy	Corrélation	Italie (Région du nord-est)	Population générale (région rurale)	1999 - 2004	Etude populationnelle (2,4 millions d'habitants): 3473 cas de malformations (Identification: registres hospitaliers des naissances et des malformations congénitales)
Swan 2006	Semen quality in fertile US men in relation to geographical area and pesticide exposure	Cas-témoins	USA (Missouri)	Population générale (région agricole intensive)	1999-2001	23 cas/25 contrôle (Recrutement : A partir de l'étude SFF Study for future family- relative à la qualité spermatique des conjoints de femmes enceintes.
Meyer 2006	Agricultural pesticide use and hypospadias in eastern arkansas	Cas-témoins	USA (Arkansas)	Population rurale (Résidant à proximité de zones d'application de pesticides <500m)	1998-2002	354 cas 727 témoins (Recrutement : registre d'anomalies congénitales)
Villanueva 2005	Atrazine in municipal drinking water and risk of low birth weight, preterm delivery, and small-for-gestational-age status	Correlation	France (Finistère)	Population générale (régionrurale)	1997-1998	3510 naissances (Identification : à partir des certificats du 8eme jour envoyés aux PMI)
Rull 2005	Neural tube defects and maternal residential proximity to agricultural pesticide applications	Cas-témoins	USA	Population rurale (Résidant à proximité de zones d'application de pesticides (<1Km)	1987-1988 et 1989-199	731 NTD/940 controles (Recrutement : programme de surveillance californien des NTD)

Berkovitz 2004	In utero pesticide exposure, maternal paraoxonase activity, and head circumference	Cohorte (The children's environmental cohort study)	USA (New York)	Population urbaine	1998-2002	404 naissances
Eskenazi 2004	Association of in utero organophosphate pesticide exposure and fœtal growth and lengh of gestation in agricultural population	Cohorte (CHAMACOS: Center for health assessment of mothers and children of Sallinas)	USA (Californie)	Population générale (region agricole)	1999-2000	488 mères/nouveaux-nés.
whyatt 2004	Prenatal insecticide exposures and birth weight and length among an urban minority cohort	Cohorte (CCCEH cohort: Columbia center for children's environmental health)	USA (New York)	Population urbaine (communautés afro-américaines et dominicaines	1998-2002	312 mères / nouveaux nés

Ainsi les principaux effets étudiés sont :

- ***La fertilité masculine et/ou féminine :*** les indicateurs utilisés sont : la qualité spermatique (la concentration, la mobilité ou la morphologie), le délai nécessaire à la conception (TTP : time-to-pregnancy), le ratio de fertilité (FR : rapport de la fécondité d'une population d'hommes professionnellement exposés versus une population de référence non exposée) et les indicateurs relatifs aux cycles menstruels des femmes (allongement des cycles, métrorragies, aménorrhées).
- ***Le développement embryonnaire et fœtal :*** les effets étudiés concernent : la prématurité/ et le RCIU, la mort fœtale et les anomalies congénitales (musculosquelettiques, morts fœtales issues d'avortements dont les causes sont imprécises, morts fœtales spécifiquement dues à une de malformations congénitales, les malformations congénitales (viables et non viables confondues) qui correspondent à un défaut de la fermeture du tube neural

  (NTD : neural tube defect) ; les anomalies retenues dans ce cas sont : l'anencéphalie, le spina bifida, l'hydrocéphalie.

III.2.2.1 Population professionnellement exposée

Les résultats associés aux expositions professionnelles sont contradictoires. La plupart des travaux en milieu professionnel observent certains effets négatifs qui tendent à suggérer que les pesticides puissent altérer la spermatogénèse et affecter en particulier la mobilité et la morphologie des spermatozoïdes mais les mécanismes d'action et le rôle des perturbations hormonales demeurent inconnus.

Les travaux sur les délais à concevoir sont peu développés et leurs résultats ne sont pas concluants. Toutefois, les études récentes en milieu professionnel (travailleurs en serre) suggèrent une incidence des expositions professionnelles sur la conception du premier enfant en particulier ceux n'utilisant pas de moyens de protection. Dans le même sens, les études soulignent une baisse du ratio de fécondité pour la conception du premier enfant chez les hommes professionnellement exposés et une sensibilité de la fertilité féminine à ces expositions **(de Jaeger *et al.*, 2012 ; Cherin *et al.*, 2012 ; Tron *et al.*, 2010).**

Un seul pesticide a un effet formellement démontré sur la reproduction humaine, il s'agit du DBCP (Dibromochloropropane : nématicide) dont l'action néfaste sur la fertilité a été démontrée **(Whorton *et al.*, 1979).**

III.2.2.1.a Développement embryonnaire et fœtal

Les résultats des études ne sont pas concluants. Ils suggèrent une augmentation de l'incidence de certaines malformations cardiaques, réduction des membres, malformations des fentes bilabio palatines, malformations génitales surtout masculines mais aucune spécificité du produit n'a été notée.

WESELAK **(Tableau 6)** a noté une augmentation significative du risque des malformations chez la descendance masculine suite à une exposition parentale 3 mois avant la conception au Dicamba (herbicide) et à la Cyanazine (famille des atrazines).

Des anomalies du tube neural ont été notées spécialement chez les producteurs de pommes de terre. Une augmentation significative des risques d'avortement des femmes primigestes et des risques d'anencéphalie suite à l'exposition professionnelle maternelle pendant la phase de la conception (**de Jaeger *et al* 2012 ; Cherin *et al,* Juin 2012 ; Tron *et al.*, 2010).**

III.2.2.1.b Fertilité masculine et/ou féminine

Les résultats de CLEMENTI **(Tableau 7)** ne sont pas concluants et ne confirment pas que les zones rurales (à priori plus exposés) présentent un facteur de risque pour la fertilité : l'analyse prenant en compte les pesticides globaux montre une baisse de la fertilité pour les zones les plus exposées alors que l'analyse centrée sur les expositions aux pesticides perturbateurs endocriniens (reconnus ou suspectés) n'indique aucune différence entre les zones. Au niveau Européen, le règlement 1107/2009 régissant la mise sur le marché des produits phytosanitaires prévoit l'exclusion des substances actives considérées comme perturbatrices endocriniennes.

L'étude de SWAN **(Tableau 7)** semble montrer une association positive entre les concentrations urinaires en métabolites de l'atrazine, de l'alachlore et du Diazinon et une qualité spermatique appauvrie.

III.2.2.2 Population générale

Les études ont suggéré **(de Jaeger *et al*.2012, Cherin *et al*, Juin 2012 ; Tron *et al*., 2010).**

•Une faible activité de la paraoxonase (enzyme impliquée dans la détoxification des OP) couplée à une exposition au Chlorpyriphos peut induire une diminution de la circonférence de la tête des nouveaux nés (BERKOWITZ, tableau 7).

•Un lien entre les niveaux d'atrazine dans l'eau de distribution et le risque de prématurité (VILLANUEVA, tableau 7).

•Une association positive entre les niveaux de métabolites sanguins d'OP et une diminution de la durée de gestation surtout pour les expositions dans la dernière partie de la grossesse. Les OP joueraient un rôle inhibiteur des cholinestérases provoquant une stimulation de la contraction utérine.

•Une corrélation entre les teneurs en Chlorpyriphos dans le cordon ombilical et une diminution de la taille et du poids de naissance des nouveaux nés (WHYATT, **Tableau 7**).

- Le rôle de la susceptibilité génétique des individus (ethnique ou individuelle).

III.2.3 Pesticides et pathologies neurologiques

Plusieurs effets neurotoxiques retardés pourraient être liés à l'utilisation de pesticides notamment les maladies neurodégénératives et les troubles comportementaux et psychiques. Plusieurs études ont été menées pour vérifier ces hypothèses ou les consolider.

Le **tableau 8** résume les principales études menées auprès des populations professionnellement exposées et de la population générale.

Tableau 8. Exemples d'études sur les pesticides et les pathologies neurologiques chez les populations professionnellement exposées et en population générale (Tron *et al.*, 2010 ; Kenborg *et al.*, 2012 ; Feldman *et al.*, 2011)

Auteur et année	Titre	Type d'étude	Lieu	Population	Durée de l'étude	Effectifs
Kenborg 2012	Parkinson'sdisease among gardeners exposed to pesticides- a Danish cohort study	Etude prospectivede cohorte	Danemark	Jardiniers	Données du registre hospitalier : 1977-2008	3124 jardiniers professionnels
Feldman 2011	Occupational exposure in parkinsonian disorders : A 43-year prospective cohort study in men	Etude prospective de cohorte basée sur la population.	Suède	Population générale et professionnelle	Etude des cas entre 1960 et 1980	20225hommes (identification des cas par questionnaire)
Elbaz 2009	Professional exposure to pesticides and Parkinson disease	Cas-témoins	France	Population agricole	1998-2000	224 cas / 557 contrôles (recrutement des cas au sein des personnes atteintes de Parkinson et affiliées à la MSA : mutualité sociale agricole + test MMSE)
Jurewicz 2008	Prenatal and childhood exposure to pesticides and neurobehavorial development: review of epidemiological studies	Revue	Pologne	Population générale, rurale et agricole	Articles de 1991 à 2007	80 articles de la littérature scientifique (PubMed, Medline, EBSCO, Agricola and TOXNET literature databases)
Rosas 2008	Pesticides and child neurodevelopment	Revue	USA	Population générale, rurale et agricole	Articles de 1986 à 2007	Nourissons agés de 6 mois et plus
Elbaz 2007	Maladie de Parkinson et environnement rural	Revue	France	Population rurale	Articles de 2000 à 2006	Etudes épidémiologiques et toxicologiques
Kamel 2007	Pesticide exposure and self reported parkinson's disease in the Agricultural Health Study	Cohorte (HAS)	USA	Population agricole : applicateurs de pesticides et leurs conjoints	Inscription entre 1993 et 1997 suivientre 1999 et 2003	83 cas sur 79757 participants (à l'inscription : prévalence) 78 cas sur 55931 participants

Ascherio 2006	Pesticide exposure and risk for parkinson's disease	Cohorte (Cancer Prevention Study II Nutrition cohort)	USA	Population générale et agricole	1992-2001	413 cas sur 140 000 participants (questionnaire + confirmation à partir des dossiers médicaux)
Roberts 2007	Maternalresidencenear agricultural pesticide apllications and autismspectrum disorders among children in the california central valley	Cas-témoins	USA (Californie)	Population rurale (résidant à proximité de zones d'application de pesticides)	1996-1998	465 cas de TSA / 6975 contrôles (identification des cas au sein des services californiens d'aide aux personnes nées avec une atteinteneurologique)
Kamel 2007	Neurologicsymptoms in licensed pesticide applicators in the agricultural health study	Cohorte (HAS)	USA	Population agricole : applicateurs de pesticides	1993-1997	18782 applicateurs de pesticides
Beseler 2006	Depression and pesticide exposures in femalespouses of licenced pesticide applicators in the agricultural health study cohort	Cohorte (HAS)	USA	Population agricole : épouses d'applicateurs de pesticides	1993-1997	29074 épouses d'applicateurs de pesticides
Rothlein 2006	Organophosphate pesticide exposure and neurobehavioral performance in agricultural and non-agricultural hispanic worker	Cas-témoins	USA (Oregon)	Population agricole	1999	96 ouvriers agricoles / 45 contrôles
Baldi 2003	Neurodegenerative diseases and exposure to pesticides in the elderly	Cohorte (PAQUID : personnes âgées Quid)	France (Gironde, Dordogne)	Population rurale et professionnelle	1992-1998	24 cas de Parkinson 96 cas d'Alzheimer Effectif total de 1507 (identification par examens médicaux et test MMSE.

En expérimentation animale, les pesticides sont responsables de nombreux défets neurocognitifs avec lésions histologiques cérébrales (protéines béta-amyloïdes, hyper phosphorylation) proches de celles observées dans la maladie d'Alzheimer **(de Jaeger *et al.*, 2012)**

Les expérimentations animales ont aussi démontré que certains pesticides présenteraient une toxicité pour les neurones dopaminergiques et plusieurs mécanismes variés sont proposés tels que le stress oxydatif, les perturbations enzymatiques…Ainsi, la roténone (pesticide autorisé en agriculture biologique), le Dieldrine, le Paraquat et le Manèbe induiraient sélectivement une destruction de ce type de neurones. Ceci expliquerait l'incrimination de ces pesticides dans la survenue de la maladie de Parkinson **(de Jaeger *et al.*,2012 ; Cherin *et al.*, 2012).**

In Vitro, les pesticides et notamment les OP possèdent une toxicité neurologique, avec en histologie, phosphorylation des protéines cérébrales, dysfonction mitochondriale, stress oxydatif, lésions du cytosquelette, hyper phosphorylation de la protéine Tau, confrontant le rôle neurotoxique potentiel de ces produits **(de Jaeger *et al.*, 2012 ; Cherin *et al.*, Juin 2012).**

III.2.3.1 Maladies neurodégénératives

La première étude menée a été chimique, avec un produit proche du Paraquat, herbicide d'utilisation fréquente. Elle a été conduite aux USA, en Californie dans les années 1980, suite à une épidémie de syndromes parkinsoniens chez les jeunes toxicomanes, contaminés par une héroïne frelatée et contaminée par le 16methyl-4- phenyl-1, 2, 3,4 tetrahydropyridine (MPTP) qui a une structure chimique proche du Paraquat.

Depuis, l'hypothèse du lien de causalité entre pesticides et maladie de Parkinson a été renforcée. Les conclusions récentes des études épidémiologiques et toxicologiques soutiennent l'hypothèse d'une relation entre la maladie de parkinson et les expositions aux pesticides. Toutefois les relations observées concernent les expositions professionnelles, les expositions domestiques étant peu étudiées et présentant des résultats plus contradictoires.

III.2.3.2 Troubles neurologiques et psychiques

Les études concernant ces troubles sont peu nombreuses et présentent des résultats plus discordants. En effet, aux difficultés communes rencontrées dans les études des autres effets sanitaires s'ajoutent des problématiques propres à ce type de pathologies :

- Les atteintes étudiées sont parfois difficiles à définir et à étudier.
- Les troubles observés sont sous l'influence complexe de nombreux facteurs individuels tels que l'environnement social et affectif ou les facteurs génétiques.
- On note toutefois, l'émergence de nouvelles interrogations sur l'impact potentiel des expositions aux pesticides sur le développement neural des enfants. Les données épidémiologiques tendent à démontrer le rôle perturbateur des pesticides sur le processus de neurodéveloppement en particulier pendant la grossesse. Pour l'ensemble des études relatives aux expositions aux OC, l'exposition aux pesticides est significativement associée à des scores plus faibles aux tests cognitifs (difficultés de mémoire et d'attention).

En 2013, l'**INSERM** a rendu publique l'expertise « Pesticides et santé » qui a démontré l'existence d'un lien entre exposition professionnelle et non professionnelle aux pesticides et certaines pathologies neurologiques. Les pathologies concernées sont :

- ✓ la maladie de Parkinson pour laquelle la présomption d'association est forte (MPTP, Roténone…) ;
- ✓ la maladie d'Alzheimer pour laquelle la présomption d'association est possible, avec des études cas-témoins peu robustes mais des cohortes aux résultats convergents ;
- ✓ la sclérose latérale amyotrophique pour laquelle la présomption d'association est possible avec deux méta-analyses récentes montrant des risques significatifs mais un nombre d'études qui demeure insuffisant ;
- ✓ les troubles cognitifs (mémoire, concentration…) et anxio-dépressifs (souffrance, suicide) avec des associations identifiées pour les pesticides organophosphorés.

Le tableau suivant résume les mécanismes potentiels associant pesticides et maladie de Parkinson :

Tableau 9 : Familles et substances actives impliquées dans la maladie de Parkinson : hypothèses mécanistiques (Juricek *et al.*, 2014).

Famille Substances actives	Stress oxydant	Activation métabolisme dopamine	Formation d'agrégats cytoplasmiques	Mort cellulaire/ apoptose
Organochlorés Sans distinction	Oui	Oui	Oui	Oui
Organophosphorés Sans distinction	Oui	Oui	Non	Oui
Dithiocarbamates Manèbe	Oui	Non	Oui	Oui
Pyréthrinoïdes Sans distinction	Oui	Non	Non	Oui
Autres Paraquat Roténone Manèbe+ Paraquat	 Oui Oui Oui	 Oui Oui Oui	 Oui Oui Oui	 Oui Oui Oui

En conclusion, les pesticides sont responsables de diverses pathologies. Le nombre important des produits phytosanitaires mis sur le marché et la complexité des études épidémiologiques qui tendent à faire le lien entre ces pathologies et les pesticides, font que ces liens sont souvent difficiles à établir et le seront d'autant plus, comme c'est souvent le cas, dans le contexte d'un mélange de pesticides.

En Algérie, nous n'avons pas trouvé d'études portant sur les risques sanitaires liés à l'usage des pesticides chez les populations professionnellement exposées et en population générale.

A travers ces différentes études, il semble clair que les pesticides constituent un danger sanitaire réel et peuvent avoir des effets néfastes sur la santé humaine. La protection du consommateur constitue donc un enjeu majeur de santé publique, c'est pourquoi, des réglementations portant sur les pesticides ont été mises en place par les différentes autorités gouvernementales

Chapitre IV
Aspects réglementaires des pesticides

CHAPITRE IV : ASPECTS REGLEMENTAIRES DES PESTICIDES

Introduction

Les pesticides jouent un rôle important dans l'accessibilité à un approvisionnement alimentaire abondant, leurs usages laissent cependant de façon inévitable des résidus sur les denrées traitées constituant probablement la principale source d'exposition aux pesticides pour la population générale.

La voie orale est considérée comme la voie d'exposition la plus importante aux pesticides. Les chiffres de l'OMS confirment cela et les évaluations de risque attribuent 90% de l'exposition à l'alimentation contre 10% à l'eau de boisson. **(INSERM, 2013).**

Un vaste ensemble de textes législatifs de l'UE réglemente la commercialisation et l'utilisation des produits phytopharmaceutiques et de leurs résidus dans les denrées alimentaires. Les pesticides sont principalement encadrés par le **règlement(CE) n°1107/2009** et le **règlement(CE) n°396/2005.**

Les produits phytosanitaires font partie des produits les plus strictement réglementés en Europe. Pour être autorisée, chaque substance doit être homologuée après une dizaine d'années d'études et des conditions d'emploi bien précises sont définies. Chaque produit doit être à nouveau ré-homologué au minimum tous les 10 ans en tenant compte des dernières connaissances scientifiques. Ces études aboutissent à l'homologation du produit ou à son retrait. La matière active homologuée sera par la suite liée avec la notion de limite maximale de résidus.

IV.1 La limite Maximale de Résidus (LMR)

Elle représente, selon le Codex Alimentarius, les résidus acceptables sur le plan toxicologique, elle est fondée sur les données des Bonnes Pratiques Agricoles(BPA) et est destinée à être appliquée dans le commerce international. Il s'agit de la concentration en résidus la plus élevée légalement acceptable pour que les denrées alimentaires restent commercialisables, elle s'exprime en milligramme de résidus par kilogramme de produit alimentaire.

Les limites maximales de résidus (LMRs) dans les denrées sont établies par couple "matière active-denrée" à partir des données toxicologiques et agronomiques. Elles reflètent les

bonnes pratiques agricoles (utilisation des quantités minimales nécessaires pour protéger efficacement les cultures), qui aboutissent à des niveaux de résidus acceptables, c'est-à-dire sans effet sur la santé. Au niveau de l'UE, les questions liées aux limites légales de résidus de produits phytopharmaceutiques dans l'alimentation humaine et animale sont régies par le **règlement (CE) n° 396/2005.**

IV.2 Principes généraux de l'établissement d'une LMR

Dans la plupart des pays, la mise sur le marché d'un pesticide doit être précédée par l'homologation de ce dernier, sur la base de l'analyse d'un dossier scientifique complet fourni par le demandeur et expertisé par les instances compétentes et ceci pour des raisons toxicologiques évidentes.

Les limites maximales de résidus (LMRs) dans les denrées sont établies à partir des données toxicologiques et agronomiques. Elles reflètent les bonnes pratiques agricoles qui aboutissent à des niveaux de résidus sans effet sur la santé.

Les LMRs sont les outils de la réglementation des produits phytosanitaires et leurs détermination est complexe. L'examen des données toxicologiques va permettre de définir une DSE (Dose Sans Effet) sur l'animal le plus sensible à partir de laquelle on déduira la dose aiguë de référence (ARfD : Acute Reference Dose) et une DJA (dose journalière admissible) pour l'homme en adoptant un facteur de division de 100 pour une étude de 2 ans et de 500 pour une étude de 90 jours. L'existence d'un doute porte ce coefficient à 1000. **(Ndao, 2008).**

Cette DJA (exprimée en mg/Kg poids corporel/jour) constitue le plafond toxicologique à ne pas dépasser et est définie comme la quantité de matière active qu'un homme moyen (60kg) peut consommer journellement durant toute sa vie, sans jamais présenter le moindre signe pathologique de quelque nature que ce soit. **(De cormis, 1994).**

Pour rappel, DJA et DJT sont similaires mais pas identiques[3], la DJA s'applique à des substances chimiques qui sont délibérément ajoutées à un produit ou à un ingrédient, ou que l'on retrouve sur une denrée alimentaire, à la suite par exemple du traitement des cultures par pulvérisation d'un pesticide ou application d'un agent antifongique. La dose journalière tolérable (DJT), en revanche, constitue une estimation de la quantité d'un

[3] On parle de DJA pour les pesticides et de DJT pour les métaux lourds.

contaminant chimique auquel nous pouvons être exposés par le biais d'une contamination environnementale.

Des essais en plein champ sont alors mis en place pour déterminer les teneurs effectives en résidus à la récolte, teneurs qui sont censées représenter la réalité de ce qu'obtiendra l'utilisateur. Ces essais sont cependant réalisés en se basant sur la possibilité d'usage de la substance active la plus pénalisante en termes de résidus : dose maximale d'utilisation, délai avant récolte minimum et nombre maximum d'applications par saison, il s'agit là des bonnes pratiques agricoles qui sont dites critiques et qui sont aussi proposées par le fabricant **(Even., *et al.* 2002)**.

Il est évident que de nombreux facteurs peuvent influencer la valeur finale du résidu : les conditions atmosphériques, la variété du végétal, le matériel d'application utilisé...etc. C'est pourquoi, ces études doivent être répétées dans diverses conditions afin de faire intervenir toutes les sources d'influence possibles. Un minimum de 8 études indépendantes est considéré comme nécessaire pour obtenir une information représentative.

Les résultats de ces essais sont soumis à une analyse statistique qui a pour but de déterminer la valeur maximale que le résidu peut potentiellement atteindre dans la pratique, il s'agit de la LMR provisoire. Il faut ensuite s'assurer que celle-ci n'entraîne pas de risques pour la santé du consommateur **(De cormis, 1994).**

Le niveau d'exposition moyen à long terme du consommateur, de même que son niveau d'exposition maximal au cours d'un repas sont alors calculés selon des principes établis par l'OMS et comparés avec respectivement la DJA et la dose aiguë de référence ARfD.

Concernant le risque à long terme, l'apport journalier maximum théorique (AJMT) est calculé, il s'agit d'une estimation de la quantité théorique maximum de résidus qu'un individu est susceptible d'ingérer quotidiennement, exprimé en mg de résidus par personne et par jour. **(AFSSA ; IFEN, 2004).**

Si l'AJMT est inférieur à la DJA, l'exposition réelle à la substance active (par voie alimentaire) n'est très probablement pas supérieure à la DJA, la teneur proposée est retenue comme LMR définitive. Dans le cas contraire, cela ne signifie pas forcément qu'il y ait un risque pour le consommateur, en effet, comme déjà cité, l'AJMT est une approche maximaliste de l'exposition car elle prend en compte une contamination systématique de l'ensemble des

aliments au seuil réglementaire. Une autre approche qui tient compte des facteurs de réduction est alors retenue ; c'est le calcul de l'apport journalier estimé (AJE), ce dernier est déterminé selon le même principe que l'AJMT, mais dans ce cas, pour chaque denrée, les LMR sont remplacées par des concentrations potentielles de résidus dans les aliments, calculées à partir de données de surveillance représentatives ou des informations pertinentes. De plus, l'AJE intègre des facteurs de correction tels que des facteurs liés à la partie comestible du produit ou aux procédés de transformation (lavage, épluchage…). **(Even *et al.*, 2002)** ; Si cette nouvelle estimation conduit encore à un dépassement de la DJA, l'homologation est refusée ou alors les conditions de bonnes pratiques agricoles sont ajustées et l'évaluation reprend son cours **(Girard, 2009).**

Il est évident que de telles études sont très coûteuses et ne seront réalisées que pour des cultures à grande échelle. Pour maintenir la présence des produits autorisés sur les petites cultures, le nombre minimum d'études indépendantes a été réduit à 4. D'autre part, un mécanisme d'extrapolation a été mis en place **(AFSSA ; IFEN, 2004).**

IV.3 Harmonisation des LMR

La définition d'une LMR est basée sur l'évaluation d'un dossier résidus présenté par une société phytosanitaire, l'organisme responsable de cette évaluation est national. Les LMR peuvent donc varier d'un pays à l'autre pour une même commodité, les normes n'étant pas toutes les mêmes partout dans le monde. La principale conséquence est que les LMR nationales peuvent constituer une barrière au commerce du fait que les gouvernements ne tiennent compte que des pratiques agricoles au niveau national et de la nécessité de protéger leur population.

Depuis maintenant un certain nombre d'année, des efforts sont faits au niveau international pour une harmonisation des normes et autres standards, l'accord sur l'application des mesures sanitaires et phytosanitaires (l'accord SPS) constitue un très bon exemple. Cet accord est entré en vigueur au moment de la création de l'Organisation Mondiale du Commerce, le 1er janvier 1995. Il a trait à l'application des réglementations concernant l'innocuité des produits alimentaires, ainsi que la protection de la santé des animaux et la préservation des végétaux. Il reconnaît expressément aux gouvernements le droit de prendre des mesures pour protéger la santé des personnes et des animaux et préserver les végétaux, à condition que ces mesures soient fondées sur la science, qu'elles soient

nécessaires à la protection de la santé et qu'elles ne constituent pas une discrimination injustifiée entre les sources d'approvisionnement étrangères.

IV.4 Contrôle des LMR

La connaissance de l'exposition des consommateurs aux pesticides est nécessaire à priori pour la fixation de la LMR en vue d'assurer la sécurité du consommateur final et a posteriori pour la surveillance du risque réel. Dans cette optique du contrôle post-homologation, de nombreux états à travers le monde mettent en place des programmes nationaux de surveillance et de contrôle des résidus de pesticides dans les denrées alimentaire particulièrement ceux d'origine végétale (fruits, légumes, céréales, jus d'orange). Ces contrôles consistent notamment à prélever des échantillons, à les soumettre à des analyses et à identifier les pesticides qui y sont présents ainsi que leurs niveaux de résidus respectifs. Ainsi, on obtient des données révélatrices du bon respect ou non des LMR pour les produits mis sur le marché.

Les données émanant de ce type d'étude peuvent cependant surestimer l'exposition moyenne des consommateurs dans la mesure où elles portent sur les teneurs en pesticides des aliments issus de la production et non tels qu'ils sont consommés.

De nouveaux outils ont été développés afin de palier à cette carence permettant de se rapprocher de la réalité de l'exposition alimentaire de la population, il s'agit notamment des études alimentaires totale ou « total diet study ».

IV.5 Etudes alimentaires totales (EAT)

Une étude de l'alimentation totale consiste à prélever sur différents points de vente les aliments régulièrement consommés par la population, les préparer tels qu'ils sont consommés, les mixer en des échantillons dits « composites » pour en réduire le nombre, puis les analyser pour rechercher un certain nombre de substances toxiques et nutriments : résidus de produits phytosanitaires, contaminants de l'environnement, composés néoformés, toxines naturelles, additifs, éléments traces ou minéraux par exemple. Ces études sont configurées pour mesurer la quantité de substances chimiques ingérées par la population générale et au sein de différents sous-groupes (région, âge, etc…). De telles

données sont nécessaires pour évaluer le risque pour la santé du consommateur associé aux substances chimiques (**ANSES. 2013).**

Dans la mesure où les aliments sont analysés "tels que consommés", c'est-à-dire lavés, épluchés et cuits le cas échéant, cette méthode présente l'avantage de fournir des données d'exposition "bruit de fond" plus réalistes que les approches fondées sur les normes alimentaires ou les résultats des programmes de surveillance et de contrôle. Reposant sur une méthodologie standardisée et recommandée depuis de nombreuses années par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), ce type d'étude facilite également les comparaisons internationales en matière d'exposition du consommateur.

Parmi les études alimentaires totales[4] réalisées, nous citerons à titre d'exemple les études pertinentes suivantes :

- Les EAT françaises : EAT 1 réalisée entre 2000 et 2004 et EAT 2 réalisée en 2006 et publiée en Juin 2011.
- Anses 2013 : Evaluation des risques liés aux résidus de pesticides dans l'eau de distribution

La première étude de l'alimentation totale française (EAT 1) a été réalisée entre 2000 et 2004 par l'INRA (Institut national de la recherche agronomique) et l'AFSSA (Agence française de sécurité sanitaire des aliments). Elle a permis de dresser un bilan de l'exposition de la population (adultes et enfants) aux contaminants inorganiques ; aux minéraux et oligoéléments ; aux éléments toxiques ainsi qu'aux mycotoxines, soit au total 30 substances. Les aliments (tels que consommés) étaient répartis en deux groupes : aliments nationaux (228 aliments) et aliments régionaux (110 aliments). En conclusion à cette étude, il a été mis en évidence que le niveau de contamination observé sur les produits « tels que consommés » est au regard de la réglementation en vigueur globalement satisfaisant ». Cependant, pour les mycotoxines, l'exposition de certains groupes de population comme les enfants et les végétaliens à un niveau supérieur aux valeurs toxicologiques de référence vis-à-vis de certaines mycotoxines n'est pas nul. Pour les minéraux, les oligoéléments et les

[4] Une étude alimentaire totale vise à évaluer l'exposition alimentaire des populations sur le long terme pour des substances chimiques d'intérêt en termes de sécurité sanitaire.

éléments toxiques, la probabilité pour les populations étudiées d'être exposées à des risques nutritionnels et/ou sanitaires est globalement faible ; mais pour certains consommateurs, le risque d'être exposé à un niveau inférieur au besoin nutritionnel minimum ou supérieur aux valeurs toxicologiques de référence n'est pas nul.

La seconde étude de l'alimentation totale française (EAT 2) a été réalisée entre 2006 et 2010. Elle concernait 445 substances (30 pour EAT1) et couvrait l'ensemble du territoire métropolitain (3 grandes villes pour EAT1). 20.000 produits alimentaires (représentant 212 types d'aliments) avaient été analysés représentant 90% de la consommation française. Pour quelques substances, l'étude a conclu que le risque pour certains contaminants ne pouvait être exclu pour les enfants : c'est le cas du plomb, du cadmium, de l'arsenic inorganique, de l'aluminium, du méthylmercure, des dioxines et PCB, du déoxynivalénol et ses dérivés (mycotoxines), de l'acrylamide (substance formée lors de la cuisson), des sulfites (additifs alimentaires), et du Diméthoate (résidu de pesticide).

Le rapport d'étude scientifique établie par l'anses en septembre 2013(agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) portant sur une évaluation des risques liés aux résidus de pesticides dans l'eau de distribution est une contribution à l'exposition alimentaire totale[5]. Cette étude (comme les précédentes) évalue l'exposition de la population aux résidus de pesticides afin de caractériser les risques. C'est un complément pour les résultats de l'étude de l'alimentation totale 2 (EAT 2). Dans cette étude, 106 pesticides sont retenus pour l'évaluation des expositions chroniques en population générale et 70 pour les expositions aigües. Pour les expositions aigües, aucune valeur d'exposition hydrique individuelle ne dépasse la VTR (valeur toxicologique de référence) quelle que soit la substance considérée et quelle que soit l'hypothèse sur le niveau résiduel de contamination (hypothèse haute ou basse)[6] . Aucun dépassement de l'ARfD (dose de référence aigüe) n'est constaté et ceci quelle que soit l'hypothèse sur le niveau résiduel de contamination. En expositions chroniques, parmi les 106 pesticides considérés et sous l'hypothèse haute de contamination, onze substances et leurs métabolites présentent des dépassements de DJA chez une partie des adultes et des enfants. Sous l'hypothèse basse de contamination, l'exposition alimentaire solide

[5] Exposition alimentaire totale= aliment solide + eau distribuée.

[6] Une hypothèse basse, correspond à un scénario d'exposition où les substances non quantifiées sont considérées comme étant à un niveau de contamination nul. Une hypothèse haute, correspond à un scénario plus protecteur : les substances non quantifiées sont considérées comme étant à un niveau de contamination égal à la limite de quantification.

individuelle moyenne est inférieure à la DJA quelles que soient les substances. Pour deux substances et leurs métabolites (Propargite et Diméthoate), des dépassements de DJA sont observés chez une partie des adultes et des enfants.

IV.6 Lois relatives aux teneurs maximales en résidus de pesticides dans les denrées alimentaires

Les résidus de pesticides dans les denrées alimentaires sont régis par quatre directives du Conseil :

- Directive 76/895/CEE (concernant la fixation des teneurs maximales pour les résidus de pesticides sur et dans les fruits et légumes) ;
- Directive 86/362/CEE (concernant la fixation des teneurs maximales pour les résidus de pesticides sur et dans les céréales) ;
- Directive 86/363/CEE (concernant la fixation des teneurs maximales pour les résidus de pesticides sur ou dans les produits d'origine animale)
- Directive 90/642/CE (concernant la fixation des teneurs maximales pour les résidus de pesticides sur ou dans certains produits d'origine végétale, y compris les fruits et légumes).

Le 23 février 2005, le Parlement Européen et le Conseil ont adopté le **règlement 396/2005** sur les limites maximales de résidus pour les produits phytosanitaires. Ce texte porte sur la mise en place d'un cadre de travail coordonné au niveau européen avec la fixation des LMR par l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (AESA). Il est entré en pleine application le 1er septembre 2008.

Ces teneurs sont définies au terme d'une évaluation des risques éventuels encourus par les consommateurs des différentes catégories d'âge et elles ne sont fixées que lorsqu'elles sont considérées comme sûres. Ces teneurs sont destinées à faciliter les échanges ; il ne s'agit pas de limites toxicologiques. Le dépassement d'une teneur maximale dénote davantage une utilisation incorrecte d'un pesticide qu'un risque pour les consommateurs. Cependant, chaque dépassement fait l'objet d'une surveillance, d'une évaluation et d'une notification rigoureuse aux autorités des États membres par le biais du système d'alerte rapide pour les denrées alimentaires lorsqu'il existe un risque potentiel pour les consommateurs.

IV.7 Législation Algérienne

Au niveau national, les produits phytosanitaires à usage agricole sont régis par des lois et des décrets et notamment :

- Loi N° 87-17 du 1er Août 1987 relative à la protection phytosanitaire réglementant les activités de fabrication, d'importation, de commercialisation et d'utilisation des substances et préparations phytosanitaires (Art.33 à Art.52). Au terme de la loi, aucun produit phytosanitaire ne peut être commercialisé, importé ou fabriqué s'il n'a pas fait l'objet d'une homologation.

- Décret exécutif N° 95 -405 du 2 décembre 1995 du J.O n° 75 du 06/12/1995 relatif au contrôle des produits phytosanitaires à usage agricole : Décrit les contrôles des produits phytosanitaires à usage agricole et les conditions d'homologation, de fabrication, de commercialisation, d'utilisation et de la commission des produits phytosanitaires.

- Décret exécutif N° 99 -156 du 20 juillet 1999 modifiant et complétant le Décret exécutif N° 95 -405 du 2 décembre 1995.

- Arrêté du 13 mars 2000 : Définit le contenu des mentions et indications d'emballage des produits phytosanitaires à usage agricole.

- Décret exécutif N° 10-69 du 31/01/2010 fixant les mesures applicables lors de l'importation et l'exportation des produits phytosanitaires à usage agricole. **(I.P.P.U.A Juillet 2015).**

L'encadrement des produits phytosanitaires au niveau national est complété par un recueil des matières actives homologuées en Algérie : L'index des produits phytosanitaires à usage agricole. Elaboré par le Ministère de l'agriculture, du développement rural et de la pèche/ Direction de la protection des végétaux et des contrôles technique, cet index est divisé en plusieurs parties :

- La première partie est réservée au cadre réglementaire, au glossaire des termes phytosanitaires et au lexique des types de formulation des spécialités commerciales ;

- La deuxième partie de l'index regroupe l'ensemble des matières actives homologuées utilisées comme insecticides, acaricides, fongicides, herbicides, régulateurs de croissance/correcteurs de carences, et les divers (limaticides, nématicides, rodenticides…).
- Une troisième partie est consacrée aux précautions d'emploi des produits phytosanitaires et notamment : le stockage, le respect des règles générales d'hygiène et la connaissance des gestes d'urgence.
- Dans la dernière partie, celle des adresses utiles, sont répertoriées les instituts relevant du secteur (INPV, ITAFV, ITGC…) et les centres antipoison des CHU de Bab El oued, Constantine et Oran.

L'IPPUA comporte 223 matières actives (insecticides, fongicides et herbicides) homologuées[7] et commercialisées sous 686 spécialités commerciales. Le décret exécutif n°95-405 correspondant au 02/12/1995 relatif au contrôle des produits phytosanitaires à usage agricole et notamment dans son article n°23, stipule que les produits importés sont **contrôlés** par des analyses en vue de vérifier leur conformité aux spécifications pour lesquelles ils ont été **homologués**. L'homologation des produits phytosanitaires a été instituée en Algérie par ce décret exécutif.

Pour chaque matière active homologuée, sont indiquées : le nom de la spécialité commerciale, la concentration, le type de formulation, le nuisible ciblé, le type de culture pour lequel le produit est autorisé, les doses d'utilisation, le délai avant récolte….

Il est important de souligner que les LMR relatives aux denrées alimentaires ne figurent pour aucune matière active.

La qualité de l'eau de consommation humaine au niveau national, est encadrée par des textes et notamment le **J.O.R.A.D.P n°13 du 9/03/2014** qui précise les valeurs limites des paramètres de qualité de l'eau de consommation humaine avec, pour les pesticides, des valeurs par substance individualisée et une valeur limite pour les pesticides totaux comme le montre le tableau suivant : **(Tableau 10)**

[7]**Tous les produits phytosanitaires à usage agricole doivent faire l'objet d'une homologation préalable délivrée par l'Autorité Phytosanitaire :** Direction de la Protection des Végétaux et des Contrôles Techniques (DPVCT).

Tableau 10 : Paramètres de qualité de l'eau de consommation humaine. J.O.R.A.D.P n°13 du 9/03/2014.

Paramètres	Valeurs limites (µg/L)
Pesticides par substance individualisée :	
Insecticides organochlorés persistants	0,1
Insecticides organophosphorés et carbamates	0,1
Herbicides	0,1
Fongicides	0,1
P.C.B	0,1
P.C.T	0,1
Aldrine	0,03
Dieldrine	0,03
Heptachlore	0,03
Heptachlorépoxyde	0,03
Pesticides totaux	0,5

Au niveau international, le code de la santé publique (CSP) édicte les dispositions réglementaires en matière d'eau potable, en application des directives européennes 98/83/CE et 75/440/CEE. Pour les pesticides, les limites de qualités sont fixées dans les eaux brutes et dans l'eau au robinet du consommateur comme suit :

- Dans les ressources en eau : 2µg/L pour chaque pesticide et 5µg/L pour le total des substances mesurées ;
- Au robinet du consommateur : 0.10µg/L pour chaque pesticide (à l'exception de l'Aldrine, la Dieldrine, l'Heptachlore et de l'Heptachlore époxyde : 0.03µg/L) et 0.50µg/L pour le total des substances mesurées. **(Observatoire des Résidus de Pesticides)**

Chapitre V
Aspects analytiques des pesticides

CHAPITRE V : ASPECTS ANALYTIQUES DES PESTICIDES

V.1 Introduction

Les pesticides sont aujourd'hui reconnus comme ayant des effets néfastes sur la santé humaine. Les limites maximales de résidus (LMR) de pesticides autorisés dans l'eau et les aliments sont de plus en plus faibles, les structures chimiques variées et la complexité du dosage sont autant de paramètres qui font que des techniques analytiques très performantes, sensibles sont indispensables pour leur identification et leur quantification.

La fixation et le contrôle de ces LMR ont recours à l'analyse des résidus de pesticides en suivant des procédures qui sont conformes avec les directives de l'Organisation de Coopération et de Développement Economique (OCDE) sur les Bonnes Pratiques de Laboratoires ou BPL.

L'analyste doit déceler et quantifier des résidus ne dépassant pas la fraction du mg/Kg d'échantillon (ppm) et dans certains cas, le µg/Kg d'échantillon (ppb). Ce sont donc des substances chimiques à l'état de traces qu'il faut identifier et quantifier et les laboratoires chargés de cette mission doivent être conformes à la norme ISO 17025 version 2005 (laboratoires accrédités).

Les méthodes d'analyse peuvent être individuelles (pour un pesticide déterminé dans un ou des substrats individualisés) ou des méthodes de multi-détection qui visent à quantifier en un seul schéma analytique tous les pesticides susceptibles d'être retrouvés dans une production animale ou végétale par exemple.

Les résidus de pesticides sont très souvent analysés par chromatographie en phase gazeuse (CPG) couplée à différents détecteurs. Cependant avec les progrès de la recherche et de l'industrie phytosanitaire, les pesticides sont devenus moins volatils, plus thermolabiles et de plus en plus polaires. Par conséquent, leur analyse par CPG nécessite une étape préalable de dérivation, source potentielle de pollution, d'erreur et d'incertitude dans le résultat de la mesure.

De nombreux nouveaux pesticides polaires et ioniques ne peuvent être déterminés directement par la CPG à cause de leur faible stabilité thermique ou de leur volatilité. **(Cajka *et al.*, 2007 ; Lacina *et al.*, 2009 ; Pihlström *et al.*, 2007).**

En revanche, l'analyse par chromatographie en phase liquide (CPL) s'avère bien adaptée aux propriétés physico-chimiques de la majorité des composés actuellement recherchés. Associée à la spectrométrie de masse, cette technique s'est imposée comme un outil analytique de choix dans le domaine de l'analyse multirésidus de pesticides.

Dans notre étude, la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG/SM) et la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en mode tandem (CPL/SM-SM), seront les deux techniques utilisées pour le dosage des résidus de pesticides dans l'eau et les denrées alimentaires. Aussi, leurs principes de fonctionnement seront développés plus loin.

A côté de ces deux grandes techniques (CPG et CPL), d'autres techniques sont développées pour l'analyse des résidus de pesticides. Nous citerons par exemple les méthodes immunologiques par anticorps monoclonal anti Krésoxime-méthyl, Pyraclostrobine et Trifloxystrobine avec des limites de détection de l'ordre de 0.1µg/L **(Mercader *et al.*, 2012 ; Mercader *et al.*, 2014a)** qui ont montré une bonne concordance statistique avec la CG-MS comme technique de référence ; les méthodes ELISA avec ses variantes comme la icELISA(indirect competitive enzyme-linkedimmunosorbentassay) pour la recherche et la quantification du Paclobutrazole dans le noyau de blé et en outre confirmé par LC-ESI-MS **(Cao *et al.*, 2014),** ELISA directe pour 5 pesticides organophosphorés dans l'huile de Camélia avec une préparation de l'échantillon en MSPD(matrix solid-phase dispersion) pour minimiser les effets de la matrice**(Liu *et al.*, 2014)** ou encore la BS-icELISA(biotin-streptavidin indirect competitive enzyme-linkedimmunosorbentassay) qui s'est montrée 6 fois plus sensible que la icELISA dans la recherche et le dosage du Parathion-méthyl dans les légumes avec une limite de détection de 0.2µg/L **(Yuan., *et al*., 2013).**

La cd-BELISA (competitive direct biomimetic ELISA) fut développée pour le dosage des résidus du Métolcarbe(insecticide-acaricide de la famille chimique des carbamates) dans différentes matrices comme le jus de pomme, le concombre et les choux avec un pourcentage de recouvrement compris entre 71.5 et 117.0 % et une limite de détection de 0.12µg/L, résultats validés par HPLC**(Tang *et al.*, 2013).** Les méthodes ELISA, dans l'approche de l'analyse des résidus de pesticides, offrent des avantages supplémentaires par rapport aux méthodes chromatographiques et notamment : une haute sélectivité de l'analyte, réduction des étapes de prétraitements des échantillons et une augmentation du rapport

coût-efficacité pour un grand nombre d'échantillons. Les inconvénients sont une sensibilité accrue aux solvants organiques et aux matrices **(Nunes *et al.*, 1998).**

Les matrices (denrées alimentaires, eaux, air et sols) et les analytes (matières actives, leurs produits de dégradation ou métabolites) sont très diversifiés. Néanmoins, toute analyse chimique comprend un certain nombre d'étapes obligatoires :

1. Le choix de la méthode ;
2. La prise d'échantillon et son transfert au laboratoire ;
3. Le conditionnement de l'échantillon en vue de son analyse ;
4. L'extraction ;
5. La purification de l'extrait ;
6. La détermination instrumentale qualitative ou quantitative ;
7. L'évaluation des performances de la méthode analytique retenue.

Le choix de la méthode dépend de la nature des pesticides étudiés. Généralement, deux techniques analytiques de séparation sont employées pour leur identification et leur quantification : la chromatographie en phase gazeuse (CPG) et la chromatographie en phase liquide (CPL). Les informations de base pour le choix de l'une des techniques analytiques sont décrites dans les paragraphes **V.3.1** et **V.3.2.**

La prise d'échantillon doit être planifié afin d'assurer la qualité des échantillons et la validité des résultats. Une bonne planification de la campagne d'échantillonnage est nécessaire pour éviter les pertes de temps et les erreurs. Elle doit tenir compte du contexte et des objectifs du projet dans lequel l'échantillonnage doit avoir lieu.

Pour les échantillons d'eaux, les bouteilles de prélèvement doivent être gardées dans un lieu propre. Les bouteilles doivent en tout temps porter leur capuchon et doivent être entreposées dans des contenants d'expédition propres (glacières) tant avant qu'après la cueillette des échantillons. La plupart des échantillons doivent être maintenus à une température de 4 à 10°C pendant le transport vers le laboratoire.

Les échantillons alimentaires sont généralement recueillis dans des contenants en plastiques et suivent les mêmes recommandations que pour les échantillons d'eaux.

CHAPITRE V : ASPECTS ANALYTIQUES DES PESTICIDES

La fiabilité de toutes les techniques analytiques des résidus de pesticides est conditionnée, en grande partie, par l'étape d'extraction et de purification de l'extrait. Aussi, elle sera étudiée en détails.

V.2 Extraction des résidus de pesticides :

De nombreuses méthodes ont été développées pour l'extraction et la purification des extraits (deux étapes importantes dans toutes les techniques d'analyses qui conditionnent la fiabilité des résultats analytiques) des différentes matrices. Les méthodes incluent :

- Extraction liquide-liquide **(Rissato *et al.*, 2004 ; Torres *et al.*, 1996).** Toutefois, ces méthodes sont longues, fastidieuses et laborieuses, utilisent des solvants toxiques et ne sont donc pas respectueuses de l'environnement.
- Extraction en phase solide (SPE) : Technique très populaire ; elle offre plus d'avantages par rapport à l'extraction liquide-liquide surtout en ce qui concerne la consommation des solvants organiques, le temps d'exécution et le pourcentage de recouvrement **(Adou *et al.*, 2001 ; Juan-García *et al.*, 2005 ; Obana *et al.*, 2003)**. Elle fut testée pour l'extraction des résidus de fongicide dans les aliments **(Newsome *et al.*, 1989).** L'extraction en phase solide peut être utilisée pour isoler un grand nombre d'analytes à partir d'une grande variété de matrices, y compris les jus de fruits et le vin.
- Extraction par solvant accéléré : la technique peut être automatisée, elle est assez rapide avec une consommation modérée des solvants, mais avec une faible sélectivité d'extraction et un coût d'achat et de maintien des appareils élevé. **(Adou *et al.*, 2001 ; Carabias-Martinez *et al.*, 2005 ; Giergielewicz-Mozajska *et al.*, 2010).**
- Chromatographie par perméation de gel : dans cette deuxième étude, la solution dérivant d'une extraction est nettoyée par la chromatographie par perméation de gel **(Ueno *et al.*, 2004 ; Knežewić *et al.*, 2008).**
- Extraction assistée par micro-ondes : elle nécessite de faibles quantités de solvants et un temps d'extraction assez court, mais ne peut être utilisable pour les composésthermolabiles et nécessite une étape supplémentaire de nettoyage. **(Barriada-Pereira *et al.*, 2006 ; Camel, 2000 ; Papadakis *et al.*, 2006 ; Singh *et al.*, 2003).**

- Extraction au moyen d'un fluide à l'état supercritique : **Lehotay Steven J (1997)** donne un aperçu général des recherches impliquant cette technique pour l'extraction des pesticides des aliments et autres matrices tissulaires avec un accent qui est mis sur l'analyse multi-résidues des pesticides dans les aliments non gras et son application pour les insecticides, les fongicides et les herbicides. Avec la possibilité qu'offre la technique d'extraire des composés thermolabiles et un temps d'extraction court, elle est relativement compliquée comparée aux autres techniques d'extraction. **(Rissato *et al.*, 2004 ; Torres *et al.*, 1996).**
- Dispersion de la matrice en phase solide : technique analytique pour la préparation et l'extraction des échantillons visqueux. Elle fût utilisée pour la première fois pour l'extraction et la purification des résidus de médicaments à partir des tissus d'animaux **(Barker *et al.*, 1989)** et dans un passé récent pour la détection des pesticides **(Torres *et al.*, 1996 ; Chu *et al.*, 2004 ; Deme *et al.*, 2013)**. Son coût de revenu est relativement faible par analyse à cause de petite quantité de solvant utilisé. Elle ne convient pas cependant pour les échantillons secs et ceux riches en matière grasse **(Capriotti *et al.* 2013)** donnent les tendances récentes de cette technique comme l'utilisation de supports inhabituels tels que des polymères hautement sélectifs à empreinte moléculaire et des nanotubes de carbone à parois multiples moins spécifiques.
- Micro extraction en phase solide : inventée par Pawliszyn J et collaborateurs en 1990, elle fût employée avec succès pour l'analyse d'un large éventail de contaminants comme les pesticides **(Popp *et al.*, 1994 ; Wardencki *et al.*, 2004).** Dans cette technique, l'utilisation de solvants peut être entièrement éliminée, mais elle pose des problèmes avec la reproductibilité des résultats et le faible taux de recouvrement des analytes. Couplée avec succès avec la CPG et la CPL pour l'analyse des résidus de pesticides dans les fruits et légumes, ses multiples applications dans ce domaine sont présentées par **Abdulra'uf *et al.*, 2012 :** résidus de pesticides organochlorés et pyréthrinoïdes dans l'ail et le chou ,organophosphorés et organochlorés dans les tomates et la goyave, triazoles dans les fraises…
- Micro extraction en phase liquide : c'est une forme miniaturisée de l'extraction liquide-liquide dans laquelle on utilise des micros litres de solvants. Elle peut être associée à la GC, la LC et à l'électrophorèse capillaire. **Lambropoulou *et al.*, 2006** fournissent un examen approfondi des possibilités de cette technique et notamment ses applications

pour les échantillons liquides dans le dosage des insecticides organochlorés, organophosphorés et les carbamates, le dosage des herbicides comme les triazines, les phénoxyacides et les thiocarbamtes ainsi que les fongicides, les composés phénoliques… Elle est utilisée aussi pour les échantillons solides.

En outre, plusieurs techniques ont été appliquées avec succès pour l'extraction des résidus de pesticides dans les échantillons liquides. Ces techniques incluent la Stir Bar Sorptive Extraction [SBSE] **(Campillo *et al.*, 2010; Lavagnini *et al.*, 2010),** Membrane Assisted Solvant Extraction[MASE]**(Zuin *et al.*, 2006)** et la Single Drop Microextraction(SDME)**(Zhao *et al.*,2006 ; Xiao *et al.*, 2005 ; Martendal., *et al.*2007).**

La plupart des méthodes d'extraction et de purification de l'extrait citées précédemment sont consommatrices de solvants, assez compliquées, demandent beaucoup de mains d'œuvres et très couteuses. Pour pallier à tous ces inconvénients, les chimistes introduisirent une nouvelle procédure pour la recherche et le dosage des résidus de pesticides (et autres résidus organiques) dans les matrices environnementales : Il s'agit de la méthode QuEChERS.

V.2.1 Solvants d'extraction

Le développement d'une nouvelle méthodologie nécessite la résolution d'un certain nombre de problèmes comme par exemple le choix du solvant d'extraction.

Pour la détermination des résidus de pesticides dans les matrices alimentaires et l'eau, les solvants usuels utilisés sont : l'Acétone, l'Acétate d'éthyle et l'Acétonitrile. Tous ces solvants permettent un taux de recouvrement important des analytes (compris entre 70 et 120 %) comme cela est rapporté dans l'étude ayant trait aux possibilités offertes par l'utilisation de ces solvants **(Wilkowska *et al.*, 2010).**

Néanmoins, l'acétone est facilement miscible à l'eau mais la séparation de l'eau à partir de ce solvant est impossible sans l'utilisation de solvants non polaires.

L'acétate d'éthyle est partiellement miscible à l'eau, ce qui rend inutile l'ajout de solvants non polaires pour le séparer de l'eau, mais les pesticides fortement polaires ne se séparent pas.

L'Acétonitrile extrait des fruits et légumes contient moins de substances interférentes que l'acétate d'éthyle et l'acétone, de plus, il peut être facilement séparé de l'eau par relargage.

La méthode d'extraction sur phase solide est de plus en plus mise en œuvre pour les échantillons liquides en raison de sa grande facilité d'utilisation, puisqu'elle est directement applicable pour l'analyse des eaux (l'étape de filtration étant souvent intégrée à l'étape d'extraction). Pour les matrices alimentaires, la revue de la littérature **(Annexe 2)** montre clairement que la technique QuEChERS est largement utilisée par comparaison aux autres techniques citées.

V.2.2 Extraction en phase solide

Elle consiste à faire passer l'échantillon à travers une colonne contenant un adsorbant, les analytes cibles y sont alors retenus pour être par la suite récupérés (élués) avec un solvant approprié. Les principaux adsorbants sont : C18 (silice modifiée d'octadécyl), polymères, carbone graphite non poreux.

Elle comporte trois à quatre étapes :

- Conditionnement de la phase solide à l'aide d'un solvant approprié : c'est une étape cruciale, car elle permet la solvatation des groupements fonctionnels. Elle élimine en outre l'air, les impuretés contenues initialement dans la colonne et remplit le volume vide avec un solvant. La nature du solvant de conditionnement dépend du type de l'adsorbant. Des mesures de précaution sont prises pour empêcher le séchage de l'adsorbant entre le conditionnement et le passage de l'échantillon.
- La deuxième étape correspond au passage de l'échantillon à travers la phase solide sous l'effet de la gravité, par pompage ou aspiration par le vide. En fonction des systèmes utilisés, les volumes appliqués peuvent varier de 1 ml à 1 L. Le débit doit être suffisamment faible pour permettre la rétention efficace des analytes, et suffisamment élevé pour éviter la rétention excessive. Au cours de cette étape, les analytes sont concentrés sur la phase solide. Bien que les composants de matrice peuvent également être retenus, nombre d'entre eux passent à travers, permettant ainsi une certaine purification.

- Une troisième étape, facultative correspond au lavage de la phase stationnaire à l'aide d'un solvant choisi de telle sorte qu'il puisse entrainer l'impureté retenue sur la colonne sans déplacer les analytes. Une étape de séchage peut être également souhaitable, en particulier pour les matrices aqueuses, pour éliminer les traces d'eau.
- La dernière étape est la récupération (élution) des analytes à l'aide d'un solvant approprié **(Figure 3).**

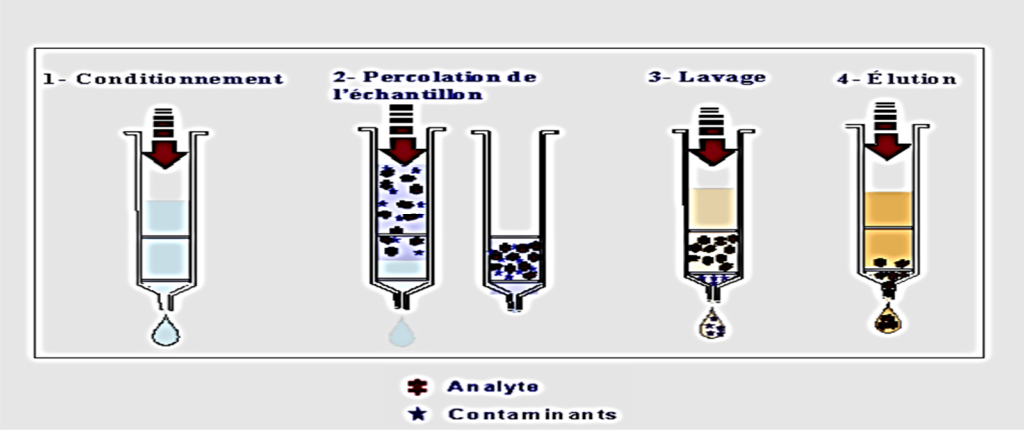


Figure 3 : Principe de l'extraction sur phase solide.

La technique SPE présente l'avantage d'être simple, facile à automatiser, ne consommant pas beaucoup de solvant et les cartouches employées peuvent être utilisés pour le stockage à court terme d'analytes. Cependant, les phases stationnaires traditionnelles employées en SPE sont limitées en termes de sélectivité et la rétention insuffisante des composés très polaires peut poser un problème. Certains systèmes automatisés peuvent manquer de reproductibilité pour certains types d'échantillons.

On retrouve de nombreuses publications dans lesquelles la SPE est appliquée pour l'analyse des résidus de pesticides dans les fruits et légumes. **(Hernandez *et al.*,2006 ; Hennion, 1999).**

V.2.3 Méthode d'extraction et de purification QuEChERS

QuEChERS est un acronyme qui signifie « Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe » c'est-à-dire méthode Rapide, Facile, économique, Efficace, Robuste et Sure.

C'est une méthode d'extraction et de purification décrite dans le détail et publiée pour la première fois en 2003 par Anastassiades M et al. Dans cette méthode, le nombre d'étapes est réduit, ce qui se traduit par une diminution de la consommation de réactifs et de verrerie. Cette méthode permet la purification d'un très grand nombre de composés de polarités diverses avec un taux de recouvrement de plus de 90%. **(Anastassiades., *et al.* 2003).** Elle a reçu la distinction de l'Official Method of AOAC International **(Lehotay,S.J. 2007).** Son coût de revient est faible, elle génère de faibles quantités de déchets contrairement aux autres techniques et se prête aisément au dosage multi-résidus. Son principe, dans le cadre de cette étude, est détaillé dans la partie analytique.

Cette méthode a été validée pour plus de 200 pesticides dans les fruits et végétaux **(Lehotay *et al.*, 2005a)** et en outre, elle s'est révélée comme la solution possible de quelques analytes problématiques **(Lehotay *et al.*, 2005b).**

A l'origine, QuEChERS était une « méthode » particulière pour l'analyse des résidus de pesticides. Mais très vite les analystes aperçurent que cette méthode est très flexible et elle a évolué pour devenir une « approche » qui est utilisée dans de nombreux domaines comme l'extraction des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans le poisson **(Ramalhosa *et al.*, 2009)** ; les acrylamides dans les aliments **(Maŝtovská *et al.*, 2006)** ; les médicaments vétérinaires dans les tissus d'animaux **(Stubbings *et al.*, 2009)** et le lait **(Keegan *et al.*, 2009 ; Freitas *et al.*, 2013)** ; les médicaments dans le sang**(Plössl *et al.*, 2006)** ; les antibiotiques et en particulier les béta-lactamines dans le tissu rénal des bovins**(Fagerquist *et al.*, 2005)** et les esters d'hormones dans les tissus musculaires**(Costain *et al.*, 2008)** ; les mycotoxines et pesticides dans le lait**(Aguilera-Luiz *et al.*, 2011)** ; les sulfonamides dans les produits de la pêche**(Kung *et al.*, 2014).**

V.3 Méthodes d'analyse

Actuellement, deux techniques analytiques de séparation sont généralement employées pour l'identification et la quantification des résidus de pesticides : la chromatographie en phase gazeuse et la chromatographie en phase liquide (selon la nature des pesticides étudiés). Ces techniques peuvent être couplées à des détecteurs spécifiques ou universels.

V.3.1 La chromatographie en phase gazeuse

La CPG a été l'une des premières techniques chromatographiques de séparation qui a été développée et a encore aujourd'hui rien perdu de son éminence. La chromatographie en phase gazeuse (CPG) est une technique de séparation qui s'applique aux composés gazeux ou susceptibles d'être vaporisés par chauffage sans décomposition **(Santos *et al.*, 2002).** Elle est employée en général pour l'analyse de molécules thermostables, volatiles ou semi-volatiles, non ou moyennement polaires **(van der Hoff *et al.*, 1999 ; Lehotay *et al.*, 2002 ; Dömötörová *et al.*, 2008)**. Le développement des colonnes capillaires a fortement contribué à l'augmentation du pouvoir de séparation **(Zhang *et al.*, 2014 ; Patrushev *et al.*, 2014 ; Xue., *et al.,* 2014).**La CPG est de nos jours applicable à environ 60% des pesticides et de leurs métabolites disponibles sur le marché **(El Mrabet, 2008).**

La CPG est compatible à de nombreux détecteurs **(Annexe 1)** : Le détecteur à ionisation de flamme (Flame Ionization Detector, FID) ; le détecteur thermoionique (ThermoIonic Detector, TID) et le détecteur à capture d'électron (Electron Capture Detector, ECD) **(Liška *et al.*, 1996).** L'ECD, par exemple, est particulièrement adapté à l'analyse de composés électronégatifs dont de nombreux pesticides halogénés, le TID est quant à lui employé pour les molécules composés d'atomes d'azote et de phosphore tels que les pesticides de la famille des triazoles et des organophosphorés. Mais la recherche d'un gain en sensibilité et une grande spécificité du signal par rapport aux couplages précédemment employés ont conduit les analystes à l'utilisation de la spectrométrie de masse(SM) couplée à la CPG (CPG-SM) qui a permis d'atteindre ces deux objectifs. En effet, dans une étude les possibilités de la spectrométrie de masse et du détecteur à capture d'électrons en CPG ont été étudiées et comparés : La CPG-SM a permis un gain en sensibilité pouvant atteindre un facteur deux cent par comparaison à la CPG-ECD **(Hercegová *et al.*, 2004).**

L'un des avantages du couplage CPG-SM et CPG-SM/SM réside dans son pouvoir de confirmation basé sur une bibliothèque regroupant d'une part, les spectres d'ionisation obtenus par impact électronique pour un très grand nombre de composés, et d'autre part leurs transitions spécifiques **(Hernández *et al.*, 2006 ; He *et al.*, 2015).** La détection par SM en tandem (SM/SM) dont le principe sera expliqué plus loin , a permis l'augmentation du potentiel du couplage de la CPG-SM comme le montrent les valeurs de limites de détection obtenues **(Annexe1) .**

La plupart des nouveaux pesticides introduits sur le marché sont polaires, peu volatils et/ou thermolabiles et ne sont donc pas adaptés à une analyse directe par CPG comme l'analyse directe des N méthyl-carbamates et des urées qui la CPG mène en général à leur dégradation dans l'injecteur ou dans la colonne analytique. Toutefois, afin de déterminer ces composés initialement non analysables par CPG, des méthodes mettant en œuvre des étapes de dérivation ont été développées pour avoir des dérivés plus volatils et moins thermosensibles **(Guo *et al.*, 2012 ; Yang *et al.*, 2013).** Mais la plupart des étapes de dérivation sont sélectives pour un groupe de composés ciblés (carbamates dans les eaux de surface), excluant les autres composés d'intérêt présents simultanément dans un même échantillon.

V.3.1.1 Instrumentation en CPG

Un chromatographe en phase gazeuse comprend schématiquement 5 parties : une source de gaz, un système d'injection, un four dans lequel se trouve placé une colonne et un détecteur couplé à un enregistreur.

V.3.1.1.a Source de gaz

Le gaz porteur ou vecteur est la phase mobile dynamique du chromatographe. C'est dans son flux que l'on injecte le mélange à analyser, ce dernier y est véhiculé jusqu'au détecteur à travers toute la colonne. Les principaux gaz vecteurs utilisés sont : l'Hélium, l'Hydrogène l'Azote et l'Argon. Un des principaux critères retenus pour les gaz est leur grande pureté (minimum 99%).

V.3.1.1.b Le four

Le four permet de maintenir la colonne à température constante et/ou de travailler avec des gradients de température. La programmation en température permet d'optimiser la séparation des composés et de réduire le temps d'analyse.

V.3.1.1.c La colonne

Il s'agit de l'organe principal du chromatographe, on distingue :

- Les colonnes remplies (dont l'usage est abandonné) constituées d'une tubulure en verre, acier ou autre métal dont les dimensions varient de 2 à 6 mm pour le diamètre

intérieur, et de 1 à 10 m pour la longueur. Elles sont remplies d'un lit continu et homogène de granulés soit de produit adsorbant soit de produit inactif imprégné d'un film mince du liquide lourd appelé phase stationnaire.

- Les colonnes capillaires formées d'un tube de métal, de verre, de silice fondue ou de quartz dont le diamètre intérieur est sensiblement inférieur à celui des colonnes remplies.

Ces colonnes offrent les moyens de séparation les plus efficaces et les plus rapides. La phase stationnaire étant répartie sur la paroi interne du tube ou encore sur une fine couche poreuse déposée sur cette paroi. Les colonnes capillaires comportent donc un canal central largement ouvert offrant peu de pertes de charge à la progression du gaz porteur **(El Mrabet, 2008).**

V.3.1.1.d Systèmes d'injection

On dénombre trois types : Injecteurs pour colonnes à remplissage, Injecteurs pour colonne capillaires et injecteurs on-column **(Tranchant., 1996).**

- Injecteurs pour colonnes à remplissage : Il en existe deux types :
  - Injecteur pour mélange gazeux :

On appelle fréquemment vannes d'injection, des systèmes de robinets à voies multiples qui permettent, par un simple mouvement de rotation, de faire passer un échantillon de gaz, soit d'une pipette à gaz, soit d'un circuit parallèle, dans le circuit gazeux du chromatographe. Le volume de la boucle d'échantillonnage est de quelques centimètres cubes au maximum.

  - Chambre d'injection pour liquides ou solutions :

Le gaz vecteur, de préférence préchauffé, entre dans une chambre chauffée, obturée par une pastille d'élastomère, le septum, qui assure l'étanchéité. À l'aide d'une seringue hypodermique de petite capacité, on pique au travers de la membrane, de telle manière que l'extrémité de l'aiguille arrive au-dessous du niveau de l'arrivée du gaz porteur, puis on pousse le piston pour réaliser l'injection.

- Injecteurs pour colonnes capillaires :

Le film de la phase stationnaire dans les colonnes capillaires classiques est très mince et son épaisseur est de l'ordre du micromètre. Il en résulte des échanges presque instantanés entre la phase mobile et la phase fixe, d'où des pics très étroits avec une efficacité unitaire élevée et des possibilités d'analyse très rapide. La contrepartie est un facteur de capacité, c'est-à-

dire la limite de saturation de la colonne, très petit. Les masses injectables, qui sont de l'ordre de 0,1 à 1 mg pour les colonnes à remplissage, ne sont plus ici que de 0,01 ou 0,001 mg. Il est évident qu'aucune seringue ne permet de telles injections de façon non aléatoire.
L'utilisation d'autres techniques plus sophistiquées (qui ne sont pas exemptes d'inconvénients) est alors indispensable :

- *Systèmes à division de flux* : Connus sous le terme anglais de splitter, ils comprennent une chambre d'injection à septum, mais une vanne à aiguille montée sur un évent placé avant l'entrée de la colonne permet de ne diriger sur cette dernière qu'une fraction du produit injecté. Ces systèmes sont simples, mais il existe un risque non négligeable de ségrégation des constituants de masses différentes de la composition à analyser.
- *Systèmes sans division* : Les injecteurs split-splitless évitent en principe le risque de ségrégation au prix d'une manœuvre un peu plus compliquée qui permet d'évacuer une partie de l'échantillon vers l'extérieur, soit en piégeant à froid les solutés en tête de colonne avant de les volatiliser, soit en utilisant un effet solvant. Il est assez difficile d'obtenir une bonne reproductibilité des temps de rétention par cette méthode, surtout pour les produits situés au début du chromatogramme.

- <u>Injection dans la colonne</u> :

Connus sous le nom d'injecteurs on-column. Grâce à une seringue dont le diamètre extérieur de l'aiguille métallique est de 0,23 mm, on injecte l'échantillon au travers de la vanne d'arrêt rotative dans une zone refroidie de la tête de colonne. On utilise environ 5 mL de solution dans un solvant qui sera éliminé avant que le produit lui-même ne soit volatilisé dans la colonne.
Des variantes permettent de s'adapter aux différents types de colonnes. Les avantages de cette méthode comprennent une bonne reproductibilité de l'injection, une moins grande exposition de l'échantillon à des températures élevées, et la suppression des effets du septum.

V.3.1.1.e Détecteurs

Il s'agit d'un appareil de mesure physico-chimique qui doit donner un signal électrique au passage de chaque constituant sans interaction avec le gaz vecteur. Le choix des différents

détecteurs se fait en fonction de leur sensibilité et de leur spécificité. De plus, ils doivent présenter un faible temps de réponse, une bonne reproductibilité, une fiabilité ainsi qu'un domaine de linéarité étendu, le signal doit être proportionnel aux quantités de substances présentes.

Ce sont toutes les raisons précitées plus haut qui ont conduit à la popularité de la chromatographie en phase liquide (CPL), popularité appuyée par la possibilité de couplage à la spectrométrie de masse et un coût de revient abordable pour les laboratoires d'analyses.

V.3.2 La chromatographie en phase liquide

La chromatographie en phase liquide est un procédé de séparation de molécules dissoutes dans une phase mobile liquide. Un gradient de pression entraîne la phase mobile à travers la phase stationnaire solide. La séparation thermodynamique des analytes entre la phase liquide et la phase stationnaire provoque un différentiel dans le transport et la séparation spatiale des espèces moléculaires différentes **(Timperman *et al.*, 2004).**Ainsi, la séparation des composés repose sur les différences d'affinité et d'interactions d'un composé pour la phase mobile et la phase stationnaire **(Rosset *et al.*, 1991).** Le phénomène mis en jeu lors de la séparation détermine le type de chromatographie : l'adsorption, le partage, l'échange d'ions, la paire d'ions, l'échange de ligands, le transfert de charge et l'exclusion stérique, …. **(Rosset *et al.*, 1991).**

Dans le domaine de l'analyse de résidus de pesticides, trois modes chromatographiques sont principalement utilisés : la chromatographie de partage en phase inverse(RPLC), la chromatographie de paires d'ions en phase inverse (IPRPLC) et la chromatographie échangeuse d'ions (IELC). Cependant, la technique prédominante reste la RPLC qui, grâce à sa robustesse et à sa facilité de mise en œuvre, couvre 80 % des applications en chromatographie liquide **(Picó *et al.*, 2004).**

La CPL à polarité de phase inverse avec un gradient d'élution est la stratégie la plus communément utilisée pour l'analyse multi- résidus de pesticides. Elle permet en effet l'analyse de composés ayant des propriétés physico-chimiques variées. Les composés sont alors séparés selon leur différence d'hydrophobie par partage entre phase stationnaire et la phase mobile. Cette dernière met en jeu une phase aqueuse composée en général d'eau et

une phase organique, le méthanol ou l'Acétonitrile **(El Mrabet, 2008).** La phase stationnaire la plus utilisée pour l'analyse des résidus de pesticides est la C8 ou C18 **(Nuñez *et al.*, 2011).**
Depuis son introduction au cours des années 1980, la CPL couplée à des détecteurs de type ultraviolet (UV), à barrette de diode (Diode Array Detector, DAD) ou fluorescence a été adoptée comme une technique complémentaire à la CPG dans le domaine de l'analyse de résidus de pesticides. Mais ces détecteurs conventionnels comme l'UV ne sont pas suffisamment spécifiques, manquent de sélectivité (ressemblance des spectres UV pour une même famille chimique) et de sensibilité quand il s'agit d'analyses type multi-résidus dans des matrices complexes. Les détections électrochimiques ont été également utilisées pour l'analyse de pesticides dans les fruits mais les méthodes ne sont pas suffisamment sélectives et impliquent que les composés étudiés possèdent des propriétés oxydo-réductrices **(El Mrabet, 2008).**

Afin de pouvoir contrôler et surveiller les résidus de pesticides et autres contaminants comme les mycotoxines et les médicaments vétérinaires dans les denrées alimentaires d'origine animale, la CPL est devenue la technique de choix pour les analyses multi-classes et multirésidus. Mais compte tenu du nombre important de molécules existantes, il n'existe pas de technique capable de toutes les analyser avec une sensibilité satisfaisante.
Les multiples applications, pour l'analyse des pesticides dans les eaux et les aliments par CPL/SM et CPL/SM-SM couplées avec différents analyseurs, sont présentées en **Annexe 2 et Annexe 3**.
Associées à la SM, la CPL et la CPG restent deux techniques séparatives très complémentaires dans le domaine de l'analyse des pesticides.

V.3.3 La spectrométrie de masse

Les approches analytiques les plus récemment publiées pour la détermination des pesticides s'appuient sur la détection par spectrométrie de masse. Le spectromètre de masse a été originellement conçu par le britannique Joseph John Thomson. La spectrométrie de masse(en anglais, mass spectrometry ou MS) est une technique physique d'analyse permettant de détecter et d'identifier des molécules d'intérêt par mesure de leur masse, et de caractériser leur structure chimique. Son principe réside dans la séparation de molécules chargées (ions) en fonction de leur rapport masse/charge (m/z).

C'est donc une méthode de mesure des rapports masse-sur-charge (m/z) de molécules individuelles et ionisées et de leurs produits de fragmentations **(Sanglier, 2005).**

Un spectromètre de masse est composé de différents éléments **(Figure 4)** : la source d'ionisation, l'analyseur, le détecteur et l'enregistreur. La source permet l'ionisation de l'échantillon à analyser et le transfert des ions vers l'analyseur de l'instrument. Ce dernier trie ensuite les ions en fonction de leur rapport m/z. Enfin, le détecteur collecte les ions en sortie de l'analyseur en leur associant leur rapport m/z et une intensité. L'enregistreur permet de traiter le signal et de convertir les informations en spectres de masse et/ou en chromatogrammes lors d'un couplage avec une technique chromatographique **(Hoffmann *et al.*, 1999).**

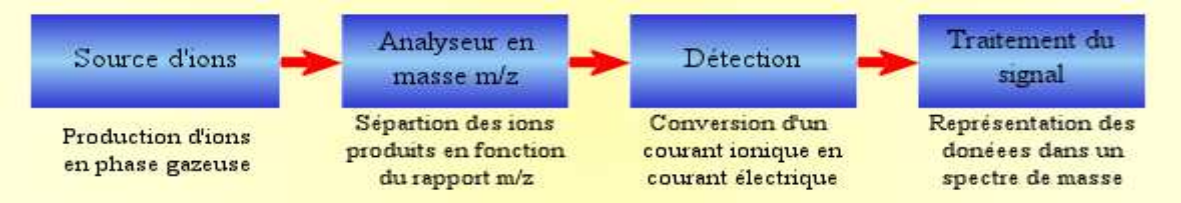


Figure 4 : Structure d'un spectromètre de masse (d'après www. Physique-quantique.wikibis.com)

V.3.3.1 La source d'ionisation

Une source d'ionisation est parfois utilisée soit en mode positif pour étudier les ions positifs, soit en mode négatif pour étudier les ions négatifs. Plusieurs types de sources existent et sont utilisés selon le résultat recherché et les molécules analysées :

- L'ionisation électronique (EI), l'ionisation chimique (CI) et la désorption-ionisation chimique (DCI)
- Le bombardement par atomes rapides (FAB), atomes métastables (MAB) ou ions (SIMS, LSIMS)
- Le couplage plasma inductif (ICP)
- L'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI) et la photoionisation à pression atmosphérique (APPI)
- L'électronébulisation ou éléctrospray (ESI)
- La désorption-ionisation laser assistée par matrice (MALDI), activée par une surface (SELDI) ou sur silicium (DIOS)

- L'ionisation-désorption par interaction avec espèces métastables (DART)

Les ionisations EI et CI, qui nécessitent un certain niveau de vide, sont préférentiellement utilisées en couplage avec la CG. Par contre, les sources à pression atmosphérique (ESI et APCI), sont essentiellement utilisées en couplage avec la CL.

V.3.3.1.a La source d'ionisation par éléctrospray

La figure suivante **(Figure 5)** représente le principe d'une source d'ionisation par éléctrospray.

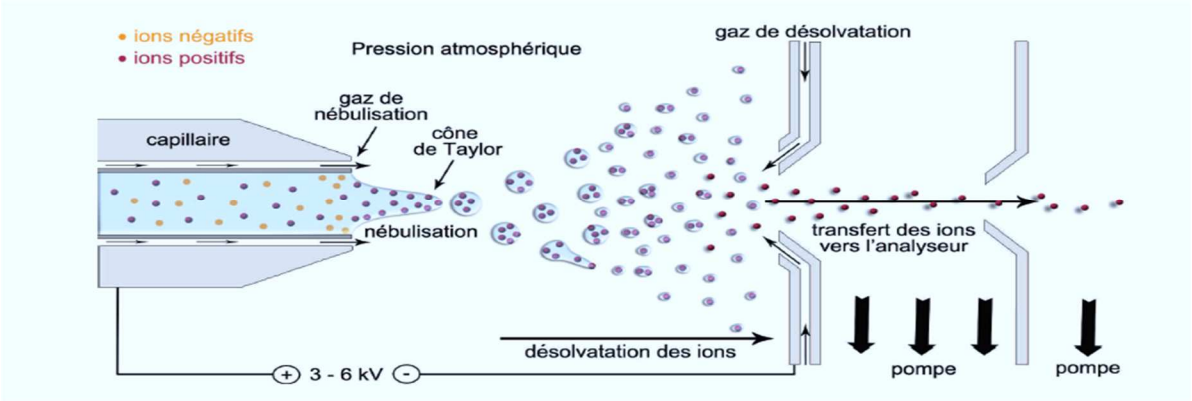


Figure 5 : Source d'ionisation par éléctrospray (Université de Lille 1, UFR de chimie).

L'éléctrospray est un processus d'ionisation qui se produit en phase liquide et à pression atmosphérique. Son principe est le suivant :

Les substances sont dissoutes dans une solution hydro-alcoolique ou eau-acétonitrile dans laquelle sont habituellement ajoutés des composés qui augmentent la conductivité (par exemple : 0,1 % en acide acétique ou trifluoracétique ou de 2 à 50 mM d'acétate d'ammonium). Cette solution est introduite dans un fin capillaire d'acier inoxydable (50µm de diamètre) porté à un potentiel élevé (entre 3 et 5 kV). Sous l'action conjuguée du champ électrique et d'un courant gazeux co-axial (azote ou anhydride carbonique), la solution forme un cône dynamique à l'extrémité du capillaire, appelé « cône de Taylor ». Lorsque la charge de la solution qui forme le cône de Taylor s'approche de la limite de Rayleigh, celui-ci s'allonge formant alors un filament liquide. Il finit par se détacher et se disperse sous forme de gouttelettes d'un diamètre nominal de 1-2 µm **(Université de Lille 1, UFR de chimie).**

Ce procédé d'ionisation conduit majoritairement à la formation d'ions [M+H]+ en mode positif, et [M-H]- en mode négatif dans le cas de l'analyse de petites molécules.

Remarque : Dans le domaine des résidus de pesticides, le choix entre les interfaces ESI et APCI n'est pas aisé, d'autant que les conditions analytiques ne sont pas toujours optimales pour les deux techniques. Cependant, au vu du nombre d'applications, l'ESI reste l'interface la plus universelle et est considérée comme le « golden standard » de la LC-MS. Elle constitue l'interface de choix pour le couplage de la CL avec la SM dans le domaine de l'analyse multirésidus de pesticides **(Hernandez *et al.*, 2005).**

Les distinctions générales à prendre en considération lors du choix de la source sont répertoriées dans le tableau suivant **(Tableau 11)** :

ESI	APCI et APPI
Ionisation en phase liquide	Ionisation en phase gazeuse
Ionisation douce : pas de chauffage	Bloc source chauffé : 250 à 500°C
Analyse de molécules thermolabiles	Analyse de molécules thermolabiles non recommandée
Analyse de molécules de faible et haut poids moléculaires	Analyse de molécules de poids moléculaires inf à 2000
Analyse de molécules polaires à faiblement polaires	Analyse de molécules moyennement à faiblement polaires
Débit de CPL de 1 à ~ 1000 µL/min	Débit CPL de 100 à sup 2000 µL/min
Dépendant de la concentration	Dépendant de la masse
Sensible aux effets de matrice	Moins sensible aux effets de matrice

Tableau 11 : **Comparaison de la source ESI à l'APCI et APPI (Zimmer, 2003)**

Une revue de la littérature d'application de la source ESI pour l'analyse des résidus de pesticides dans les aliments est présentée en **Annexe 3.**

V.3.3.1.b La source d'ionisation par impact électronique

Décrit pour la première fois en 1918 par le physicien Dempster Arthur J, ce type d'ionisation est couramment utilisé en spectrométrie de masse. Dans ce procédé, un électron de la molécule d'analyte (M) est expulsé pendant le processus de collision pour convertir la

molécule en un ion positif avec un nombre impair d'électrons. La réaction en phase gazeuse suivante décrit le processus d'ionisation électronique :

$$M + e^- \longrightarrow M^{+\bullet} + 2\,e^-$$

La figure suivante **(Figure 6)** représente le principe d'une source d'ionisation par impact électronique.

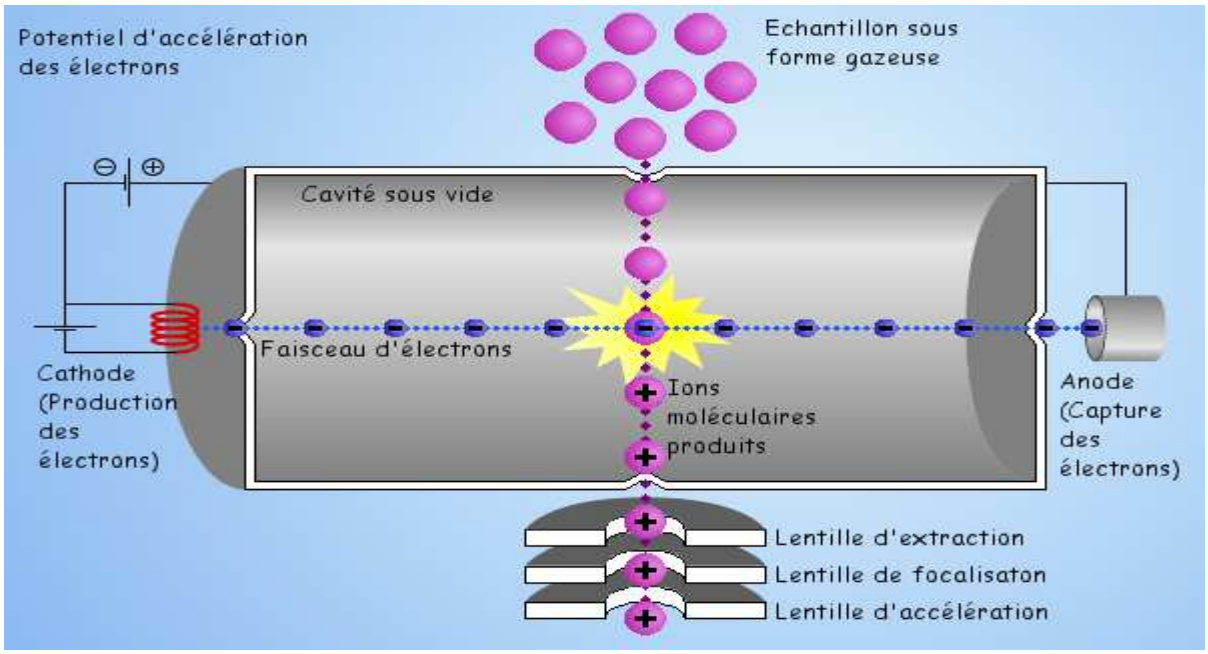


Figure 6 : **Source d'ionisation par impact électronique (Université de Lille 1, UFR de chimie).**

V.3.3.2 Analyseurs

Il existe différents types d'analyseurs. Ils sont tous basés sur des principes physiques différents, mais tous les analyseurs mesurent des valeurs m/z. C'est une partie de l'appareil où règne un vide suffisant pour que le libre parcours moyen des ions soit supérieur à la distance à parcourir dans l'appareil pour atteindre le détecteur.

V.3.3.2.a Les principales caractéristiques d'un analyseur

Les cinq principales caractéristiques d'un analyseur sont sa limite en m/z, sa vitesse de balayage, sa transmission, son exactitude en masse et sa résolution :

- ✓ La limite en m/z : elle détermine les valeurs limites (minimum et maximum) des rapports m/z mesurables.

- ✓ La vitesse de balayage : elle correspond au temps mis par le spectromètre pour analyser l'ensemble de la gamme de masse. Elle est généralement exprimée en $u.s^{-1}$ ou $u.ms^{-1}$.
- ✓ La transmission : elle correspond au rapport entre le nombre d'ions arrivant au détecteur et celui entrant dans l'analyseur.
- ✓ La précision sur la masse : elle détermine la précision ou plus correctement la justesse des rapports m/z mesurés, c'est-à-dire la concordance entre la masse mesurée et la masse théorique de la molécule.
- ✓ La résolution : elle peut être calculée à partir d'un spectre de masse en considérant un pic isolé. Elle se détermine en effectuant le rapport de la masse m sur la largeur à mi-hauteur du maximum m (FWHM : Full Width Half-height Maximum). **(Balogh *et al.*, 2004).**

V.3.3.2.b Types d'analyseurs

Les types existants sont les suivants :

- ➔ B : Déflexion par un champ magnétique(le plus ancien)
- ➔ Q : Déflexion par un champ quadripolaire
- ➔ IT : Confinement dans un piège à ion (Ion Trap)
- ➔ TOF : Mesure d'un temps de vol (Time Of Flight)
- ➔ FT-ICR : Résonnance Cyclotronique d'Ions à Transformée de Fourrier

Les analyseurs les plus répandus dans le domaine de l'analyse de pesticides sont la trappe ionique et le quadripôle. Les avantages, limitations et possibilités de combinaisons des différents types d'analyseurs sont présentées en **Annexe 4.**

V.3.3.2.c Les analyseurs à champ quadripolaire : Le filtre de masse quadripolaire (QMF) ou quadripôle (Q)

Les quadripôles sont constitués de quatre barres parfaitement parallèles ayant une section circulaire ou idéalement hyperbolique **(Figure 7).**

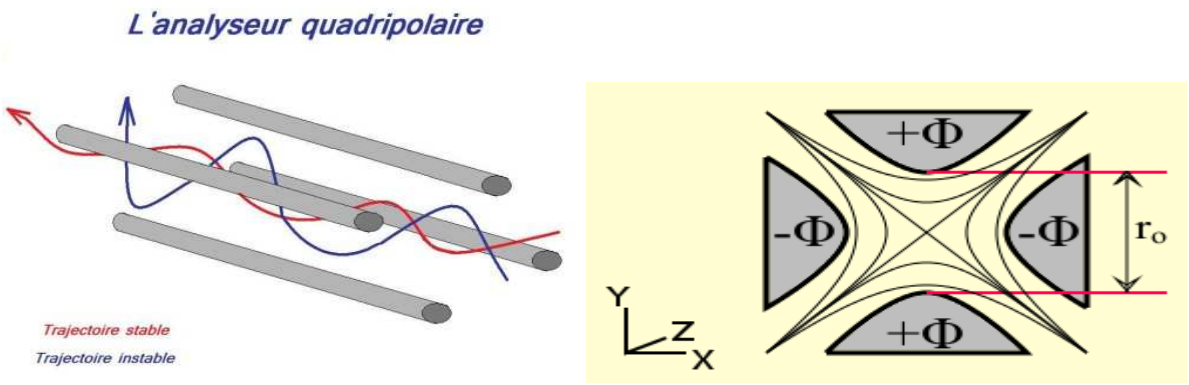


Figure 7 : **Illustration globale (à gauche) et coupe transversale (à droite) d'un quadripôle (Source : Wikiwand/spectrométrie de masse. Site : http://www.wikiwand.com/fr/Spectrom%C3%A9trie_de_masse#/overview)**

Les ions cheminant suivant l'axe z sont soumis à l'influence d'un champ électrique total, constitué d'un champ alternatif quadripolaire superposé à un champ constant résultant de l'application des potentiels sur les barres métalliques **(Hoffman *et al.*, 2004).**

V.3.3.2.d Trappe ionique

C'est un piège ionique où la préparation, l'analyse et la détection des ions s'effectuent dans un même espace, suivant des séquences temporelles successives.

La trappe ionique est constituée de 3 électrodes : une électrode hyperbolique ayant la forme d'un anneau dite électrode annulaire qui est encadrée de deux électrodes hyperboliques, dites électrodes chapeau, une d'entrée et une de sortie. Le champ résultant est alors tridimensionnel **(Figure 8).**

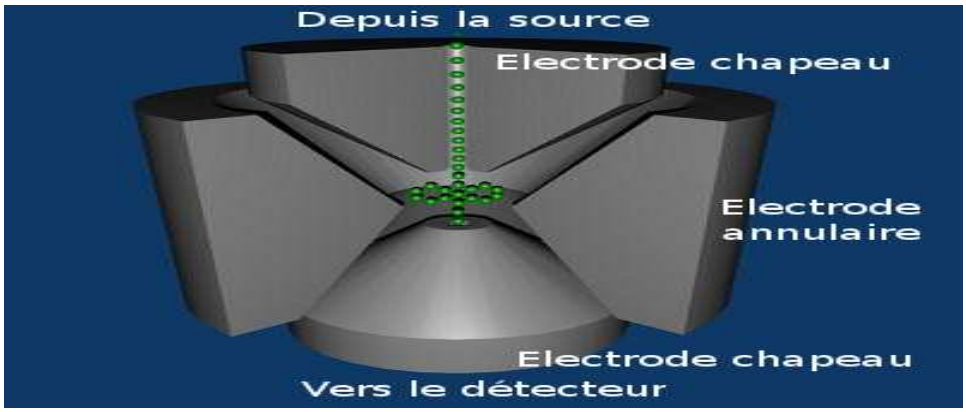


Figure 8 : **Schéma de la trajectoire des ions (en vert) dans un piège ionique.(Source : Wikiwand/spectrométrie de masse).**

V.3.3.3 Détecteurs

Comme les analyseurs et les sources, il existe différents types de détecteurs :

- Les plaques photographiques : techniques très peu sensibles ;
- Le cylindre de Faraday : Cette technique est précise mais peu sensible, avec une certaine lenteur de mesure et un bruit de fond important ;
- Le multiplicateur d'électrons est le détecteur le plus courant. Le signal est amplifié par la formation d'électrons secondaires à l'aide de tubes en verre dopés au plomb (dynode). Il possède une bonne sensibilité, avec une amplification forte mais il est moins précis que le cylindre de Faraday ;
-Le multiplicateur de photons est un dérivé du multiplicateur d'électrons. Les électrons secondaires sont convertis en photons. Ces photons sont ensuite détectés par le photomultiplicateur.

V.3.4 La spectrométrie de masse en tandem

La détection par spectrométrie de masse en tandem à analyseur de type triple quadripôle est schématisée par la **Figure 9**. Elle repose sur la mise en série de trois quadripôles (Q1, Q2 et Q3).

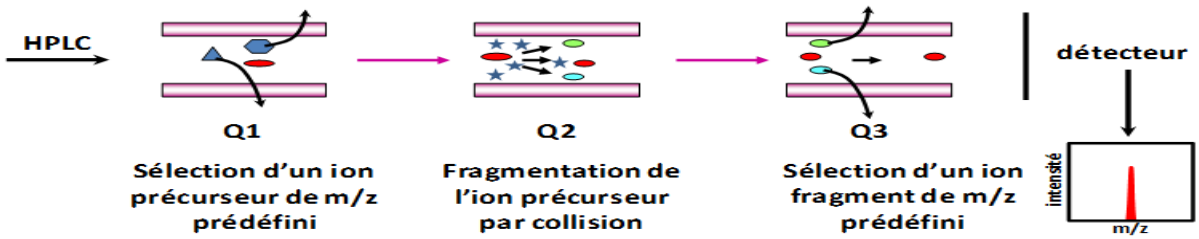


Figure 9 : **Triple quadripôles.**

Q1 et Q3 fonctionnent en mode RF/DC tandis que Q2 opère uniquement en mode RF. L'avantage d'un tel couplage est l'augmentation de la sélectivité via l'utilisation de deux filtres de masse en série. La spectrométrie de masse en tandem (SM/SM) qui utilise trois quadripôles en série permet une excellente sensibilité même avec des matrices complexes, car elle élimine les interférences avant la mesure des ions provenant des composés cibles **(Goto *et al.* 2006).** Cette technique analytique consiste à sélectionner un ion (ion parent) par une première spectrométrie de masse, à le fragmenter (généralement avec de l'argon), puis à effectuer une deuxième spectrométrie de masse sur les fragments ainsi générés (ions fils) **(Figure 10).**

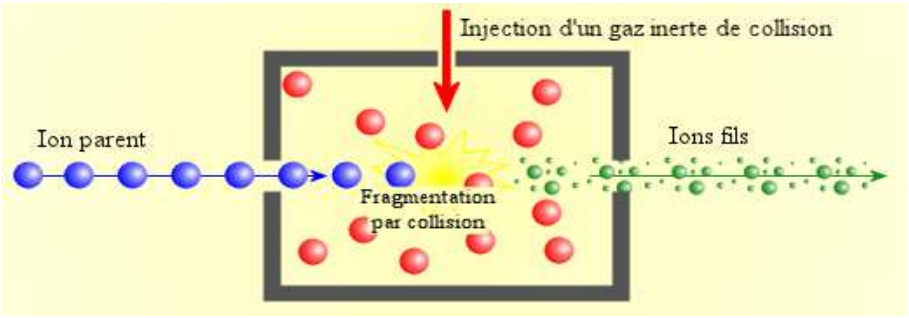


Figure 10 : **Formation des ions fils à partir d'ion parent.**

V.3.4. 1 Les modes de scans

En SM, le mode balayage (« Full scan ») et le mode d'acquisition d'un rapport m/z donné (« SIM, Single Ion Monitoring ») sont possibles. En mode SM/SM ou SM^2, quatre modes d'acquisitions sont disponibles en plus :

- Le mode balayage des ions de fragmentation produits (« Product Ion Scan »)
- Le mode balayage des ions précurseurs (« Precursor Ion Scan »)
- Le mode perte de neutre (« Neutral Loss »)
- Le mode balayage de plusieurs ions de fragmentation (« MRM, Multiple Reaction Monitoring »).

V.3.4.1.a Mode balayage ou « Full Scan »

En « Full Scan », un intervalle de rapport m/z est balayé ; il y a donc détection d'un grand nombre d'ions produits dans la source et ayant des rapports m/z différents **(Figure 11).** La chromatographie combinée avec la spectrométrie de masse en mode balayage est idéale pour la détection simultanée d'un nombre élevé de pesticides **(Portolés *et al*., 2014).**

V.3.4.1.b Mode Single Ion Monitoring (SIM)

C'est un mode plus sélectif car il permet le suivi d'un rapport m/z donné pendant un temps fixé. Effectué avec le premier quadripôle Q1, ce mode d'acquisition augmente la sélectivité et donc la sensibilité du signal **(Figure 11).**

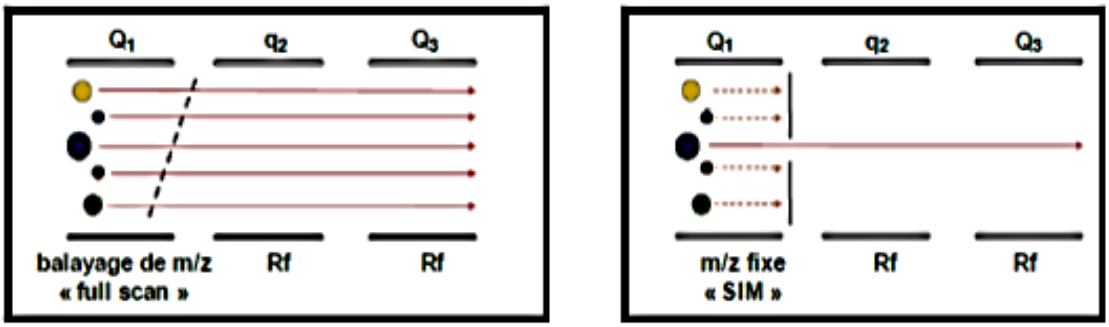


Figure 11 : **Représentation schématique des modes d'acquisition full scan (à gauche) et SIM (à droite).**

V.3.4.1.c Le « Selected Reaction Monitoring » (SRM) ou le « Multiple Reaction Monitoring » (MRM)

Le mode d'acquisition SRM est obtenu en faisant fonctionner les quadripôles Q1 et Q3 en mode SIM. A noter que pour ce mode, l'abréviation MRM, bien que non recommandée par l'IUPAC, est couramment utilisée **(Figure 12).**

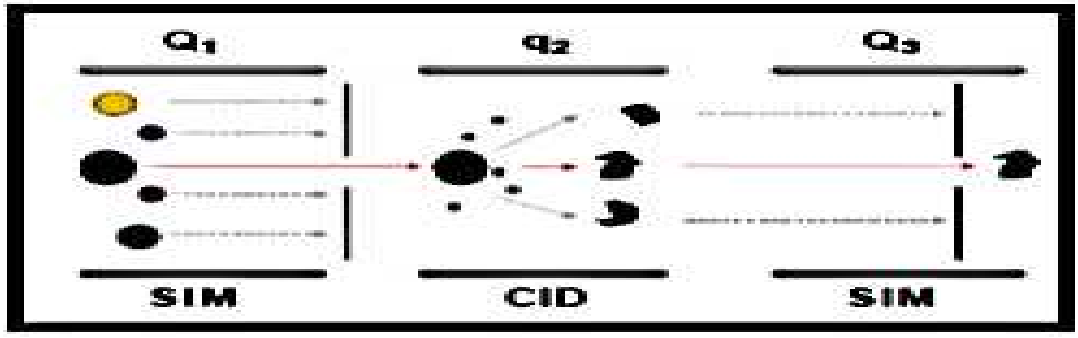


Figure 12 : **Représentation schématique du mode « Selected Reaction Monitoring »**

L'utilisation du mode SRM permet de suivre un ion produit spécifique d'une fragmentation particulière de l'ion précurseur. La relation entre un ion précurseur et un ion produit est communément appelée « transition ». Il est possible de suivre un nombre important de transitions au cours d'une même analyse, cela dépend des performances du spectromètre de masse, notamment de sa vitesse d'acquisition. Dans tous les cas, ce mode offre une très grande spécificité par le suivi d'une ou plusieurs transitions spécifiques d'un analyte et une très grande sensibilité car toutes les conditions de détection sont optimisées pour chaque transition. Le mode SRM est donc le mode d'acquisition de choix pour les méthodes multirésidus **(Hopfgartner *et al.*, 2004).**

V.3.4.1.d Le « Product Ions Scan » (PI) et l'« Enhanced Product Ions Scan » (EPI)

Ces deux modes d'acquisition sont basés sur le même principe et nécessitent la mise en œuvre des trois quadripôles. Le premier quadripôle Q1 sélectionne les ions de rapport m/z unique (mode SIM) qui vont se fragmenter par CID (Dissociation Induite par Collision) dans la cellule de collision Q2. Ces ions conduisent, après dissociation, à la formation d'ions produits qui vont être détectés par Q3 opérant en mode quadripôle dans le cas du PI, et en mode LIT dans le cas de l'EPI **(Figure 13).**

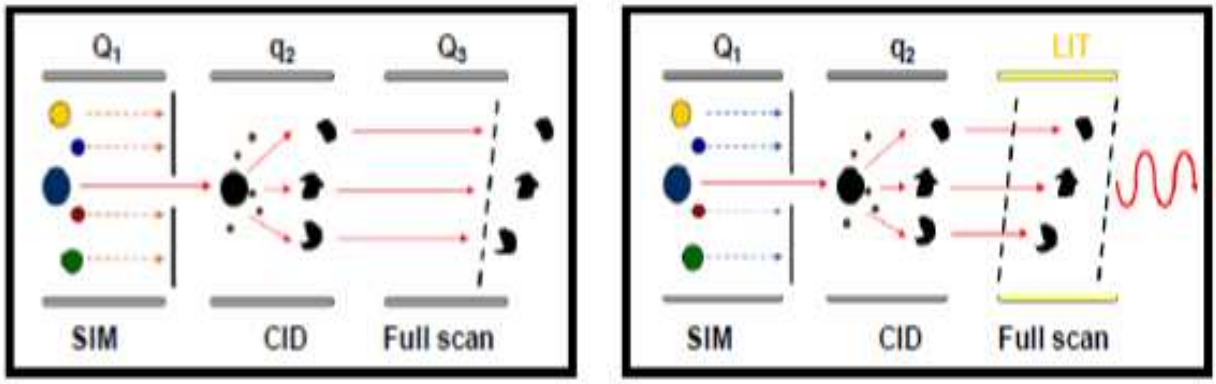


Figure 13 : **Représentation schématique des modes « Product Ions Scan » (à gauche) et « Enhanced Product Ions Scan » (à droite)**

Les modes de scans d'un spectromètre de masse hybride QqLIT (Mode « full scan » et « Single Ion Monitoring », Le « Product Ions Scan » (PI) et l'« Enhanced Product Ions Scan » (EPI) ainsi que Le « Selected Reaction Monitoring » (SRM) ou le « Multiple Reaction Monitoring » (MRM), offrent la possibilité de combiner l'analyse quantitative et qualitative avec le même instrument et au sein d'une même analyse. De plus, le QqLIT dispose d'une vitesse d'acquisition élevée, lui conférant une meilleure sensibilité comparé au QqQ et ITD classique, de l'ordre d'un facteur 10 pour un 3200 QTrap.

PARTIE PRATIQUE

OBJECTIS DE L'ETUDE

Pour protéger leurs cultures et sécuriser leurs rendements, les agriculteurs ont recours à une panoplie de moyens de lutte contre les organismes nuisibles, dont les insectes nuisibles et les maladies cryptogamiques. Parmi ces derniers, la lutte chimique tient une place importante dans l'agriculture dite conventionnelle.

Il est actuellement admis que l'usage des pesticides en milieu agricole laisse inévitablement sur les denrées alimentaires, un reliquat qui serait susceptible de constituer un danger pour la santé du consommateur. En l'absence d'un programme national de surveillance de ces résidus et d'une réglementation élargie fixant leurs limites maximales dans les aliments, l'évaluation de cette contamination apparait alors comme une priorité afin de s'assurer de la conformité des niveaux de résidus retrouvés avec les standards internationaux.

Objectifs

Le présent travail a pour principal objectif de contribuer à assurer la sécurité des denrées alimentaires et celle du consommateur en estimant les niveaux de résidus de pesticides dans les aliments et la nappe phréatique afin d'en juger de leurs conformité par rapport aux limites maximales de résidus.

Démarche générale de l'étude :

1. Mener une étude descriptive de l'usage des pesticides en milieu agricole.
2. Evaluer les teneurs en résidus de pesticides dans les denrées alimentaires et la nappe phréatique.
3. Corréler les traitements phytosanitaires avec les concentrations en résidus de pesticides.
4. Elaborer un guide d'utilisation des produits phytosanitaires.

Chapitre I
Etude descriptive de l'usage des pesticides en milieu agricole

L'application des pesticides même selon les bonnes pratiques agricoles à savoir les doses employées, le nombre de traitements, la saison, le délai d'attente avant récolte, etc. laisse des résidus dans ou sur les végétaux, les produits comestibles d'origine animale, et ailleurs dans l'environnement (air, eau et sols) . Ce reliquat expose la population générale aux dangers des pesticides.

I.1 Matériel et méthodes

I.1.1 Localisation et description du terrain d'étude

L'étude descriptive de l'usage des pesticides en milieu agricole a été réalisée dans la région ouest du pays sur des zones de cultures maraîchères où la production agricole prospère et plus précisément au niveau des wilayas d'Oran, Ain-Temouchent, Tlemcen, Mostaganem, Sidi-Bel-Abbès et de Mascara **(Figure 14)** .

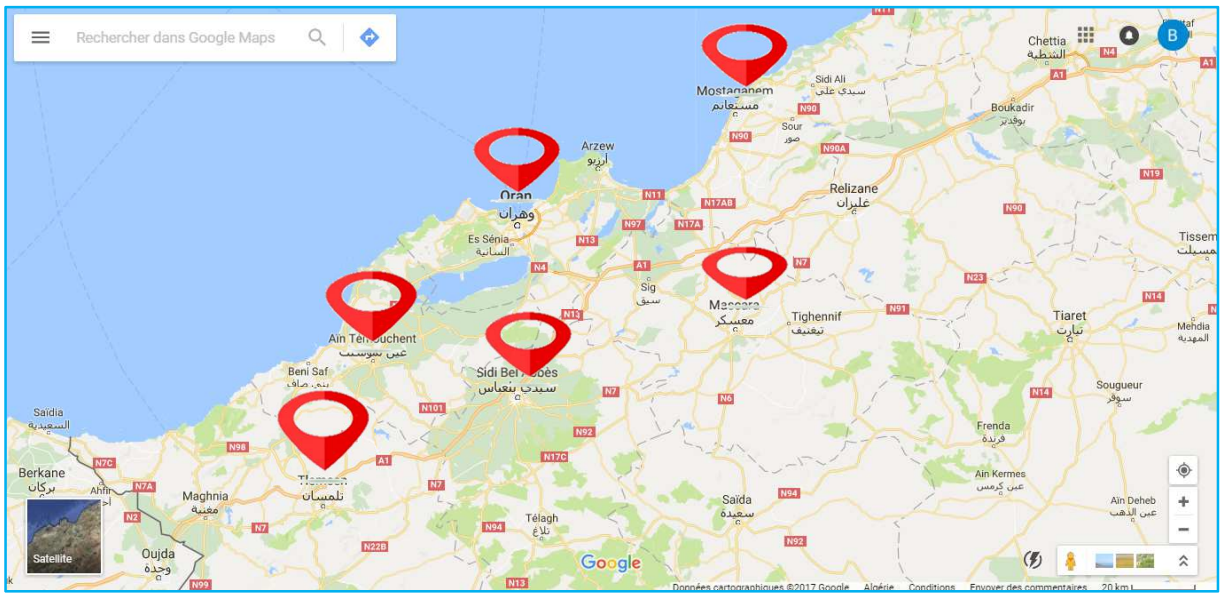


Figure 14 : **Localisation de la zone d'étude.**

Une attention particulière est portée sur la wilaya de Mostaganem du fait de la présence, dans cette région, d'un stock de pesticides périmés non utilisés **(P.N.M Algérie-Convention**

deStockholm. 2006). La ressource en eau disponible pour la wilaya de Mostaganem est essentiellement souterraine selon les données de la monographie de la wilaya.

Leplateau de Mostaganem est une unité appartenant au bassin versant côtier Oranais. Le plateau de Mostaganem est limité au Nord par l'oued Chélif et sa vallée, au Sud par la plaine des Bordjias, à l'Est par les djebels Ennaro et Belhacel et à l'Ouest par le bourrelet côtier qui l'isole de la mer méditerranée. Les formations quaternaires, constitués de terrains perméables, forment le réservoir du plateau de Mostaganem. Cette unité (dont la surface hydrogéologique est de 581.57 $Km^{2)}$ est connue par ses deux réservoirs : l'aquifère 1 est libre et captif ; son eau est généralement de bonne qualité mais il est surexploité. Cette aquifère 1 puise son extension dans toute l'unité et sa profondeur de la surface piézométrique varie de 3 à 40m ; son épaisseur varie de 20 à 100m. L'aquifère 2, dont les ressources sont peu importantes puise son extension entre la mer et la bordure du plateau **(Agence Nationale des Ressources Hydrique : Direction régionale Ouest).**

I.1.2 Déroulement de l'étude

L'étude descriptive de l'usage des pesticides en milieu agricole a nécessité la prise de contact avec les différents services phytosanitaires de la région Ouest à savoir : l' Institut National de la Protection des Végétaux (I.N.P.V), l' Institut Technique des Grandes Cultures (I.T.G.C) , le Centre National de Contrôle et de Certification des semences et des plants (C.N.C.C) dans la wilaya de Sidi-Bel-Abbés, l' Institut Technique des cultures maraîchères Industrielles(I.T.C.M.I) dans la commune de Hassi-Bounif(wilaya d'Oran) , ainsi que l'Office Algérien Interprofessionnel des Céréales (O.A.I.C) . Ce dernier est un organisme étatique responsable de la distribution des engrais et des pesticides aux Coopératives de Céréales et de Légumes Secs (C.C.L.S) de la région, chargées de la commercialisation de ces produits .

Les informations recueillies par le biais de certains de ces établissements étaient insuffisantes. Nous avons alors pris contact avec la direction de la protection des végétaux et des contrôles techniques auprès du Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et de la Pèche**,** lequel nous a orienté vers les directions des services agricoles(D.S.A).

Les données recueillies en collaboration avec l'ensemble de ces structures nous ont amené à effectuer une enquête sur le terrain afin de connaitre le type de traitement phytosanitaire

réellement appliqué sur les cultures et de déceler, entre autres, des formulations non répertoriées pour essayer de mieux cerner l'ampleur et les contraintes liées à l'usage de ces produits. A la suite de chaque sortie, un rapport de visite sur terrains a été établi.
Au niveau du site où se trouve le dépôt de stock des produits phytosanitaires non utilisés, notre visite a coïncidé avec une sortie sur site qui était programmée avec la commission de l'environnement, l'INPV, la DSA, et les responsables de l'APC de Touahria(commune de Mesra ; wilaya de Mostaganem).

I.1.3 Recueil des informations

Le recueil des données auprès des agriculteurs sur l'usage des pesticides dans ces régions, a été réalisé au moyen d'un questionnaire **(Annexe5)** .Le questionnaire comporte des informations sur le type de cultures et la superficie cultivée, les molécules utilisées et leurs modalités d'épandage (période, fréquence , dose à l'hectare), sur les maladies et les ravageurs traités ainsi que les mesures de protection.
De même, dans la région de Mostaganem, des informations ont été recueillies au moyen d'un questionnaire comprenant des renseignements sur les caractéristiques du puits comme sa profondeur et l'utilisation de son eau : eau de boisson, eau d'abreuvage ou eau d'irrigation **(Annexe 6)**

I.2 Résultats de l'étude descriptive sur terrain

L'étude descriptive a été menée dans chaque wilaya afin de répertorier les pesticides employés et d'identifier les ennemis des cultures les plus redoutés par les agriculteurs. L'ensemble des données que nous avons recueillies à partir de l'étude descriptive de l'usage des pesticides en milieu agricole sont résumées dans un tableau **(Annexe 7) .**

I.2.1 Caractérisation des ennemis des cultures

Les résultats de l'enquête révèlent l'existence de 18 menaces différentes pour les cultures à savoir :le Mildiou(*Phtophtora infestans*) , l'Oïdium(*Erysiphe cichoracearum*),la Tavelure(*Venturia inaequalis)*, la Teigne(*Argyresthia cornella*), l'Alternaria(*Alternaria*

alternata), La pourriture grise ou Botrytis(*Botrytis cinerea)*, les Acariens(*Panonychus ulmi*), la Mineuse de la tomate(*Tuta absoluta*) , les Pucerons , le Carpocapse (*Cydia pomonella)*, les Noctuelles , les Aleurodes(mouches blanches), les Nématodes, le Psylle, la Mouche de l'olive, les Cochenilles, le Criquet pellerin et la Cloque. Le mildiou, l'oïdium et l'alternaria sont en tête des maladies fongiques les plus redoutées et les plus fréquentes. Les insectes tels que la mineuse de la tomate, le carpocapse et les noctuelles sont aussi très redoutés par les agriculteurs et très fréquemment signalés.

I.2.2 Produits phytosanitaires utilisés

L'étude descriptive montre une prédominance de l'utilisation des insecticides **(43%)**. Les fongicides occupent la deuxième position avec un taux de **(38%)** suivis par les herbicides avec un taux de **(19%)(Figure 15)**. Les pesticides à large spectre c'est-à-dire agissant contre plusieurs cibles sont également utilisés notamment les insecticides-acaricides : Méthomyl et le Chlorpyriphos ou les nématicides-insecticides : Ethoprophos .

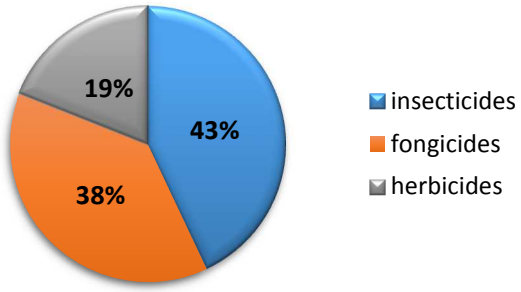


Figure 15: **Classification des pesticides utilisés en fonction de la cible visée (n= 53)**

Les matières actives employées dans les différentes collectivités agricoles visitées font partie de plusieurs familles chimiques (29) : Triazoles, Pyréthrinoïdes, Carbamates, Organophosphorés, Avermectines… etc. **(Figure 16 et Tableau 12).**

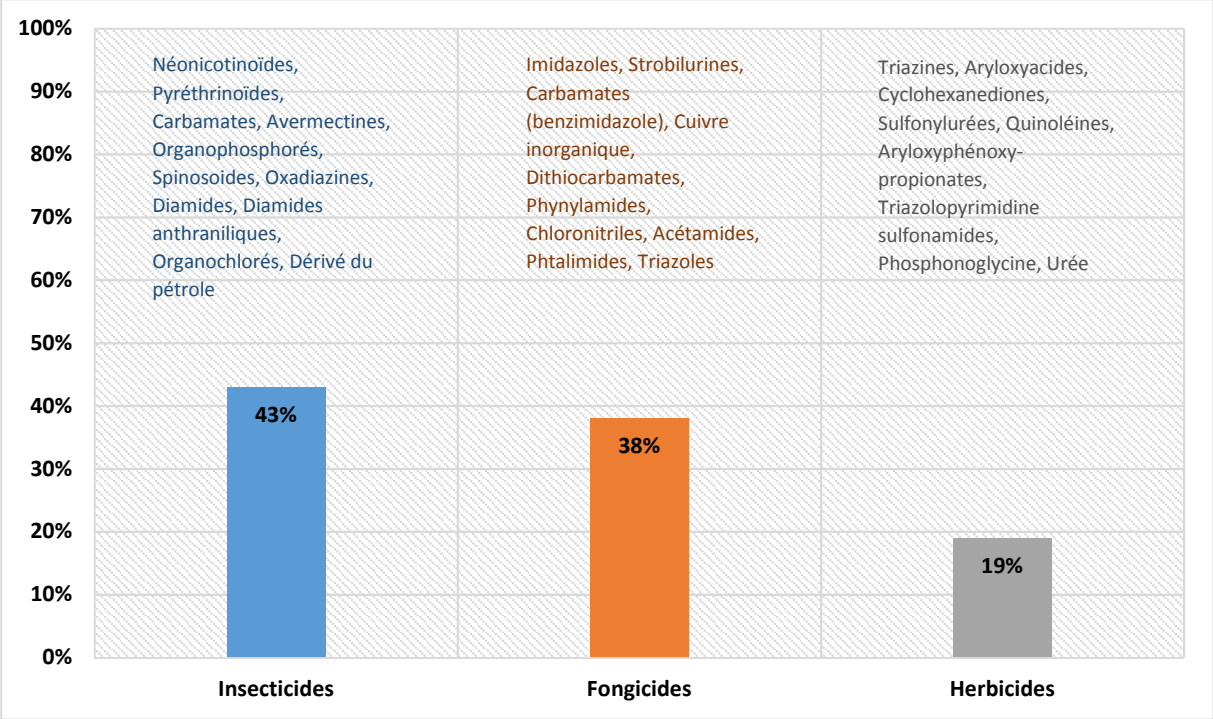


Figure 16 : Classification des pesticides utilisés en fonctionde la famille chimique (n= 31)

Tableau 12 : Familles chimiques répertoriées lors de l'étude descriptive.

Classe de pesticides	Famille chimique	Nombre	%
Insecticides	Néonicotinoïdes	4	8%
	Pyréthrinoïdes	4	8%
	Carbamates	2	4%
	Avermectines	2	4%
	Organophosphorés	4	8%
	Spinosoides	2	4%
	Oxadiazines	1	2%
	Diamides	1	2%
	Diamides anthraniliques	1	2%
	Organochlorés	1	2%
	Dérivé du pétrole	1	2%
	Total	**23**	**43%**
Fongicides	Imidazoles	1	2%
	Strobilurines	2	4%
	Carbamates (benzimidazole)	1	2%
	Cuivre inorganique	3	6%
	Dithiocarbamates	4	8%
	Phynylamides	1	2%
	Chloronitriles	1	2%
	Acétamides	1	2%
	Phtalimides	1	2%
	Triazoles	5	9%
	Total	**20**	**38%**

Herbicides	Triazines	1	2%
	Aryloxyacides	1	2%
	Cyclohexanediones	1	2%
	Sulfonylurées	2	4%
	Quinoléines	1	2%
	Aryloxyphénoxy-propionates	1	2%
	Triazolopyrimidine sulfonamides	1	2%
	Phosphonoglycine	1	2%
	Urée	1	2%
	Total	**10**	**19%**
		53	**100%**

La grande majorité des pesticides utilisés sont homologués dans l'**I.P.P.U.A 2015** à l'exception du Méthomyl, de l' Ethoprophos, du Malathion, de la Flubendiamide et du Dicofol, soit **9,43%** . Tous les pesticides répertoriés dans cette étude ne sont pas périmés.

I.2.3 Modalités d'utilisation des produits phytosanitaires

L'utilisation des pesticides varie en fonction du type de cultures. En général, ils sont utilisés de manière plus intensive dans les cultures maraîchères. Leur utilisation est plus restreinte dans les cultures céréalières (blé, orge, avoine) et les cultures fourragères. L'épandage est pratiqué généralement le matin en période sèche(absence de pluie) et en l'absence de vents. Il est réalisé avec des pulvérisateurs montés sur des tracteurs (80%) ou avec des pulvérisateurs manuels de petites capacités (20%) . La période d'épandage est très variable . En général, les herbicides sont appliqués en début de la saison agricole ; les fongicides et les insecticides sont habituellement pulvérisés durant l'hiver, le printemps et le début d'été ou dés le début d'une infestation. Les mesures de protection et d'hygiène lors des traitements phytosanitaires sont négligées par les agriculteurs : en effet, dans l'ensemble des sites, les agriculteurs ne disposaient d'aucun matériel de protection.

I.2.4 Situation particulière des pesticides stockés dans la région de Mostaganem

Dans la commune de Mesra, les informations recueillies auprès des différents établissements étaient insuffisantes quant à l'utilisation antérieure des pesticides périmés dans la région. Cependant, la majorité confirme que les pesticides périmés étaient largement

utilisés essentiellement pour le traitement de la vigne pendant la période coloniale. La visite sur le terrain, nous a permis de constater que les pesticides sont stockés dans de grands hangars avec de grandes ouvertures. A l'intérieur, les produits sont entreposés dans des cuves, des fûts ou même des sacs blancs parfois déchirés. Un brouillard de poudre émanant des produits jetés dans la cuve a été constaté en soulevant la dalle supérieure de la cuve.L'odeur dégagée par ces produits chimiques était insupportable et tellement forte que les habitants de la région s'en plaignent surtout quand il fait humide. Les habitants de la région et en particulier les enfants, souffrent de plus en plus de symptômes d'irritations et d'allergie.

Nous avons constaté que ces pesticides faisaient partie pour la plus grande majorité d'entre eux de la famille chimique des organochlorés.

I.2.5 Caractéristiques des puits échantillonnés

Dans un périmètre proche du dépôt de stockage des pesticides non utilisés, nous avons pu accéder à 15 puits appartenant à des particuliers. Les caractéristiques de ces puits sont présentés dans le **tableau 13**.

Tableau 13 : Répartition des puits analysés selon leurs profondeurs et leurs usages.

N° du puits	Profondeur (m)	Usage(s)
01	23	Boisson/Irrigation/ Abreuvoir.
02	55	Boisson/Irrigation/ Abreuvoir.
03	35	Boisson/Irrigation/ Abreuvoir.
04	35	Boisson/Irrigation/ Abreuvoir.
05	50	Irrigation
06	41	Boisson/Irrigation
07	32	Irrigation
08	65	Irrigation
09	50	Irrigation
10	35	Boisson/Irrigation/ Abreuvoir.
11	38	Boisson/Irrigation/ Abreuvoir.
12	40	Boisson/Irrigation
13	45	Boisson/Irrigation
14	60	Boisson/Irrigation/ Abreuvoir.
15	35	Boisson/ Abreuvoir.

La profondeur varie de 23 à 65 m. Selon les propriétaires, l'eau de ces puits n'a jamais fait l'objet d'un contrôle et cette eau est destinée aussi bien à l'irrigation qu'à la boisson **(Tableau 13)** .

I.3 Discussion des résultats

L'étude descriptive de l'usage des pesticides effectuée en milieu agricole a mis en exergue l'importante utilisation des insecticides qui occupent la première place avec un taux de **43%** des traitements phytosanitaires. Ceci est dû au fait que les attaques les plus redoutées par les agriculteurs sont celles des insectes (mineuses, aleurodes, carpocapses…) qui causent d'important dégâts aux cultures et même parfois, quand le traitement est appliqué tardivement, la perte totale de la récolte. Les fongicides sont aussi souvent utilisés (**38%** des traitements phytosanitaires) soit en traitement préventif soit en traitement curatif contre les maladies cryptogamiques causées par les champignons qui sont très difficiles à éradiquer. A cet effet, le contrôle des teneurs en résidus de pesticides, dans nos aliments et dans l'eau d'une nappe phréatique, objet de notre travail, s'impose afin de vérifier que les traitements phytosanitaires sont effectués de manière correcte et d'en évaluer le degrés de contamination.

Plusieurs constats ont été faits sur terrain quant à l'utilisation des produits phytosanitaires :

- Le non-respect des consignes données par les I.N.P.V en matière d'avertissements agricoles pour des traitements préventifs. Certains agriculteurs traitent les cultures une fois la ou les maladies survenues avec parfois l'association de plusieurs matières actives sur une même culture pour une meilleure efficacité du traitement.
- L'utilisation abusive d'un même produit sur la même culture et pour une longue durée pourrait conduire à un phénomène d'accoutumance. Ceci oblige l'agriculteur à augmenter les doses pour avoir l'effet souhaité. Néanmoins, l'utilisation alternée des P.P par certains agriculteurs permet de pallier à ce phénomène.
- Le non-respect des délais avant récolte (par certains agriculteurs) qui pourrait entraîner un dépassement des limites maximales en résidus (L.M.R) ce qui représente un risque sur la santé des consommateurs.

- Les mesures de protection et d'hygiène lors des traitements phytosanitaires sont négligées par les agriculteurs (absence d'un matériel de protection) durant la préparation de la bouillie et lors de l'épandage.
- Le choix d'une molécule par les agriculteurs dépend de la disponibilité du produit sur le marché et de son coût de revient, ainsi que de l'expérience acquise par le producteur ou par son voisin.

I.4 Critères de choix de la matrice et des pesticides à analyser

Le tableau résumant l'ensemble des données recueillies à partir de l'étude descriptive sur terrain **(Annexe 7**), montre que la tomate est la culture la plus traitée, suivie de la culture de la pomme de terre, des pommes et des céréales. Sur le plan botanique, les tomates sont considérées comme des fruits (organe végétal contenant une ou plusieurs graines) car elles sont issues de la transformation d'un ovaire se trouvant dans une fleur.

La tomate (***Solanum lycopersicum*** L.) est le second produit maraîcher, après la pomme de terre, de par la place qu'il occupe dans les habitudes alimentaires en Algérie **(Baci, 1995)**. Mais qu'en est-il de la surface cultivée de cette denrée et de sa production dans la région étudiée ? Le **tableau 14**, regroupe les trois types de cultures de tomates (maraichères de primeurs, maraichères et maraichères sous serres) en termes de surfaces cultivées et de production **(données extraites des statistiques du Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural)**.

Tableau 14 : Superficies, productions des cultures maraîchères (tomates). Ministère de l'agriculture et du développement rural. Direction des statistiques agricoles et des systèmes d'information. Série B 2014.

Wilaya	Cultures maraîchères dites "de primeurs"		Ensemble des cultures maraîchères		Cultures maraîchères sous serres	
	Sup (ha)	Prod (qx)	Sup (ha)	Prod (qx)	Sup (ha)	Prod (qx)
Tlemcen	17	3360	935	271 000	80	62400
SBA	0	0	193	101 108	0	0
Mostaganem	0	0	2541	926 996	302	233643
Mascara	0	0	302	73200	2,56	1610
Oran	10	10970	253	78535	24,28	22342
Ain-Temouchent	42	17440	637	282 445	34,68	25130
Total de la région étudiée	**69**	**31770**	**4861**	**1 733 284**	**443,52**	**345125**
Total national	3827	3 689 015	22646	10 656 093	4148,95	4 803 023
Classement	**5**	**7**	**1**	**2**	**3**	**3**

Ce tableau montre que pour l'ensemble des wilayas concernées par notre étude descriptive, la culture maraichère des tomates est en première position par rapport au total national en termes de superficie. Les deux autres cultures sont en 3ème et en 5ème position par rapport au total national. Pour ce qui est de la production, nous constatons que la culture des tomates est assez importante dans la région étudiée et occupe les premiers rangs de la production nationale.

De ce fait, le choix de la matrice alimentaire sera porté sur la tomate : culture très importante, la plus traitée par les pesticides et qui est consommée tel quel (avec la peau à la différence de la pomme de terre) par la population.

L'estimation de la contamination des eaux souterraines par les pesticides stockés au niveau du site de notre étude, se fera sur des échantillons d'eaux de puits. En effet, la vulnérabilité des eaux profondes à la contamination par les pesticides est fortement liée à la présence ou l'absence dans les eaux de puits, des pesticides **(Worrall *et al.*, 2004).**

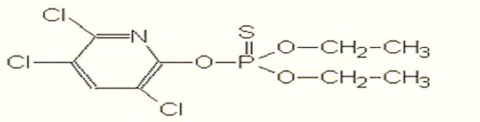
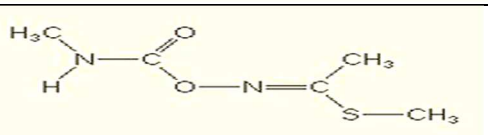
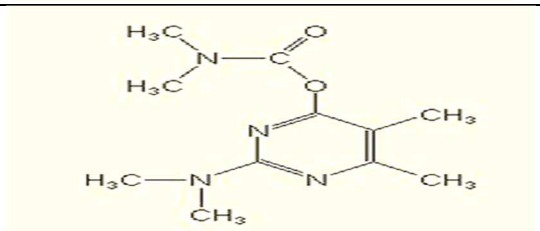
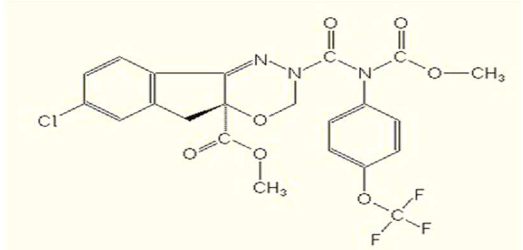
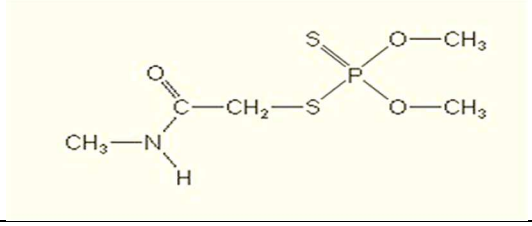
Les molécules de pesticides à analyser seront celles habituellement utilisées sur les cultures maraîchères, en l'occurrence, dans notre étude : la tomate. De plus, les insecticides et les fongicides sont pulvérisées directement sur la partie aérienne du végétal ce qui augmente le risque de présence de ces molécules sous forme de résidus sur le fruit, contrairement aux herbicides qui sont généralement utilisés en épandage sur le sol. Notre screening concernera donc **11 pesticides**, dont **5 insecticides** (Chlorpyriphos, Méthomyl, Pyrimicarbe, Indoxacarbe, Diméthoate) et **6 fongicides** (Cymoxanil, Métalaxyl, Triadiménol, Penconazole, Propiconazole, Difénoconazole).

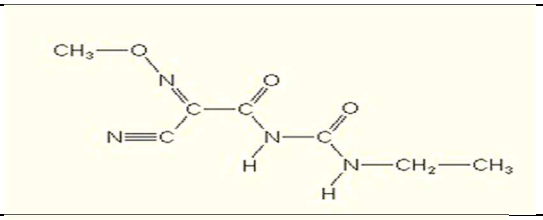
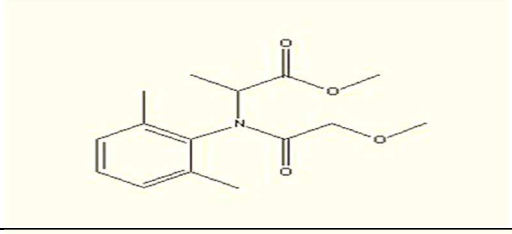
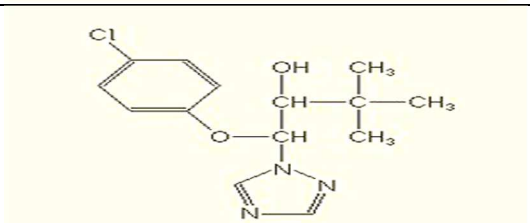
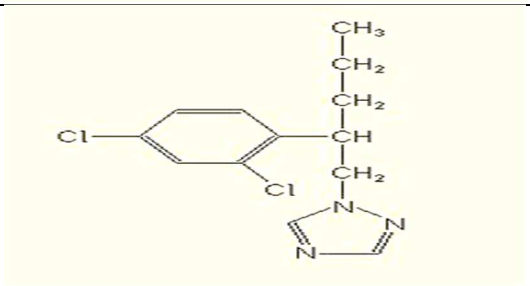
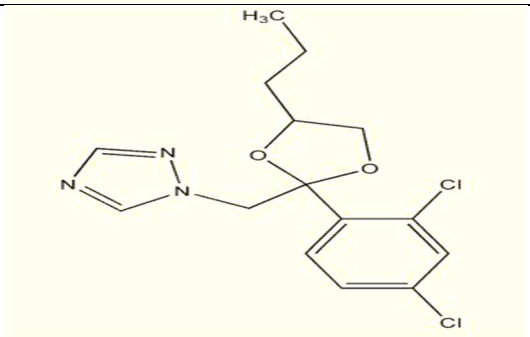
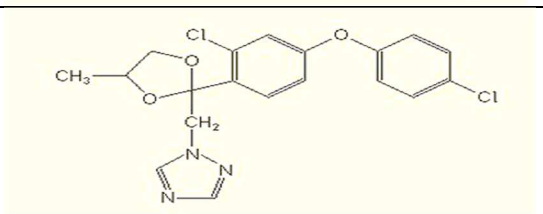
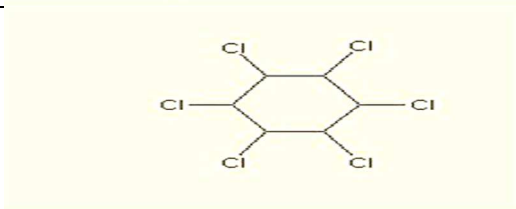
Pour les eaux de puits, notre choix des molécules à analyser a été orienté par les informations recueillies sur le site de stockage des pesticides non utilisés. En effet, l'utilisation abusive des pesticides dans le secteur agricole en Algérie durant les années 60 et 70, a généré d'importants stocks de pesticides. Le stockage anarchique et sans aucune précaution, dans la région de Mostaganem, des produits phytosanitaires non utilisés, peut contaminer la nappe phréatique. L'insuffisance de données portant sur la contamination des

eaux souterraines par les pesticides dans notre pays, nous a poussés à effectuer ce travail. Les pesticides ciblés sont à **56%** des **insecticides** (Lindane, Heptachlore-époxyde, Endrine, Endrine-aldéhyde, Endrine-kétone) et à **44%** des **herbicides** (Atrazine, Simazine, Alachlor, Métolachlor).

Au final, notre étude portera sur un total de **20 pesticides de classes chimiques différentes**.

Les classes chimiques, les structures et les poids moléculaires de ces composés sont indiqués dans le tableau suivant **(Tableau 15)** :

Composé	Classe selon La cible	Classe chimique	Structure	Masse molaire (Da)
Chlorpyriphos	I	Organophosphorés		349
Méthomyl	I	Carbamates		162
Pyrimicarbe	I	Carbamates		238
Indoxacarbe	I	Oxadiazines		527
Diméthoate	I	Organophosphorés		229

Cymoxanil	F	Acétamides		198
Métalaxyl	F	Phénylamides		279
Triadiménol	F	Triazoles		295
Penconazole	F	Triazoles		283
Propiconazole	F	Triazoles		341
Difénoconazole	F	Triazoles		405
Lindane	I	Organochlorés		290

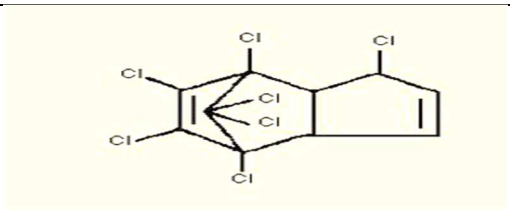
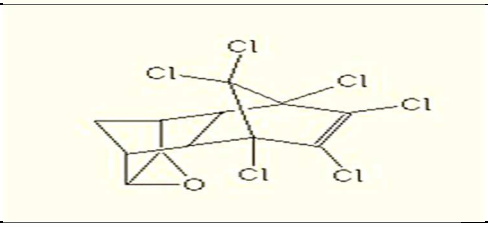
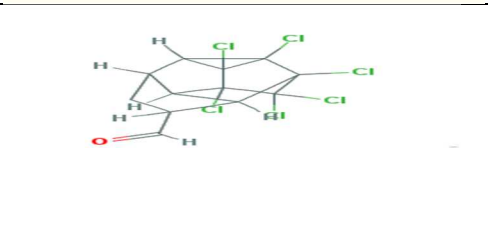
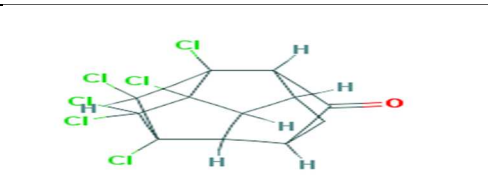
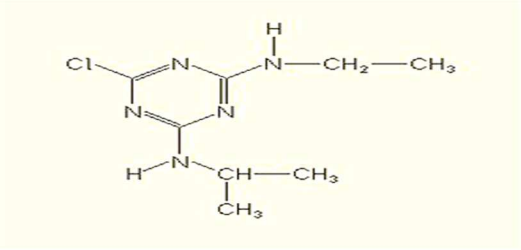
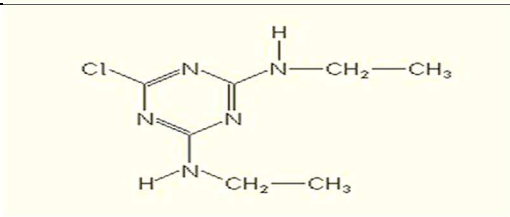
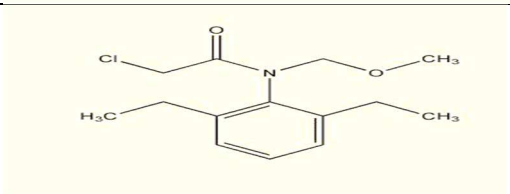
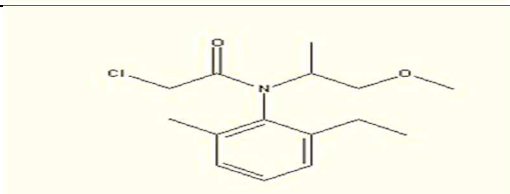
Heptachlor époxyde	I	Organochlorés		373
Endrine	I	Organochlorés		381
Endrine-aldéhyde	I	Organochlorés		381
Endrine-kétone	I	Organochlorés		381
Atrazine	H	Triazines		215
Simazine	H	Triazines		201
Alachlore	H	Chloroacétamides		296
Métolachlore	H	Chloroacétamides		283

Tableau 15 : Caractéristiques des molécules concernées par notre étude.

I : Insecticide H : Herbicide F : Fongicide

Concernant les méthodes d'analyses de ces résidus, la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS) et la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) correspondent le mieux à nos analyses pour les principales raisons suivantes :

- Diversité des matrices (tomate et eau) et des classes chimiques des pesticides de l'étude,
- Molécules à l'état de trace dans les matrices,
- Fiabilité, robustesse et performances (sensibilité notamment) des techniques.

I.5 Conclusion

A l'issue de notre étude, nous avons constaté que la plupart des agriculteurs ne tiennent pas compte des recommandations de la D.S.A pour le choix des molécules phytosanitaires et des modalités de leurs utilisations. Les produits phytosanitaires sont appliqués par les agriculteurs avec très peu de moyens de protection et n'ont qu'une vague idée sur les risques sanitaires liés aux pesticides. Les pesticides stockés sans aucune précaution dans la région de Mostaganem sont par ailleurs une source importante de contamination de la nappe phréatique.

De ce fait, le contrôle des teneurs en résidus de pesticides dans les aliments et l'eau de la nappe phréatique s'impose et c'est grâce à cette étude descriptive que nous avons pu choisir la matrice et les pesticides à analyser en priorité

Chapitre II

Niveau de contamination des aliments (tomates) par les pesticides

CHAPITRE II : NIVEAU DE CONTAMINATION DES TOMATES PAR LES PESTICIDES

II.1. MATERIEL ET METHODES

II.1.1. APPAREILLAGE

L'analyse a été réalisée à l'aide d'une chaine chromatographique couplée à un spectromètre de masse en tandem. Le couplage est constitué d'une part d'un chromatographe en phase liquide PERKINELMER® et d'autre part d'un spectromètre de masse hybride (triple quadripôle et trappe linéaire ionique) ABSciex, 3200 QTPAP®, ce dernier dispose de deux sources d'ionisation à pression atmosphérique, la source éléctrospray (ESI) et la source d'ionisation chimique à pression atmosphérique (APCI). Seule la source d'ionisation **ESI** a été utilisée vue qu'elle est la mieux adaptée à nos applications. De plus, cette source d'ionisation, est rapportée dans 93% des publications (n=70) **(Stachniuk *et al.*, 2015).**

L'exploitation des résultats a été réalisée par deux logiciels informatiques **ANALYST** version **1.6.2** et le **MULTIQUANT** version **2.1. (Figure 17).**



Figure 17 : CLHP/ SM/SM du service de toxicologie CHU d'Oran.

II.1.2. MATERIELS

- Verrerie diverse : fioles jaugées, béchers, éprouvettes, flacons, tubes à essais …
- Micropipettes à volumes réglables (10-100) µL et (100-1000) µL.
- Vial en verre de 2mL avec bouchon à vis Perkin Elmer®.

- Tubes coniques à centrifuger de 15 mL et 50 mL avec bouchon à vis SARSTEDT®
- Filtres seringues en nylon SHARLAU®, diamètre 25mm /0.22 µm.
- Seringues 5 mL ULTRALISSE®.
- Seringue d'injection manuelle de 1000 µL HAMILTON® pour infusion.
- Balance analytique de précision OHAUS® Pionner.
- PH mètre OHAUS® STARTER 3C.
- Centrifugeuse HETTICH® ROTOFIX 32 A.
- Broyeur KIKA LABOTECHNIK®.
- Bain à ultrasons VWR.
- Agitateur magnétique VELP SCIENTIFICA® AM4.

II.1.3. REACTIFS CHIMIQUES

✓ Eau ultra-pure avec une résistivité de 18,2 Ω.

✓ Acétonitrile qualité HPLC Panreac® pureté 99.9%.

✓ Méthanol qualité HP LC Scharlau® pureté 99,9%.

✓ Formiate d'ammonium (NH4HCO2) pureté 99%.

✓ Solutions étalons à 99% de pureté : Chlorpyriphos, Méthomyl, Pyrimicarbe, Indoxacarbe concentrées à 1000 µg/mL (1000ppm) chacune (ACCUSTANDARD®) ; Cymoxanil, Métalaxyl, Triadiménol, Penconazole, Propiconazole, Difénoconazole concentrées à 100µg/mL (100 ppm) chacune (EHRENSTORFER®), et une solution étalon (RESTEK®) de Diméthoate à 2000 µg/mL (2000 ppm)

✓ Triphénylphosphate analytical standard Supleco®. (Contrôle de la qualité de mesure pour la LC/MS/MS)

✓ Hydroxyde de sodium (NaOH), MERCK® 99,9%.

✓ QuEChERS extractive kit EN 1A EXTRABOND :

- Mélange de sels tampon SCHARLAU® (4g Sulfate de magnésium anhydre, 1g Chlorure de sodium, 0,5g Citrate d'hydrogène disodique sesquihydraté et 1g de Citrate trisodiquedihydraté) pour l'étape d'extraction.
- Adsorbant à amines primaires et secondaires APS.

II.1.4. PREPARATION DES SOLUTIONS

II.1.4.1. PHASE MOBILE

La phase mobile de la chaine chromatographique est constituée d'une phase mobile aqueuse A (5mM de formiate d'ammonium dans l'eau) et d'une phase mobile organique B (5mM de formiate d'ammonium dans du méthanol).

II.1.4.2. SOLUTION MERE ET SOLUTIONS DE TRAVAIL

-Solution mère : La solution mère contenant 10µg/mL de chaque pesticide a été préparée à partir des solutions étalons. C'est une mixture de 11 pesticides (Diméthoate, Chlorpyriphos, Méthomyl, Pyrimicarbe, Indoxacarbe, Cymoxanil, Métalaxyl, Triadiménol, Penconazole, Propiconazole et Difénoconazole) concentrée chacun à 10µg/mL (solution de travail **A**).

-La solution intermédiaire concentrée à 0,5µg/mL (500ppb) est préparée par dilution de la solution mère A au 1/20ème (solution de travail **B**).

Les solutions A et B préparées sont stockées dans des flacons en verre ambré à une température de +4°C.

II.1.4.3. SOLUTION D'ETALON INTERNE

La solution mère de Triphénylphosphate à 1000µg/mL (1000ppm) est préparée dans l'acétonitrile. Une solution de concentration intermédiaire à 10µg/mL (10ppm) est préparée par dilution au 1/100ème de la solution mère et la solution fille (solution de travail **C**) à 1µg/mL (1ppm) est obtenue par une dilution au 1/10èmede la solution intermédiaire.

Toutes ces solutions sont stockées dans des flacons en verre ambré à une température de +4°C.

Le **Tableau 16** résume les concentrations et les volumes prélevés à partir des solutions de travail d'étalons et d'étalon interne pour effectuer les dilutions (mélanges d'étalonnage) :

Concentration des dilutions préparées µg/L (ppb)	Volume prélevé des solutions de travail d'étalons (µL)	Volume prélevé de la solution de travail C d'étalon interne (µL)	Volume de solvant (Acétonitrile) ajouté (µL)
10	20 (de la solution B)	100	880
50	100 (de la solution B)	100	800
100	200 (de la solution B)	100	700
500	50 (de la solution A)	100	850
1000	100 (de la solution A)	100	800

Tableau 16 : Concentrations et volumes des solutions de travail utilisés pour la préparation des solutions d'étalonnage.

Remarque : les étalons dans la matrice sont préparés de la même manière que les étalons à base de solvants en utilisant toutefois des extraits d'échantillons à blanc. La concentration en étalon interne doit être similaire : 100µg/mL dans toutes les solutions d'étalonnage préparées ainsi que dans les échantillons analysés.

II.1.5. ECHANTILLONNAGE

L'analyse s'est portée sur deux types d'échantillons. La première partie a été recueillie directement à partir des cultures de pleins champs dans la région ouest du pays (Oran, Tlemcen, Ain-Temouchent, Mostaganem, Sidi-Bel-Abbès et Mascara). Le prélèvement des échantillons sur le terrain a été réalisé selon une méthode rigoureuse et reproductible. Les tomates ont été prélevées au stade végétatif auquel elles sont consommées, en évitant les périodes de stress (sécheresse, fortes pluies…). Chaque échantillon collecté pesait environ 1kg et était accompagné d'une fiche de renseignement indiquant le lieu et la date de son obtention, la typologie des produits phytosanitaires utilisés, la période et la fréquence d'épandage ainsi que les doses utilisées à l'hectare **(Annexe 5)**.

Des boites en plastique rigide (polypropylène) ont été utilisées pour le recueil des échantillons de tomates. Chaque boite, au moment du prélèvement est étiquetée, permettant ainsi d'éviter la perte de l'information concernant l'échantillon entre le terrain de prélèvement et l'arrivée au laboratoire.

La deuxième partie des échantillons de tomates a été obtenue de façon aléatoire au niveau de différents marchés de la région d'Oran.

Des échantillons de tomates (sans historique d'utilisation des pesticides), nécessaires à la préparation d'extrait d'échantillon à blanc ont été obtenus auprès d'un particulier possédant une culture de tomates sur laquelle aucun traitement phytosanitaire n'a été appliqué.

II.1.6. PROCEDURE GENERALE D'EXTRACTION

Des échantillons d'environ 500 g chacun ont été traités dans un délai de trois jours conformément aux recommandations de ***l'AFNOR 2009***.

Des unités saines et non altérées dans leur totalité ont été choisies. Chaque unité a été divisée en quatre parts, les deux parts opposées ont été découpées grossièrement en dés (3cm × 3cm) à l'aide d'un couteau décontaminé, avant de les congeler pendant une nuit à – 18°C. Tous les échantillons ont été préparés sans lavage.

Etant donné que les pesticides sont présents à l'état de traces dans les fruits et légumes, une étape d'extraction et de pré-concentration avant leur analyse chromatographique est nécessaire. Dans le présent travail, la méthode **QuEChERS** (avec modification du pH)a été utilisée. Les pesticides ont été extraits des échantillons de tomates en se basant sur cette méthode décrite pour la première fois par **Anastassiades *et al.*, 2003.**

Les échantillons congelés sont concassés par broyage à température ambiante. Après broyage et homogénéisation des échantillons, 10g ± 0,1 ont été pesés dans un tube à centrifuger de 50 mL.

Dans le tube contenant l'échantillon de tomate pesé, on ajoute 10 mL d'acétonitrile froid et 100 µL de solution de l'étalon interne (Triphénylphosphate) à 10 µg/mL. Le contenu du tube est ensuite secoué vigoureusement pendant une minute.

La suspension précédente est additionnée d'un mélange de sels tampon. Le tube fermé est secoué vigoureusement sans attendre pendant 1min. La valeur du pH après avoir ajouté les sels tampons est en règle général aux alentours de 4, il est alors nécessaire de l'ajuster entre **5 et 5**,**5** à l'aide d'une solution d'hydroxyde de sodium à 5 mol/L. Le mélange au pH ajusté est centrifugé pendant 5 minutes à 3000 tours/min.

Une partie aliquote de 6 mL de la phase d'acétonitrile est transvasée dans un tube à centrifuger en polypropylène à usage unique contenant 150 mg de PSA et 900 mg de sulfate de magnésium. Le tube est ensuite fermé et secoué vigoureusement pendant 30 secondes puis centrifugé pendant 5 minutes à 3000 tours/min.

On procède par la suite à la filtration d'un aliquote de 5 mL de phase d'acétonitrile à l'aide d'un filtre seringue de porosité de 0,2 µm. Le filtrat obtenu est prêt pour être injecté dans l'HPLC-MS/MS.

Le mode opératoire schématique de l'étape d'extraction/purification de la méthode QuEChERS est présenté comme suit **(Figure 18) :**

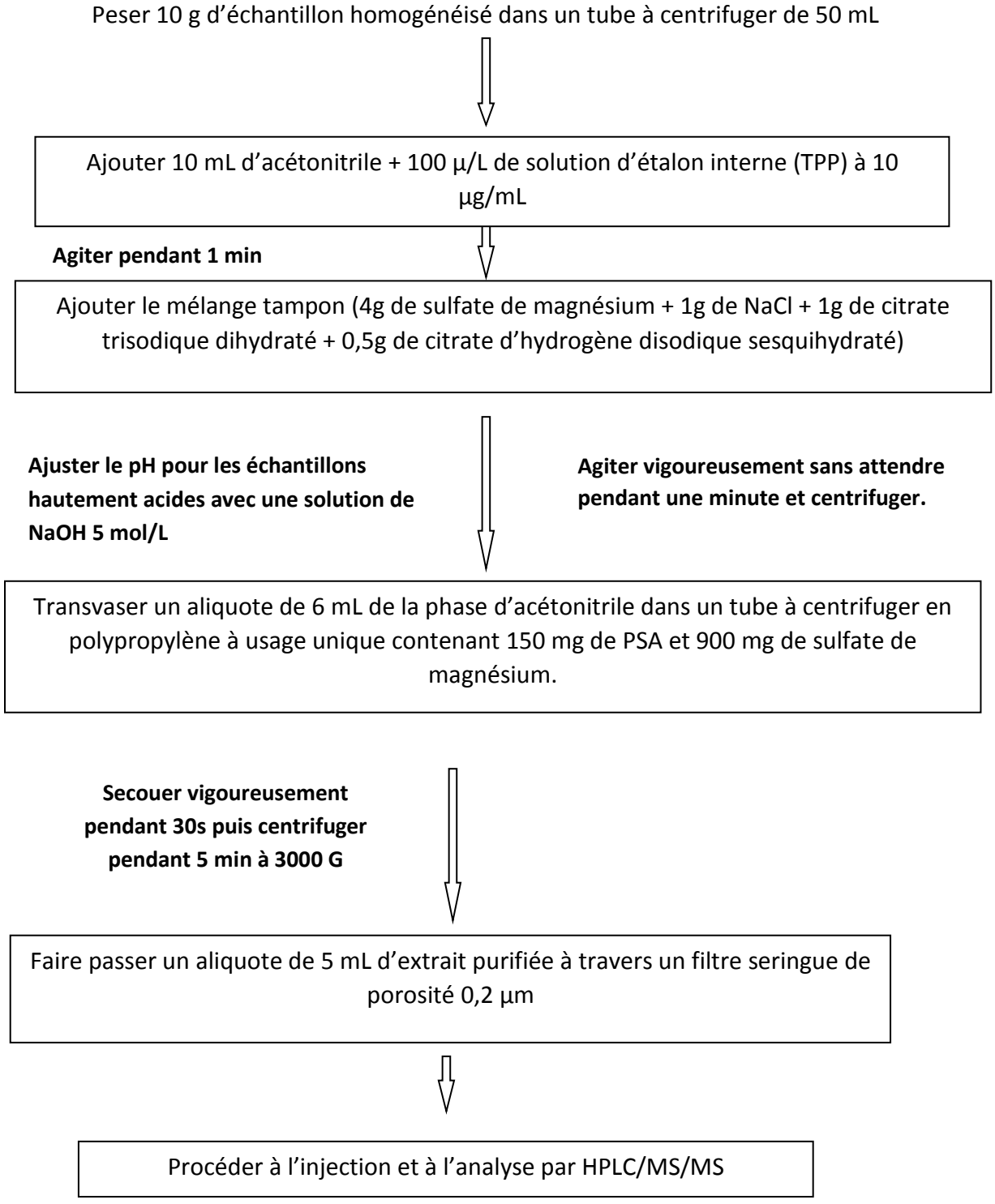


Figure 18 : **Mode schématique de la méthode d'extractionQuEChERS.**

Des tests de rendement après l'extraction ont été effectués durant trois jours consécutifs. Le rendement de l'extraction est obtenu en calculant les rapports des surfaces moyennes des étalons

sur étalon interne (obtenues pour trois concentrations de la matrice chargée par un mélange de pesticides : 20, 100, 200 ppb) avant et après l'extraction. Le calcul se fait selon la formule suivante :

$$\textbf{Rendement d'extraction} = \frac{\textbf{réponse de la matrice chargée puis extraite}}{\textbf{réponse de la matrice extraite puis chargée}} \textbf{ X 100 \%}$$

II.2. METHODE D'ANALYSE EN CHROMATOGRAPHIE EN PHASE LIQUIDE COUPLEE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE EN TANDEM

La méthode de dosage utilisée a été validée dans le service de Pharmacologie Toxicologie du C.H.U d'Oran.

L'analyse de l'extrait, obtenu par la méthode QuEChERS, est effectuée par une méthode HPLC/MS/MS dont le principe repose sur la séparation des constituants d'un mélange grâce aux interactions entre les solutés, la phase mobile et la phase stationnaire. Il en résulte des temps de rétention qui caractérisent les pics correspondant aux molécules sur le chromatogramme.

Une fois séparées, les molécules sont dirigées vers le spectromètre de masse en tandem qui permet l'identification et la quantification des cations en phase gazeuse (mode positif). Dans notre cas, la MS/MS fonctionne en mode **MRM**.

Les molécules sont dans un premier temps vaporisées et ionisées en utilisant la technique de l'electrospray **ESI**. Les ions produits sont ensuite triés en fonction de leur rapport m/z par le premier quadripôle et seul un ion de rapport m/z définit préalablement, passe (ion parent).

Celui-ci subit ensuite une fragmentation au niveau de la cellule de collision, et les fragments obtenus (ions fils) sont triés en fonction de leur rapport m/z par un deuxième quadripôle.

Chaque molécule se trouve ainsi identifiée par deux couples (ion parent/ion fils) appelés **transitions** spécifiques au pesticide recherché.

Le mode MRM présente plusieurs avantages particulièrement pour la quantification :

- Il couvre un large domaine de linéarité.
- Il réduit considérablement le bruit de fond, ce qui lui confère une grande sensibilité.
- Il est extrêmement sélectif et spécifique.

Les conditions d'optimisations de la technique d'identification et de quantification des pesticides dans les tomates par HPLC-ESI-MS-MS (utilisation du triple quadripôle en mode MRM) sont les suivantes :

- Voltage et température de la source : +4500 Volts ; 500 °C
- Colonne : Restek Allure ® C18 (150×2,1mm ; 5µm).
- Débit : 200µL/min.
- Température : 40°C.
- Volume d'injection : 5µL.

  Phase mobile :

  A : 5mM de formiate d'ammonium dans l'eau en mode
  B : 5mM de formiate d'ammonium dans du méthanol } Gradient

Etape	Temps (min)	Débit (µL/min)	A %	B %
1	0,1	200	80	20
2	20	200	0	100
3	22	200	0	100
4	22,1	200	80	20
5	30	200	80	20

- Les paramètres de la spectrométrie de masse (DP, EP, CE, CXP et les fragments majoritaires) sont spécifiques à chaque pesticide.

Pesticide	1ère et 2ème transition	DW time (msec)	DP(Volts)	EP(Volts)	CE(Volts)	CXP(Volts)
Diméthoate	230/125	100	30	10	20	3
	230/88,2	100		10	21,1	3
Chlorpyriphos	350/198	100	31	10	25,2	3
	350/153	50		10	16,7	3
Méthomyl	163/88,3	100	12	10	11,8	3
	163/106	50		10	15,6	3
Pyrimicarbe	239/182	100	30	10	16,6	3
	239/85,4	50		10	37,8	3
Indoxacarbe	528/149,8	100	45	10	34,1	3
	528/202,7	50		10	48,9	3
Cymoxanil	199/128,2	100	15	10	11,7	3
	199/83,2	50		10	36,4	3
Métalaxyl	280/192,3	100	28	10	19,9	3
	280/160,5	50		10	31,9	3
Triadiménol	296/70,2	100	33	10	24,1	3
	296/99,4	50		10	19,8	3
Penconazole	284/159,2	100	30	10	34,6	3
	284/70,4	50		10	36,7	3
Propiconazole	342/69,1	100	42	10	33,5	3
	342/159,5	50		10	61,7	3
Difénoconazole	406/251,2	100	50	10	36,1	3
	406/337,2	50		10	27,5	3
Triphénylephosphate	327/168,4	100	50	10	51,6	3
	327/215,2	50		10	50	3

Tableau 17 : **Récapitulatif des MRM pour toutes les molécules.**

DW= Dwell Time DP= Tension de déclusterisation EP= Potentiel Electrod CE= Energie de collision CXP= Tension de sorties

II.3. RESULTATS

II.3.1. PERFORMANCE DE LA TECHNIQUE D'EXTRACTION (RENDEMENT D'EXTRACTION)

Les résultats des rendements d'extraction pour chaque pesticide sont rapportés dans le **tableau 18.**

Pesticides	Rendement moyen (%)
Diméthoate	96
Chlorpyriphos	93
Méthomyl	99
Pyrimicarbe	97
Indoxacarbe	92
Cymoxanil	99
Métalaxyl	96
Triadiménol	110
Penconazole	99
Propiconazole	113
Difénoconazole	102

Tableau 18 : Rendements d'extractions obtenus pour les 11 molécules à trois niveaux de dopage pendant trois jours consécutifs.

Les rendements d'extraction moyens de tous les pesticides testés varient entre 92% et 113 %, ce qui est conforme aux normes définies par la commission européenne (***SANCO, 2013***). (Entre**70%** et **120%**).

II.3.2. PERFORMANCES DE LA METHODE D'ANALYSE PAR CL-SM/SM

Dans les conditions optimisées, les chromatogrammes obtenus sont représentés dans la **Figure 19 :**

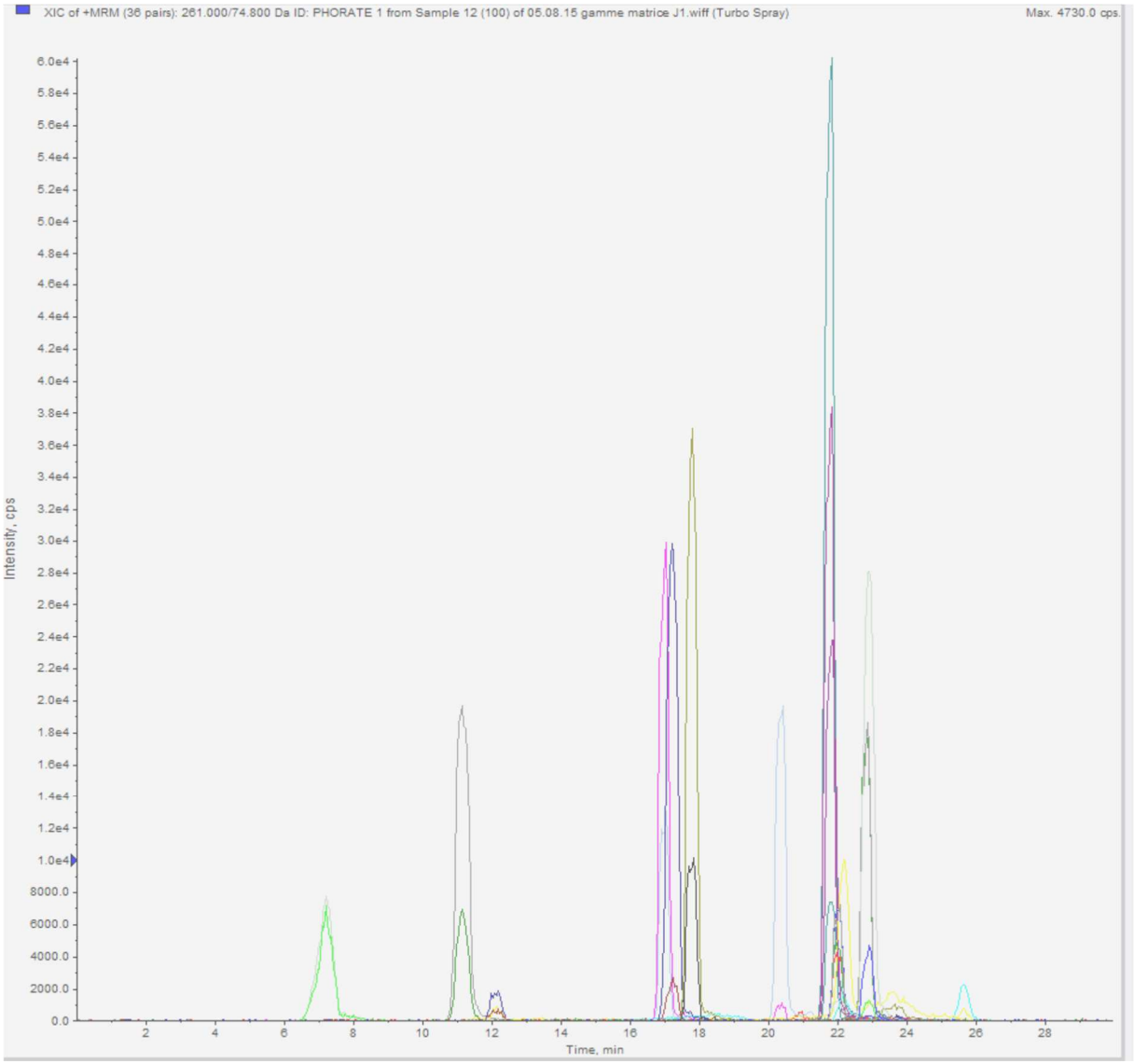


Figure 19 : Résultat final de l'optimisation de la méthode.

II.3.2.1. Résultats de la validation analytique de la méthode d'analyse de pesticides dans les tomates par CLHP-SM/SM

II.3.2.1.1 Etude de la linéarité

La linéarité d'une procédure d'analyse est sa capacité, à l'intérieur d'un certain intervalle, d'obtenir des résultats directement proportionnels à la concentration en analyte dans l'échantillon examiné.

La détermination du domaine de linéarité repose sur l'étude des courbes d'étalonnage correspondantes aux différents pesticides à des concentrations différentes. Le domaine de linéarité de cette méthode s'étend de 10ppb à 1000ppb. Le domaine de travail inclut donc les concentrations suivantes : 10, 50, 100, 500, 1000 ppb.

Nous avons utilisé le TPP comme étalon interne à une concentration de 100 ppb, nous avons alors obtenu des rapports AUC étalons /AUC étalon interne acceptables pour la majorité des pesticides, compris entre **0,34** et **32,26.**

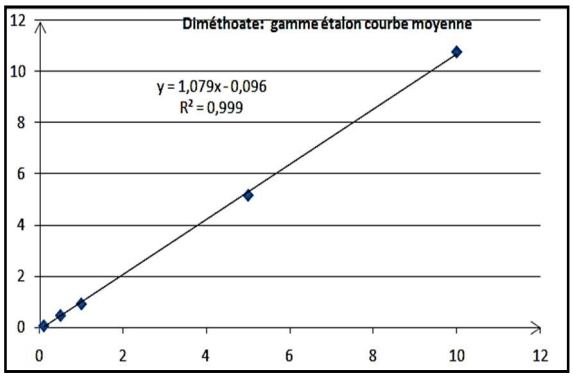
Les équations et coefficients de corrélation des courbes d'étalonnage moyennes sont donnés dans le tableau suivant :

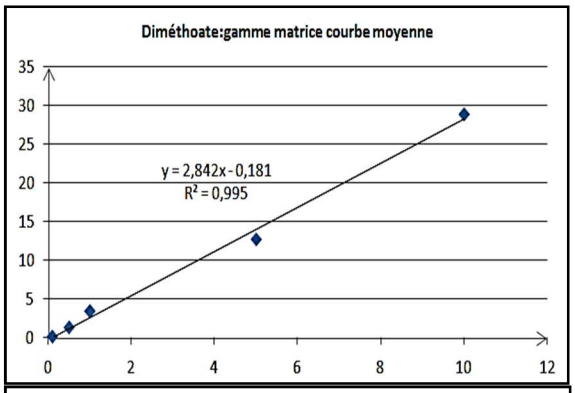
	Gamme étalon		Gamme matrice	
Pesticide	Coefficient de détermination (R^2)	Equation de la courbe	Coefficient de détermination (R^2)	Equation de la courbe
Diméthoate	0.999	y=1.079x – 0.096	0,995	y=2,842x – 0,181
Chlorpyriphos	0.996	y=0.633x – 0.127	0.994	y=0,331x + 0,118
Méthomyl	0.995	y=0.412x – 0.096	0.993	y=1,421x – 0,174
Pyrimicarbe	0.999	y=2.019x + 0.120	0.996	y=3,618x + 0,274
Cymoxanil	0.997	y=0.367x – 0.069	0.994	y=1,548x + 0,028
Métalaxyl	0.999	y=1.128x - 0.009	0.997	y=3,528x + 0,331
Triadiménol	0.999	y=0.730x + 0.047	0.998	y=2,102x + 0,430
Penconazole	0.999	y=0.987x – 0.061	0.996	y=2,797x + 0,177
Propiconazole	0.998	y=0.091x – 0.006	0.994	y=0,252x + 0,021
Indoxacarbe	0.999	y=0.498x – 0.031	0.998	y=1,749x + 0,080
Difénoconazole	0.997	y=1.233x – 0.083	0.996	y=3,613x + 0,191

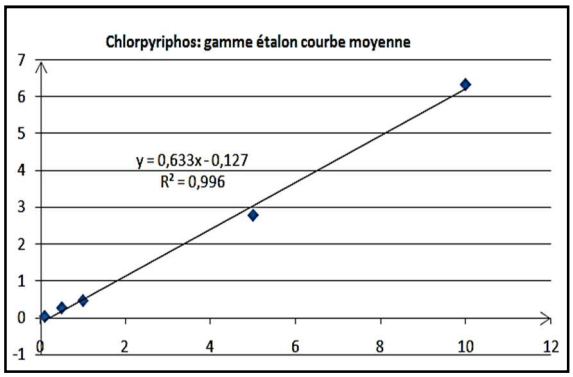
Tableau 19 : **Equations et coefficients de corrélation des courbes d'étalonnage moyennes.**

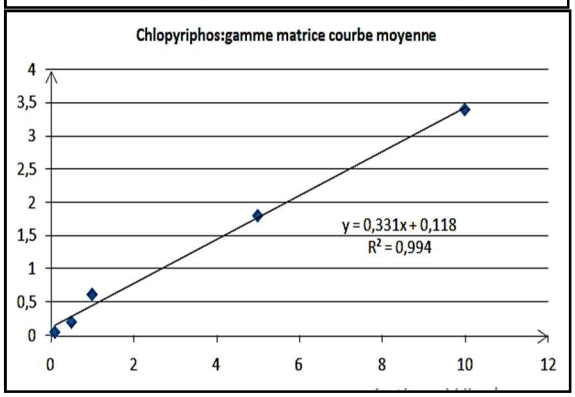
Les résultats obtenus pour la gamme étalon et matrice du 1er, 2ème et 3ème jour de validation pour les 11 pesticides sont les suivants :

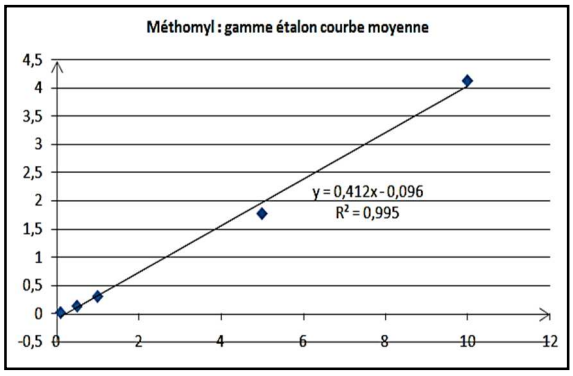
Gamme étalon **Gamme matrice**

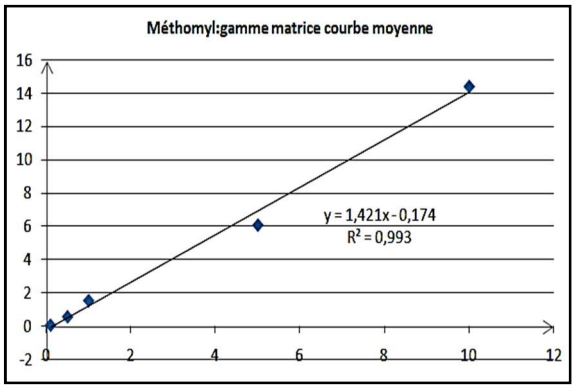


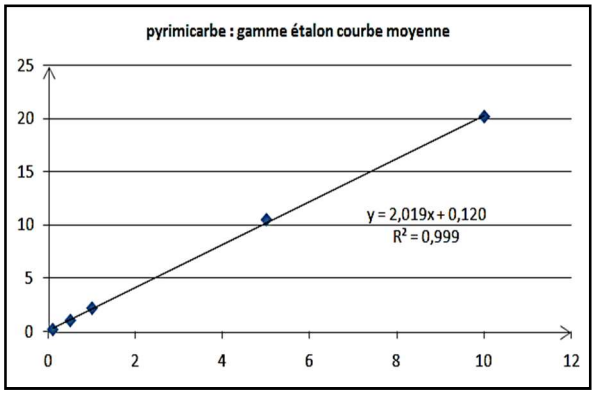


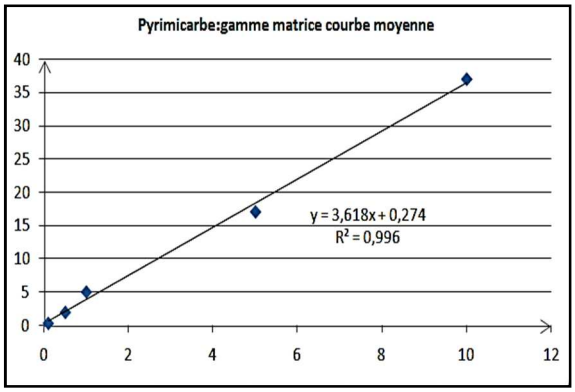




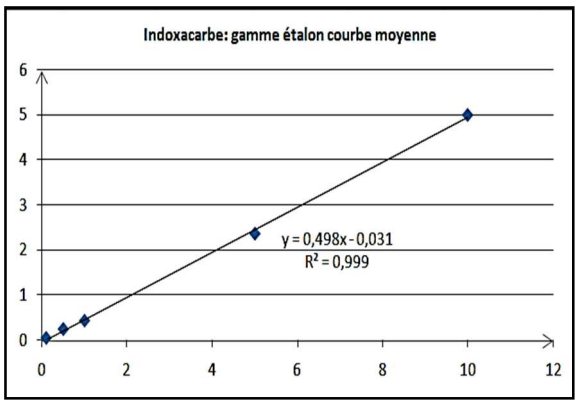


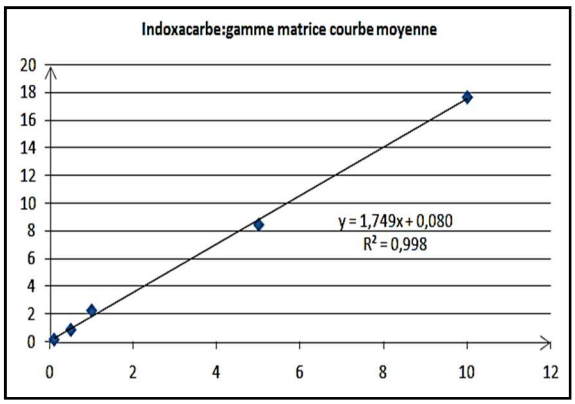


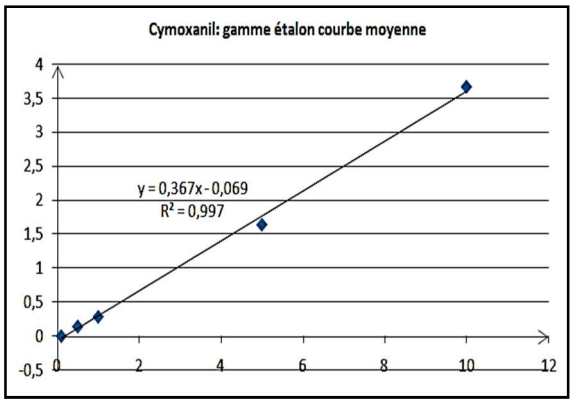


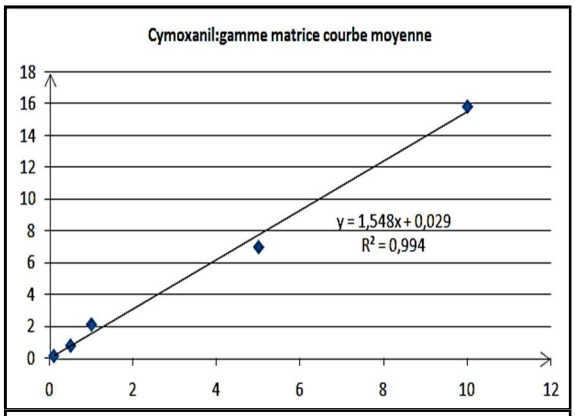


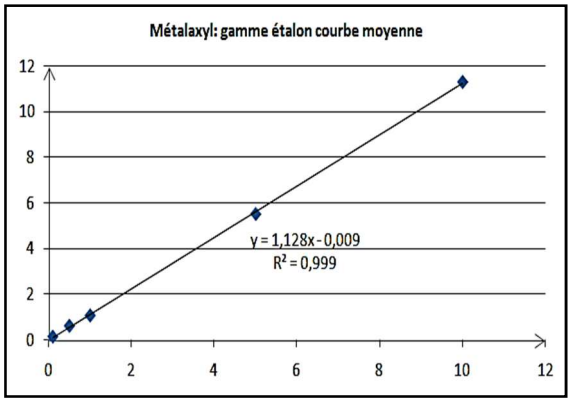
Gamme étalon **Gamme matrice**

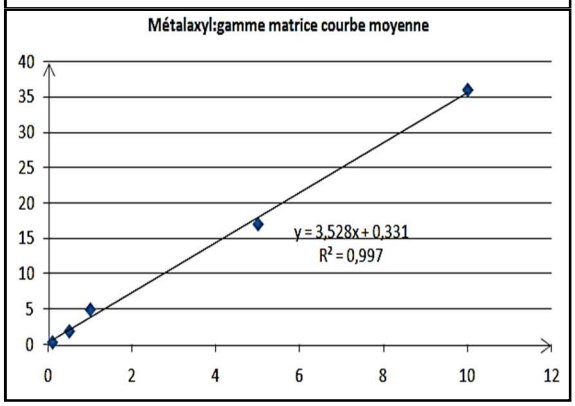












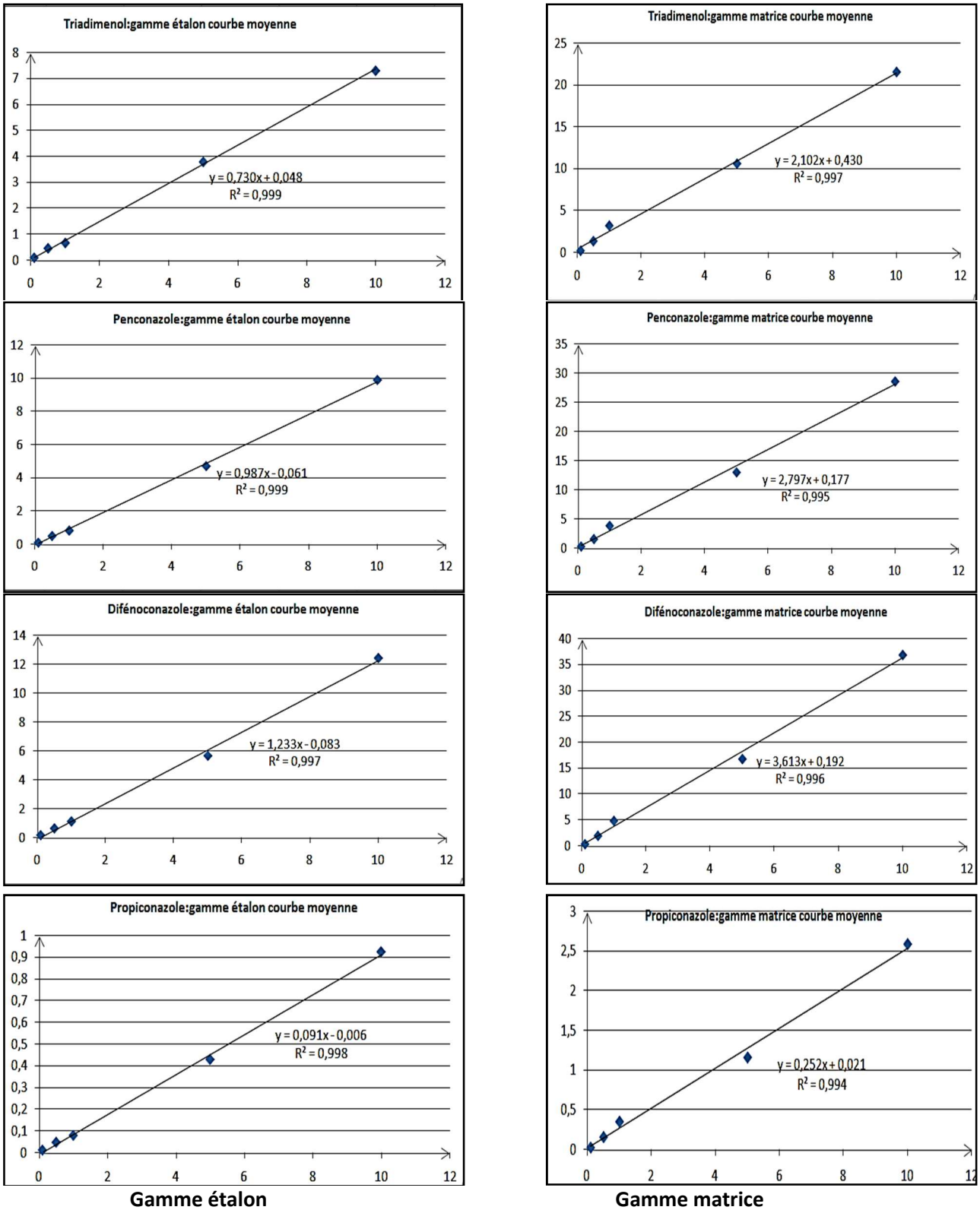


Figure 20 : Courbes moyennes d'étalonnage (étalon et matrice) des 11 pesticides.

II.3.2.1.2 Effet matrice

L'effet matrice correspond à la suppression ou l'exaspération du signal analytique en raison de la co-élution des composés d'intérêt avec des composantes de la matrice étudiée. En fonction de la complexité de cette dernière, le signal de l'analyte obtenu dans un solvant peut alors être différent de celui obtenu dans un extrait de matrice **(Niessen *et al.*, 2006 ; Kwon *et al.*, 2012**). Par ailleurs, ce phénomène est plus marqué lors de l'utilisation de la source ESI **(Núñez *et al.*, 2011).** En effet, les effets matriciels en CL sont principalement attribuables à la concurrence entre les composés à la surface des gouttelettes de la source ESI **(Villaverde *et al.*, 2016).**

L'effet matrice, dans notre étude, a été calculé par comparaison de la pente de la droite (moyenne) obtenue avec l'étalon et la pente de la droite (moyenne) obtenue avec la matrice(tomate) selon l'équation suivante :

$$E.M(\%) = 1 - \frac{pente\ de\ la\ droite\ matrice}{pente\ de\ la\ droite\ étalon} \times 100$$ **Andrade G.C.R.M *et al.*2015**

Dans cette équation, on considère un léger effet de suppression ou d'amélioration du signal si les valeurs (EM %) sont comprises entre – 20% et 0% et entre 0% et 20% ; l'effet est considéré comme moyen si les valeurs sont comprises entre -50% et -20% ou 20% et 50%.

Un fort effet de suppression ou d'amélioration du signal pour les valeurs inférieures à – 50% ou supérieure à 50 %. (**Kmellár *et al.*, 2008).**Le tableau suivant regroupe les valeurs de l'effet de la matrice obtenu pour chaque pesticide :

Pesticides	EM(%)	Pesticides	EM (%)
Diméthoate	- 163,39	Propiconazole	-176,92
Chlorpyriphos	47,70	Difénoconazole	-193,02
Méthomyl	- 244,90	Penconazole	-183,38
Pyrimicarbe	-79,19	Triadiménol	-187,94
Indoxacarbe	-251,20	Métalaxyl	- 212,76
Cymoxanil	-321,79		

Tableau 20 : **Pourcentages des effets de matrice sur les 11 pesticides.**

Les résultats obtenus montrent que nous avons un effet matrice moyen pour 9% des pesticides et pour 91% des pesticides, cet effet est important.

Afin de réduire cet effet matrice, plusieurs approches peuvent être utilisées (**Kloepfer *et al.*, 2005 ; Wick *et al.*, 2010 ; Kmellár *et al.*, 2011 ; Kittlaus *et al.*, 2012 et 2013 ; Lozano *et al.*, 2014 ; Uclés *et al.*, 2014)**.Nous avons recouru à la méthode de l'étalonnage avec adaptation matricielle : matrix

matched calibration. En fait, c'est l'un des choix acceptés dans le cadre législatif européen **(SANTE / 11945/ 2015).**

II.3.2.1.3. Justesse (exactitude)

La justesse exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une série de résultats d'essais et la valeur qui est acceptée soit comme une valeur conventionnellement vraie soit comme une valeur de référence acceptée. La justesse fournit une indication sur l'erreur systématique.

Afin d'évaluer la justesse de notre technique, nous avons calculé les recouvrements (rapports des concentrations calculées sur la concentration introduite) à trois concentrations différentes (**50, 100** et **500 ppb**), l'opération a été refaite durant trois jours consécutifs.

Les résultats obtenus sont groupés dans le tableau suivant :

	Gamme étalon			Gamme matrice		
Pesticides	50ppb	100ppb	500ppb	50ppb	100ppb	500ppb
Diméthoate	108	104	108	89	89	97
Chlorpyriphos	92	92	92	87	97	85
Méthomyl	106	107	108	98	94	97
Pyrimicarbe	89	98	106	101	108	101
Indoxacarbe	95	101	102	93	99	100
Cymoxanil	100	108	91	102	112	89
Métalaxyl	102	114	112	84	115	103
Triadiménol	112	94	92	101	108	113
Penconazole	102	88	93	98	99	114
Propiconazole	103	95	88	108	117	102
Difénoconazole	110	102	97	111	118	103

Tableau 21 : Tableau récapitulatif des taux de recouvrements (exactitudes : %).

D'une manière générale, Les taux de recouvrement par HPLC/MS/MS respectent les intervalles d'acceptabilité définis par la Commission Européenne **70-120%** (***SANCO, 2013***), nous pouvons donc conclure que la méthode est juste.

II.3.2.1.4. Répétabilité (fidélité)

La fidélité exprime l'étroitesse de l'accord (coefficient de variation) entre une série de mesures provenant de multiples prises d'un même échantillon homogène dans des conditions prescrites. La fidélité fournit une indication sur l'erreur aléatoire.

La fidélité est estimée à partir de l'écart type (ð) des résultats d'essais pour un ou plusieurs niveaux de concentrations qui permet de calculer le coefficient de variation.

Nous avons évalué la fidélité de notre technique en effectuant **7 lectures** consécutives pour trois niveaux de concentration (**50, 100 et 500 ppb**) sur trois jours consécutifs.

Pesticide	Concentration (ppb)	CV% inter-jour (gamme étalon)	CV% inter-jour (gamme matrice)
Diméthoate	**50**	5	4.75
	100	6,88	6.22
	500	8,83	3.06
Chlorpyriphos	**50**	7,41	2.95
	100	5,51	4.83
	500	9,33	6.20
Méthomyl	**50**	8,08	5,42
	100	4,19	3,40
	500	6,78	3,15
Pyrimicarbe	**50**	6,27	3.82
	100	3,83	3.31
	500	8,45	6.73
Indoxacarbe	**50**	22,43	5.92
	100	4,12	3.49
	500	6,96	4.96
Cymoxanil	**50**	6,76	4.71
	100	3,85	4.15
	500	9,94	3.18
Métalaxyl	**50**	7,32	1.86
	100	2,74	4.77
	500	5,21	3.27
Triadiménol	**50**	4,30	3.17
	100	3,35	3.70
	500	7,43	2.22
Penconazole	**50**	6,99	3.93
	100	5,53	4.75
	500	6,88	4.63
Propiconazole	**50**	9,15	3.38
	100	7,45	2.72
	500	5,25	2.40
Difénoconazole	**50**	9,25	2.89
	100	5,70	2.38
	500	8,46	5.07

Tableau 22 : Tableau récapitulatif des coefficients de variation inter-jour.

Tous les coefficients de variation sont conformes aux limites fixées par la commission européenne pour l'analyse des résidus de pesticides **(≤ 20%)**. (***SANCO, 2013***).

II.3.2.1.5. Limites de détection (LDD) et de quantification(LDQ)

Les limites de détection et de quantification sont déterminées en diluant des solutions étalons, jusqu'à ce que le pic obtenu ait un rapport S/N proche de **3** pour la LDD et de **10** pour la LDQ.

Pour cela, une solution étalon contenant 0.01µg/mL (10ppb) (1er point de la matrice fortifiée) de chacun des 11 pesticides étudiés a été injectée. Un calcul par une simple règle de trois est effectué après pour avoir la concentration pour laquelle on obtiendrait un rapport signal sur bruit de fond proche de 3 et de 10.

Le tableau ci-dessous résume les LDD et les LDQ des pesticides étudiés.

	Gamme étalon (limites instrumentales)		Gamme matrice	
Pesticide	LDD (ppb)	LDQ (ppb)	LDD (ppb)	LDQ (ppb)
Diméthoate	0,35	1,15	1,29	4,31
Chlorpyriphos	1,79	5,97	0,51	1,70
Méthomyl	2,00	6,66	4,28	11,68
Pyrimicarbe	0,10	0,32	0,74	2,45
Indoxacarbe	0,57	1,9	0,49	1,65
Cymoxanil	0,90	3,01	2,29	7,63
Métalaxyl	0,16	0,52	2,08	6,94
Triadiménol	0,15	0,49	1,40	4,67
Penconazole	0,11	0,38	0,75	2,49
Propiconazole	2,56	8,55	16,66	38
Difénoconazole	0,09	0,29	1,38	4,61

Tableau 23 : LDD et LDQ de la méthode.

II.4. APPLICATION DE LA METHODE : ANALYSE DES ECHANTILLONS DE TOMATES

Au total, nous avons analysés 30 échantillons de tomates.

- L'identification des molécules dans les tomates a été faite selon les critères suivants :

- Le temps de rétention spécifique de chaque molécule.
- Présence des deux transitions adéquates (2 MRM) : la 1èrepour quantification et sert aussi pour l'identification de la molécule, et la 2ème pour la confirmation de l'identité de la molécule.

- Le MRM ratio (le rapport entre l'intensité de la transition de confirmation et celle de la quantification), ce ratio est spécifique à la molécule et ne dépend ni de la matrice ni de la concentration de l'analyte. Les tolérances maximales (par défaut) recommandées pour les rapports ioniques en utilisant différentes techniques de la SM (LC-MS et LC-MS^n) sont de ± 30% **(SANCO/12571/2013) .**

- La quantification a été faite par la méthode de l'étalonnage avec adaptation matricielle (matrix matched calibration).

Une courbe de calibration sur des extraits de matrice a été effectuée avant l'analyse des échantillons :

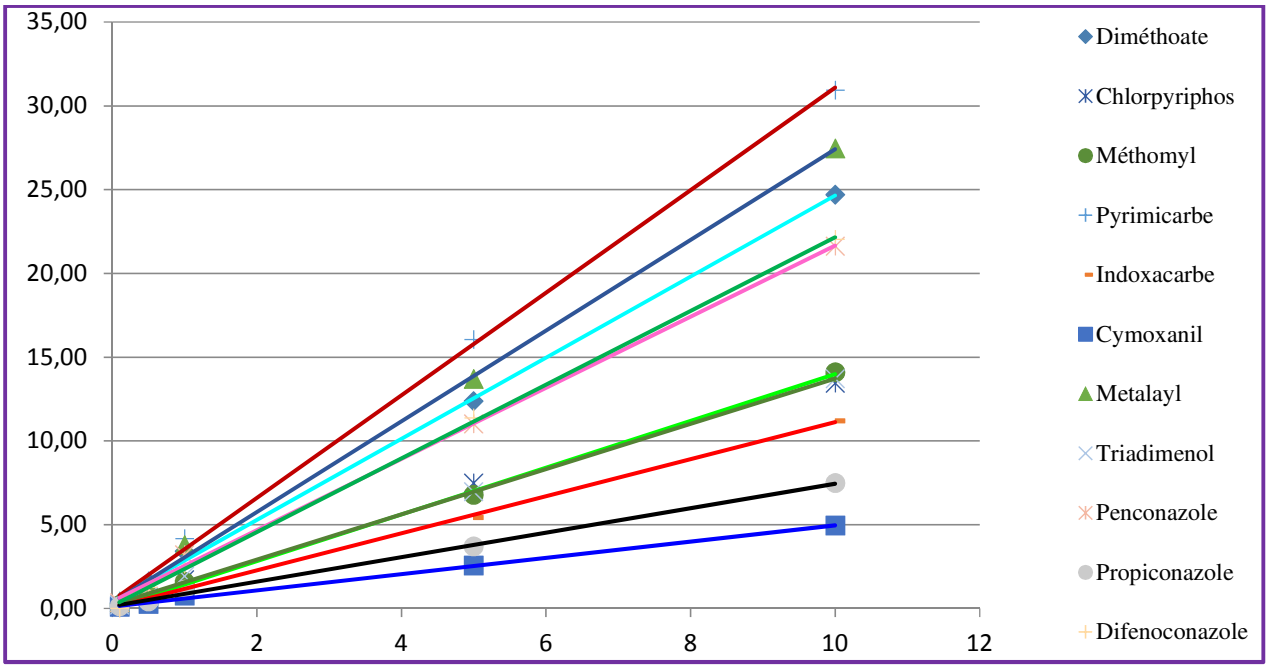


Figure 21 : Courbe de calibration sur matrice dopée (matrix matched calibration).

Les équations et coefficients de corrélations des courbes d'étalonnage moyennes obtenues sur matrice dopée sont donnés dans le tableau suivant :

Pesticide	R^2	Equation	pesticide	R^2	Equation
Diméthoate	0,998	y = 2,421x + 0,437	Cymoxanil	0,997	y = 0,485x + 0,111
Chlorpyriphos	0,996	y = 1,345x + 0,244	Métalaxyl	0,998	y = 2,706x + 0,349
Méthomyl	0,999	y = 1,396x + 0,028	Triadiménol	0,998	y = 1,350x + 0,220
Pyrimicarbe	0,998	y = 3,061x + 0,479	Penconazole	0,998	y = 2,123x + 0,426
Indoxacarbe	0,998	y = 1,105x + 0,075	Propiconazole	0,997	y = 0,730x + 0,149
Difénoconazole	0,999	y = 2,186x + 0,254			

Tableau 24 : Equations et coefficients de corrélation des courbes d'étalonnage moyennes.

CHAPITRE II : NIVEAU DE CONTAMINATION DES TOMATES PAR LES PESTICIDES

Les résultats d'analyse des 30 échantillons de tomate ainsi que les caractéristiques des molécules trouvées sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 25 : Résultats d'analyse des échantillons de tomate par HPLC/MS/MS.

N° de l'échantillon	Résultat	Molécule trouvée	Temps de rétention	[C]en mg/kg (ppm)	MRM $_{ratio}$ échantillon	Norme MRM $_{ratio}$
Echantillon 1	**positif**	Difénoconazole	22,84	0,00726	0,06	0,05 - 0,91
Echantillon 2	**positif**	Difénoconazole	22,65	0,01506	0,07	0,05 - 0,91
Echantillon 3	négatif	/				
Echantillon 4	Négatif	/				
Echantillon 5	négatif	/				
Echantillon 6	négatif	/				
Echantillon 7	**faux +**	Triadiménol	21,66		0,8	0,06 – 0,12
Echantillon 8	négatif	/				
Echantillon 9	négatif	/				
Echantillon 10	négatif	/				
Echantillon 11	**positif**	Difénoconazole	22,62	0,06427	0,05	0,05 - 0,91
	faux +	Triadiménol	20,27		0,13	0,06 – 0,12
Echantillon 12	**positif**	Triadiménol	20,16	0,00402	0,09	0,06 – 0,12
	positif	Métalaxyl	17,83	0,01252	0,25	0,25 – 0,47
Echantillon 13	**positif**	Difénoconazole	22,64	0,02297	0,07	0,05 - 0,91
Echantillon 14	**positif**	Triadiménol	20,19	0,00751	0,08	0,06 – 0,12
Echantillon 15	négatif	/				
Echantillon 16	**positif**	Chlorpyriphos	25,29	0,03224	0,30	0,21 – 0,39
	positif	Triadiménol	20,3	0,01091	0,10	0,06 – 0,12
Echantillon 17	**positif**	Chlorpyriphos	25,28	0,06198	0,32	0,21 – 0,39
	positif	Triadiménol	20,22	0,00986	0,12	0,06 – 0,12
Echantillon 18	négatif	/				
Echantillon 19	négatif	/				
Echantillon 20	**positif**	Triadiménol	20,13	0,01229	0,09	0,06 – 0,12
Echantillon 21	négatif	/				
Echantillon 22	négatif	/				

Echantillon 23	négatif	/				
Echantillon 24	**positif**	Difénoconazole	21,75	0,00365	0,07	0,05 - 0,91
Echantillon 25	**faux +**	Difénoconazole	21,71		0,16	0,05 - 0,91
Echantillon 26	**positif**	Chlorpyriphos	23,94	0,01743	0,29	0,21 – 0,39
	positif	Triadiménol	19,5	0,00229	0,12	0,06 – 0,12
Echantillon 27	**positif**	Méthomyl	7,15	0,04509	0,82	0,53 – 0,98
Echantillon 28	**positif**	Chlorpyriphos	23,87	0,00781	0,37	0,21 – 0,39
Echantillon 29	négatif	/				
Echantillon 30	**positif**	Chlorpyriphos	25,18	0,01261	0,35	0,21 – 0,39
	positif	Difénoconazole	22,75	0,00327	0,08	0,05 - 0,91

Chiffres surlignés en rouge : contamination dépassant la LMR.

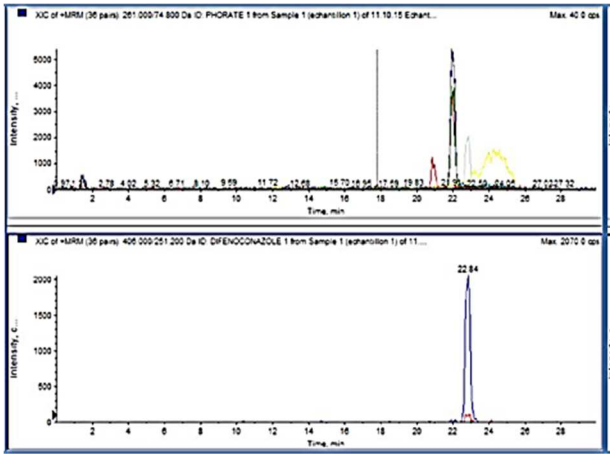
Les résultats positifs ont été confirmés en calculant les ratios MRM des échantillons et en les comparant aux fourchettes de tolérance établies par la commission européenne dans ses guides relatifs à la validation de méthodes et au contrôle qualité **(SANCO/12571/ 2013).**

A cet effet, nous avons détecté **trois faux positifs (**Echantillons **: n°7, n°11, n°25).**

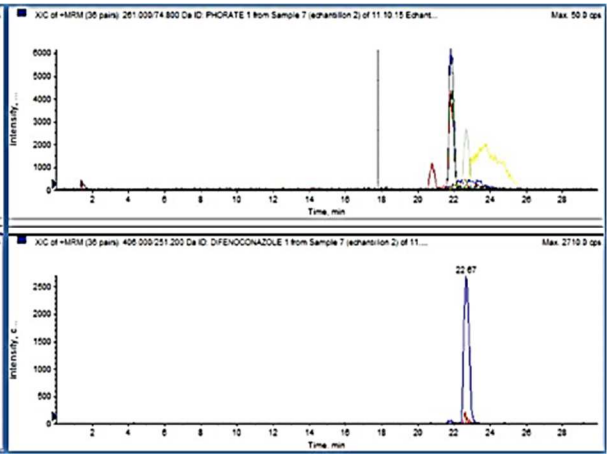
CHAPITRE II : NIVEAU DE CONTAMINATION DES TOMATES PAR LES PESTICIDES

Les chromatogrammes obtenus pour les 30 échantillons de tomates sont les suivants :

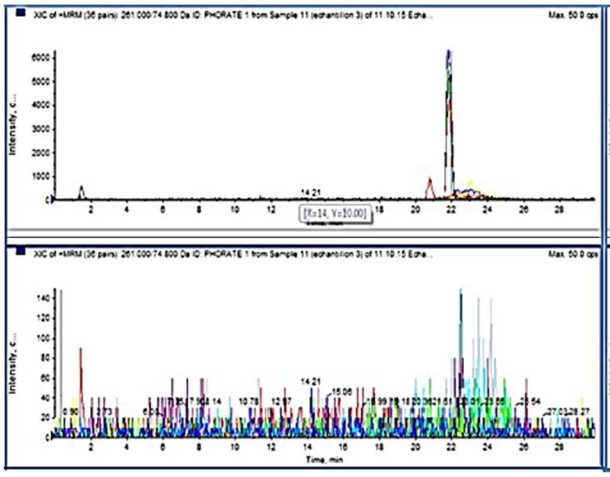
Echantillon 1 :



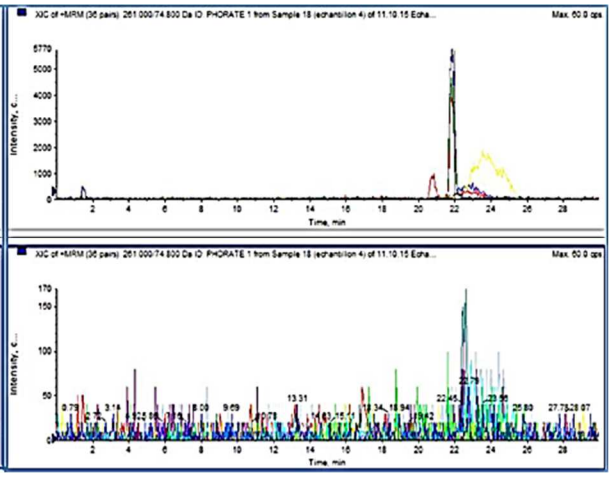
Echantillon 2 :



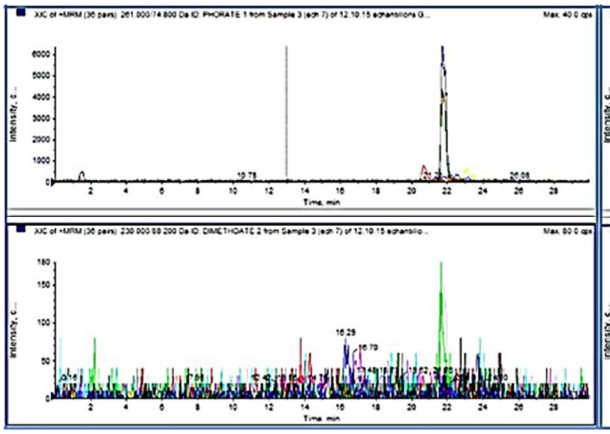
Echantillon 3 :



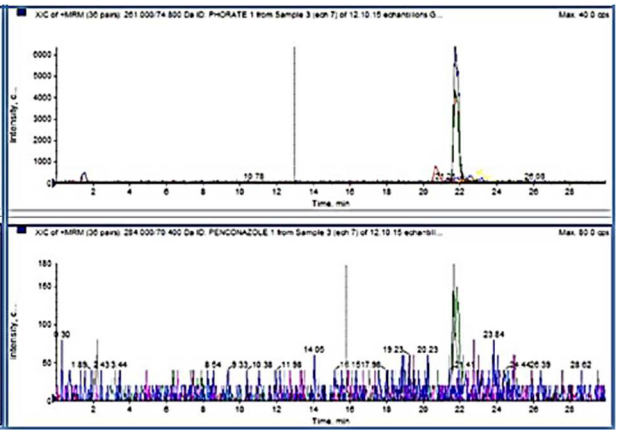
Echantillon 4 :



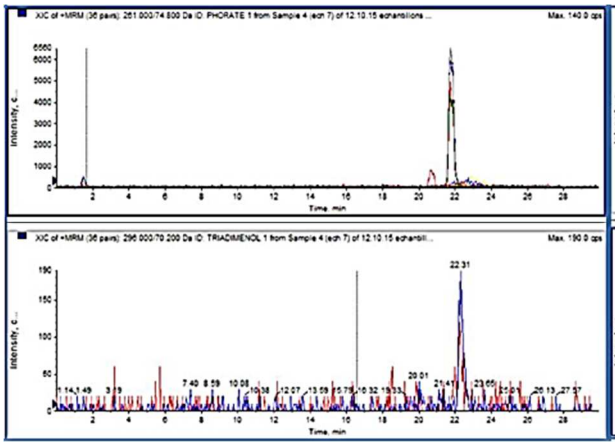
Echantillon 5:



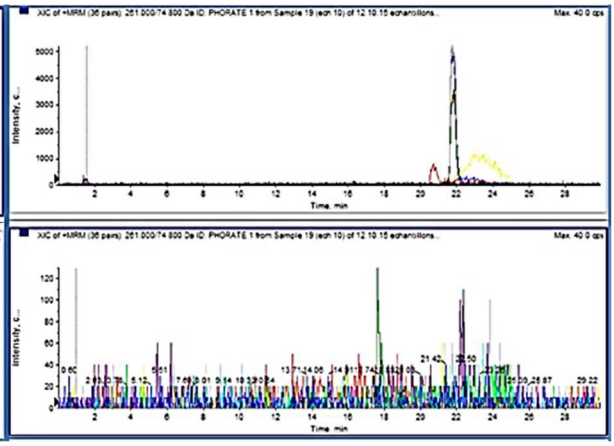
Echantillon 6:



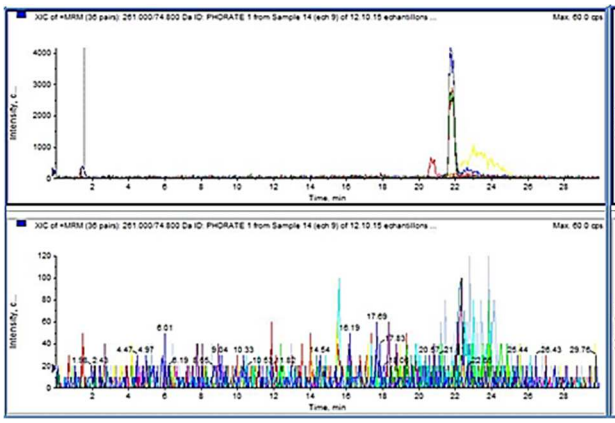
Echantillon 7 :



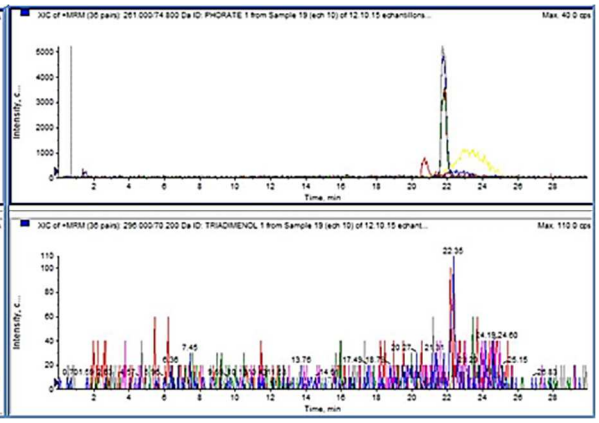
Echantillon 8 :



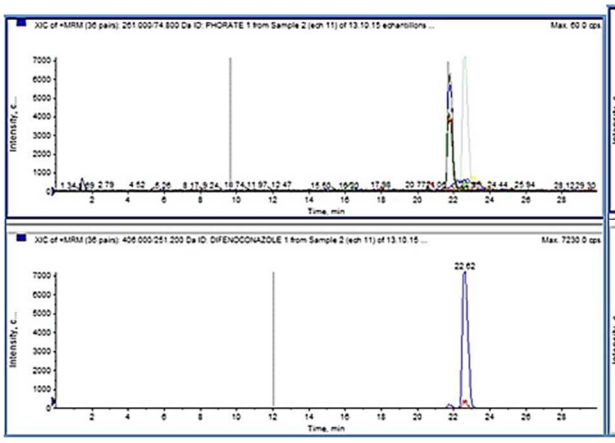
Echantillon 9 :



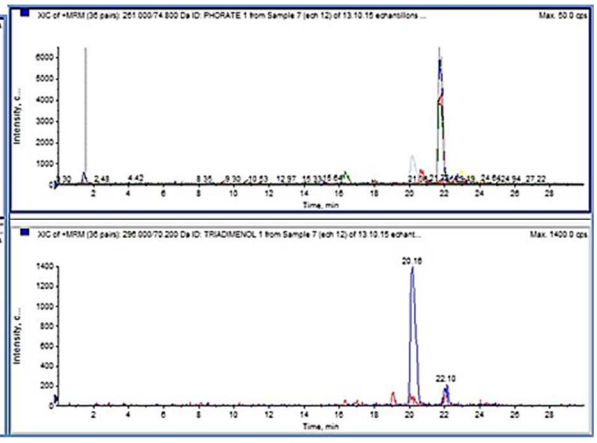
Echantillon 10 :



Echantillon 11 :

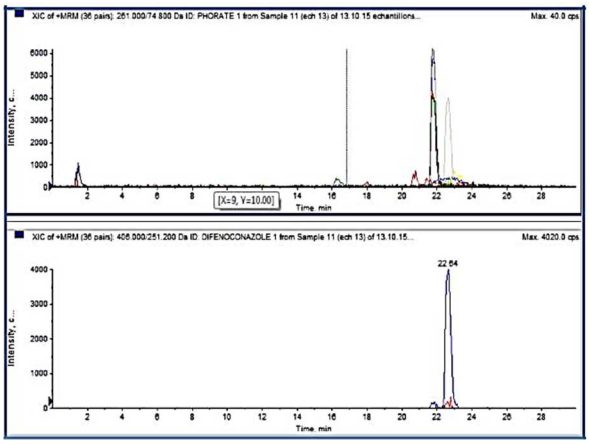


Echantillon 12 :

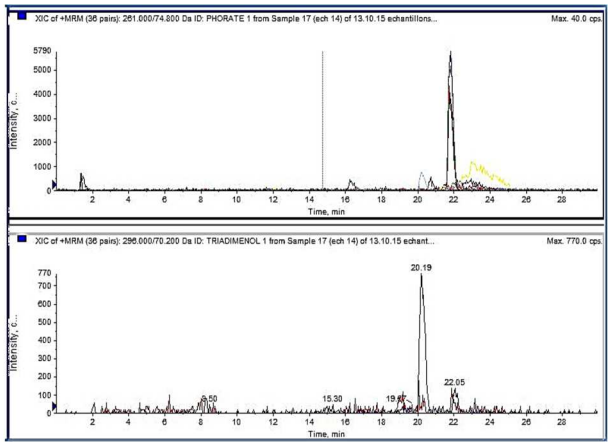


CHAPITRE II : NIVEAU DE CONTAMINATION DES TOMATES PAR LES PESTICIDES

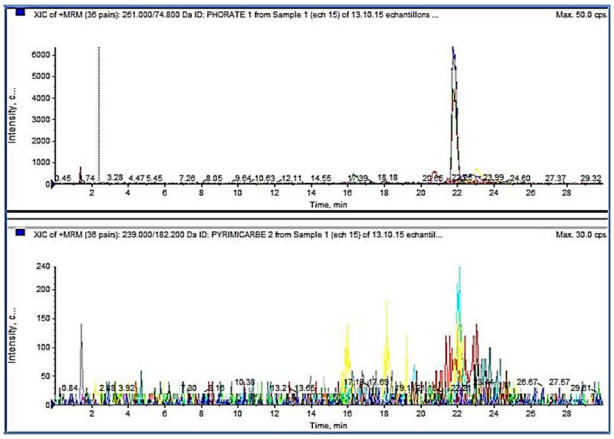
Echantillon 13 :



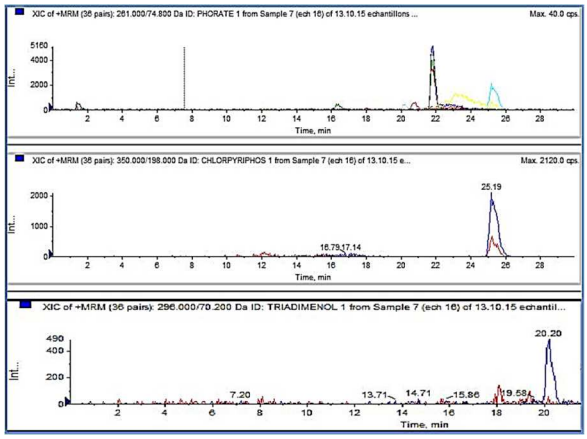
Echantillon 14 :



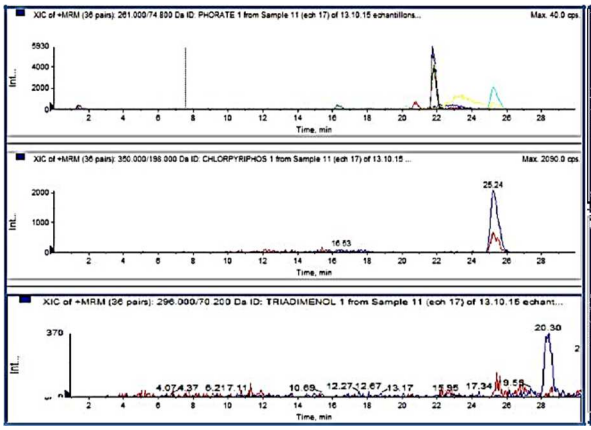
Echantillon 15 :



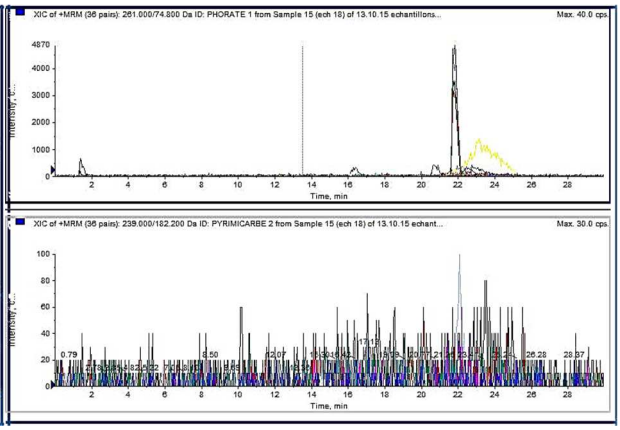
Echantillon 16 :



Echantillon 17 :

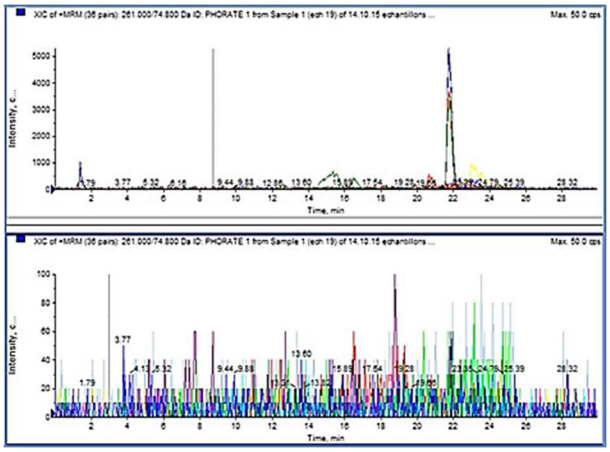


Echantillon 18 :

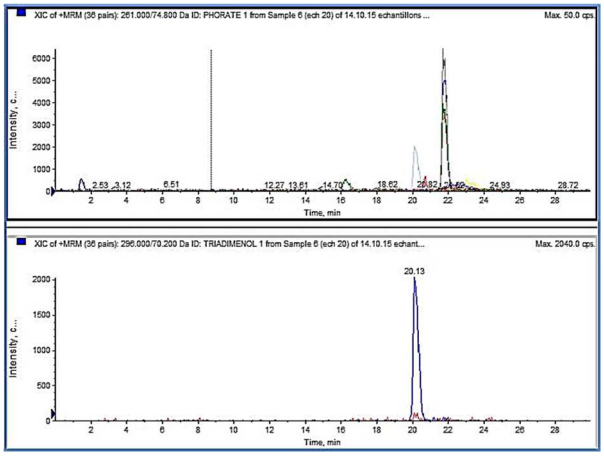


CHAPITRE II : NIVEAU DE CONTAMINATION DES TOMATES PAR LES PESTICIDES

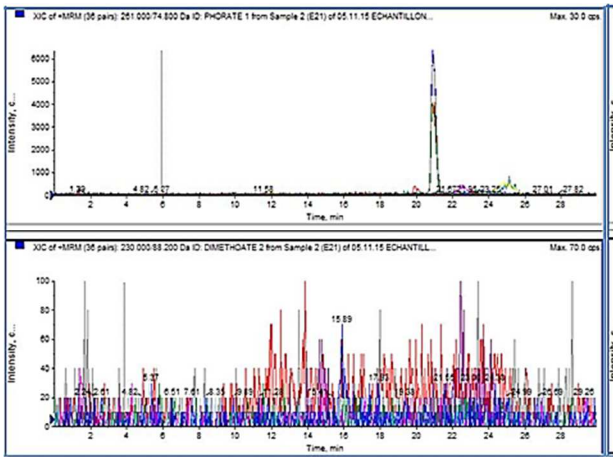
Echantillon 19 :



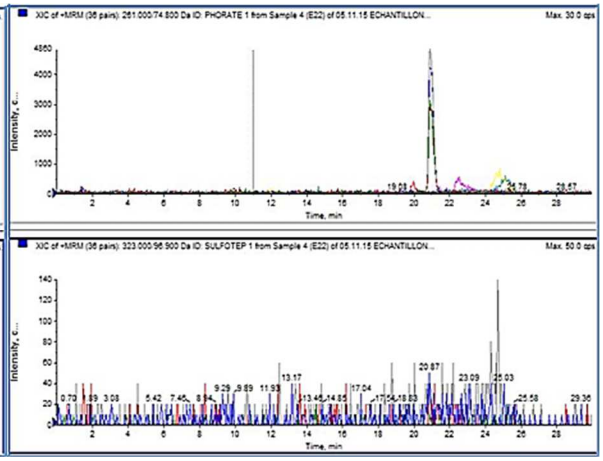
Echantillon 20 :



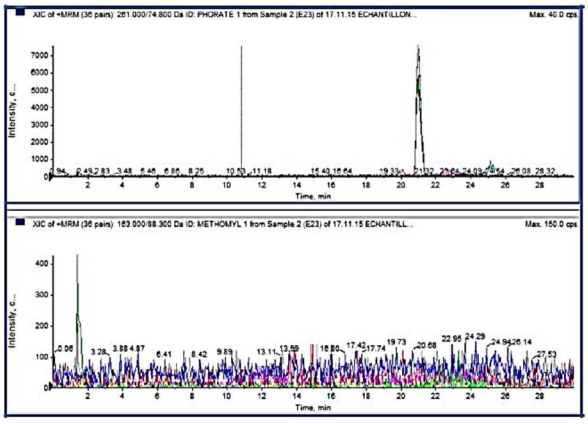
Echantillon 21:



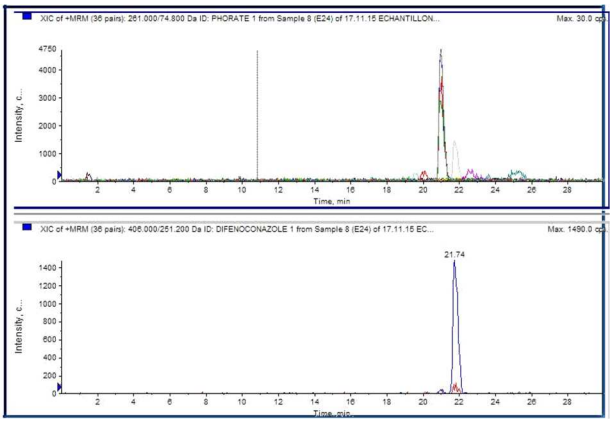
Echantillon 22:



Echantillon 23 :

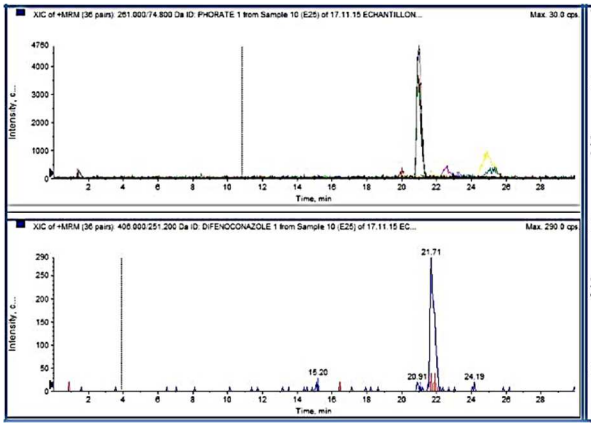


Echantillon 24 :

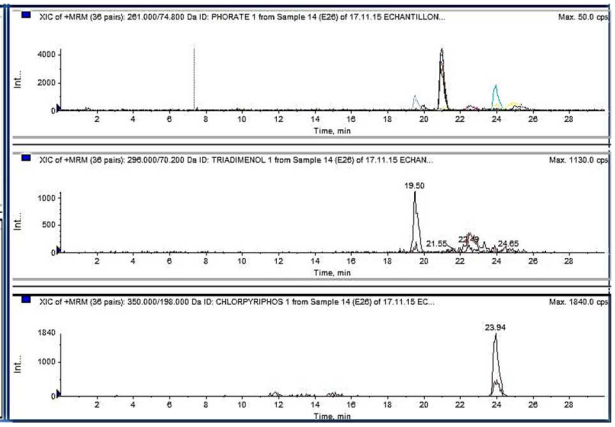


CHAPITRE II : NIVEAU DE CONTAMINATION DES TOMATES PAR LES PESTICIDES

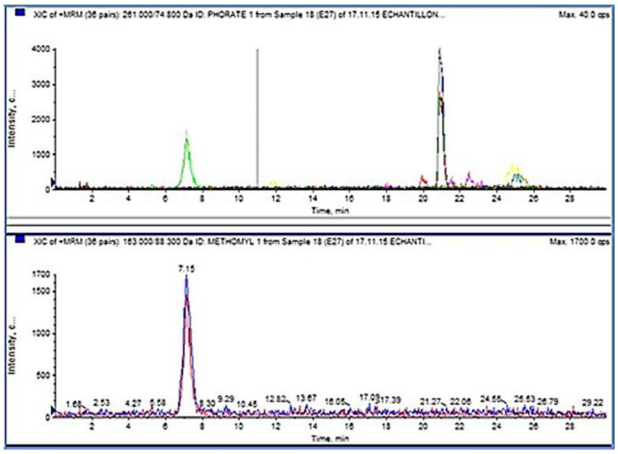
Echantillon 25 :



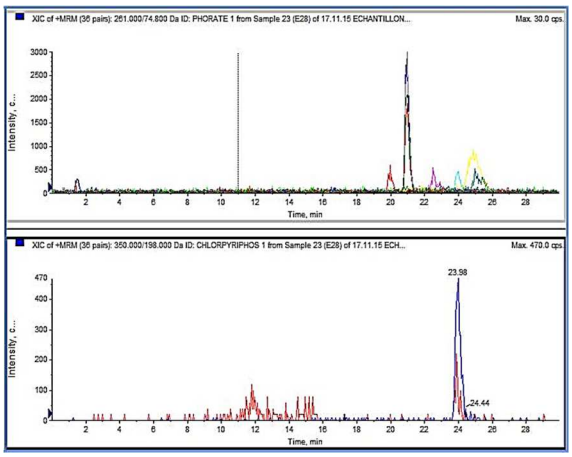
Echantillon 26 :



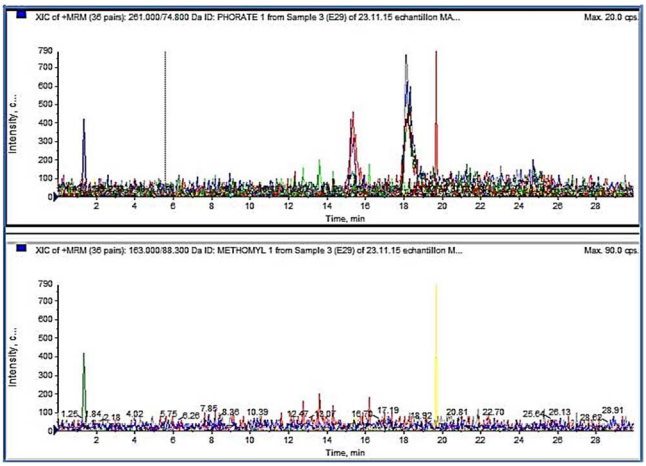
Echantillon 27 :



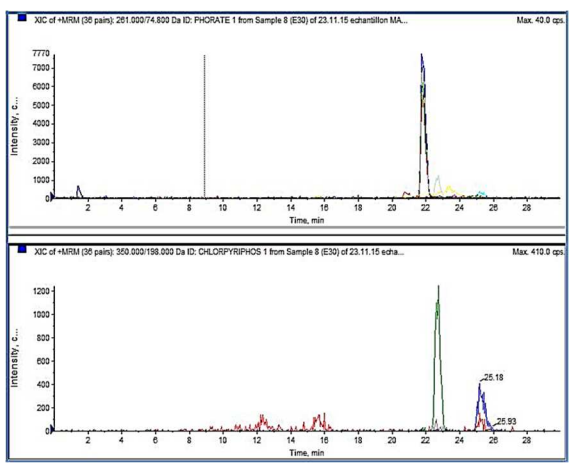
Echantillon 28 :



Echantillon 29 :



Echantillon 30 :



CHAPITRE II : NIVEAU DE CONTAMINATION DES TOMATES PAR LES PESTICIDES

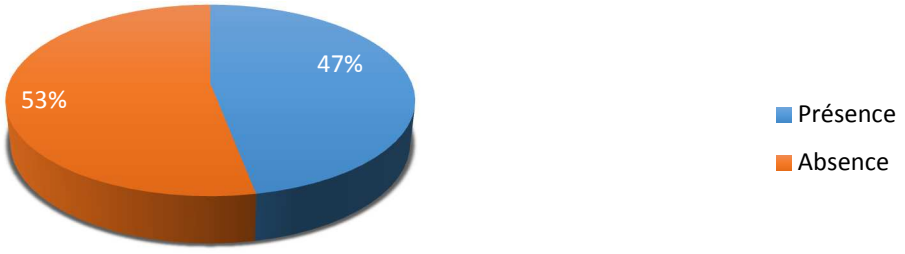
II.5. DISCUSSION DES RESULTATS D'ANALYSE DES ECHANTILLONS DE TOMATES

Les cultures maraichères, particulièrement les légumes fruits comme la tomate, sont des denrées sensibles aux ravageurs nécessitant l'utilisation de nombreux traitements phytosanitaires au cours de leur production et de leur conservation.

Dans notre travail, 30 échantillons de tomates ont été analysés. Malgré le nombre réduit des échantillons, les résultats de notre analyse ont permis d'estimer des teneurs en résidus de pesticides dans certains échantillons qui sont loin d'être négligeable.

Les résidus de différents pesticides ont été détectés dans **47%** de l'ensemble des échantillons analysés (**14** sur **30** échantillons) **(Figure 22)** : Difénoconazole, Triadiménol, Métalaxyl, Chlorpyriphos et Méthomyl **(Tableau 24).** Le Difénoconazole et le Triadiménol occupent la première place pour les fongicides **(20%),** et le Chlorpyriphos est l'insecticide le plus fréquemment détecté au taux de 17%. Les fongicides ont été plus fréquemment détectés **(68%)** que les insecticides **(32%).**

Figure 22 : Répartition des échantillons selon la présence ou l'absence des pesticides (n= 30)



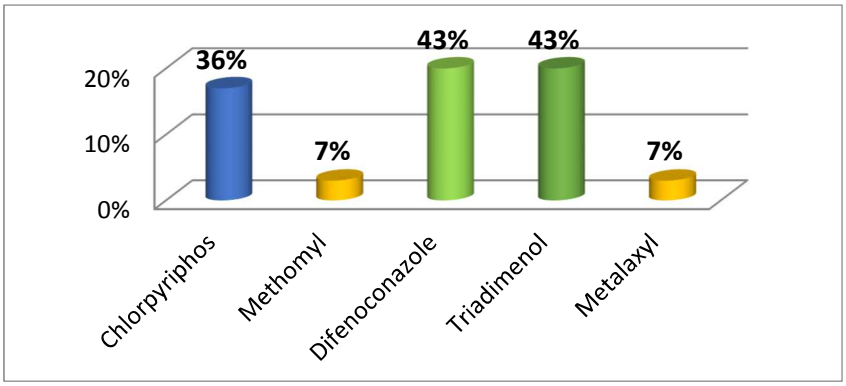


Figure 23 : Répartition des pesticides détectés dans les échantillons posit de tomates selon le pesticide trouvé (n= 14)

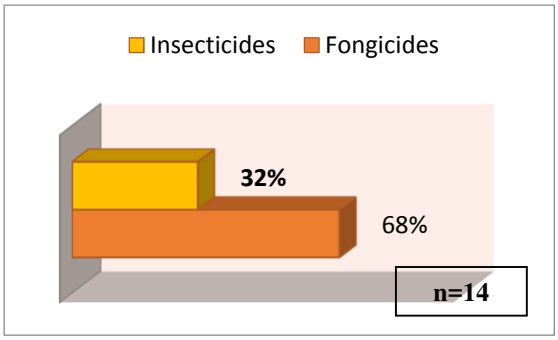


Figure 24 : Répartition des échantillons positifs selon la cible.

En 2013, l'EFSAa publié un rapport annuel avec les résultats d'analyse de 81 000 échantillons alimentaires. Il en ressort que les tomates occupent la première place des légumes qui présentent le plus grand nombre de résidus chimiques, avec 82 types différents de pesticides dont une dizaine pour un même échantillon.

L'EFSAa publié dans son rapport de 2006, les résultats d'analyse de 131 échantillons de tomates par HPLC/MS/MS : 23% contenaient des résidus de pesticides dont 21% sont des fongicides **(Caspell *et al.*, 2006)**. Les résultats de l'agence concordent avec nos résultats et peuvent être expliqués par la fréquence élevée des attaques fongiques et la grande sensibilité des cultures de tomates aux champignons parasites par rapport aux insectes(les champignons parasites sur la tomate sont très redoutés par les agriculteurs).

Les substances les plus fréquemment retrouvées dans nos échantillons **(Figure 23)** sont le Difénoconazole **(20%)** et le Triadiménol **(20%).** Ces deux fongicides font partie de la famille des Triazoles largement utilisés pour le traitement des cultures et notamment la culture des tomates, ce qui rejoint les données de l'enquête descriptive réalisée sur le terrain auprès des agriculteurs **(Figure 16).** Les insecticides bien qu'ils soient largement utilisés pour le traitement des cultures de tomates selon les résultats de l'enquête descriptive **(Annexe 8),** sont détectés que dans 32% des échantillons positifs. En effet, ces insecticides présentent l'avantage d'être peu persistants dans l'environnement à cause de leur instabilité chimique (oxydation et hydrolyse), et leur sensibilité à la photolyse et aux micro-organismes. En général, ils sont détruits par la lumière solaire en un à deux jours. **(Institut de veille sanitaire INVS, 2011).**

La plupart des études de la toxicité des deux molécules retrouvées dans nos échantillons (Difénoconazole et Triadiménol) révèlent leurs effets toxiques sur le foie. Les souris traitées au Difénoconazole manifestaient des troubles hépatiques allant d'une dilatation hépatocellulaire, une nécrose des cellules hépatocellulaires, une stase biliaire, des changements au niveau des matières

grasses dans le foie et des adénomes hépatocellulaires avec évolution vers des carcinomes à une dose supérieure à la dose maximale tolérable. Les triazoles sont classés dans le groupe 2B selon la classification du CIRC. Par ailleurs. Le Difénoconazole comme le Propiconazole, est considéré comme un perturbateur endocrinien, agissant par inhibition de l'aromatase (CYP 19). Il aurait donc des propriétés antioestrogéniques et androgéniques.

Les insecticides détectés sont exclusivement des inhibiteurs des cholinestérases connus par leur neurotoxicité (OP : Chlorpyriphos **(17%)** et Carbamates : Méthomyl) **(3%)(Figure 23).**

L'exposition répétée ou prolongée à ces insecticides peut entraîner une diminution cumulative de l'activité des cholinestérases. Le Chlorpyriphos est un composé que l'on peut considérer comme génotoxique et pro-oxydant, ces effets sont liés à l'activation de certaines voies de signalisation impliquées dans la régulation de la prolifération et de la survie cellulaire. Les propriétés Immunotoxiques pourraient être à l'origine des pathologies hématopoïétiques observées chez les professionnels exposés à ce composé. Des risques augmentés de lymphomes non hodgkiniens (LNH) ont été rapportés lors de l'exposition au Chlorpyriphos et au Méthomyl mais sans atteindre le seuil de significativité statistique ce qui nécessite une confirmation de ces résultats. **(Institut national de la santé et de la recherche médicale lNSERM, 2013).**

Des dépassements de valeur de tolérance (LMR) ont été observés pour deux (02) échantillons, soit **7%** de la totalité. Il s'agit de l'échantillon n°17 contenant du Chlorpyriphos à une concentration de **61.98 ppb** et de l'échantillon n°27 contenant le Méthomyl à une concentration de **45.09 ppb**. Il est à signaler que le Méthomyl (insecticide de la famille des carbamates) n'est plus homologué dans **l'I.P.P.U.A (juillet 2015).**

Le tableau suivant **(tableau 26)** indique les LMR des pesticides retrouvés dans nos échantillons.

Pesticides	Famille	LMR (UE) mg /kg (ppm)	LMR (France) mg/kg (ppm)
Difénoconazole	Fongicide (Triazoles)	2	2
Triadiménol	Fongicide (Triazoles)	1	0,1
Métalaxyl	Fongicide (Phenylamide)	0,2	0,1
Chlorpyriphos	Insecticides (OP)	0,05	0,05
Méthomyl	Insecticides (Carbamate)	0,02	Interdit

Tableau 26 : LMR des pesticides détectés dans nos échantillons de tomates.

Ces dépassements sont probablement dus au non-respect, par les agriculteurs, des doses à l'hectare mentionnées sur les étiquettes des produits phytopharmaceutiques ou à un surdosage lors de la

préparation des bouillies. En effet, et pour le dernier cas de figure, les agriculteurs augmentent les doses à l'hectare pour avoir l'effet souhaité, à cause des phénomènes de résistance.

La comparaison de quelque différentes études réalisées sur des échantillons de tomates dans d'autres pays montre une hétérogénéité des résultats :

- Dans la ville de Sao Paolo au Brésil, 58 échantillons de tomates ont été collectés afin d'y analyser les résidus de 57 pesticides. Les résultats indiquent que 35 échantillons de tomates présentaient un taux de pesticides détectable (60,3%), aucun dépassement de la LMR n'a été décelé selon la réglementation brésilienne, mais 25,9% des échantillons dépassaient la limite maximale en résidus fixées par l'union européenne**. (Andrade *et al.*, 2014).**
- Dans une thèse en Co-tutelle (ENSA Agadir ; Université de Reims Champagne-Ardenne), sur 96 échantillons de tomates analysés, l'endosulfan est décelé à un pourcentage de 32%, le Dicofol à 25 %, le Difénoconazole à 22%, la Deltaméthrine à 8 %, la cyperméthrine à 6% et autres substances aux alentours de 1 % ; avec 20% des échantillons dépassant les LMR fixées par l'U.E. **(ID EL MOUDEN., 2010).**
- Une étude menée sur 1423 échantillons : 573 échantillons de fruits et 850 échantillons de végétaux (dont 177 échantillons de tomates, soit 12,44% de l'ensemble des échantillons et 21% des échantillons de végétaux) récoltés entre 2010 et 2012 en Turquie pour l'analyse de 186 résidus de pesticides. Ces résidus ont été trouvés dans 118 échantillons de tomates (67%) dont 14 (8%) dépassaient les LMR. Parmi les résidus de pesticides trouvés : le Triadiménol, le Chlorpyriphos et la Métalaxyl avec des fréquences de détection de 13, 5 et 5 respectivement **(Bakirci *et al.*, 2014).**
- En Colombie l'analyse (17 pesticides : insecticides et fongicides) de 26 échantillons de tomate de plein champ et 105 échantillons de tomates issues des cultures sous serres, a révélé les résultats suivants :

- 73,1% des échantillons de tomates de plein champ se sont révélés positifs dont 14 échantillons dépassant les LMRs. La Métalaxyl et le Méthomyl ont été détectés dans 2 échantillons sans dépassement des LMRs,
- Pour les tomates des cultures sous serres, 71,4% des échantillons étaient positifs dont 29 échantillons avec des concentrations dépassant les LMRs **(Bojacá *et al.*, 2012).**

L'ensemble de la filière agricole européenne s'est mobilisée avec succès pour réduire les taux de dépassement des LMR. Les contrôles européens s'améliorent en effet régulièrement chaque année :

5% de dépassement des LMR en 2004, 3,5% en 2008, 2,8% en 2010 et 1,7% en 2012**. (ECPA : Association Européenne de la Protection des cultures, 2014).**

Nous avons aussi remarqué que les échantillons n°16, n°17 et n°26 renfermaient tous les trois du Chlorpyriphos et du Triadiménol ; ces derniers seraient issus de la même source.

20% des échantillons analysés contenaient des résidus de deux types de pesticides différents. L'augmentation du nombre de résidus observés est cependant étroitement liée à l'amélioration des techniques d'analyses et notamment à la sensibilité grâce à l'utilisation de la LC-MS-MS. Dans certains cas, nous avons pu retrouver deux fongicides appartenant à la même famille ayant les mêmes propriétés et le même spectre d'action dans le même échantillon, ceci reflète l'utilisation anarchique et incontrôlée de ces produits.

Cette tendance peut être problématique dans la mesure où un produit utilisé de façon abusive ou inapproprié peut engendrer un phénomène de résistance obligeant l'agriculteur à augmenter les doses et à ne pas respecter les délais avant récolte ce qui pourrait aboutir à des dépassements de LMR.

Ce travail doit être complété par la réalisation d'une évaluation de la contamination de différents types de fruits et de légumes, cela implique un nombre plus important d'échantillons, afin de juger la qualité des denrées alimentaires mises à la disposition du consommateur et protéger leur santé.

Chapitre III

Niveau de contamination des eaux de puits par les pesticides

CHAPITRE III : NIVEAU DE CONTAMINATION DES EAUX DE PUITS PAR LES PESTICIDES

III.1 MATERIEL et METHODES

III.1.1 APPAREILLAGE

Chromatographe en phase gazeuse Perkin Elmer Clarus® 680 avec un injecteur automatique couplé à un spectromètre de masse Perkin Elmer Clarus® SQ8T fonctionnant avec un analyseur de masse de type quadripolaire :

- Gaz vecteur : hélium à 99.999% de pureté.
- Colonne capillaire de type Rxi®-5Sil MS (30m x 0,25mm x 0,25µm) de marque RESTEK®. Sa phase de faible polarité comprend 5% de phényle et 95% de diméthylpolysiloxane.
- L'ensemble est piloté par un ordinateur équipé du logiciel Turbo mass v6.1 de PerkinElmer permettant l'acquisition et l'exploitation des données.
- L'identification des spectres est faite par comparaison avec des spectres enregistrés dans des bibliothèques commerciales : NIST MS Search v2.0, Pfleger-Maurer-Weber Mass Spectral Libraries v1.0, Wiley AccessPak v9.

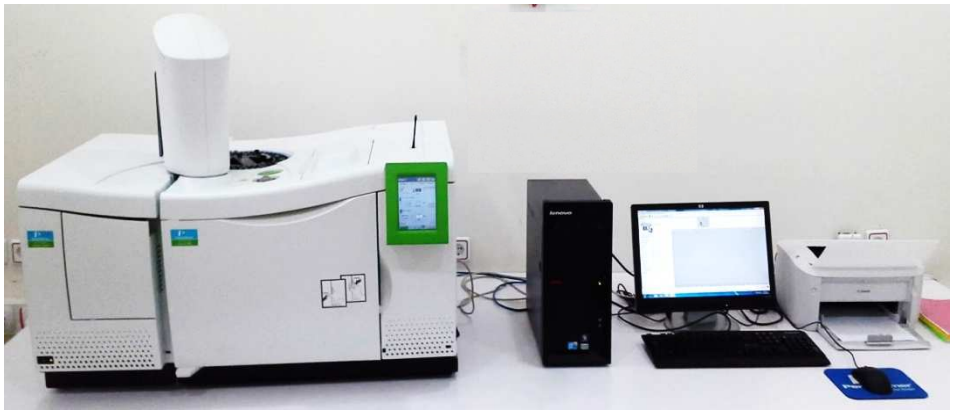


Figure 25. Chromatographe en phase gazeuse Perkin Elmer Clarus® 680 couplé à un spectromètre de masse Perkin Elmer Clarus® SQ8T.

III.1.2 MATERIEL

- Balance analytique de précision : OHAUS®.
- Agitateur magnétique : VELP SCIENTIFICA® AM4.
- Dispositif de filtration sous vide NAHITA® avec filtres en nylon WHATMAN® à 0,45 µm de porosité (seuil de filtration).
- Manifold Vac-Elut SPE vacuum de type VARIAN®relié à une pompe à vide.

- Cartouches d'extraction en phase solide de type Chromabond® ODS C18 (1g / 6 mL) de marque Macherey-Nagel.
- Evaporateur sous flux d'azote LIEBISCH®.
- Pipettes automatiques de différents volumes.
- Verrerie diverse : fioles jaugées, béchers, éprouvettes, flacons, tubes à essais …
- Tubes en polypropylène gradués.
- Vial en verre de 2mL pour GC.
- Parafilm.

III.1.3 PRODUITS CHIMIQUES

- Acétate d'éthyle à 99,5% de MERCK®.
- Hexane à 99% de MERCK® et BIOCHEM®.
- Acétone à 99,5% de PANREAC®.
- Méthanol à 99,9% de PANREAC®.
- Eau ultra-pure produite par une station PURELAB® Ultra Q.
- Solution étalon : mixture de pesticides à 1000 µg/mL dans de l'acétone, réf. 32438 de RESTEK®. Une solution fille à 1µg/mL a été préparée par dilution de la solution étalon pur dans de l'acétone, en passant par une solution intermédiaire à 10µg/mL, la solution fille sert à la préparation de la gamme étalon ainsi que de la gamme matrice selon les dilutions indiquées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 27. Protocole de préparation de la gamme étalon.

Concentration (ppb)	25	50	100	200	300	500
Volume de la solution de travail à1 ppm (µL)	25	50	100	200	300	500
Volume d'acétone ou de la matrice extraite (µL)	975	950	900	800	700	500

III.1.4 ECHANTILLONNAGE

Les prélèvements d'eau ont été réalisés à partir de différents puits **(Figure 26).** Les échantillons d'eaux ont été recueillis dans des bouteilles neuves d'un litre en verre ambré qui ont été préalablement rincées à l'eau désionisée. Les puits échantillonnés étaient équipés de pompes, les prélèvements étaient réalisés le matin. Avant d'être remplis jusqu'au bord, les flacons ont encore étaient rincés avec l'eau à analyser. Les échantillons ont été

ensuite numérotés et conservés à +4°C dans une glacière tout au long du transport. Les échantillons d'eau sont prélevés sans aucun agent de conservation comme le recommande le **centre d'expertise en analyse environnementale du Québec (2014).**



Figure 26 : **Modalités de prélèvements d'eaux de puits.**

III.1.5 PROCEDURE GENERALE D'EXTRACTION

Il s'agit d'une méthode d'extraction en phase solide (SPE) selon un protocole optimisé et validé dans le service afin d'obtenir les meilleurs rendements d'extraction possibles des pesticides contenus dans le mélange **(tableau 28 et figure 27).**

Conditionnement	La cartouche SPE de type C18 ODS (1g/6mL) est d'abord conditionnée par 10 mL d'acétate d'éthyle puis par10 mL de méthanol
Equilibrage	La cartouche est équilibrée par deux fois 10 mL d'eau ultra-pure
Filtration	1 litre d'échantillon (eau souterraine) est filtré dans le dispositif avec un filtre à 0,45 µm
Percolation	L'échantillon est percolé à travers la cartouche avec un débit de 10 mL/mn sous une pompe à vide
Séchage	La cartouche est séchée sous vide pendant 10 mn puis sous flux d'azote pendant 10 mn
Elution	Les pesticides piégés dans la cartouche sont élués par 6 mL d'acétate d'éthyle et 6 mL de méthanol L'éluât est recueilli dans un tube à essai en verre et évaporé à sec sous flux d'azote à une température de 50°C
Récupération	Le résidu sec est récupéré avec 1mL d'acétone.

Tableau 28. Protocole d'extraction des pesticides.



Conditionnement des cartouches SPE



Equilibrage des cartouches SPE





Filtration des échantillons d'eaux souterraines avant leur extraction



Percolation des échantillons d'eaux filtrés



Evaporation des échantillons sous flux d'azote

Figure 27. Protocole d'extraction des pesticides.

Un rendement d'extraction est calculé pour cette méthode. Il correspond au rapport des signaux mesurés, d'une part, après le traitement de la matrice chargée avec une quantité connue avant extraction, et d'autre part, après l'injection directe dans le système analytique d'un blanc surchargé après extraction d'une quantité équivalente de substance à analyser.

Le protocole a été appliqué sur trois jours successifs et trois niveaux différents de concentrations : 50 ppb, 200 ppb et 500 ppb en utilisant une matrice -sans historique d'utilisation de pesticides- dopée à l'aide d'une solution de mixture à 1 ppm selon les dilutions indiquées dans le **tableau 29**.

Tableau 29. Protocole de chargement de la matrice.

Avant extraction		
Concentration de la matrice (ppb)	Volume de la solution de travail à 1 ppm (µL)	Volume final de la matrice (mL)
50	50	1000
200	200	1000
500	500	1000
Après extraction		
Concentration de la matrice extraite (ppb)	Volume de la solution de travail à 1 ppm (µL)	Volume de matrice extraite (µL)
50	50	950
200	200	800
500	500	500

Le calcul se fait selon la formule suivante en tenant compte des facteurs d'enrichissement appliqués inhérents au processus de pré-concentration :

$$\textbf{Rendement d'extraction} = \frac{\textbf{Réponce (AUC) matrice chargée puis extraite}}{\textbf{Réponse (AUC) matrice extraite puis chargée}} \textbf{ x 100 } \%$$

III.2 METHODE D'ANALYSE EN CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE COUPLEE A LA SPECTROMETRIE DE MASSE

La méthode de dosage utilisée a été validée dans le service de Pharmacologie Toxicologie du Centre Hospitalier Universitaire d'Oran.

III.2.1 Conditions analytiques de la CPG

Après plusieurs optimisations de différents paramètres (volume d'injection, mode d'injection, débit de gaz à l'injection), les conditions analytiques retenues sont les suivantes :

— **Injection :** 3 µL sont injectés à 280°C en mode splitless selon le programme suivant :

Evènement programmé	Valeur	Moment de l'évènement
Split	0mL/mn (splitless)	-0,50 sec
Débit de gaz	4 mL/mn	-0,45 sec
Débit de gaz	1 mL/mn	1,45 sec
Split	20 mL/mn	1,50 sec

— **Gaz vecteur :** hélium à 1mL/mn.

— **Programme four :**

Palier (°C /mn)	Température (°C)	Temps de maintien (mn)
0	50	2
8	280	0

— **Temps total d'analyse :** 30,75 mn.

III.2.2 Conditions de spectrométrie de masse

Les conditions spectrométriques finales retenues sont les suivantes :

— Température de la ligne de transfert : 280°C.

— Température de la source d'ionisation : 220°C.

— Mode d'ionisation : Electron-impact positive (EI+).

— Mode d'acquisition : un screening de la mixture a été réalisé dans un premier temps selon un full scan mode. Ce mode permet le balayage des rapports masse/charge (m/z) allant de 40 à 400 daltons dans l'intervalle de temps de séparation chromatographique requis. Il permet d'identifier caque pesticide puis de déterminer leur temps de rétention. Par la suite, ces pesticides seront analysés spécifiquement selon leurs masses correspondantes dans l'intervalle de leur temps de rétention respectif.

- Mode full scan : scan time à 0,4 sec, inter-scan delay à 0,03 sec.
- Mode SIR (Selected Ion Recording) : ce mode, souvent dédié à la quantification, permet de suivre spécifiquement deux à trois ions caractéristiques de chaque pesticide. Ainsi, la sensibilité est améliorée puisque le spectromètre de masse peut passer plus de temps sur quelques ions, en comparant ce mode de balayage au mode full scan (voir exemple du Lindane dans la **Figure 28).**

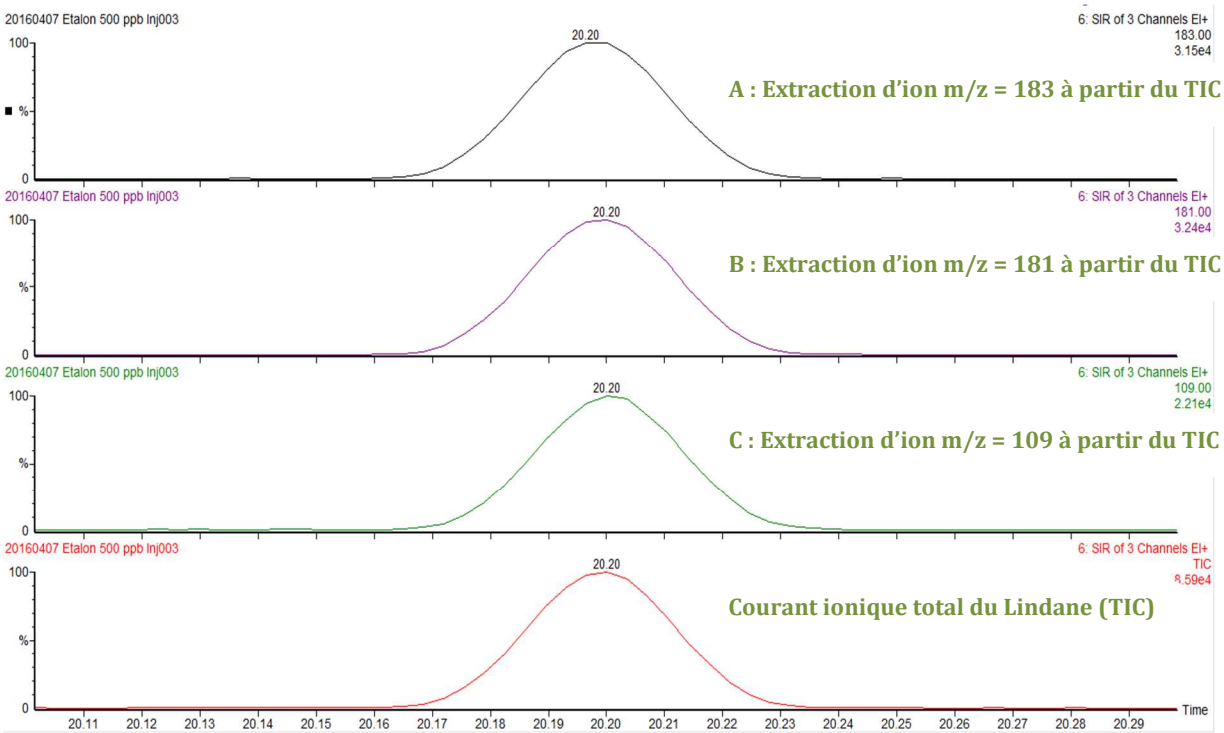


Figure 28. Chromatogrammes du lindane obtenus après injection d'une solution à 500 µg/L.

TIC : Courant ionique total (Total Ion Current).

Les temps de rétention des différentes molécules ainsi que les ions spécifiques utilisés pour leur identification et leur quantification (mode SIR) sont donnés dans le **tableau 30.**

Produit	Ion de quantification	Ions d'identification			Temps de rétention (Tr)	Intervalle de balayage des ions de quantification et d'identification
Simazine	201	201	44	186	19,87	[19,75-19,95]
Atrazine	200	200	215	173	19,99	[19,9-20,1]
Lindane	181	181	183	109	20,21	[20,10-20,30]
Alachlor	160	45	160	188	21,89	[21,75-22,05]
Métolachlor	162	162	238	45	22.80	[22,60-23,00]
Heptachlor époxyde	81	81	353	355	23,87	[23,70-24,00]
Endrine	81	81	79	263	25,87	[25,70-26,00]
Endrine aldéhyde	67	67	345	250	26,45	[26,30-26,60]
Endrine kétone	67	67	317	315	28,06	[27,90-28,20]

Tableau 30. Paramètres du mode SIR.

III.3 RESULTATS

III.3.1 PERFORMANCE DE LA TECHNIQUE D'EXTRACTION (RENDEMENT D'EXTRACTION)

Les résultats des rendements moyens d'extraction pour chaque pesticide sont rapportés dans le **tableau 31**. Ils varient entre 66,50% et 106 %, ce qui est conforme pour 8 molécules sur 9 et très proche pour la 9^{e} aux normes définies par la commission européenne (entre 70% et 120%) **(SANCO, 2013).**

Pesticides	Rendement (%)
Simazine	99,51
Atrazine	98,75
Lindane	66,50
Alachlor	79,58
Métolachlor	95,90
Heptachlore Epoxyde	83,80
Endrine	87,00
Endrine Aldéhyde	90,18
Endrine Kétone	106,00

Tableau 31. Rendements d'extraction.

III.3.2 PERFORMANCES DE LA METHODE D'ANALYSE PAR CG/MS

Dans les conditions optimisées, les chromatogrammes obtenus sont représentés dans la **figure 29.**

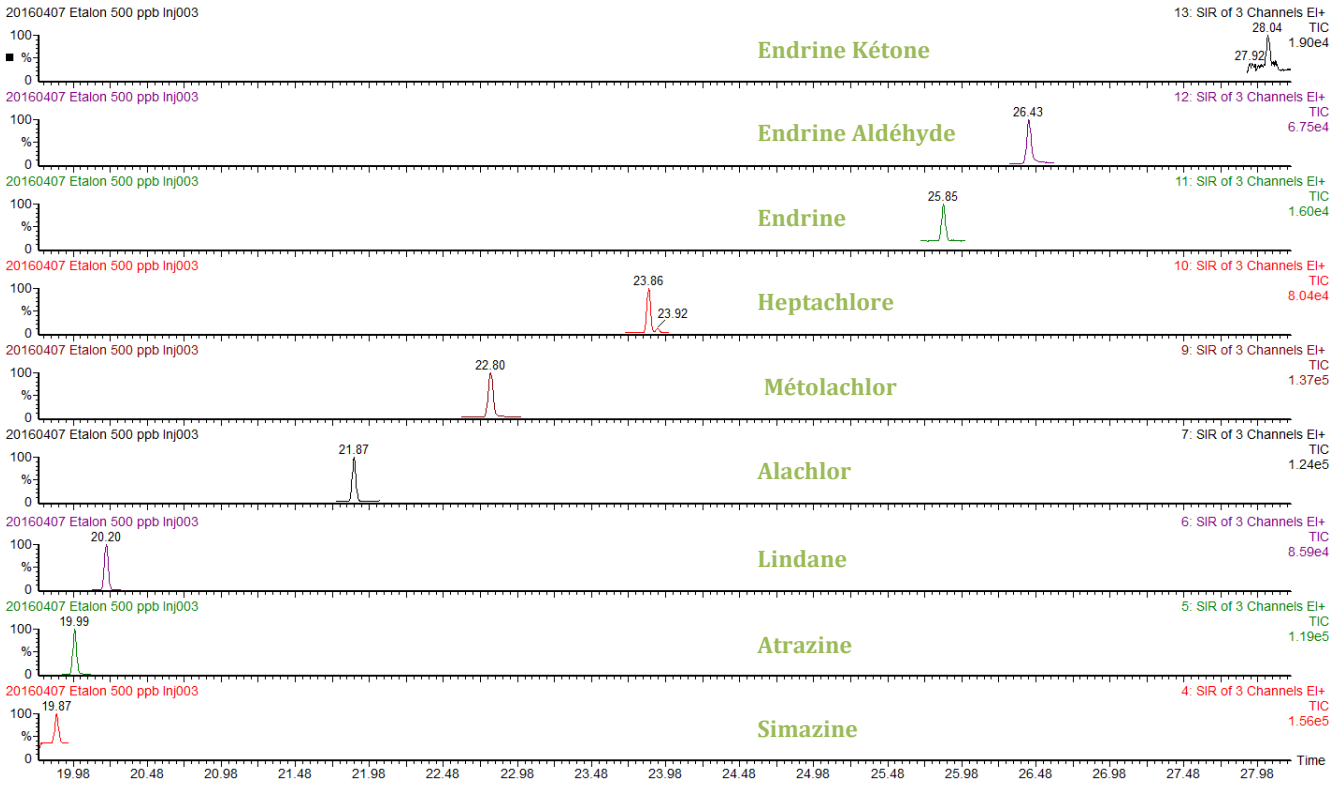


Figure 29. Chromatogrammes des différents pesticides du mélange obtenus après injection d'une solution à 500 µg/L.

III.3.2.1 RESULTATS DE LA VALIDATION ANALYTIQUE DE LA METHODE DE DOSAGE PAR CG /MS

III.3.2.1.1 ETUDE DE LA LINEARITE il s'agit de la capacité d'une méthode d'analyse à fournir (à l'intérieur d'un certain intervalle de concentrations) des signaux directement proportionnels à la concentration (quantité) en substance à analyser dans l'échantillon.

Une bonne linéarité de la méthode a été obtenue pour toutes les matières actives dans l'intervalle de mesure défini [25ppb – 500ppb]. Les coefficients de détermination moyens obtenus sur trois jours sont compris entre 0,983 et 1 **(Tableau 32).**

Pesticide	Gamme étalon		Gamme matrice (figures de 36 à 44)	
	r^2	Equation	r^2	Equation
Simazine	0,999	y = 6,7888 x - 288,45	0,999	y = 14,475 x - 78,586
Atrazine	0,999	y = 11,813x - 469,6	1	y = 24,692x - 188,73
Lindane	0,993	y = 6,039 x - 201,2	0,998	y = 7,509 x + 13,06
Alachlor	0,992	y = 8,993 x - 458,9	0,999	y = 12,35 x + 13,38
Métolachlor	0,993	y = 32,19 x – 13,15	0,999	y = 56,36 x – 227,8
Heptachlor Epoxyde	0,994	y = 7,020 x - 73,80	0,998	y = 14,21 x – 123,3
Endrine	0,995	y = 1,524 x - 55,73	0,983	y = 5,027 x + 796,5
Endrine Aldéhyde	0,999	y = 8,940 x - 167,4	0,999	y = 11,27 x + 606,2
Endrine Kétone	0,997	y = 1,739 x - 29,19	0,993	y = 3,382 x + 202,6

Tableau 32. Equations et coefficients de corrélation (r^2) des courbes moyennes.

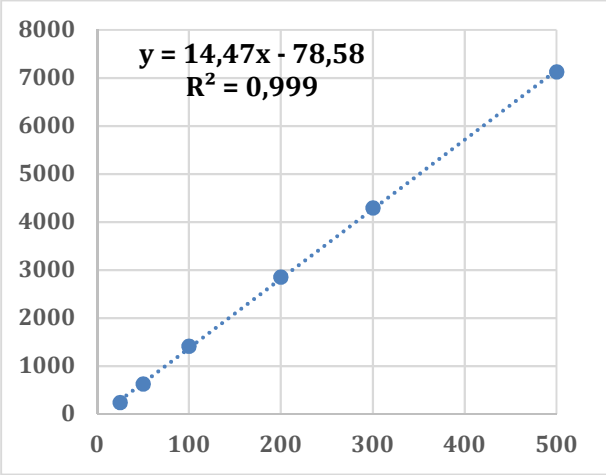


Figure 30. Courbe d'étalonnage de la Simazine.

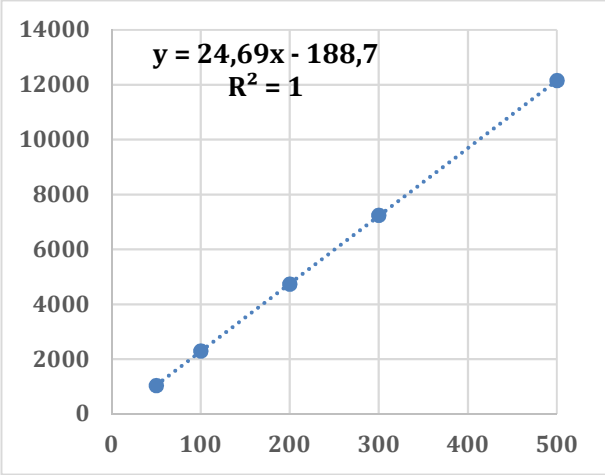


Figure 31. Courbe d'étalonnage de l'Atrazine.

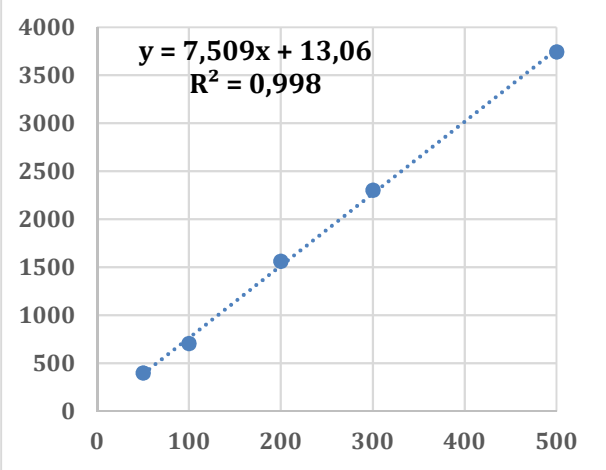


Figure 32. Courbe d'étalonnage du Lindane.

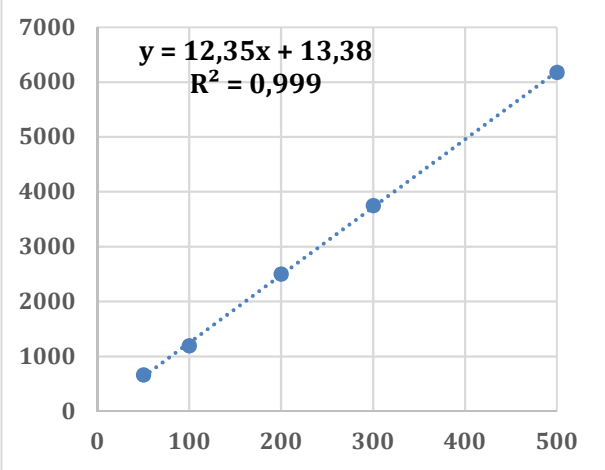


Figure 33. Courbe d'étalonnage de l'Alachlor.

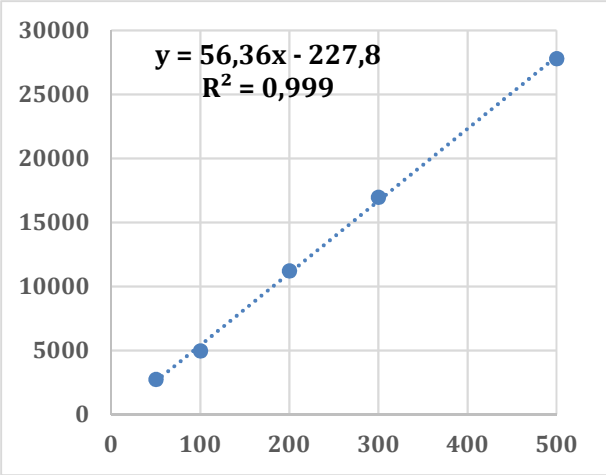


Figure 34. Courbe d'étalonnage du Métolachlor.

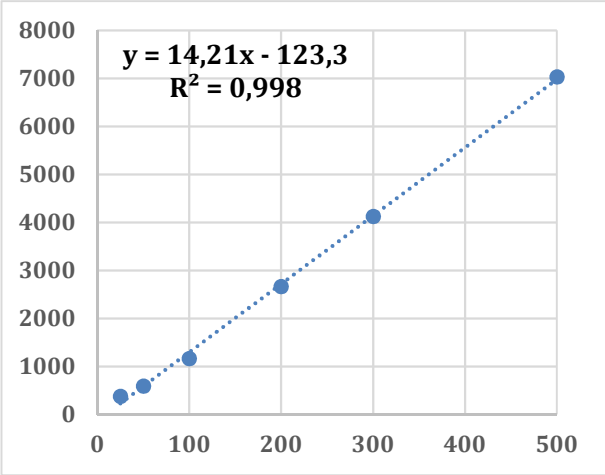


Figure 35. Courbe d'étalonnage de l'Heptachlore epoxyde.

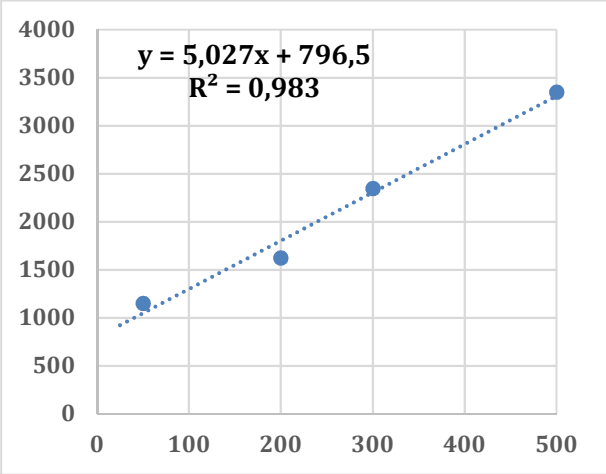


Figure 36. Courbe d'étalonnage de l'Endrine.

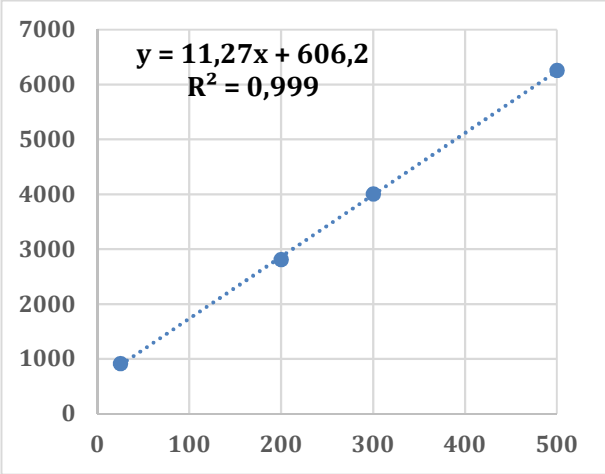


Figure 37. Courbe d'étalonnage de l'Endrine Aldéhyde.

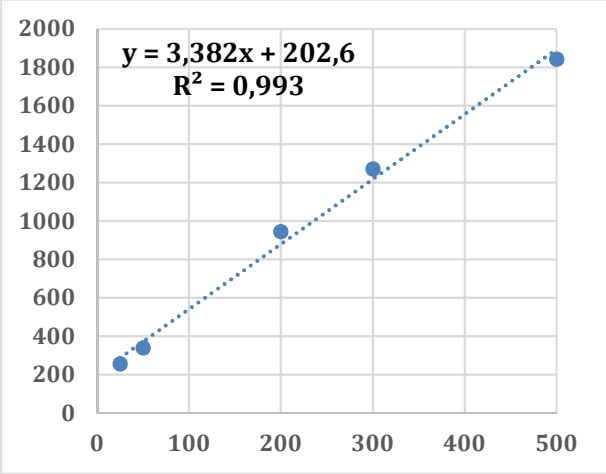


Figure 38. Courbe d'étalonnage de l'Endrine Kétone.

III.3.2.1.1.a Justesse (exactitude) :

La justesse exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur de référence et la valeur expérimentale obtenue en appliquant la procédure d'analyse un certain nombre de fois. Elle fournit une indication sur les erreurs systématiques. Elle est traduite par des taux de recouvrement (rapports des concentrations calculées sur la concentration introduite) qui sont déterminés à trois concentrations différentes (50, 200 et 500 ppb) sur trois jours consécutifs **(Tableau 33).**

Pesticides	Gamme étalon			Gamme matrice		
	50ppb	**200ppb**	**500ppb**	**50ppb**	**200ppb**	**500ppb**
Simazine	112,82 %	97,58 %	100,06 %	97,00 %	101,15 %	99,53 %
Atrazine	113,51 %	99,67 %	100,03 %	99,41 %	99,63 %	99,93 %
Lindane	119,95 %	90,93 %	102,59 %	101,99 %	103 %	99,24 %
Alachlor	138,41 %	94,59 %	102,66 %	104,91 %	100,59 %	99,76 %
Métolachlor	128,92 %	93,57 %	102,67 %	105,25 %	101,50 %	99,41 %
Heptachlor Epoxyde	109,85 %	102,80 %	103,18 %	101,10 %	98,07 %	100,69%
Endrine	118,63 %	100,96 %	102,24 %	140,61 %	81,99 %	101,47 %
Endrine Aldéhyde	117,54 %	99,13 %	100,66 %	128 %	97,76 %	100,19 %
Endrine Kétone	99,89 %	102,60 %	100,82 %	80,64 %	109,58 %	96,90 %

Tableau 33 : Taux de recouvrement.

III.3.2.1.1.b Répétabilité (fidélité)

La répétabilité mesure la variabilité minimale des résultats. Son évaluation se fait par la détermination des coefficients de variation (CV%) de 7 lectures consécutives pour trois niveaux de concentration (50, 200 et 500 ppb) sur trois jours consécutifs.

Pesticides	Gamme étalon			Gamme matrice		
	50ppb	**200ppb**	**500ppb**	**50ppb**	**200ppb**	**500ppb**
Simazine	3,84 %	3,71 %	2,42 %	2,14 %	1,14 %	5,58 %
Atrazine	3,52 %	3,14 %	0,86 %	1,74 %	0,95 %	4,32 %
Lindane	12,26 %	4,54 %	1,43 %	2,16 %	1,33 %	0,84 %
Alachlor	10,56 %	6,05 %	3,42 %	1,90 %	1,18 %	1,41 %
Métolachlore	4,96 %	4,43 %	3,15 %	1,75 %	0,85 %	1,45 %
Heptachlor époxyde	21,86 %	8,54 %	3,31 %	0,70 %	0,78 %	0,92 %
Endrine	12,62 %	9,78 %	4,56 %	13,75 %	5,87 %	2,54 %
Endrine Aldéhyde	6,13 %	6,82 %	4,05 %	8,19 %	5,7 %	1,17 %
Endrine Kétone	19,79 %	14,25 %	5,37 %	7,14 %	2,46 %	2,90 %

Tableau 34. Coefficients de variation inter-jours.

Les taux de recouvrement obtenus se situent globalement dans l'intervalle 70-120% avec des coefficients de variation inférieurs à 20% ce qui correspond aux normes fixées par la **Commission Européenne (EC) 2007.**

III.3.2.1.2. LIMITES DE DETECTION ET DE QUANTIFICATION

La méthode utilisée présente les limites de détection et de quantification indiquées dans le **Tableau 35.**

Pesticides	LDD (10^{-3} ppb)	LDQ (10^{-3}ppb)
Simazine	0,77	2,58
Atrazine	0,69	2,30
Lindane	1,44	4,79
Alachlor	0,99	3,33
Métolachlor	0,27	0,89
Heptachlor Epoxyde	0,70	2,33
Endrine	2,32	7,74
Endrine Aldéhyde	10,59	35,31
Endrine Kétone	15,06	50,19

Tableau 35. Limites de détection et de quantification.

III.4. APPLICATION DE LA METHODE : ANALYSE DES ECHANTILLONS D'EAU DE PUITS

La méthode décrite ci-dessus a permis l'analyse de 15 échantillons d'eau souterraine au total. Les résultats de ces analyses sont présentés dans le **Tableau 36**. Un exemple de chromatographe est donné pour l'échantillon N° 7 dans la **Figure 39.**

Tableau 36. Résultats d'analyse des échantillons.

Ech.	Simazine	Atrazine	Lindane	Alachlor	Métolachlore	Heptachlor Epoxyde	Endrine	Endrine Aldéhyde	Endrine Kétone	Total Pesticides
1	< LDD	< LDD	7,32	3,69	8,27	17,58	227,74	318,76	< LDD	583,36
2	< LDD	< LDD	< LDQ	4,46	8,12	210,02	238,78	277,96	< LDQ	739,34
3	< LDD	< LDD	5,85	< LDQ	6,01	15,19	< LDD	112,70	< LDD	139,75
4	< LDD	< LDD	< LDD	< LDD	7,66	306,96	47,83	199,52	< LDQ	561,97
5	< LDD	< LDD	< LDD	< LDD	6,67	13,25	498,56	95,01	< LDD	613,49
6	< LDD	< LDD	< LDD	< LDD	4,23	18,39	< LDQ	< LDD	< LDD	22,62
7	< LDD	< LDD	< LDD	< LDD	6,72	171,12	269,15	97,77	340,65	885,41
8	< LDD	< LDD	< LDD	< LDD	4,78	101,74	210,14	< LDD	264,68	581,34
9	< LDD	< LDD	< LDD	< LDD	4,49	76,07	55,05	< LDD	157,48	293,09
10	< LDD	< LDD	< LDD	< LDD	4,21	12,74	97,22	224,65	57,56	396,38
11	< LDD	< LDD	< LDD	< LDD	5,02	88,04	34,43	< LDD	535,65	663,14
12	< LDD	< LDD	5,85	9,52	6,80	126,86	111,41	< LDQ	173,54	433,98
13	< LDD	< LDD	< LDQ	< LDD	5,54	14,08	< LDD	< LDD	< LDQ	19,62
14	< LDD	< LDD	10,96	< LDD	7,45	79,03	< LDD	< LDD	< LDD	97,44
15	< LDD	< LDD	< LDQ	< LDQ	6,99	167,11	135,35	< LDD	113,93	423,38
LDD	0,77	0,69	1,44	0,99	0,27	0,7	2,32	10,59	15,06	—
LDQ	2,58	2,30	4,79	3,30	0,89	2,33	7,74	35,31	50,19	—
Limite de qualité	100	100	100	100	100	30	100	100	100	500

< LDD : *taux inférieur à la limite de détection,* ***< LDQ :*** *taux inférieur à la limite de quantification, Chiffres surlignés en jaune : contamination ne dépassant pas la LMR, Chiffres surlignés en rouge : taux dépassant la LMR.*

Remarques : Toutes les valeurs sont exprimées en 10^{-3} µg/L. Seules les eaux analysées des puits n°6 et n°13 présentent des teneurs inférieures aux limites de qualité.

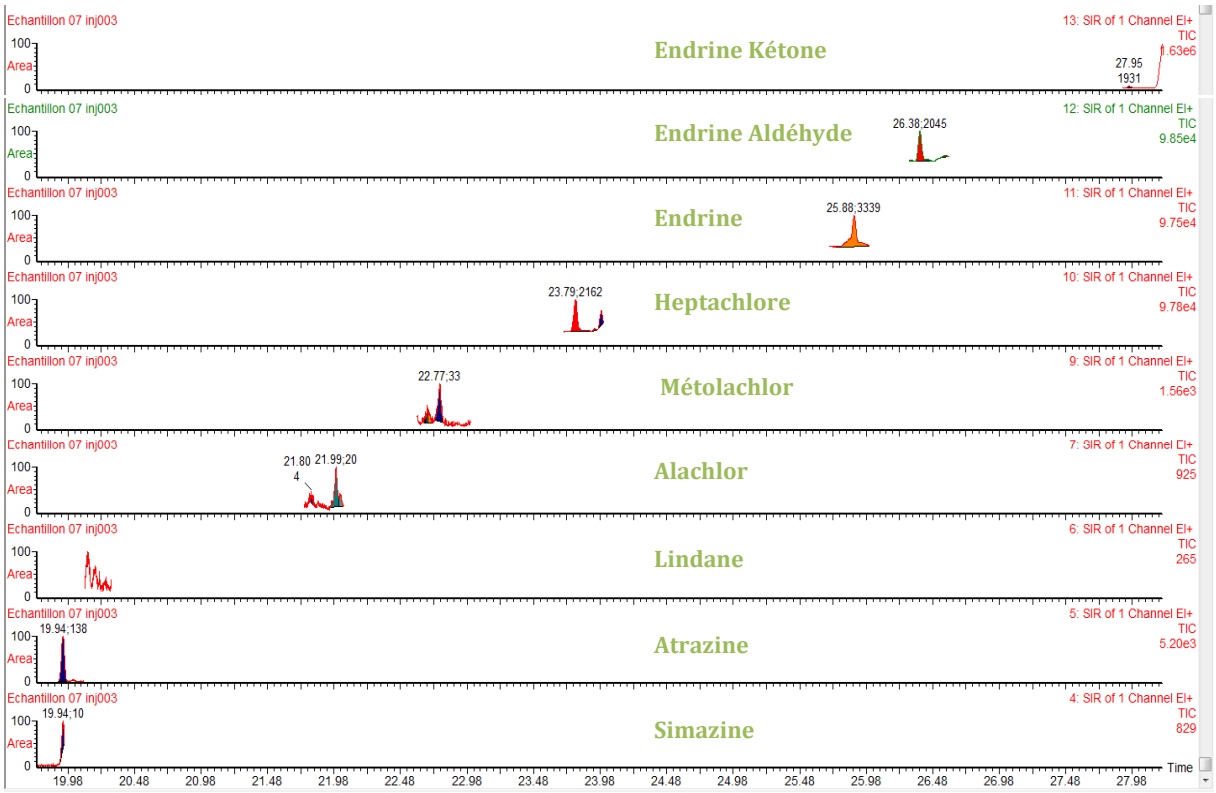


Figure 39 : CHROMATOGRAPHE DE L'ECHANTILLON N°7.

III.5. DISCUSSION

Il est difficile d'appréhender les quantités et l'évolution des pesticides dans les eaux souterraines, d'une part parce qu'il existe un grand nombre de molécules aux propriétés chimiques très différentes et souvent mal connues et d'autre part parce que les concentrations observées sont souvent proches des valeurs limites de détection, ce qui rend hasardeux l'identification de tendances évolutives nettes. De plus, l'abaissement progressif des seuils de détection analytiques et l'augmentation du nombre de molécules recherchées conduisent à un accroissement des fréquences de détection qui complique la perception d'une évolution de la contamination.

Dans le cadre de cette étude, des pesticides de classes chimiques différentes (Triazines, Organochlorés et Chloroacétamides) ont été analysés par GCMS selon une méthode validée dans le service de Pharmacologie Toxicologie du CHU d'Oran. Les résultats obtenus en termes de justesse, de répétabilité, de linéarité et de limites de détection et de

quantification répondent aux normes définies. Par ailleurs, ils sont en général similaires à ceux rapportés dans la littérature.

Cette méthode nous a permis d'estimer les teneurs en résidus de pesticides dans quelques échantillons d'eau, qui sont loin d'être négligeables. Dans la région étudiée, les niveaux de contamination des échantillons d'eau de puits sont élevés par rapport aux normes de potabilité en résidus de pesticides édictées par l'OMS et l'Union Européenne (EU) qui sont de 0,1 µg/L par substance et de 0,5 µg/L pour l'ensemble des pesticides **(Tableau 37).**

	Nombre d'échantillon contaminés	Nombre d'échantillon dépassant la limite de qualité
Simazine	Néant	Néant
Atrazine	Néant	Néant
Lindane	04	Néant
Alachlor	03	Néant
Métolachlor	15	Néant
Heptachlor Epoxyde	15	09
Endrine	11	07
Endrine Aldéhyde	07	05
Endrine Kétone	07	06
Total Pesticides	15 (par au moins un des pesticides)	07

Tableau 37. Qualité des eaux analysées.

Les concentrations mesurées ont montré une pollution assez inquiétante de la nappe phréatique au niveau de la majorité des sites de prélèvement. Les teneurs en résidus de pesticides sont variables d'un site à l'autre. La simazine, l'atrazine, le lindane et l'alachlore sont les pesticides les moins retrouvés dans nos échantillons en termes de fréquence et de concentration. Le Métolachlore se trouve dans tous les échantillons mais ne dépassant jamais la limite de qualité. Tandis que l'Heptachlore époxyde, l'Endrine, l'Endrine aldéhyde et l'Endrine kétone sont omniprésents et à des taux dépassant parfois la limite de qualité. Au total, la moitié des échantillons présente des concentrations sommes supérieures à 0,5 µg/L. Ceci peut être expliqué par le fait que la plupart des pesticides appliqués ou stockés entrent en contact avec l'eau par ruissellement à partir des surfaces traitées, lixiviation au cours des infiltrations ou par dépositions atmosphériques humides ou sèches. La contamination des

eaux dépend essentiellement des propriétés du pesticide, des caractéristiques du sol, des conditions climatiques mais aussi de la distance du site d'application à la source d'eau. Sa distribution spatiale et temporelle est fonction des schémas d'exploitation de la terre et des pesticides utilisés. En outre, de nombreux pesticides finissent par se retrouver dans les eaux souterraines, et leurs produits de dégradation peuvent rester pendant plusieurs années. De plus, Les pesticides organochlorés sont caractérisés, de façon générale, par leur rémanence qui les prédispose à rester longtemps dans le sol où ils ont une capacité plus ou moins importante à s'adsorber sur les particules. Ainsi, ce n'est qu'en cas de forte application qu'on pourra les détecter en quantité dans les eaux souterraines, comme cela semble être le cas dans notre région d'étude où ces produits ont été largement utilisés pendant plusieurs années, principalement dans la lutte contre les ravageurs des récoltes dans la vigne.

La forte rémanence de ces matières actives qui était associée à leur efficacité est aujourd'hui à l'origine de leur interdiction totale en agriculture en raison des risques toxiques sur la santé humaine et sur l'environnement. Ainsi, Le phénomène de pollution diffuse des eaux souterraines constitue un réel danger en Afrique en général, et dans toutes les grandes villes africaines en particulier **(Ahoussi Kouassi *et al.* 2013).**

Les résultats de cette étude coïncident avec ceux rapportés dans d'autres travaux d'évaluation de la contamination des eaux en Afrique.

Mawussi a décelé la présence de DDT (0,11 et 0,15 µg/L), d'Aldrine (0,07 µg/L), d'Endrine (0,13 µg/L), d'Heptachlore (0,33 µg/L), d'Heptachlore époxyde (0,09 µg/L), d'α-endosulfan (0,29-0,32 µg/L) et de β-endosulfan (0,25-0,40 µg/L) dans les eaux des fleuves Anié, Mono et de puits à Adéta au Togo**(Mawussi, 2008).**Dans ce même registre, une autre étude réalisée par Edoh en 1991 dans la ville de Lomé, avait fait apparaitre que les eaux de robinet et de puits servant d'eau de boisson et/ou d'arrosage des cultures maraîchères présentaient des niveaux de résidus d'Aldrine, de Dieldrine et d'Heptachlore 43 fois supérieurs à ceux admis par les normes de l'Union Européenne et de l'OMS **(Edoh, 1991).**

Mwevura avait trouvé des concentrations en résidus de pesticides organochlorés qui oscillaient entre 0,1 et 0,39 µg/L pour le DDT, 0,08 et 0,45µg/L pour le DDE, 0,21 et 2,49µg/L pour la Dieldrine et 0,2 µg/L pour le lindane dans les eaux de la zone côtière de Dar Es Salaam **(Mwevura 2000).**

CHAPITRE III : NIVEAU DE CONTAMINATION DES EAUX DE PUITS PAR LES PESTICIDES

Des résidus d'organochlorés ont été décelés par Nwankwoala et Osibanjo dans les eaux superficielles d'Ibadan au Nigeria à des concentrations variées : Dieldrine (0,018-0,657 µg/L), lindane (0,007-0,297 µg/L), Heptachlore (0,004-0,202 µg/L), Aldrine (0,04µg/L), endosulfan (0,43 µg/L) et DDT total (1,266 µg/L) **(Nwankwoala et Osibanjo 1991).**

Cissé et al. avaient décelé des résidus de lindane (0,22 µg/L), d'α-endosulfan (1,26 µg/L) et de β-endosulfan (1,84 µg/L) dans les eaux de la nappe phréatique au Sénégal dans la zone des Niayes à Dakar **(Cissé *et al.,* 2003).**

Au Ghana, Ntow a décelé l'Heptachlore époxyde dans les rivières d'Akumadan, d'Afrensu, de Bosumpon et d'Anyinatase dans le district d'Ofinso à des valeurs résiduelles moyennes inférieures à 0,1 µg/L (Ntow 2005). L'Heptachlore a été détecté dans l'eau de puits au Sénégal à 3,43 µg/L **(Cissé *et al.,* 2003).**

En Afrique du Sud, Fatoki et Awofolu ont rapporté des concentrations en pesticides organochlorés allant de 0,0055 à 0,21 µg/L dans les eaux du East London Harbour qui reçoit des effluents domestiques et industriels et de 0,0057 à 0,45µg/L dans les eaux du fleuve Buffalo River traversant des zones agricoles **(Fatoki et Awofolu 2003).**

Au Kenya, les concentrations moyennes résiduelles de DDT, DDD, DDE, lindane, Heptachlore et Aldrine dans les eaux du lac Nakuru étaient respectivement de 1,09 ; 6,89 ; 0,90 ; 1,33 ; 3,85 et 4,54 µg/L **(Mavura et Wangila 2004).**

Ces niveaux de résidus suffisamment élevés peuvent susciter des inquiétudes quant aux impacts éventuels sur la santé des populations consommant les eaux ainsi contaminées. Vu leur toxicité intrinsèque à long terme, ces produits peuvent provoquer des pathologies diverses et d'autres désordres physiologiques (troubles neurologiques, malformations, baisse de fertilité, troubles hormonaux et immunitaires) **(Fisk *et al.* 2001 ; Oliva *et al.* 2001 ; Baldi 2002 ; Mostafalou *et al.*, 2013).**

Effectivement, d'après nos investigations auprès des agriculteurs et des professionnels de produits phytosanitaires de la région, nous avons constaté que les pratiques d'utilisation de ces substances étaient, dans la majorité des cas, non conformes aux règles des Bonnes Pratiques Agricoles. Ces mauvaises pratiques relevées entrainent aujourd'hui des conséquences néfastes pour l'homme et son environnement. Cette situation rend nécessaire la surveillance de la contamination de l'environnement dans cette région aux importantes

ressources hydrauliques, faunistiques et floristiques. Les données issues des programmes de surveillance devraient permettre aux décideurs politiques de prendre des mesures correctives pour une application stricte de la règlementation permettant de mettre hors circuit les produits non homologués et les polluants organiques persistants.

Chapitre IV
Guide d'utilisation des produits phytosanitaires

Guide d'utilisation des produits phytosanitaires

Introduction

L'objectif de ce guide est d'énumérer les étapes essentielles d'une bonne application des produits phytosanitaires avant, pendant et après le traitement d'une culture. Il ne faut jamais perdre de vue que les pesticides sont des produits chimiques toxiques pour l'homme et pour l'environnement. Si leur emploi est devenu une nécessité à la fois économique et hygiénique et a constitué une avancée importante dans la maîtrise des maladies parasitaires et la sécurisation de la production alimentaire, leur mauvaise utilisation à n'importe quelle étape, c'est-à-dire de l'achat du produit et de son entreposage à l'élimination des contenants vides, aura des conséquences catastrophiques sur l'homme et son environnement.

Les performances d'un produit phytosanitaire pour une culture donnée dépendent fortement du respect des consignes d'application recommandées par son fabricant. Une sélection et une utilisation appropriées des buses de pulvérisation sont des étapes très importantes pour réaliser une application précise du produit phytosanitaire. Le volume pulvérisé passant à travers chaque buse, la finesse des gouttelettes et la répartition sur la surface à traiter peuvent influencer la protection des plantes et les valeurs des LMRs.

IV.1 Stockage des produits phytosanitaires

Le stockage des produits phytosanitaires doit permettre une bonne conservation des produits tout en garantissant la sécurité des utilisateurs et de l'environnement. Ce stockage se fait selon des règles et notamment :

- Stocker la quantité de pesticide minimum et uniquement pendant la période de temps indispensable.
- Suivre le programme de gestion basé sur le principe « le premier arrivé, le premier à partir ».
- Ne jamais stocker les pesticides avec des aliments pour humains ou pour animaux.
- Éviter le contact direct des récipients avec le sol, les placer sur un matériel isolant (exemple : palettes appropriées, étagères…).

- Ne jamais stocker les produits phytosanitaires dans des récipients qui ne sont pas ceux d'origine.

IV.1.1 Produits phytosanitaires en grande quantité

Les produits phytosanitaires en quantité importante, classés très toxique(T+) ou portant une mention précisant la nature des dangers selon la Directive Européenne **1999/45/CE**[8] nécessitent des conditions de stockage particulières. Les principales caractéristiques d'un local destiné à l'entreposage des pesticides sont :

- Bonne aération (haute et basse).
- Sol imperméable en cuvette de rétention
- Eclairage suffisant
- Alimentation en eau à l'intérieur
- Matière absorbante en cas de déversement accidentel des pesticides
- Etagères de rangement en séparant par exemple les comburants des inflammables, les acides des bases et les produits classés T des T+
- Consignes de sécurité affichées à l'intérieur du local… **(Figure 40).**

[8]AQUA pour les produits dangereux pour les organismes aquatiques
DABE pour ceux dangereux pour les abeilles et autres insectes pollinisateurs
FAUN c'est-à-dire dangereux pour la faune aquatique.

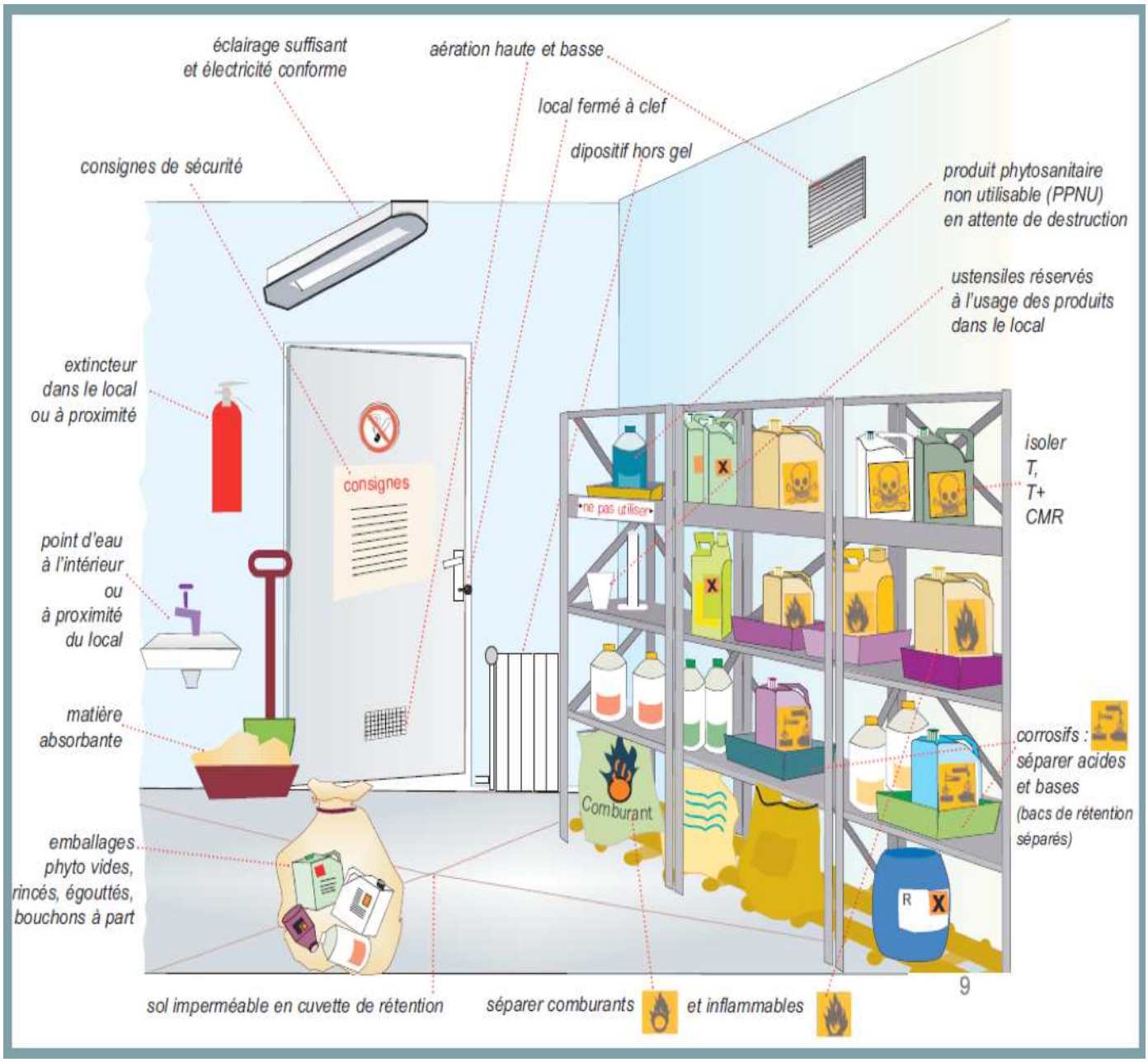


Figure 40 : **Caractéristiques d'un local de stockage des produits phytosanitaires** (Source : bergon. Nature et jardin. http://www.bergon-nature-jardin.com/pratiques-agricoles/).

Les produits chimiques dangereux sont signalés par des pictogrammes[9]ayant une signification bien précise comme le montre le tableau suivant **(Tableau 38).**

[9]Un pictogramme (également appelé pictographe) est une représentation graphique schématique, un dessin figuratif stylisé ayant fonction de signe.

	Ces produits empoisonnent rapidement, même à faible dose. Ils peuvent provoquer des effets très variés sur l'organisme : nausées, vomissements, maux de tête, perte de connaissance ou d'autres troubles plus importants entraînant la mort.
	Ces produits chimiques peuvent avoir les effets suivants : ils empoisonnent à forte dose ; ils sont irritants pour les yeux, le nez, la gorge ou la peau ; ils peuvent causer des allergies cutanées ; ils peuvent provoquer une somnolence ou des vertiges.
	Ces produits peuvent s'enflammer suivant les cas : au contact d'une flamme ou d'une étincelle ; sous l'effet de la chaleur ou d'un frottement ; au contact de l'air
	Ces produits peuvent provoquer ou aggraver un incendie, voire provoquer une explosion s'ils se trouvent en présence de produits inflammables. On les appelle des produits comburants.
	Ces produits sont corrosifs. Ils peuvent attaquer ou détruire les métaux, ronger la peau et attaquer les yeux en cas de projection.
	Ces produits sont des gaz sous pression contenus dans un récipient. Certains peuvent exploser sous l'effet de la chaleur. Il s'agit des gaz comprimés, liquéfiés ou dissous. Les gaz liquéfiés peuvent être responsables de brûlures dites froides ou cryogéniques

	Ces produits peuvent exploser au contact d'une flamme, d'une étincelle, de l'électricité statique ou sous l'effet de la chaleur, d'un choc ou d'un frottement.
	Ces produits peuvent entrer dans une ou plusieurs des catégories suivantes : cancérogènes, mutagènes, toxiques pour la reproduction humaine. Ils peuvent également modifier le fonctionnement de certains organes (foie, système nerveux), attaquer les poumons et provoquer des allergies (asthme).
	Ces produits peuvent avoir des effets néfastes sur l'environnement, en particulier sur les organismes du milieu aquatique : poissons, crustacés, algues et autres plantes aquatiques.

Tableau 38 : **Pictogrammes de produits chimiques dangereux** (Source :Commission de la Sécurité des Consommateurs. http://www.securiteconso.org/wp-content/uploads/2016/09/PICTOGRAMMES-DE-DANGER-SEPTEMBRE-2016.pdf).

IV.I.2 Produits phytosanitaires en petite quantité

Les petites quantités de produits phytosanitaires doivent être entreposé dans une armoire de sécurité **(Figure 41)** ou dans une caisse fermée et étanche sur laquelle est mentionné « Produits Phytosanitaires » et qui doit être placée dans un local aéré ou ventilé.



Figure 41 : Armoires de sécurité pour le stockage des produits phytosanitaires en petites quantités (Source : bergon. Nature et jardin. http://www.bergon-nature-jardin.com/pratiques-agricoles/).

IV.2. Utilisation des produits phytosanitaires

Cette utilisation est soumise à un certain nombre de règles avant, pendant et après le traitement des cultures.

IV.2.1 Bonnes pratiques agricole avant le traitement

L'utilisation des produits phytosanitaires doit obéir à des règles strictes qui concernent aussi bien le choix du produit phytosanitaire que le calcul de la bonne dose à épandre. L'utilisateur doit se référer à l'index des produits phytosanitaires à usage agricole dans lequel toutes ces notions sont clairement mentionnées par classe de pesticides **(IPPUA, 2015).**L'utilisation des produits phytosanitaires non homologués est strictement interdite **(Art. 36. de la loi n°87-17 du 1er Aout 1987 relative à la protection phytosanitaire).**

IV.2.1.1 Le choix du produit phytosanitaire

Le choix du produit phytosanitaire est l'un des facteurs conditionnant la réussite du traitement phytosanitaire. En effet, ce choix est fonction :

- De la cible à détruire : insecticides pour lutter contre les insectes (noctuelles, pucerons…), herbicides contre les mauvaises herbes, fongicides contre les champignons (Alternaria, Oïdium…) ou nématicides contre les nématodes…
- De la culture (cultures maraîchères, agrumes, arboriculture fruitière…)

- De la famille chimique du produit : pour éviter les pertes d'efficacité par phénomène d'accoutumance des parasites aux produits, il faut alterner les familles de produits (organophosphorés, pyréthrinoïdes, triazoles…)
- De la toxicité du produit : choisir le produit le moins toxique pour l'utilisateur et pour l'environnement. Ce type d'informations est porté sur l'étiquette des emballages des produits phytosanitaires.

IV.2.1.2 Etiquetage des emballages des produits phytosanitaires

Avant toute utilisation des pesticides, il est impératif de lire attentivement les informations légales et obligatoires concernant la bonne utilisation du produit **(Figure 42).**L'étiquette fournie des informations concernant l'utilisation du produit phytosanitaire. L'application de ces recommandations garantit l'efficacité et la sécurité du produit. Elle contient entre autres, les informations suivantes :

- Le nom commercial du pesticide.
- Le nom des matières actives et autres substances contenues dans la composition.
- La concentration de la matière active.
- La quantité nette du produit contenu dans le récipient.
- Le type de pesticide : insecticide, herbicide, fongicide, raticide…etc.
- Le type de composition : poudre mouillable, liquide émulsionnable, poudre pour répandre, granulés solubles…etc.
- Dose et mode d'emploi.
- Applications et utilisations autorisées.
- Le Nº d'enregistrement au niveau du Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et de la pèche, ainsi que l'année d'expiration de l'autorisation de sa commercialisation.
- Classement toxicologie, symboles et indications de danger sous forme de pictogramme.
- Information concernant la gestion des déchets (récipients et restes du bain).
- Symptômes d'intoxication et indications sur les premiers secours pour les cas d'intoxication ou accidents.
- Antidotes et recommandations au personnel sanitaire en cas d'intoxications.

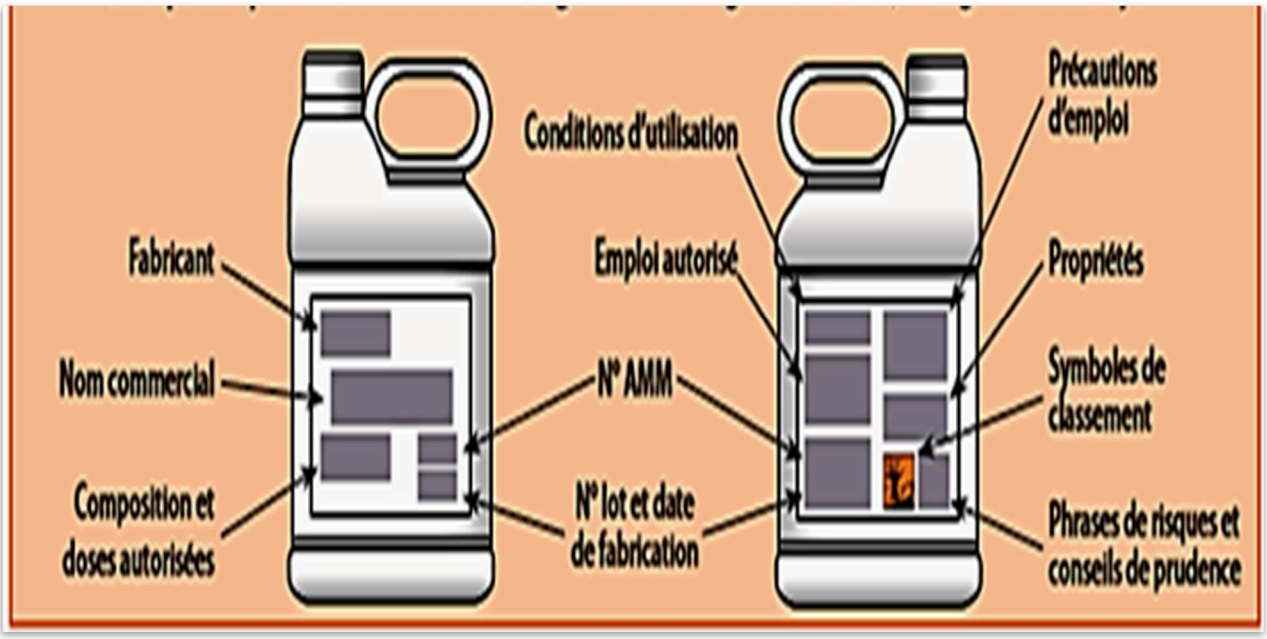


Figure 42 : **Etiquetage de l'emballage des produits phytosanitaires** (Source : Guide de bonnes pratiques phytosanitaires : http://www.cdpne.org/PDF/FREDON_GUIDE%20PHYTO_44_Pages.pdf).

IV.2.1.3 Vérification du matériel d'épandage : exemple du pulvérisateur à rampe

Les pulvérisateurs à rampe doivent être régulièrement contrôlés. Le contrôle est effectué sur tous les organes de l'appareil et notamment les buses, les tuyaux, la lance, le filtre et le manomètre.

IV.2.1.3.1 Le réglage du pulvérisateur

Son réglage présente un intérêt économique et environnemental. Un pulvérisateur bien réglé peut éviter des passages supplémentaires et une économie des intrants.

IV.2.1.3.1.a Le choix des buses

Une buse adaptée au traitement à réaliser permet un épandage optimal du produit phytosanitaire sur la cible visée. Trois types de buses permettent un traitement adapté :

- Buse à turbulence : pour un jet conique creux, idéal pour le traitement sur arbres et arbustes. La pression de fonctionnement de la buse est de 2à 6 bars.
- Buse de type miroir : permet un jet en nappe, pour un traitement en localisé par des herbicides. La pression de fonctionnement est de 1 à 3bars.

- Buse à fente : elle délivre un jet plat pour multi-usage à une pression de fonctionnement de 2 à 4bars **(Figure 43).**

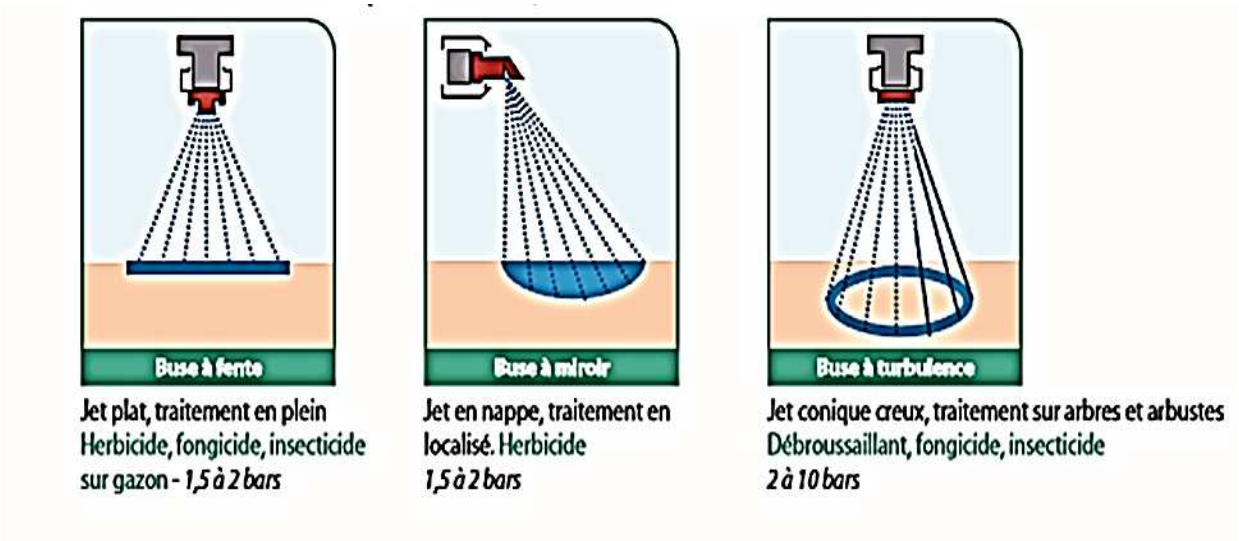


Figure 43 : **Types de buses** (Source : Guide de bonnes pratiques phytosanitaires : http://www.cdpne.org/PDF/FREDON_GUIDE%20PHYTO_44_Pages.pdf).

L'état général (neuve, usée ou endommagée) de la buse influence fortement la répartition de la bouillie sur la cible visée. Les buses sont considérées comme trop usées et doivent être remplacées quand leur débit dépasse de 10 % celui d'une buse neuve **(Teejet Technologies ; 2016).**Le coefficient de variation(CV) du débit de la buse est calculé de la manière suivante :

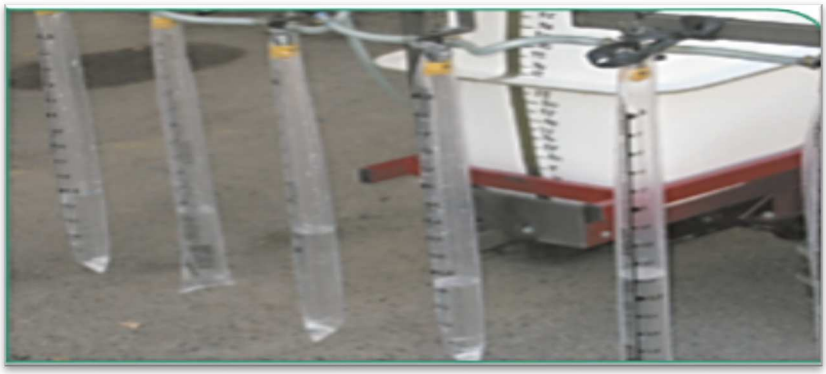


Figure 44 : Vérification du débit des buses (Source : Guide de bonnes pratiques phytosanitaires : http://www.cdpne.org/PDF/FREDON_GUIDE%20PHYTO_44_Pages.pdf).

Placer sous chaque buse un récipient gradué et faire fonctionner la rampe pendant une minute. Si une buse présente un débit différent de ± 10% par rapport aux autres buses, elle présente donc un défaut et doit être changé.

IV.2.1.3.1.b Vérification du manomètre

L'épandage des produits phytosanitaires doit se faire sous pression. Les gouttelettes de produit pulvérisées seront plus ou moins fines selon la pression utilisée ; il est donc indispensable de vérifier le bon fonctionnement du manomètre.

II.2.1.3.1.c Etalonnage du pulvérisateur[10]

Cette action est importante car elle permet de connaître la quantité de bouillie épandue à l'hectare, c'est-à-dire de calculer la quantité de produit correspondante, en respectant la dose homologuée ou d'utilisation qui est donnée pour chaque produit phytosanitaire en fonction des cultures. Les erreurs de surdosage ou sous-dosage, liées aux problèmes du matériel (tuyauterie défectueuse, buses usées…) ou aux problèmes liés à l'applicateur par une vitesse d'avancement trop faible, sont corrigées par un étalonnage du pulvérisateur.

- ✓ **Etalonnage d'un pulvérisateur à dos**

La démarche à suivre pour calculer la quantité d'eau épandue par hectare est la suivante : remplir le pulvérisateur avec 1L d'eau claire, l'épandre à la cadence habituelle de traitement et mesurer la surface couverte. La quantité d'eau épandue par hectare est donnée par la relation suivante :

$$\text{Quantité d'eau épandue par hectare} = \frac{1\ litre\ \times\ 10.000\ m^2}{surface\ couverte\ (m^2) \times\ 1\ hectar}$$

Exemple :
Si on traite 50 m^2 avec 1 L d'eau, la quantité d'eau épandue par hectare est :

$$\text{Quantité d'eau épandue par hectare} = \frac{10.000\ m^2}{50} = 200\text{L. ha} - 1$$

[10] Guide technique sur les bonnes pratiques phytosanitaire :
http://www.vnf.fr/vnf/img/cms/Domaine_public_fluvial/hidden/guide_technique_200603291125.pdf

✓ **Etalonnage d'un pulvérisateur tracté à lance**

En choisissant le type de buse et la pression, on détermine le débit de la buse en 1 minute à l'aide d'un récipient gradué. Ensuite, la surface couverte est mesurée à cadence habituelle pendant 1 minute. La quantité d'eau épandue par hectare est donnée par la relation :

$$\text{Quantité d'eau épandue par hectare} = \frac{Débit\ en\ 1\ \text{min}(L) \times\ 10.000\ m^2}{surface\ couverte\ en\ 1\ min\ (m^2) \times\ 1\ \text{h}ectar}$$

Exemple :

Si la surface couverte en 1 min est 32 m^2 avec une buse dont le débit est de 2.2 L/min, alors la quantité d'eau épandue par hectare est de :

$$\text{Quantité d'eau épandue par hectare} = \frac{2{,}2\ X\ 10.000}{32} = 687{,}5\ L/hectar$$

IV.2.1.4 Calcul de la dose à épandre

Ce calcul permet de réduire les fonds de cuve au minimum et donc les rejets dans l'environnement qui contaminent les eaux. La quantité d'eau à introduire dans le pulvérisateur est donnée par la relation :

$$\text{Quantité d'eau (L)} = \frac{X(m2) *\ \ Y(\text{L. ha} - 1)}{10.000}$$

Dans cette relation, X représente la surface à traiter exprimée en m^{2}et Y le résultat de l'étalonnage. La dose de produit homologuée à introduire dans le pulvérisateur est :

$$\text{Quantité de produit phytosanitaire (L ou g)} = \frac{X(m2) *\ Z(L.ha - 1\ \text{ou g. ha} - 1)}{10.000}$$

Z représente la dose de produit homologuée. C'est une donnée inscrite sur l'emballage du produit et elle est définie comme la dose efficace d'application d'un produit sur une culture et pour un organisme cible donné.

Exemple : Un agriculteur qui doit traiter 800m^2 avec un insecticide(Cyperméthrine) homologué à 1L/ha. L'étalonnage de son pulvérisateur donne un résultat de 650L/ha.

$$\text{Quantité d'eau à introduire dans le pulvérisateur} = \frac{800 * 650}{10.000} = 52\ L$$

$$\text{Quantité de produit(Cyperméthrine) dans les 52 L} = \frac{800 * 1}{10.000} = 0{,}08\ L$$

Il faut donc diluer 0.08L (80mL) de l'insecticide dans 52L d'eau pour traiter les 800m^2.

IV.2.1.5 Préparation de la bouillie

Il est formellement interdit de fumer, boire ou de manger pendant la préparation de la bouillie. Avant de commencer cette étape, il est impératif de tenir compte des conditions climatiques en s'assurant que les prévisions météorologiques sont favorables avant le traitement (ciel clair et dégagé…). Avant de commencer le traitement, tenir compte des recommandations suivantes :

- Éviter de réaliser le traitement pendant les heures les plus chaudes de la journée, notamment dans les serres. Il est conseillé de travailler avec des températures fraîches (selon la saison), soit de l'aube à 9-10 heures du matin.
- Ne pas réaliser les traitements en cas de vent. En cas de brise légère, traiter avec le vent en votre faveur.
- Ne pas réaliser le traitement pendant les périodes de travail avec des températures élevées (évaporation rapide du produit).
- Ne pas réaliser les traitements les jours de pluie ou en cas de prévision d'averses.

La préparation de la bouillie nécessite la manipulation de produit concentré. A ce stade, les risques pour le manipulateur sont très élevés (risques de projection, d'éclaboussures…). Le port des lunettes, du masque à cartouches, des bottes, des gants et de la combinaison est indispensable à cette étape et ceci quel que soit le produit **(Figure 45).**

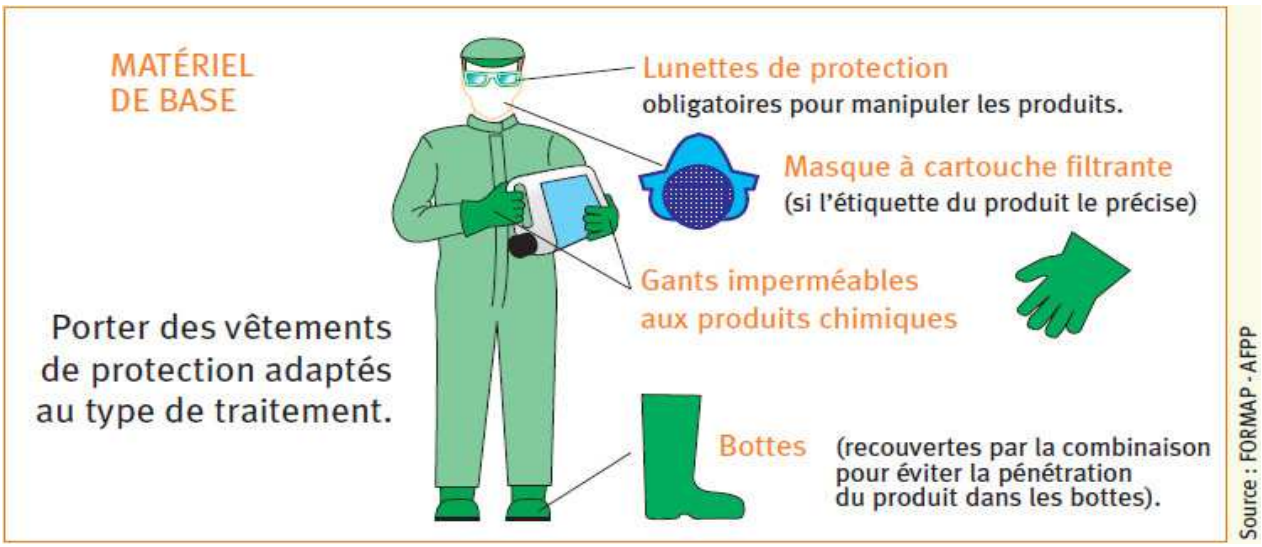


Figure 45 : **Equipements de protection individuelle.**

Les emballages vides des produits phytosanitaires doivent êtres rincés 3 fois avec de l'eau courante. L'eau de rinçage sera versée dans la cuve à traitement. Ces emballages vides traités seront par la suite stockés comme indiqué sur la **Figure 40.**

IV.2.2 Bonnes pratiques agricoles pendant le traitement

Il faut absolument éviter de traiter à proximité de points d'eau. Le manipulateur doit être protégé par un matériel de base comme indiqué sur la **Figure 45**. En outre, aucune personne non protégée ne doit circuler dans une zone où un traitement est en cours. Cette interdiction de circuler est étalée même après la fin du traitement pour un délai de 6h si aucune spécification n'est indiquée sur le produit. Ce délai sera plus long (24h) si l'étiquette comporte au moins une phrase de risque[11] R36 (Irritant pour les yeux),R38 (Irritant pour la peau) ou R41 (Risque de lésions oculaires graves) et 48h si l'étiquette comporte au moins une phrase de risque R42 (Peut entraîner une sensibilisation par inhalation) ou R43 (Peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau).Les règles suivantes(en plus de celles citées) sont à prendre en considération pendant le traitement :

- Réaliser le traitement accompagné d'au moins un autre travailleur.
- Dans les endroits fermés et avec des températures élevées, assurer une ventilation adéquate. Éviter d'employer des produits volatiles dans les espaces fermés ou peu aérés.

[11] Annotations présentes sur les étiquettes de produits chimiques qui indiquent les risques encourus lors de leur utilisation. Elles sont définies dans l'annexe III de la directive européenne 67/548/CEE.

- Il faut organiser le travail, en faisant des rotations du personnel qui applique les produits, afin d'éviter que les personnes passent de longues périodes à réaliser cette activité. L'idéal serait de ne pas être exposé (mélange/chargement et application) plus d'une demi-journée de travail.
- Ne pas consommer de boissons alcooliques pendant l'application, ni juste après, car l'alcool favorise l'action du pesticide.
- En cas de pause, ne jamais rester dans la zone de traitement.
- Se laver les mains et le visage à chaque pause, avant de manger, boire, fumer ou aller aux toilettes (car de nombreux pesticides pénètrent à travers les muqueuses et les zones où la peau est plus fine).

IV.2.3 Bonnes pratiques agricoles après le traitement

Elles concernent essentiellement le matériel de pulvérisation (cuve, lance, tenue de protection de l'applicateur…) qu'il est impératif de nettoyer après chaque usage selon des règles bien définies :

- La bouillie supplémentaire (fond de cuve) sera diluée avec de l'eau claire (au moins 5 volumes d'eau claire pour un volume de bouillie restante) et épandue à nouveau sur la culture à traiter,
- L'ensemble du matériel de traitement (buses, filtre, poignée, lance, éprouvette, bottes, gants…) sera rincé dans un bac étanche et les eaux de rinçage épandues avec le fond de cuve diluée
- Les bidons vides (des produits phytosanitaires) doivent être rincés et égouttés avec les bouchons et les opercules mis à part **(Figure 40).**

N'OUBLIEZ PAS

- **TOUS LES APPAREILS DOIVENT POSSÉDER LE SYMBOLE CE**
- **CES APPAREILS ONT ÉTÉ CONÇUS POUR VOTRE SÉCURITÉ, À CONDITION D'ÊTRE UTILISÉS À DE TELLES FINS ET D'ÊTRE ENTRETENUS CORRECTEMENT**
- **LA MAUVAISE UTILISATION DE CES APPAREILS PEUT ÊTRE CONTREPRODUCTIVE ET LA SÉCURITÉ NE SERA PAS ASSURÉE**
- **NE LES NÉGLIGEZ PAS**
- **RESPECTEZ LES INDICATIONS DU MANUEL OU DE LA BROCHURE DU FABRICANT**

Conclusion générale

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

Les pesticides ou produits phytosanitaires sont des substances chimiques utilisées par l'homme pour protéger ses cultures et accroître leurs rendements afin de couvrir en partie ses besoins nutritionnels. Leur utilisation est soumise à une réglementation aussi riche que variée afin de protéger la santé du consommateur des dangers potentiels des résidus de pesticides. L'utilisation des pesticides selon les bonnes pratiques agricoles aboutit à des résidus (reliquat) conformes aux LMR et donc sans danger pour le consommateur. Par contre, une mauvaise utilisation des produits phytosanitaires expose les consommateurs et les utilisateurs à de graves conséquences sanitaires.

La complexité et la diversité de ces produits phytosanitaires impose une surveillance et un contrôle régulier des denrées alimentaires et des eaux destinées à l'alimentation. Nous avons mené cette étude dans le but d'obtenir une estimation des niveaux de contamination par les pesticides des denrées alimentaires et de l'eau de la nappe phréatique. En effet, les résultats obtenus indiquent qu'il existe bien un niveau de contamination et ce malgré le faible échantillonnage ayant pu être collecté pour la réalisation de la présente étude. Ces résultats pourront servir de plateforme pour un plan analytique national de surveillance des résidus de pesticides dans l'eau et les denrées alimentaires.

Au terme de notre travail, tous nos objectifs ont été atteints et nous avons abouti à des résultats assez significatifs de par la présence des résidus de pesticides dans des échantillons de tomates et d'eaux des puits avec des résultats alarmants.

Cette étude mérite d'être élargie à un échantillonnage plus représentatif et à d'autres pesticides ainsi que leurs produits de dégradation afin de mieux évaluer les niveaux de contamination des denrées alimentaires et des eaux souterraines. Dans cette optique, il devient urgent d'introduire au plus haut niveau de la décision une réflexion autour d'un plan national de surveillance des résidus de pesticides.

Des recommandations émanent de ce travail portent sur plusieurs domaines :

- Eliminer les pesticides stockés selon les normes internationales afin de limiter la contamination des eaux de la nappe phréatique.
- Elargir la recherche des résidus de pesticides dans d'autres matrices alimentaires et les nappes phréatiques du territoire national.
- Instaurer un programme de sensibilisation des agriculteurs pour s'assurer de la qualité et de la conformité des bonnes pratiques d'utilisation des produits phytosanitaires en parallèle avec les recommandations du guide élaboré dans notre travail.

Références bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abdulra'uf L B, Chai MK, Tan G H. Applications of solid-phase microextraction for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables: A review. J AOAC Int. 2012 ; 95 : 1272-89.

Adou K, Bontoyan W. R, Sweeney P J. Multiresidue method for the analysis of pesticide residues in fruits and vegetables by accelerated solvent extraction and capillary gas chromatography. J Agr Food Chem Septembre 2001; 49: 4153-60.

AFNOR, association française de normalisation. Méthode polyvalente de détermination des résidus des pesticides par GC-SM e CL-SM-SM avec extraction/partition avec de l'acétonitrile et nettoyage par SPE dispersés ; normes européenne/norme française. Janvier 2009.

AFSSA Collectif : Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA), Agence Française de Sécurité Sanitaire Environnementale (AFSSE), Institut français de l'environnement (IFEN). Etude de faisabilité, rapport finale. 2004. Ce document peut être consulté sur : http://www.observatoire-pesticides.fr. Consulté le: 13/10/2016

Aguilera-Luiz M.M, Plaza-Bolaños P, Romero-González R, Vidal J.L.M, Frenich A G. Comparison of the efficiency of different extraction methods for the simultaneous determination of mycotoxins and pesticides in milk samples by ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry .Anal Bioanal Chem . Février 2011 ;399:2863–75.

Ahoussi K E, Loko S, Koffi Y B, Oga Y M S, Soro N. Evolution spatio-Temporelle des teneurs en nitrates des eaux souterraines de la ville d'Abidjan (Côted'ivoire). Int. J. Pure App. Biosci. 2013;1:45-60.

Anastassiades M, Lehotay S J, Štajnbaher D, Schenck F J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and multiresidue method "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce. J AOAC Int. 2003 Mars;86:412-31.

Andrade G C R M; Monteiro S H , Fransisco JG , Figueiredo L A , Botelho R G , Tornisielo V L. Liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry and dynamic multiple reaction monitoring method for determining multiple pesticide residues in tomato. Food Chem.Novembre 2015 ;175:57-65.

Anonyme. Dicofol fact sheet. Pesticides News. 1999 Mars; 43: 20-21.

ANSES. Evaluation des risques liés aux résidus de pesticides dans l'eau de distribution. Contribution à l'exposition alimentaire totale. Rapport d'étude scientifique. Septembre 2013. 215p.

Baci L. Les contraintes au développement du secteur des fruits et légumes en Algérie : faiblesse des rendements et opacité des marchés. In : Allaya M. (ed.). *Les agricultures maghrébines à l'aube de l'an 2000.* Montpellier : CIHEAM, 1995.p. 265-277 (options méditerranéennes : Série B. Etudes et recherches ; n. 14).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Baldi I, Lebailly P, Mohammed-Brahim B, Letenneur L, Dartigues J-F, Brochard P. Neurodegenerative diseases and exposure to pesticides in the elderly.Am J Epidemiol. Septembre 2002;157:409-14.

Balogh M. Current use of high-resolution mass spectrometry in drug screening relevant to clinical and forensic toxicology. LC-GC Europe 2004: 152-159p.

Bakirci G T , Acay Y D B, Bakirci F, Ötleş S. Pesticide residues in fruits and vegetables from the Aegean region, Turkey. Food Chem. Février2014;160:379-92.

Bapayeva B G, Issayeva B R, Zhumadilova R A, Nurkasimova G R, Kulbayeva N S et al. Organochlorine pesticides and female puberty in South Kazakhstan. Reproductive Toxicology. http://dx.doi.org/10.1016/j.reprotox.2016.06.017.

Barker S A, Long A R, Short C R. Isolation of drug residues from tissues by solid phase dispersion. 1989;472:353-61.

Barriada-Pereira M, González-Castro M J, Muniategui-Lorenzo S, Lôpez-Mahia P, Prada-Rodriguez D,. Comparaison of pressurized liquid extraction and microwave assisted extraction for the determination of organochlorine pesticides in vegetables. Talanta. Août 2006;71:1345-51.

Boithias L. Modélisation des transferts de pesticides à l'échelle des bassins versants en période de crue. Thèse en vue de l'obtention du doctorat. Université de Toulouse. Discipline : hydrologie, hydrochimie, sol, environnement. Avril 2012.

Bojacá C R , Arias L A , Ahumada D A , Casilimas H A , Schrevens E. Evaluation of pesticide residues in open field and greenhouse tomatoes from Colombia. Food Control. Août 2012 ;30 : 400-403.

Cajka T, Hajslova J, Lacina O, Mastovska K, Lehotay S J. Rapid analysis of multiple pesticide residues in fruit-based baby food using programmed temperature vaporiser injection-low-pressure gas chromatography-high-resolution time-of-flight mass spectrometry.J Chromatogr A. Décembre 2007;1186:281-294.

Campillo N, Viñas P, Aguinaga N, Férez G, Hernández-Córdoba M. Stir bar sorptive extraction coupled to liquid chromatography for the analysis of strobilurin fungicides in fruit samples. J Chromatogr A. Mai 2010;1217:4529–34.

Camel V. Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples. Trends in Analytical Chemistry. 2000;19:229-48.

Cao Z, Zhao H, Cui Y, Zhang L, Tan G, Wang B, Li QX. Development of a sensitive monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay for the analysis of paclobutrazol residue in wheat kernel. JAgr Food Chem. Janvier 2014; 62:1826-31.

Capriotti A L , Cavaliere C , Laganà A, Piovesana S , Samperi R . Recent trends in matrix solid-phase dispersion. Trends in Analytical Chemistry. Février 2013; 43:53-66.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Carabias-Martinez R, Rodriguez-Gonzalo E, Revilla-Ruiz P, Hernandez-Mendez J. Pressurized liquid extraction in the analysis of food and biological samples. J Chromatogr A. Juin 2005;1089:1-17.

Carluer N, De Marsily G. Assessment and modelling of the influence of man-made networks on the hydrology of a small watershed: implications for fast flow components, water quality and landscape management. J Hydrol. Août 2003 ;285:76-95.

Caspell N, Drakes D, O'Neill T. Food standards agency. Pesticide residue minimisation. Crop guide ; Tomatoes. Novembre 2006.

Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec. Modes de conservation pour l'échantillonnage des eaux souterraines, DR-09-09, Ministère du Développement durable, de l'Environnement, de la Faune et des Parcs, 2014, 7p.

Cherin P, Voronska E, Fraoucene N, de Jaeger C. Toxicité aiguë des pesticides chez l'homme. Médecine et longévité. Juin 2012;4:68-74.

Chu X-G, Hu X-Z, Yao H-Y. Determination of 266 pesticide residues in apple juice by matrix solid-phase dispersion and gas chromatography-mass selective detection. J Chromatogr A. Décembre 2004;1063: 201-10.

Chubilleau C, Pubert M, Comte J, Giraud J. Pesticides et santé. Etude écologique du lien entre territoires et mortalité en Poitou-Charentes entre 2003 et 2007. ORS Poitou-Charentes. Juin 2011.

Cissé I, Tandia A A, Fall S T, Diop E S. Usage incontrôlé des pesticides en agriculture urbaine et périurbaine : cas de la zone des Niayes au Sénégal. Cahiers d'études et de recherches francophones/Agriculture, Vol.12, p. 181-186.

Cleber C, Camila P, Fabio P, Ruth C, Rosalina Jorge K, Sergio K, et al. Occupational exposure to pesticides, repoductive hormone levels and sperm quality in joung Brazilian men. Reproductive Toxicology. http://dx.doi.org/10.1016/j.reprotox. Janvier 2017.

Coggon D. Work with pesticides and organophosphates sheep disp. Occup Med. Septembre 2002; 52:467-70.

Coignard C, Lorente C. Exposition aérienne aux pesticides des populations à proximité de zones agricoles. Bilan et perspectives du programme régional intercire. InVS. 2006. 64 p

Commission de la Sécurité des Consommateurs(CSC) : Fiche de prévention. Pictogrammes de danger des produits chimiques : (Mise à jour – Septembre 2016). http://www.securiteconso.org/pictogrammes-danger-produits-chimiques/
Consulté le 12/10/2016.

Costain R M, Fesser A C E, McKenzie D, Mizuno M, Mac Neil, J. D. Identification of hormone esters in injection site in muscle tissues by LC/MS/MS. Food Addit Contam. Décembre 2008;25:1520-29.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Davenport C C, Jaffer R, Sloan K K, Catterall M, Chatters D, Chrétien J-G et al. Comité permanent de l'environnement et du développement durable. Parlement du Canada 2000.

De Cormis L. Qualité de l'environnement, pesticides et pratiques agricoles. Enjeux et contradictions des procédures de contrôles. INRA 1994.

De Jaeger Christophe, Voronska E, Fraoucene N, Cherin P. Exposition chronique aux pesticides, santé et longévité. Rôle de notre alimentation. Médecine & Longévité. Juin 2012 ; 4 :75-92.

Delcour I, Spanoghe P, Uyttendaele M. Literature review: Impact of climate change on pesticide use. Food Research Int. Octobre 2014 ;68 :7-15.

Deme P, Azmeera T, Prabhavathi Devi B L A, Jonnalagadda P R, Prasad R B N, Vijaya Sarathi U V R. An improved dispersive solid-phase extraction clean-up method for the gas chromatography-negative chemical ionisation tandem mass spectrometric determination of multiclass pesticides residues in edible oils. Food Chem. Juillet 2013;142:144-51.

Descotes J, Vial Th. Immunotoxic effects of xenobiotics in humans: A review of current evidence.Toxicol in Vitro. Octobre 1994;8:963-66.

Dur J-C , Gouy V , Calvet R , Belamie R ,Chaplain V. Influence of adsorption and desorption phenomena on pesticide runoff measured under controlled conditions. Acad. Sci. Paris, Earth and Planetary Sciences. 1998:405–11.

Dich J, Zahm SH, Hanberg A, Adami H-O. Pesticides and cancer. Cancer Cause Control. Mai 1997;8:420-43.

Directive européenne du conseil du 15 juillet 1991 concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques (91/414/CEE). Disponible sur le site : http://www.ineris.fr/aida/consultation_document/1057 Consulté le 13/10/2016.

Directive européenne 1999/45/CE : Classification, emballage et étiquetage des préparations dangereuses. Disponibles sur le site : http://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/?uri=URISERV%3Al21273 Consulté le 13/10/2016.

Dömötörová M, Matisová E. Fast gas chromatography for pesticide residues analysis. J Chromatogr A. Août 2008;1207:1-16.

ECPA (Association européenne de la protection des cultures). Produits phytopharmaceutiques et sécurité alimentaire. 2014

Edoh K. Etude des conditions de réutilisation du florisil pour la purification des extraits lors du dosage des pesticides dans l'eau et les denrées alimentaires, Lomé : Université de Lomé 1991.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

EFSA. The 2013 European Union report on pesticide residues. Disponible sur : http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2015.4038/epdf

El Mrabet K. Développement d'une méthode d'analyse de résidus de pesticides par dilution isotopique associée à la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem dans les matrices céréalières après extraction en solvant chaud pressurisé. Thèse de doctorat de l'université Pierre et Marie Curie. Chimie analytique, 24 Novembre 2008.

Even I, Berta J L, Volatier J L. Evaluation de l'exposition théorique des nourrissons et des enfants en bas âge aux résidus de pesticides apportés par les aliments courants et infantiles. Agence française de sécurité sanitaire des aliments (AFSSA). Janvier 2002.

Fagerquist C K, Lightfield A R, Lehotay S J. Confirmatory and quantitative analysis of β-lactam antibiotics in bovine kidney tissue by dispersive solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. Anal Chem. 2005;77:1473–82.

FAO (Food and Agriculture Organisation) et OMS (Organisation Mondiale de la Santé). Rapport sur les considérations générales des réunions conjointes FAO/OMS de 1997 et de 1998 sur les résidus de pesticides.

Fatoki O S, Awofolu R O. Methods for selective determination of persistent organochlorine pesticide residues in water and sediments by capillary gas chromatography and electron-capture detection. J Chromatogr A. Octobre 2003;983:225–36.

Feldman A L, Johansson A L V, Nise G, Gatz M, Pedersen N L, Wirdefeldt K. Occupational exposure in Parkinsonian disorders : A 43-year prospective cohort study in men. Parkinsonism and related disorders. Juin 2011; 17:677-82.

Ferragu C, Tron I, Bompays S. Pesticides et santé : état des connaissances sur les effets chronique en 2009. ORS Bretagne.2010.120p.

Figà-Talamanca I, Traina M.E, Urbani E. Occupational exposures to metals, solvents and pesticides: recent evidence on male reproductive effects and biological markers. Occup.Med. 2001;51:174-88.

Fisk AT, Hobson KA, Norstrom RJ. Influence of chemical and biological factors on trophic transfer of persistent organic pollutants in the north water polynyamarine food web. Environ SciTechnol. 2001;35:732-38.

Flores-Cespedes F, Gonzales-Pradas E, Fernandez-Perez M, Villafranca-Sanchez M, Socias-Viciana M, Urena-Amate M D. Effects of Dissolved Organic Carbon on Sorption and Mobility of Imidacloprid in Soil. J. Environ. Qual. Mai-Juin 2002;3:880-8.

Freitas S K B, Paim A P S, de Souza e Silva P T. Development of a LC-IT-TOF-MS Procedure to Quantify Veterinary Drug Residues in Milk Employing a QuEChERS Approach. Food Anal. Methods. Mars 2013.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Giergielewicz-Mozajska H, Dabrowski L, Namiesnik, J. Accelerated Solvent Extraction (ASE) in the analysis of environmental solid samples — some aspects of theory and practice. CritRev Anal Chem. Juin 2010;31:149-65.

Girard G. Résidus de pesticides et protection du consommateur, la détermination des LMR. Directions régionales de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt. 2009.

Goto T, Myint KT, Sato K, Wada O, Kakiyama G, Iida T et al. Tandem mass spectrometric determination of bile acid 3-sulfates in human urine 3β-sulfooxy-12α-hydroxy-5β-cholanoic acid is an abundant nonamidated sulfate. J.chrom B. Septembre 2006;846:69-77.

Guo L, Lee K H. Low-density solvent based ultrasound-assisted emulsification microextraction and on-column derivatization combined with gas chromatography–mass spectrometry for the determination of carbamate pesticides in environmental water samples. J Chromatogr A. Février 2012;1235:1–9.

Hasset JJ, Banwart W.L. (1989). The sorption of nonpolar organics by soils and sediments. In Reactions and movement or organic chemicals in soils. Sawhney B.L. et Brown K. Eds. SSSA Madison, Wisconsin, Special publication, 22 : 31-44.

He Z , Wang L , Peng Y , Luo M , Wang W , Liu X. Multiresidue analysis of over 200 pesticides in cereals using a QuEChERS and gas chromatography–tandem mass spectrometry-based method. Food Chem. Juillet 2015;169:372-80.

Hennion M-C. Solid-phase extraction: method development, sorbents and coupling with liquid chromatography. J Chromatogr A. 1999;856:3-54.

Hercegová A, Dömötörová M, Matisová E, Kirchner M, Otrekal R, Štefuca V. Fast gas chromatography with solid phase extraction clean-up for ultratrace analysis of pesticide residues in baby food. J Chromatogr A. Décembre 2004;1084:46-53.

Hernández F, Pozo O.J, Sancho J.V, Bijlsma L, Barreda M, Pitarch E. Multiresidue liquid chromatography tandem mass spectrometry determination of 52 non gas chromatographyamenable pesticides and metabolites in different food commodities. J Chromatogr A. Janvier 2006;1109:242-52.

Hernandez F, Sancho J.V, Pozo O J .Critical Review of the Application of Liquid Chromatography to the Determination of Pesticide Residues in Biological Samples. Anal Bioanal Chem. Mai 2005;382:934-46.

Hoffmann E D, Charrette J, Stroobant V. Spectrométrie de masse, Cours et exercices corrigés, Dunod.1999.

Hoffmann E. et Stroobant V. Spectrométrie de masse: cours et exercices corrigés. 2005.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Hopfgartner G, Varesio E, Tschäppät V, Grivert C, Bourgogne E, Leuthold L A. Triple quadrupole linear ion trap mass spectrometer for the analysis of small molecules and macromolecules. J of mass spectrom. Août 2004;39:845-55.

ID EL MOUDEN O. Quantification des résidus de pesticide sur la tomate et le poivron et l'étude de la dégradation de Difénoconazole sous l'effet de photo-oxydants atmosphériques à l'interface solide/gaz. Thèse en Cotutelle : Ecole nationale des sciences appliquées d'Agadir et l'université de Reims Champagne-Ardenne. 2010.

IFEN, 2004. Les pesticides dans les eaux : sixième bilan annuel, données 2002. Institut Français de l'ENvironnement (www.ifen.fr).

INCa. Risques de cancers et pesticides. Fiches repère. INCa 2009.6p.

INDEX phytosanitaire ACTA. Le réseau des instituts des filières animales et végétales. 50ème édition 2014. (France).

I.P.P.U.A : INDEX des produits phytosanitaires à usage agricole. Ministère de l'agriculture, du développement rural et de la pèche ; Direction de la protection des végétaux et des contrôles techniques. Edition 2015. (Algérie).

INSERM Collectif (institut national de la santé et de la recherche médicale). Pesticides : effets sur la santé. Collection « Expertise collective ». Edition INSERM, Paris 2013. Ce document peut être consulté sur le site : www.inserm.fr/content/.../Expertise+Pesticides+synthèse+2013+VF.pdf

INVS Institut de veille sanitaire, pesticides pyréthrinoïdes 2011. Ce document peut être consulté sur le site : http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Environnement-etsante/Biosurveillance/Index-de-A-aZ/P/Pesticides-pyrethrinoides.

J.O.R.A.D.P : JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE N°13 DU 09/03/2014. Décret exécutif n°14-96 du 2 Joumada El Oula 1435 correspondant au 4 mars 2014 modifiant et complétant le décret exécutif n°11-125 du 17 Rabie Ethani 1432 correspondant au 22 mars 2011 relatif à la qualité de l'eau de consommation humaine.

Juan-García A, Picó Y, Font G. Capillaryelectrophoresis for analyzing pesticides in fruits and vegetables using solid-phase extraction and stir-bar sorptive extraction.J Chromatogr A. 2005;1073:229-36.

Juricek L, Coumoul X. Alimentation, pesticides et pathologies neurologiques. Cah Nutr Diét. Mars 2014 ;49:74-80.

Keegan J, Whelan, M, Danaher M, Crooks S, Sayers R, Anastasio A , et al. Benzimidazole carbamate residues in milk: Detection by Surface Plasmon Resonance-biosensor, using a

modified QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) method for extraction. Anal Chim Acta. Septembre 2009; 654:111–19.

Kenborg L, Lassen CF, Lander F, Olsen JH. Parkinson's disease among gardeners exposed to pesticides – a Danish cohort study. Scand J Work Environ Health. 2012;38(1):65–69.doi:10.5271/sjweh.3176

Kittlaus S, Schimanke J, Kempe G, Speer K. Development and validation of an efficient automated method for the analysis of 300 pesticides in food using two-dimensional liquid chromatography-tandem mass spectrometry. J Chromatogr A. Février 2013;1283:98-109.

Kittlaus S, Schimanke J , Kempe G, Speer K. Assessment of sample cleanup and matrix effects in the pesticide residue analysis of foods using postcolumn infusion in liquid chromatography-tandem mass spectrometry. J Chromatogr A. Septembre 2012;1218:8399-8410.

Kloepfer A, Quintana J B, Reemtsma T. Operational options to reduce matrix effects in liquid chromatography-electrospray ionization-mass spectrometry analysis of aqueous environmental samples. J Chromatogr A. Décembre 2005;1067:153-60.

Kmellár B, Fodor P, Pareja L, Ferrer C, Martínez-Uroz M A, Valverde A, Fernandez-Alba A R . Validation and uncertainty study of a comprehensive list of 160 pesticide residues in multi-class vegetables by liquid chromatography–tandem mass spectrometry. J Chromatogr A. Novembre 2008;1215:37-50.

Kmellár B, Pareja L, Ferrer C, Fodor P, Valverde A, Fernandez-Alba A R. Study of the effects of operational parameters on multiresidue analysis by LC-MS/MS. Talanta. Décembre 2011;84:262-73.

Knežewvić Z, Serdar M. Screening of fresh fruit and vegetables for pesticide residues on Croatian market. Food Control. Juillet 2008; 20:419-22.

Kung Te-An, Tsai C-W, Ku B C, Wang W-H. A generic and rapid strategy for determining trace multiresidues of sulfonamides in aquatic products by using an improved QuEChERS method and liquid chromatography–electrospray quadrupole tandem mass spectrometry. Food Chem. Novembre 2014;175:189–96.

Kwon H, Lehotay S J, Geis-Asteggiante L . Variability of matrix effects in liquid and gas chromatography-mass spectrometry analysis of pesticide residues after QuEChERS sample preparation of different food crops. J chromatogr A. Novembre 2012;1270: 235-45.

Lacina O, Urbanova J, Poustka J, Hajslova J. Identification/quantification of multiple pesticide residues in food plants by ultra-high-performance liquid chromatography-time-of-flight mass spectrometry. J Chromatogr A. Décembre 2009;1217:648-59.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Lambropoulou D A, Albanis T A. Liquid-phase micro-extraction techniques in pesticide residue analysis. J. Biochem. Biophys. Methods. Octobre 2006;70:195-228.

Lavagnini I, Urbani A, Magno F. Overall calibration procedure via a statistically based matrix-comprehensive approach in the stir bar sorptive extraction–thermal desorption–gas chromatography–mass spectrometry analysis of pesticide residues in fruit-based soft drinks. Talanta. Décembre 2010 ; 83 :1754–62.

Lebailly P,Niez E, Baldi I. Données épidémiologiques sur le lien entre cancers et pesticides. Oncologie. 2007;9:361-69.

Lee WJ, Hoppin JA, Blair A, Lubin J H, Dosemeci M, Sandle D P et al. Cancer Incidence among Pesticides Applicators Exposed to Alachlor in the Agricultural Health Study.Am J Epidemiol. Juillet 2003;159:373-80.

Lehotay S J. Supercritical fluid extraction of pesticides in foods. J Chromatogr A. 1997;785:289-312.

Lehotay S J, Hajšlová J. Application of gas chromatography in food analysis. Trends in analytical chemistry. 2002;21:686-97.

Lehotay S J, HIEMSTRA M, VAN BODEGRAVEN P, DE KOK A. Validation of a fast and easy method for the determination of more than 200 pesticide residues in fruits and vegetables using gas and liquid chromatography and mass spectrometric detection. J. AOAC Int. 2005a;88:595–614.

Lehotay S J, MASTOVSKÁ K, LIGHTFIELD A. R. Use of buffering to improve results of problematic pesticides in a fast and easy method for residue analysis of fruits and vegetables. J. AOAC Int. Octobre 2005 b; 88:615–29.

Lehotay S.J. Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate: collaborative study. J AOAC Int. Mars 2007 ; 90 :485-520.

Lewan E, Kreuger J , Jarvis N. Implications of precipitation patterns and antecedent soil water content for leaching of pesticides from arable land. Agr Water Manage. Juillet 2009;96:1633-40.

Liška I, Slobodník J. Comparison of gas and liquid chromatography for analysing polar pesticides in water samples. J Chromatogr A. Mai 1996;733:235-58.

Liu Y, Guo Y, Zhu G, Tang, F. Enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of five organophosphorus pesticides in camellia oil. J Food Protect. Juillet 2014; 77: 1178-83.
Liška I, Slobodník J. Comparison of gas and liquid chromatography for analysing polar pesticides in water samples. J Chromatogr A. Mai 1996;733:235-58.

Liu Y, Guo Y, Zhu G, Tang, F. Enzyme-linked immunosorbent assay for the determination of five organophosphorus pesticides in camellia oil. J Food Protect. Juillet 2014; 77: 1178-83.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Loi N° 87-17 du 1er AOUT 1987 (J.O.R.A.D.P N° 32 du 05 Aout 1987) relative à la protection phytosanitaire : Titres I à V ; contrôle des produits phytosanitaires. p 804.

Louchart X, Voltz M, Andrieux P. Dynamique de la mobilisation et du transfert du diuron par ruissellement in situ.Géosciences de surface. Juillet 2000;475-481.

Lozano A, Lukasz R, Samanta U, Belmonte-Valles N, Milagros M, Fernández-Alba A R. Evaluation of zirconium dioxide-based sorbent to decrease the matrix effect in avocado and almond multiresidue pesticide analysis followed by gas chromatography tandem mass spectrometry. Talanta. Octobre 2014;118:68-83.

Martendal E, Budziak D, Carasek, E. Application of fractional factorial experimental and Box-Bhhnken designs for optimization of single-drop microextraction of 2,4,6-trichloroanisole and 2,4,6-tribromoanisole from wine samples. J Chromatogr A. Février 2007;1148:131-36.

Maŝtovská K, Lehotay S J . Rapid sample preparation method for LC–MS/ MS or GC–MS analysis of acrylamide in various food matrices.J. Agric. Food Chem. Août 2006;54:7001-08.

Mavura W J, Wangila P T. Distribution of pesticide residues in various lake matrices: water, sediment, fish and algae, the case of lake Nakuru, Kenya. THE AFRICAN NETWORK FOR CHEMICAL ANALYSIS OF PESTICIDES (ANCAP). Inaugural conference proceedings. Analysis of Pesticides for a Better Environment, Public Health and Competitive AgriculturalandAquaticExports.8th – 11th August 2004. Arusha International Conference Centre .ARUSHA – TANZANIA.

Mawussi G, (2008). Bilan environnemental de l'utilisation de pesticides organochlorés dans les cultures de coton, café et cacao au Togo et recherche d'alternatives par l'évaluation du pouvoir insecticide d'extraits de plantes locales contre le scolyte du café (HypothenemushampeiFerrari). Ecole doctorale : Sciences de la Matière, Unité de recherche : EcoLab UMR 5245 – LCA. Directeur(s) de Thèse : Georges MERLINA, Komla SANDA.

McCarthy J E, Zachara J M. Subsurface transport of contaminants-mobile colloids in the subsurface environment may alter the transport of contaminants. Environ. Sci. Technol. 1985; 23:496-502.

Mercader J V, Agulló C, Esteve-Turrillas F A, Abad-Somovilla, Abad-Fuentes A. Immunoassays for pyraclostrobin analysis in processed food products using novel monoclonal antibodies and QuEChERS-based extracts. Food Control. Décembre 2012; 32:42-48.

Mercader J V, López-Moreno R , Esteve-Turrillas F A, Agulló C, Abad-Somovilla A, Abad-Fuentes A. Sensitive monoclonal antibody-based immunoassays for kresoxim-methyl analysis in QuEChERS-based food extracts. J Agr Food Chem. Mars 2014a; 62:2816-21.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Mercader J V, López-Moreno R, Esteve-Turrillas F A, Abad-Somovilla , Abad-Fuentes A. Immunoassays for trifloxystrobin analysis. Part II. Assay development and application to residue determination in food. Food Chemistry. Avril 2014;162:41-46.

Ministère de l'Environnement Canada. Utilisation des pesticides en zones forestières et industrielles- Manuel de Sécurité. Unité de gestion des pesticides, Canada. 1ère édition 1999.

Mostafalou S, Abdollahi M. Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives. Toxicol Appl Pharm. Janvier 2013;268:157-77.

Multigner L. Effets retardés des pesticides sur la santé humaine. Environnement, risques et santé. mai-juin 2005 ; 4:187-94.

Mwevura H, (2000). Study on the levels of organochlorine pesticide residues from selected aquatic bodies of Tanzania, Tanzania: University of Dar es Salaam.

Ndao T. Etude des principaux paramètres permettant une évaluation et une réduction des risques d'exposition des opérateurs lors de l'application de traitements phytosanitaires en culture maraîchère et cotonnière au Sénégal. Dissertation originale présentée en vue de l'obtention du grade de docteur en sciences agronomiques et ingénierie biologique Académie Universitaire Wallonie-Europe, Faculté Universitaire des Sciences Agronomiques de Gembloux. 2008.

Newsome W H, Collins P. Multiresidue method for fungicide residues in fruit and vegetables. J chromatogr. Mars 1989 ; 472:416-21.

Neghab M, Momenbella-Fard M, Naziaghdam R, Salahshour N, Kazemi M, Alipour H. The effects of exposure to pesticides on the fecundity status of farm workers resident in a rural region of Fars province, southern Iran. Asian Pac J Trop Biomed. 2014 ;4 :324-28.

Niessen W M A, Manini P , Andreoli R. Matrix effects in quantitative pesticide analysis using liquid chromatography–mass spectrometry. Mass Spectrom Rev. Juin 2006;25:881-99.

Nunes G S, Toscano I A, Barceló D. Analysis of pesticides in food and environmental samples by enzyme-linked immunosorbent assays. Trends Anal. Chem. 1998;79–87.

Núñez O, Gallart-Ayala Héctor,Martins C P B, Lucci Paolo. New trends in fast liquid chromatography for food and environmental analysis. JChromatogrA. Novembre 2011;1228:298-323.

Nwankwoalaet A U, Osibanjo O. Baseline levels of selected organochlorine pesticides in surface waters in Ibadan (Nigeria) by electron capture gas chromatography.Sci.Total Environ. Juillet 1991 ;119 :179–90.

Observatoire des Résidus de Pesticides : les pesticides / historique. Disponible sur le site http://www.observatoire-pesticides.gouv.fr/index.php?pageid=61 Consulté le 20/12/2016

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Observatoire des Résidus de Pesticides : les pesticides/Réglementation/limite de qualité/eaux. Disponible sur le site http://www.observatoire-pesticides.fr/index.php?pageid=348. Consulté le 20/12/2016.

Obana H, Okihashi M, Akutsu K, Kitagawa Y, Hori S. Determination of néonicotinoïde pesticide residues in vegetables and fruits with solid phase extraction and liquid chromatography mass spectrometry. J. Agric. Food Chem. Mars 2003;51:2501-05.

Oliva A, Spira A, Multigner L. Contribution of environmental factors to the risk of male infertility. Hum Reprod. Mars 2001 ; 16:1766-76.

Papadakis E N, Vryzas Z, Papadopoulou-Mourkidou E. Rapid method for the determination of 16 organochlorine pesticides in sesame seeds by microwave-assisted extraction and analysis of extracts by gas chromatography–mass spectrometry. J Chromatogr A. Juin 2006;1127: 6–11.

Parrón T, Requena M, F. Hernández A, Alarcón R. Environmental exposure to pesticides and cancer risk in multiple human organ systems. Toxicology letters. Novembre 2014 ;230 :157-65.

Patrushev Y V, Sidelnikov V N. The properties of capillary columns with silica organic-inorganic MCM-41 type porous layer stationary phase. J Chromatogr A. Mai 2014;135:103-109.

Periquet A, Boisset M, Casse F, Catteau M, Lecerf JM, Leguille C et al. Pesticides, risques et sécurité alimentaire. Agence pour la recherche et l'information en fruit et légumes frais(Aprifel) 2004.

Perry. J M, A. Venners S, Chen X, Liu X, Tang G, Xing H et al. Organophosphorous pesticide exposures and sperm quality. Reproductive toxicology. Septembre 2011;31:75-79.

Picó Y, Blasco C, Font G. Environmental and food applications of LC-tandem mass spectrometry in pesticide-residue analysis: an overview. Mass Spectrom Rev. Juillet 2004;23:45–85.

Pihlström T, Blomkvist G, Friman P, Pagard U, Österdahl B.G. Analysis of pesticides residues in fruit and vegetables with ethyl acetate extraction using gas and liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection. Anal Bioanal Chem. Juillet 2007;389:1773-89.

Plössl F, Giera M, Bracher F. Multiresidue analytical method using dispersive solid-phase extraction and gas chromatography/ion trap mass spectrometry to determine pharmaceuticals in whole blood. J Chromatogr A. Octobre 2006;1135:19–26.

PNM : Plan National de Mise en œuvre Algérie-Convention de Stockholm. Projet POP'S-Algérie GF/ALG/02/001. Ministère de l'Aménagement du Territoire et de l'Environnement. 2006.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Pons N, Barriuso E. Fate of metsulfuron-methyl in soils in relation to pedo-climatic conditions. Pestic. Sci. Avril 1998;53:311-323.

Popp P, Kalbitz K, Oppermann G. Applicaton of solid-phase microextraction and gas chromatography with electron-capture and mass spectrometric detection for the determination of hexachlorocychohexanes in soil solutions for the determination of hexachlorocychohexanes in soil solutions. J Chromatogr A. Août 1994;687:133–40.

Portolés T, Johannes G J M , Sancho J V, Félix H. Use of electron ionization and atmospheric pressure chemical ionization in gas chromatography coupled to time-of-flight mass spectrometry for screening and identification of organic pollutants in waters. J Chromatogr A. 2014 Mars;1339:145–153.

Ramade F., 1998. Dictionnaire encyclopédique des sciences de l'eau. Ediscience International, Paris.

Ramalhosa M J, Paíga P, Morais S, Delerue-Matos C, Oliveira M B P P. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in fish: Evaluation of a quick, easy, cheap, effective, rugged, and safe extraction method. J. Sep. Sci. Août 2009;32:3529–38.

Reemtsma T, Alder L, Banasiak U. Emerging pesticide metabolites in groundwater and surface water as determined by the application of a multimethod for 150 pesticide metabolites. Water Res. Octobre 2013 ; 47:5535-45.

Règlement d'exécution (UE)n° 541/2011 du 01/06/11 modifiant le règlement d'exécution (UE) n° 540/2011 portant exécution du règlement (CE) n° 1107/2009 du Parlement Européen et du Conseil ce qui concerne la liste des substances actives approuvées. Disponible sur : http://www.ineris.fr/aida/consultation_document/289 consulté le 20/07/2016.

RÈGLEMENT (CE) n° 1107/2009 du Parlement Européen et du Conseil du 21 octobre 2009 Concernant la mise sur le marché des produits phytopharmaceutiques et abrogeant les directives
79/117/CEE et 91/414/CEE du Conseil. Disponible sur : http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:309:0001:0050:FR:PDF consulté le 20/07/2016.

Règlement (CE) N° 396/2005 du Parlement européen et du Conseil du 23 février 2005 concernant les limites maximales applicables aux résidus de pesticides présents dans ou sur les denrées alimentaires et les aliments pour animaux d'origine végétale et animale et modifiant la directive 91/414/CEE du Conseil. Disponible sur le site : http://eur-lex.europa.eu/legal-content/FR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32005R0396&from=FR consulté le 20/07/2016.

Regnault-Roger C, Philogène B.J.R. Evolution des insecticides organiques de synthèse. In : Regnault-Roger C, coordinateur. Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement. Paris: TEC & DOC; 2005. p. 19-43.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Rissato S R, Galhiane M S, Knoll F R N, Apon B M. Supercritical fluid extraction for pesticide multiresidue analysis in honey: determination by gas chromatography with electron-capture and mass spectrometry detection. J Chromatogr A. Juillet 2004;1048:153-59.

Ricoux C. Evaluation de l'exposition aérienne aux pesticides de la population générale. Etude en air extérieur dans quatre sites de l'Hérault en 2006. InVS. 2009. 55 p.

Root M. Biological monitors of pollution. BioScience. 1990; 40:83-6.

Rosset R, Caude M, Jardy A. Chromatographie en phase liquide et supercritique. Lavoisier 1991.

Sabik H, Jeannot R, Rondeau B. Multiresidue methods using solid-phase extraction techniques for monitoring priority pesticides, including triazines and degradation products, in ground and surface waters. J Chromatogr A. 2000; 885:217–36.

SANCO/12571/2013. European commission health & consumer protection directorate-gener Safety of the food chain Chemicals, contaminants, pesticides. Guidance document on analytical quality control and validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. 2013.

SANTE, Guidance document SANTE/11945/2015 rev. 0 on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed, 2015, pp.1-46.

Sanglier S. Cours spectrométrie de masse. Laboratoire de spectrométrie de Masse Bio Organique. Strasbourg. Octobre 2005.

Santos FJ, Galceran M T. The application of gas chromatography to environmental analysis. Trends in Anal Chem. 2002 ; 21:672-85.

Schiavon M, Perrin-Ganier C, Portal Jm. La pollution de l'eau par les produits phytosanitaires : état et origine. Agronomie, EDP Sciences, 1995 : 157-70.

Schinasi L H, J. De Roos A, Ray R M, Edlefsen K L, G.Parks C, Howard B V*et al*. Insecticide exposure and farm history in relation to risk of lymphomas and leukemias in the women's health initiative observational study cohort. Annals of epidemiology. Août 2015;25 :803-10.

Senhaji S. Etude de la libération, de la photodégradation et l'adsorption des pesticides en utilisant des systèmes de libération contrôlée. Thèse de doctorat de 3ème cycle, Université Hassan II, Faculté des sciences Ain Chock-Casablanca. 1996.

Shalat S L, Robson M G, Moh S N. Agricultural Workers. Textbook of Clinical Occupational and Environmental Medicine (Second Edition), 2005, 193-200.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Sharma T, Dev Banerjee B, Phil M, Mazumdar D, Tyagi V, Thakur G, et al. Association of organochlorine pesticides and risk of epithelial ovarian cancer: A case control study. International Journal of Pediatrics and Adolescent Medicine.2015,doi: 10.1016/j.jrhm.2015.01.006.

Stachniuk A, Emilia F. Liquid chromatography-Mass spectrometry in the analysis of pesticide residues in food.Food Anal.Methods. Octobre 2015. This article is published with open access at Springerlink.com

Stubbings G, Bigwood T. The development and validation of a multiclass liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC–MS/MS) procedure for the determination of veterinary drug residues in animal tissue using a QuEChERS (QUick, Easy, CHeap, Effective, Rugged and Safe) approach. Anal Chim Acta. Janvier 2009; 637:68–78.

Singh S B, Foster G D, Khan S. U. Microwave-assisted extraction for the simultaneous determination of thiamethoxam, imidacloprid, and carbendazim residues in fresh and cooked vegetable samples. J. Agric. Food Chem. Novembre 2003;52:105–09.

Taghavi L , Probst J-L , Merlina G , Marchand A-L , Durbe G , Probst A. Flood event impact on pesticide transfer in a small agricultural catchment (Montoussé at Auradé, south west France).Int. J. Environ. Anal. Chem. Mars 2010;90:390–405. http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03067310903195045.

Tankiewicz M, Fenik J, Biziuk M. Determination of organophosphorus and organonitrogen pesticides in water samples. Trends Anal Chem. 2010;29:1050-63.

Tang Y, Fang G, Wang S, Sun J, Qian K. Rapid determination of metolcarb residues in foods using a biomimetic enzyme-linked immunosorbent assay employing a novel molecularly imprinted polymer film as artificial antibody. J AOAC Int. Avril 2013; 96: 453-58.

Teejet Technologies : Disponible sur le site : http://teejet.it/french/home/tech-support/nozzle-technical-information/spray-tip-wear.aspx

Tiemann U.*In vivo* and *in vitro* effects of the organochlorine pesticides DDT, TCPM, methoxychlor, and lindane on the female reproductive tract of mammals: A review. Reprod Toxicol. 2008;25:316-26.

Timperman A T, Reschke Brent, Kelly Kathleen. Liquid Chromatography. Encyclopedia of Microfluidics and Nanofluidics. DOI 10.1007/978-3-642-27758-0_812-2 .

Tissut M, Delval P, Mamarot J, Ravanel P. Plantes, herbicides et désherbage. Acta. 2006.

Tiwari M K, Guha S. Kinetics of biotransformation of chlorpyrifos in aqueous and soil slurry environments. Water Res. Décembre 2014;51: 73-85.

Torres C M, Picó Y, Mañes J. Determination of pesticide residues in fruit and vegetables. J Chromatogr A. 1996;754:301-11.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Tranchant J. Chromatographie en phase gazeuse. Techniques de l'ingénieur. 1996

Tranchant J. Manuel pratique de chromatographie en phase gazeuse. Edition Masson 2004.

Tron I, Piquet O, Cohuet S. Effets chroniques des pesticides sur la santé : état actuel des connaissances. ORS Bretagne. Janvier 2001.

Tron I, Ferragu C, Bompays S. Pesticides et santé : état des connaissances sur les effets chroniques en 2009. Programme Régional Santé Environnement PRSE Bretagne. Mai 2010.

Uclés A, López S H,Reichert B,Lozano A,Guil Hernando M D, Fermández-Alba A R. Microflow liquid chromatography coupled to mass spectrometry-an approach to significantly increase sensitivity, decrease matrix effects and reduce organic solvent usage in pesticide residues analysis. Anal. Chem. 2014 DOI: 10.1021/ac505852.

Ueno, E., Oshima, H., Saito, I., Matsumoto, H., Yoshimura, Y., & Nakazawa, H. Mutliresidue analysis of pesticides in vegetables and fruits by gas chromatography/mass spectrometry Jul-Aug 2004;87(4):1003-15.

Université de Lille 1. UFR de chimie. Disponible sur le site : http://atechimie.univ-lille1.fr/Chromatographie-Phase-Liquide/Detecteurs/Electrospray-Spectrometre+de+masse/

Van der Hoff G R, Zoonen P V. Trace analysis of pesticides by gas chromatography. J Chromatogr A.1999;843:301-22.

Van Maele-Fabry G, Lantin A-C, Hoet P, Lison D. Residential exposure to pesticide and childhood leukaemia: A systematic review and meta-analysis. Environment Int. 2011;37:280-91.

Villaverde J J, Sevilla-Morán B, López-Goti C, Alonso-Prados J L, Sandín-España P. Trends in analysis of pesticide residues to fulfil the European Regulation (EC) No. 1107/2009. TrAC Trends in Analytical Chemistry. Juin 2016;80:568-80.

Wardencki W, Michulec M, Curyło J. A review of theoretical and practical aspects of soild-phase microextraction in food analysis. Int J Food Sci Tech. Avril 2004;39:703–17.

Whorton D, Milby TH, Krauss RM, Stubbs HA. Testicular function in DBCP exposed pesticide workers. J Occup Med. 1979; 2:161-6.

WHO. FAO. Note commune à l'intention des médias. Les enfants sont exposés à des risques élevés d'intoxication par les pesticides. 2004. Disponible sur : http://www. wwho.int/mediacentre/news/notes/2004/np19/fr/print.html. Consulté en décembre 2016.

Wick A, Fink G, Ternes T A. Comparaison of electrospray ionization and atmospheric pressure chemical ionization for multi-residue analysis of biocides, UV-filters and

benzothiazoles in aqueous matrices and activated sludge by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. . J Chromatogr A. Février 2010;1217:2088-2103.

Wilkowska A, Biziuk M. Determination of pesticide residues in food matrices using the QuEChERS methodology. Food Chem. Septembre 2010;125:803-12.

Worrall F, Besien T. The vulnerability of groundwater to pesticide contamination estimated directly from observations of presence or absence in wells. J Hydrol. Août 2004;303:92-107.

Xiao Q, Hu B, Yu C, H., Xia L,Jiang Z. Optimization of a single-drop microextraction procedure for the determination of organophosphorus pesticides in water and fruit juice with gas chromatography-flame photometric detection. Talanta. Décembre 2005; 69: 848–855.

Xue Y, Gu X, Wang Y, Yan C. Recent advances on capillary columns, detectors, and two-dimensional separations in capillary electrochromatography. Electrophoresis. Août 2014; 36: 124-34.

Yaduraju N.T. Influence of soil environmental factors on the efficacy of herbicides. In Prasad D., Gaur H.S., Soil Environment Pesticides, Vedams books Ldt 1994, New-Delhi, 265-292.

Yang E-Y, Shin H-S. Trace level determinations of carbamate pesticides in surface water by gas chromatography–mass spectrometry after derivatization with 9-xanthydrol. J Chromatogr A. Juillet 2013; 1305: 328–332.

Yuan L, Liu B, Yin K, Yang G, Huang L, Nie Y. Biotin-Streptavidin-enhanced Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Determination of Parathion-Methyl in Vegetables. Anal Lett. Mai 2013; 46:1084-96.

Zhao E, Han L, Jiang S, Wang Q, Zhou Z. Application of a single-drop microextraction for the analysis of organophosphorus pesticides in juice. J Chromatogr A. Mai 2006; 1114:269–73.

Zhang P, Qin S, Qi M, Fu R. Cucurbit[n]urils as a new class of stationary phases for gas chromatographic separations. J Chromatogr A. 2014; 1334:139-148.

Zimmer D. Introduction to Quantitative Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (LC-MS-MS). Chromatographia Supplement. 2003; 57: S-325-332.

Zuin V G, Schellin, M, Montero L, Yariwake J H, Augusto F,Popp P. Comparisonof stir bar sorptive extraction and membrane-assisted solvent extraction as enrichment techniques for the determination of pesticide and benzo[a]pyrene residues in Brazilian sugarcane juice. J Chromatogr A. Mai 2006;1114: 180–87.

Annexe 1 : EXEMPLES D'APPLICATIONS D'ANALYSE DE PESTICIDES DANS LES EAUX PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE.

Matrices	Analytes	Extraction Purification	Ionisation Détection	LOQ et LOD	Références
Echantillons d'eaux	4 pesticides triazoles	DCF-EME	CG-MS	LOD: 0.14-1.04µg/L LOQ: 0.46-3.46 µg/L	Yao F, et al. (2016)
Sol et eaux	15 pesticides organochlorés	QuEChERs et SPE	APG-QTOF-MS	LOD: < 3.00µg/L LOQ: 9.99µg/L	Cheng Z, et al. (2016)
Eaux de rivière	8 pesticides organochlorés	SPME avec fibres de liège	CG-ECD	LOQ : 1-10 ng/L LOD : 0.3-3 ng/L	Neves Dias A., et al. (2015)
Eaux du robinet et eaux de rivière	11 herbicides et 5 insecticides	DSPE avec du graphène	CG-MS et LC-MS/MS	LOD : 0.03-0.40 µg/L	Wu, X.L., et al. (2015)
Eaux de rivière Eaux canalisées Eaux des terres agricoles	9 pesticides organochlorés	SFO-LPME	CG-ECD	LOD : 0.24-0.78 ng/L	Li, X.-X., et al.(2014)
Echantillon d'eau	Pesticides organochlorés	DLLME-SFO	CG-ECD	LOD : 0.1-0.39 ng/L	Mirzaei, M., et al. (2014)
Eaux de surface	304 pesticides	DLLME	CG-MS	LOD : 0.001-1.125 µg/L LOQ : 0.003-3.75 µg/L	Chen, B., et al. (2014)
Eaux souterraine	10 pesticides	SPE (Oasis HLB cartouches)	CG-(EI) TOF MS et CG-(APCI) QTOF MS		Portolés, T., et al. (2014)
Echantillons d'eau	5 pesticides	UA-DLLME-SFO	CG-FID	LOD : 0.11-0.48 µg/L	Wang, W., et al. (2014)
Eaux souterraine	4 pesticides organochlorés	SPE-HLB	CG-MS		El-Osmani, R., et al. (2014)
Eaux du robinet Eaux de surface Eaux souterraine	2 pesticides : Deltaméthrine et Perméthrine	HLLME-Flotation assistance	CG-FID	LOD : 0.2-0.3 µg/L	Haddadi, H., et al. (2014)
Echantillons d'eau	6 pesticides organophosphorés	SDME avec micro seringue	CG-NPD	LOD : 0.012-0.020 µg/L	Tian, F., et al. (2014)
Eaux de puits	7 pesticides perturbateurs endocriniens	SFODME			Pelit, F.O., et al. (2014)
Eaux douces	Pesticides ciblés	SBSE	CG-MS/MS	LOQ : 2.5-50 ng/L	Assoumani, A., et al. (2014)
Echantillons d'eau	Pesticides organophosphorés	D-µ-SPE avec CNPrTEOS-MTMOS	CG-MS	LOD : 0.01-0.004 µg/L	Muhamad, N., et al. (2014)
Eaux de barrage Eaux de lagune Eaux de rivière	Pesticides organophosphorés	SPE en extraction magnétique	CG-IT-MS	LOD : 3-15 ng/L	Nedaei, M., et al. (2014)

Matrices	Analytes	Extraction Purification	Ionisation Détection	LOQ et LOD	Références
Echantillon d'eau	9 pesticides	SDME	CG-ECD	LOD : 5.9-58.9 ng/L	Soares, C.E.S., et al. (2014)
Eaux de surface	10 pyréthrinoïdes et 2 organophosphorés	ASE, C18 et SG	CG-MS/MS EI +	LOD : 6-200 pg/L	Moschet, C., et al. (2014)
Eaux de rivière	4 pesticides	SDME	CG-MS	LOD : 0.03-1.39 µg/L	Araujo, L., et al. (2013)
Eaux de robinet Eaux de rivière	3 pesticides organochlorés et 4 trihalométhanes	DI-HS-SPME	CG-MS-SIM	LOQ : 0.02-2.0 µg/L pour les pesticides	Merib, J., et al. (2013)
Eaux de surface	5 pesticides carbamates	Extraction après dérivation par du 9-xanthydrol	CG-MS	LOD : 0.002-0.009 µg/L LOQ : 0.007-0.028 µg/L	Yang, E-Y., et al. (2013)
Eaux de rivière Eaux industrielles	Pesticides ciblés	SPE	CG-QqQ-MS/MS	LOD : 0.01-0.25 µg/L	Martins, M.L., et al. (2013)
Eaux de surface Eaux de mer Eaux usées	76 composés (3 pesticides)	HS-SPME avec fibres PDMS/DVB	CG-MS	LOD : 0.010-0.017ng/L LOQ : 0.033-0.060ng/L	Martínez, C., et al. (2013)
Eaux de puits	5 pesticides perturbateurs endocriniens	HS-SPME avec fibres au polythiophène	CG	LOD : 0.02-0.64 ng/L	Pelit, L., et al. (2013)
Eaux de surface	20 pesticides	SPE	CG-MS	LOD : 0.001-0.5 µg/L LOQ : 0.005-1 µg/L	Peček, G.a., et al. (2013)
Eaux de boisson	14 pesticides	SDME	CG-ECD	LOD : 0.003-0.6 mg/L	Carlos, E.A., et al.(2013)
Eaux du robinet Eaux de rivière Eaux minérales	Pesticides organophosphorés[a] et carbamates[b]	DLLME	CG-MS	LODa : 0.02µg/L LOD b : 0.04µg/L	Sousa, R., et al. (2013)
Eaux de rivière Eaux du robinet Eaux de lacs	Multiples pesticides	UA-DLLME	CG-FID	LOD : 0.09-0.57µg/L en fonction des pesticides	Cui, S., et al. (2013)
Eaux de boisson	Pesticides organochlorés, organophosphorés et organo-azotés	SBSE	CG-QqQ-MS		Camino-Sánchez, F.J., et al. (2013)
Eaux de surface	Insecticide : Fipronil et ses 3 métabolites	SPE	CG-ECD	LOD : 2.5 ng/l fipronil et 2.0ng/l pour métabolites	Kurz, M.H.S., et al. (2013)

Matrices	Analytes	Extraction Purification	Ionisation Détection	LOQ et LOD	Références
Echantillons d'eaux	Pesticides organophosphorés	MSPE	CG-MS	LOD : 1.8-5.0µg/L LOQ : 6.1-16.7µg/L	Xie, J., et al. (2013)
Eaux souterraines	2 pesticides et 2 produits de transformation.	SPME avec fibres	CG-EI-MS	LOQ : 0.015 µg/L	McManus, S-L., et al. (2013)
Echantillons d'eau de l'environnement et d'autres matrices	11 pesticides de différentes classes	MSPE avec mPPYs (nanofils)	CG-MS	LOQ : 0.09-0.29µg/L	Zhao, Q., et al. (2013)
Eaux pures Eaux fraiches Eaux de mer	Pesticides organophosphorés	SPDE	CG-TSD	LOD : 2.5-4 ng/L	Hu, H., et al. (2013)
Eaux souterraines Eaux de lac	5 pesticides organophosphorés	PDMS-PTH/SBSE	LD-LVI-CG-FPD	LOD : 0.011-0.038 µg/L LOQ :	Hu, C., et al. (2013)
Eaux de rivière	Pesticides organochlorés, organophosphorés, triazines, pyréthrinoïdes et chloroacétamides.	SPE/SPME	CG-MS	LOQ : 0.2-3.5 ng/L	Bonansea, R.I., et al. (2013)
Eaux minérales Eaux du robinet Eaux de ruissellement	12 pesticides et 3 métabolites	SPE-nanotubes de carbone à parois multiples	CG-NPD	LOD : 1.16-93.6 ng/L	González-Curbelo, M.Á. et al. (2013)
Echantillons d'eaux	DDT et ses métabolites.	SPE avec silicondioxide microsphere	CG-ECD	LOD : 2.2-4.1 ng/L	Zhou, Q.ab., et al. (2013)
Eaux de rivière Eaux de mer Eaux de pluie	16 pesticides de classes différentes	DI-SPME	CG-MS	LOD : 0.015-0.13µg/L	Tankiewicz, M., et al. (2013)
Echantillons d'eaux	PCBs, PAHs, PBDEs, pesticides organochlorés	LLE	CG-QqQ-MS/MS	LOD : 0.75-19.8ng/L	Retamal, M., et al. (2013)
Echantillons d'eaux	8 pesticides organochlorés	SPE avec graphène	CG-MS	LOD : 1.95-9.38ng/L	Han, Q., et al. (2013)
Eaux souterraine	34 pesticides	SPE	CG-MS	LOD : 1-37 ng/L	Herrero-Hernández, E., et al. (2012)
Eaux de rivière	39 pesticides	OASIS HLB cartridges-SPE	CG-MS	3.6-61.2 ng/L	Rocha, M.J., et al. (2012)
Eaux de rivière Eaux de pluie	5 pesticides organophosphorés	DLLME avec solvants non halogènes	CG-MS	LOD : 3.3-8.0ng/L LOQ : 11.0-26.6ng/L	Cristina Henriques Alves, A., et al. (2012)

Eaux publique Eaux minérales	5 pesticides carbamates	SPME avec fibres PDMS/DVB	CG-QqQ-MS	LOD : 0.04-1.7ng/L LOQ : 0.64-2.9ng/L	Cavaliere, B., et al. (2012)
Eaux du robinet Eaux en bouteilles Eaux minérales	5 pesticides organophosphorés	SPE avec MTMOS-TEOS	CG-MS	LOD : 0.5-0.9pg/ml LOQ : 1-3pg/ml	Wan Aini Wan Ibrahim., et al. (2012)
Echantillons d'eaux	Pesticides organochlorés	HLLE	CG-ECD	LOD : 0.02-0.12ng/L	Rezaei, F., et al. (2012)
Echantillons d'eaux	Pesticides carbamates	LDS-USAEME et dérivatisation sur colonne	CG-MS	LOD : 0.01-0.1µg/L LOQ : 0.03-0.3µg/L	Guo, L., et al. (2012)
Eaux de boisson	16 pesticides organochlorés	SPME	CG-MS(SIS)* et CG-MS/MS**	LOD * : 0.2-6.6ng/L LOD** : 0.3-7.6ng/L	Lara-Gonzalo, A., et al. (2012)
Eaux usées	75 composés dont 25 pesticides	SPE avec Oasis-HLB et Florisil	LVI-PTV-CG-MS	--	Bizkarguenaga, E., et al. (2012)
Eaux de rivière Eaux usées Eaux de mer	17 pesticides	DLLME	LVI-PTV-CG-MS-MS	LODs : 0.1-50ng/L LOQs : 1-151ng/L	Carro, A.M., et al. (2012)
Eaux de rivière	2 pesticides (Cyperméthrine et Perméthrine)	SPE suivi de DLLME	CG-ECD	LODcyp : 0.48ng/L LODper : 3.81ng/L	Yan, H., et al. (2012)
Echantillons d'eaux	Pesticides organochlorés	Magnetic-SPE	CG-MS	LOQs : 0.006-0.048µg/L	Ozcan, S., et al. (2012)
Echantillons d'eaux Eaux de pluie	12 pesticides organophosphorés	VALLME	CG-MS en mode SIM	LODs : 2-11ng/L	Zacharis, C.K.ab., et al. (2012)
Eaux de boisson	47 pesticides organophosphorés	C18 soliddisk membrane	CG-PFPD	LOD : 0.006-0.35µg/L LOQ : 0.022-1.2µg/L	Yang, Y., et al.(2012)
Eaux de rivière Eaux de mer	87 pesticides	Cartouche SPE NH2	CG-MS	LOD : 0.1-6.6ng/L	Song, W., et al. (2012)
Matrices	Analytes	Extraction Purification	Ionisation Détection	LOD et LOQ	Références
Eaux agricole Eaux de puits	13 pesticides organophosphorés	SPE-DLLME	CG-FPD	LODs : 0.2-1.5ng/L	Samadi, S., et al. (2012)

ANNEXE 2 : **EXEMPLES D'APPLICATIONS D'ANALYSE DE PESTICIDES DANS LES MATRICES ALIMENTAIRES PAR CPL/SM ET CPL/SM-SM.**

Matrices	Analytes	Extraction Purification	Ionisation Détection	LDD et LDQ	Références
Mangues	20 pesticides	SDME	CG-IE-MS	LOD: 0.14-169.20 µg/kg	Pano-farias N.S et al., 2016
Tomates	46 pesticides	QuEChERS	LC-ECI-MS/MS	LOD : 0.0005-0.07mg/kg LOQ : 0.003-0.01mg/kg	Andrade G.C.R.M et al., 2015
Pommes, concombres, tomates, raisin et chou.	1 pesticide : Ametoctradin	QuEChERS	UPLC-MS/MS ESI+	LOD : 0.009-0.043µg/kg LOQ : 0.032-0.135µg/kg	Hu M et al., 2015
Fruits et légumes	60 pesticides	Acétonitrile-méthanol SPE	UHPLC/TOF-MS	LOD(Mangue) : 0.3-3.5µg/kg LOQ(Mangue) : 1.5-1.8µg/kg	Sivaperumal P et al., 2015
Viande, poisson et légumes (bébés)	350composés Pesticides et médicaments vétérinaires		UHPLC-QqQ-MS	LOD : 0.5-50µg/kg LOQ : 10-100µg/kg	Gómez-Pérez M.L et al., 2015
Poireau, thé et blé	323 résidus de pesticides 55 mycotoxines 11 toxines végétales	QuEChERS	HPLC-HRMS/MS	LOQs : < 10µg/kg pour 82% des matrices poireau 81% des matrices blé 61% des matrices thé.	Dzuman Z et al., 2015
Jus de pomme, pêche, poire et raisin	7 insecticides benzoylurées	ILSFOD-LLME	HPLC	LOD : 0.03-0.28µg/L	Yang M et al., 2014
Bananes, mûre, groseille et chou de Savoie	7 pesticides	HTpSPE	µL-FIA-TOF-MS		Oellig, C et al., 2014
Aliments pour bébés	333 composés (258 pesticides)	QuEChERS	UHPLC-ESI Q-orbitrap	LOD : 0.01-5.35µg/kg LOQ : 0.01-9.27µg/kg	Jia W et al., 2014
Pomme, Papaye et Fraise	1 produit de dégradation : Ethylènethiourée.		LC-MS/MS	LOD : 0.5µg/kg LOQ : 1.0µg/kg	Lemes V.R.R et al., 2014
Fruits	4 pesticides	QuEChERS	LTP-HR-MS	LOQ : 0.001-0.07mg/kg	Anastasia A et al., 2014
Tomates et poivrons vert	7 néonicotinoïdes hydrophiles	LLE-SPE	LC-MS/MS	RC poivrons : 0.015-0.27mg/kg RC Tomates : 0.017-0.31mg/kg	Takashi I et al., 2014

Fruits, poissons, abeilles et sédiments	54 pesticides	QuEChERS-SP Oasis HLB cartouches	UHPLC-LTQ-Orbitrap MS dd(MS^2) et MS^3	LODs(final extract) : 0.1-1ng/ml	Farré M et al., 2014
Céréales, pommes de terre bouillies, fruits et lait	10 pesticides systémiques	QuEChERS	LC-MS/MS		Angel Y et al., 2014

Tomates	2 insecticides : Pyriproxyfen[c] et Pyridalyl[d]	Acétate d'éthyle et Acétone. Colum chromatography	HPLC-UV[a] Fluorométrie[b]	LODa : 0.217ppm(c) 0.1866ppm(d) LODb : 0.146ppm(c) 0.078ppm(d)	Maha F et al., 2014
Miel	22 insecticides	QuEChERS	CG-MS/MS : Pyrazoles et pyréthrinoïdes HPLC-MS/MS : Néonicotinoïdes et Ethiprole	LOD : 0.07-0.2ng/g LOQ : 0.2-0.5ng/g	Delphine P et al., 2014
Ginseng	10 mycotoxines et 29 pesticides	Acétonitrile/eau Acide formique : (93 :33 :1,v/v/v)	UHPLC-ESI-MS/MS	LODs : 0.01-0.25ng/ml LOQs : 0.03-0.80ng/ml	Kuang Y et al., 2013
Fruits	46 pesticides	Acétate d'étyle, $MgSO_4$ et CH_3COONa SPE avec PSA	CG-µECD CG-FPD CL-MS/MS	LOQs : 1-8µg/kg	Jardim Oliveira A.N et al., 2014
Pomme(d) et fraise(e)	ETU[a] et PTU[b]	MSPD SLE + Envicarb II/PSA	HPLC/DAD[c] CG/MS	LOQc : 7a et 16b µg/kg e 11a et 25b µg/kg d	López-Fernández, O et al., 2014
Fruits	Diazinon, Qunalphos et Chlorpyrifos.	MIP-SPE	HPLC	LOD : 0.83-2.8µg/L	Mohd Marsin S et al., 2013
Pomme	5 pesticides carbamates	CNTs-HF-SPME	HPLC-DAD	LOD : 0.09-6.00ng/g	Song X-Y et al., 2013
Jus de raisin, eau de surface, concombre et tomate	5 pesticides triazoles	AALLME	CG-FID	LOD : 0.53-1.13ng/ml LOQ : 1.76-3.77ng/ml	Farajzadh M.A et al., 2013
Muscles de bœufs	1 pesticide	QuEChERS	LC-ESI^+_MS/MS	LOD : 1.5µg/kg LOQ : 5µg/kg	Park K.H et al., 2013
Pomme de terre et concombre	1 produit dégradation : ETU	QuEChERS modif : Extraction : Acétonitrile alcalin Séparation : colonne ZIC-pHILIC	HPLC-ESI-MS/MS mode : MRM	LOD : 0.002mg/kg LOQ : 0.005mg/kg	Zhou L et al., 2013

Germes de soja	3 fongicides	Acétonitrile et partitionnement à -80°c. Colonne YMC C_8	LC-ESI^+ -MS/MS Mode MRM	LOQ : 0.005-0.01mg/kg LOD : 0.002-0.003mg/kg	Cho S-K et al., 2013
Bananes	128 pesticides	QuEChERS modifiée	UHPLC-MS/MS	LOD : 5µg/kg sauf pour Fenamiphos et Mevinphos : 7.5µg/kg LOQ : 10µg/kg.	Carneiro R.P et al., 2013
Avocat Amandes	113 pesticides	QuEChERS modifiée avec d-SPE au ZrO_2 pour matrices riches en lipides	LC-QqQ-MS/MS (MRM)	LOQ : 10µg/kg sauf pour Cypromazine et Flufenoxuron : 50µg/kg	Rajski L et al., 2013
Céréales	19 triazines et produits de dégradation	Isotope dilution. LLE et clean-up avec MCX-SPE	HPLC-LIT-MS^3 mode (SRM)	CCαs : 0.0020-0.4200µg/kg CCβs : 0.0024-0.4500µg/kg	Li P et al., 2013
Légumes	176 pesticides	Acétonitrile. Méthode sans purification supplémentaire	UFLC-MS/MS Mode : MRM-IDA-ERI	LOD : 0.005-2µg/kg LOQ : 0.1-10µg/kg	Shuning Z et al., 2013
Céréales, légumes dont tomate, fruits dont pommes	5 fongicides Pyrazoles	QuEChERS et C18 ou GB	LC-MS/MS ESI+ et ESI-	LOD : < 3.0µg/kg LOQ : < 9µg/kg	Dong F et al., 2012
Vins	60 pesticides et 9 mycotoxines	SPE avec Oasis HLB et Bond Elut Plexa.	LC-electrospray-TOF-MS	LOD : 0.04-3.80µg/l LOQ : 0.13-7.87µg/l	Pérez-Ortega P et al., 2012
Aliments pour bébés à base de fruits	10 fongicides multi classes	QuEChERS	LC-IT-MS/MS	LOD : 0.5-3.0µg/kg	Gilbert-López B et al., 2012
Miel	8 pesticides et HMF	QuEChERS	LC-APCI-MS/MS	LOQ : 0.005-1.0 mg/kg	Tomasini D et al., 2012
Fruits et légumes	166 pesticides	QuEChERS	UHPLC/ESI Q-Orbitrap MS et UHPLC/ESI Q-Orbitrap dd-MS/MS pour confirmation		Jian W et al., 2012
Produits agricoles	154 pesticides		LC-TOF-MS	LOQ : < 0.01mg/kg pour 145 pesticides	Shizuka S et al., 2012
Écorce d'orange séchée, ginseng, chou et thé.	4 pesticides organochlorés	MWNTs et SPE comme adsorbant.	HPLC	LOD : 0.050mg/l	Xiaojun P et al., 2012

Raisin, aliments pour bébés et farine de blé	48 pesticides	C. à flux turbulent comme nettoyage en ligne	LC-MS/MS	LOD : 0.8-6 ng/g aliments pour bébés 0.8-10.3ng/g autres matrices	László H et al., 2012
Pommes et pomme de terre	93 pesticides	QuEChERS extraction : Acétonitrile	HPLC-MS/MS APEI en MRM mode pour confirmation		Emad Ramadan A et al., 2012
Matrices alimentaires d'origine animale et végétale	204 pesticides	ASE avec GPC et/ou SPE pour matrices riches en lipides ou en chlorophylle	CG ou LC/MS ou MS/MS	LOQ : 0.01-0.02 mg/Kg	Eva Maria M et al., 2012
Pommes de terre et carottes	84 pesticides	QuEChERS	UPLC-MS/MS	LOD : 0.006mg/Kg LOQ : 0.01 mg/Kg	Antonia GF et al., 2012

ANNEXE 3 : **EXEMPLES D'APPLICATIONS D'ANALYSES DE PESTICIDES DANS LES MATRICES ALIMENTAIRES PAR CPL-ESI/SM-SM.**

Pesticides	Matrices	Méthodes d'ionisation	Colonnes analytiques	Détecteurs et modes d'acquisition	Réf
256	Huiles essentielles	ESI+/-	Synergy Hydro-RP colonne C18LC (150 mm x 4.6 mm, 4mm) Phenomenex, Le Pecq, France)	Q-Trap/SRM	Yoann Fillatre et al. (2016)
19	Ginseng séché	ESI+	Syncronis C18 (100 x 3,0 mm, 1,7µm) Thermo Scientific, USA	Q-Orbitrappe/SIM,MS/MS	Rui Su et al. (2016)
06	Tissus de poissons	ESI+/-	Atlantis T3 C18 (2,1 x 150 mm, 3µm) Thermo Fisher, États-Unis	QqQ/MRM	Jinhua Gan et al. (2016)
06	Lait en poudre pour nourrissons	ESI+/-	BEH ACQUITY® colonne C18 (100mm x 2.1mm, 1,7µm)	Q-TOF/ MRM	Zhe Meng et al. (2015)
16	Thé	ESI+	ZORBAX Eclipse Plus C18 (100mm × 2.1mm, 3.5µm) Agilent, USA	QqQ/ MRM	Yalin Cao et al. (2015)
16	Thé	ESI+	ZORBAX Eclipse plus C18 (100 mm x 2,1 mm, 3,5 mm)	QqQ/ MRM	Yalin Cao et al. (2015)
41	les jus de fruits	APPI+/-	C18 d'or Hypersil (50 mmx 2,1 mm, 1,9µm)	Orbitrappe/ SRM	Pragney Deme et al. (2015)
10	Melon	ESI+	HyPURTY C18 (50mm x 2.1mm, 3µm) Thermo Scientific USA	QqQ/MRM	Prodhan M.D.H., et al. (2015)
57	Tomates	ESI+	Zorbax C18 (50mm x 2.1mm, 1.8µm)	QqQ/MRM	Andrade G.C.R.M., et al. (2015)
333	Aliments pour bébés	ESI+/-	Thermo Accucore C-18 aQ colonne (100 mm x 2,1 mm, 2,6 m) relié à une Accu-core C-18 colonne de garde aQ(10 mm x 2,1 mm)	Q-Orbitrappe/ full scan	Wei Jia et al.(2014)
42	Oranges	ESI+/-	ACQUITY UPLC BEH C18 (100mm x 2,1 mm, 1,7µm)	Q-TOF/ TIC	Ramon Diaz et al. (2014)
07	Thé	ESI-	Zorbax SB-C18 Agilent (150mm x 2,1 mm, 3,5 µm)	QqQ/full scan	Lei Chen et al. (2014)
02	Thé	ESI+	Lux 3 Cellulose-1 (150 mm x 2,0 mm, 3 µm) Phenomenex, USA)	Q-TOF/ full scan	Xinzhong Zhang et al.(2014)
53	Jus de fruits	ESI +	C8 en phase inverse (150mm × 4.6mm, 5µm) Agilent Zorbax Eclipse XDB	Q-TRAP/SRM	Carmen Ferrer et al. (2011)

Pesticides	Matrices	Méthodes d'ionisation	Colonnes analytiques	Détecteurs et modes d'acquisition	Réf
01	Fruits et légumes	ESI+	C18 Discovery (50 x 2,1 mm , 5µm)	QqQ/ full scan	AranzazuPeruga et al. (2012)
71	Fruits et légumes	ESI+	Acquity UPLC BEH C18 (100 mm x 2,1 mm, 1,7 µm)	QqQ/ MRM	GözdeTürközBakırcı et al. (2012)
255	Lait cru	ESI+/-	Acquity HSS-T3 (100 mm x2, 1 mm, 1,8µm)	QqQ/MRM	Jia Zhan et al. (2012)
07	Tomate	APPI+	Luna 3u C18 (50 mm x 0.3mm, 3,0µm) Phenomenex	QqQ/SRM	AnneliKruve et al. (2011)
19	Céréales	ESI+	CAPCELL PAK CR 01:20 colonne (100 mm × 2,0 mm, 3 µm)	QqQ/SRM	Peng Li et al. (2013)
100	Boissons gazeuses à base de fruits	ESI+	C18 colonne en phase inversée (50 mm x 4,6 mm, 1,8µm) (Résolution Zorbax rapide Eclipse XDB-C18)	TOF/TIC	Bienvenida Gilbert-López et al. (2012)
06	Echantillons agricoles	ESI+	ZORBAX Eclipse XDB-C8 (150mm ×4,6mm, 5µm)	QqQ /MRM	Wen Xie etal. (2011)
07	Concombre	ESI+	Acquity TM C18 BEH (50 mm 2,1×mm, 1,7µm)	QqQ /MRM	Jianfeng Wang et al. (2012)
100	Fruits et légumes divers	ESI+	Zorbax Eclipse XDB-C8 colonne (150 mm ×4,6 mm, 5µm)	QqQ/SIM,SRM, full-scan	Oscar Nunez et al. (2012)
06	Thé	ESI+	Chromolit® Performance RP-1(100, mm×3,0 mm colonne avec de (5 mm 3×mm) colonne de garde (Merck, Darmstadt, Allemagne)	QqQ/MRM	Claudia Oellig et al. (2012)
18	Echantillon de jus	ESI+	C18 HPLC Nova-Pak (150 mm ×9 ,3mm , 4µm)	Q/MRM	Gizelle Cristina Bedendo et al. (2012)
29	Lait de vache	ESI+/-	SB-C18 (2.1 mm x 150 mm, 5µm), Agilent Technologies Inc	Q-Trap /MRM	HongzheTian(2011)
12	Végétaux divers	ESI+	Hypersil BDS C8 colonne (100 mm x 2.1 mm, 2.4 µm)	QqQ/ MRM	Zhen-Lin Xu et al. (2012)
08	Lait pour nourrissons	ESI+	Zorbax Rx-SIL (4,6 mm x 250 mm, 5µm)	QqQ /MRM	Guihua Fang et al. (2012)
116	Plantes	ESI+/-	ACQUITY UPLC BEH C18 (100 mm x 1 ,2 mm, 1,7µm)	QqQ /MRM	Lina Chen et al. (2012)
25	Vin	ESI+	Zorbax Eclipse RRHD C18 (50 mm x 2,1 mm, 1,8 µm)	QqQ /MRM	David Moreno-González et al. (2013)
128	Bananes	ESI +/-	Shim-pack XR-ODSIL(100mm x 2mm, 2.2µm)	QqQ	Carneiro R.P., et al. 2013
14	Légumes	ESI+	Ascentis RP-Amide (10cm x 2.1mm)	QqQ/MRM	Arienzo M., et al. 2013

ANNEXE 4 : **AVANTAGE*S*, LIMITATIONS ET POSSIBILITES D'EXEMPLES DE COMBINAISONS DES ANALYSEURS DE MASSE POUR L'ANALYSE DES RESIDUS DE PESTICIDES PAR CHROMATOGRAPHIE EN PHASE LIQUIDE (Masiá *et al.,* 2014).**

Analyseurs	Avantages	Limitations
QqQ	Haute sensibilité, sélectivité et large gamme m/z en mode SRM. L'identification des composés est généralement effectuée par l'interprétation des 2 transitions en mode SRM. Les limites de détections sont dans le domaine du ppt. Rapport des mesures extrêmes ≥ 3 dans l'ordre des grandeurs.	Sensibilité moyenne en mode « full scan ». La masse nominale (isotope) peut donner de faux positifs. Faux négatifs si l'un des signaux est affecté par l'effet de la matrice. Utile seulement pour les analytes ciblés.
QqLIT	Haute sensibilité en mode SRM et « full scan ». Réduction du potentiel des faux positifs et négatifs grâce à la bibliothèque de recherche. Haute sélectivité. SM, SM^2 et SM^3 avec une haute sensibilité. Les limites de détections sont dans le domaine du ppt. Rapport des mesures extrêmes ≥ 3 dans l'ordre des grandeurs.	Faible précision. La masse nominale (isotope) peut donner de faux positifs. Plus polyvalent pour réaliser une analyse ciblée que non ciblée. Utile que pour les analytes ciblés. Complexité des différents modes de fonctionnement.
TOF-MS	Haute sensibilité en mode « full scan ». Vitesse d'acquisition élevée. Pouvoir de résolution de masse>10 000 FWHM. Haute précision. Les limites de détections sont dans le domaine du ppt.	Faible sélectivité. Manque de capacité pour MS/MS. Moyen rapport des mesures extrêmes qui compromettent la quantification des pesticides cibles à l'état d'ultra-trace.
QTOF-MS	Acquisition complète du spectre de masse avec une grande précision. Haute sensibilité, haute résolution en mode « full scan » et très bonne précision de masse en SM et SM/SM. Sélectivité et vitesse d'acquisition élevées avec un pouvoir de résolution > à 10 000 FWHM, couplage avec MS/MS. LODs assez basses.	Moyen rapport des mesures. consecutives due à la saturation ionique pour les concentrations supérieurs.
Orbitrappe	Haute sensibilité, sélectivité et précision en mode full scan. Balayage à haute vitesse, précision et puissance de résolution (> à 60 000 FWHM).	Moyen rapport des mesures. Manque de capacité pour MS/MS.

LTQ-Orbitrappe.	Haute sensibilité, haute résolution en mode « full scan » et très bonne précision. Balayage à haute vitesse, précision et puissance de résolution (> à 60 000 FWHM), capacité $MS^{n.}$ Divers modes de travail.	Le logiciel ne permet pas d'exploiter pleinement les possibilités d'identifications. Faible vitesse de balayage ce qui entraine une augmentation du temps d'analyse. Moyen rapport des mesures.
Q-Orbitrappe	Haute sensibilité, haute résolution en mode « full scan » et très bonne précision. Balayage à haute vitesse, précision et puissance de résolution (> à 60 000 FWHM), capacité MS^2.	Faible vitesse de balayage ce qui entraine une augmentation du temps d'analyse. Moyen rapport des mesures.

المركز الإستشفائي الجامعي لوهران
CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE ORAN

Centre Hospitalo-Universitaire d'Oran

75, Boulevard docteur Benzerdjeb 31026 Oran

Téléphone : +213 (0) 41 41 39 26 / +213 (0) 41 41 39 28 / +213 (0) 41 41 22 38

Site : **http://www.ands.dz/CHU-Oran/index.html**

Service de Pharmacologie Toxicologie

ANNEXE 5

Fiche de renseignements

Evaluation des résidus de pesticides dans les aliments

Chef de service :

Pr. Rezk-kallah H.

Tel/ Fax:

(213) 041 40 14 00

Surveillant médical :

M. Berrouiguet N.

Secrétariat médical :

M[elle] Rahou A.

Tel/fax :

(213) 041 41 49 49

Courriel :toxchuo31@gmail.com

Maitres-assistants :

Dr.Chefirat B.

Dr.Bendjamaa A.

Dr.Djelad S.

Dr. Saadi R.

Assistants:

Dr. Arab F.-Z.

Dr.Abdelmalek O.

Dr. Nadour H.

Centre antipoison:

Dr Mehtougui K.

Type de culture:…….

Superficie cultivée : ……..

Pesticides utilisés	Période d'épandage /Fréquence	Doses à l'hectare	Date de la dernière utilisation	Ravageur ou maladie traitée

Comment avez-vous obtenu le produit : □ Dans un magasin □ A la coopérative

Avant l'épandage, tenez-vous compte des conditions météorologique : □ Oui □ Non

L'épandage se fait : □ Matin □ Midi □ Soir □ N'importe quelle heure

Comment jugez-vous le produit : □ Efficace □ Moyennement efficace □Non efficace

Mesures de protection individuelle : □Non □Oui Si oui, lesquelles:……

Mesures de protection collective : □Non □Oui Si oui, lesquelles:……..

Echantillonnage pour l'analyse de pesticides :

N°d'échantillon	Date du prélèvement	Nature de l'échantillon	Quantité prélevée	Observation

Annexe 7 : **Tableau récapitulatif de l'usage des Produits Phytosanitaires.**

Pesticide utilisé	Famille	Culture traitée	Ravageur /Maladie traitée	
INSECTICIDES				
Acétamipride	Néonicotinoïdes	Arboriculture fruitière	Mineuse Pucerons	H
Imidaclopride	Néonicotinoïdes	Pomme Poire Cultures légumières	Noctuelles Pucerons Psylle	H
Bifenthrine	Pyréthrinoïdes	Pomme de terre Arbres fruitiers	Pucerons Teigne Carpocapse	H
Méthomyl	Carbamates	Tomate	Mineuse Noctuelles	NH
Pyrimicarbe	Carbamates	Pomme de terre Tomate Céréales	Pucerons	H
Emamectine benzoate	Avermectines	Tomate	Acariens Mineuse de tomate	H
Abamectine	Avermectines	Tomate Pomme Néflier Céréales	Acariens Mineuse de tomate. Carpocapse Aleurodes Mineuse des agrumes. Puceron des arbres fruitiers.	H
Ethoprophos	Organophosphorés	Pomme de terre	Nématodes	NH
Malathion	Organophosphorés	Olivier Grenadier	Mouche de l'olive. Cochenille noire	NH
Chlorpyriphos	Organophosphorés	Tomate Pommes Pomme de terre Céréales	Carpocapse Aleurodes	H

Cyperméthrine	Pyréthrinoïdes	Pomme de terre Pommes	Teigne Pucerons Carpocapse	H
Deltaméthrine	Pyréthrinoïdes	Tomate Pommes Pomme de terre Céréales	Mineuse de la tomate, du pommier et des agrumes. Noctuelles Carpocapse Aleurodes Acariens Pucerons	H
Lambda-cyhalothrine	Pyréthrinoïdes	Tomate Pomme de terre Pomme Néflier Céréales	Criquet Pellerin. Carpocapse. Mouche de l'olive. Teigne de la pomme de terre. Punaise des céréales. Acariens.	H
Spinosad	Spinosoides	Tomate	Mineuse de la tomate	H
Spinetoram	Spinosoides	Tomate	Mineuse de la tomate	H
Thiaclopride	Néonicotinoïdes	Tomate	Mineuse de la tomate	H
Thiaméthoxam	Néonicotinoïdes	Tomate Pomme de terre Pomme Céréales	Vers blanc dans l'enrobage des semences. Carpocapse Aleurodes	H
Indoxacarbe	Oxadiazines	Tomate	Mineuse de la tomate	H
Flubendiamide	Diamides	Tomate	Mineuse de la tomate	NH
Chlorantraniliprol	Diamides anthraniliques	Tomate	Mineuse de la tomate	H
Dicofol	Organochlorés	Pomme de terre	Acariens	NH
Huile minérale	Dérivé du pétrole	Pomme Agrumes Olivier Pomme	Acariens Mineuse. Cochenille blanche	H

Diméthoate	Organophosphorés	Pomme de terre Agrumes Vigne Tomate	Pucerons Cochenille	H
		FONGICIDES		
Hyméxazole	Imidazoles	Tomate Pommes Poiriers Poivrons	Oïdium Mildiou	H
Azoxystrobine	Strobilurines	Tomate Pomme de terre Pomme	Oïdium Mildiou Alternaria	H
Thiophanate méthyle	Carbamates (benzimidazole)	Tomate Pomme de terre	Oïdium	H
Trifloxystrobine	Strobilurines	Pomme Cultures légumières	Oïdium Tavelure	H
Sulfate de cuivre	Cuivre inorganique	Tomate Pomme de terre Pomme	Mildiou Alternaria	H
Bouillie bordelaise	Cuivre inorganique	Cultures légumières	Mildiou	H
Oxychlorure de cuivre	Cuivre inorganique	Pêcher	Cloque	H
Mancozèbe	Dithiocarbamates	Pomme terre Tomate Pomme Céréales	Oïdium Mildiou Alternaria Tavelure	H
Propinèbe	Dithiocarbamates	Tomate Pomme de terre	Mildiou Alternaria	H
Manèbe	Dithiocarbamates	Pomme terre Tomate Pomme Poivrons Céréales	Mildiou Oïdium Alternaria Tavelure	H
Zirame	Dithiocarbamates	Vigne de table	Mildiou Oïdium	H
Métalaxyl	Phynylamides	Pomme de terre Tomate	Mildiou	H
Chlorothalonil	Chloronitriles	Pomme de terre Tomate Céréales	Mildiou Alternaria	H

Cymoxanil	Acétamides	Pomme de terre Tomate Pommes Poivron Oranges	Mildiou Oïdium Botrytis	H
Folpel	Phtalimides	Pomme de terre	Mildiou	H
Bromuconazole	Triazoles	Pomme de terre	Mildiou	H
Triadimenol	Triazoles	Pomme de terre Tomate Céréales	Oïdium	H
Penconazole	Triazoles	Vigne de table	Mildiou Oïdium	H
Difénoconazole	Triazoles	Tomate Pomme de terre Pomme Céréales	Mildiou Alternaria Tavelure	H
Propiconazole	Triazoles	Tomate Pomme de terre Pomme Céréales	Mildiou Alternaria Tavelure	H
		HERBICIDES		
Métribuzine	Triazines	Pomme de terre		H
2,4 D	Aryloxyacides	Pomme de terre Céréales Pommes	Adventices	H
Cycloxydime	Cyclohexanediones	Pomme de terre Tomate Céréales		H
Mésosulfuron-méthyl sodium	Sulfonylurées	céréales		H
Iodosulfuron-méthyl sodium	Sulfonylurées	Céréales		H
Pinoxaden+ Clodinafop-propagyl	Quinoléines	Céréales		H
Clodinafop-propargyl	Aryloxyphénoxy-propionates	Céréales		H
Pyroxsulam	Triazolopyrimidine sulfonamides	Tomate Pomme de terre Pomme Céréales Néflier		H

Glyphosate	Phosphonoglycine	Arboriculture fruitières	Adventices	H
Linuron	Urée	Pomme de terre Petit pois Carotte	Adventices Graminées annuelles	H

H= Homologuée NH= Non homologuée (Index des produits phytosanitaires à usage agricole. Juillet 2015)