

SANTÉ  
ENVIRONNEMENT  
TRAVAIL

JUILLET 2021

ÉTUDES ET ENQUÊTES  
IMPRÉGNATION  
DE LA POPULATION FRANÇAISE  
PAR LE CUIVRE

Programme national de biosurveillance,  
Esteban 2014-2016

## Résumé

### Imprégnation de la population française par le cuivre

Programme national de biosurveillance, Esteban 2014-2016

Le cuivre a de nombreuses applications industrielles ou agricoles. C'est un oligoélément essentiel et il existe peu de données sur d'éventuelles conséquences sanitaires associées aux expositions au cuivre.

Les taux de quantification mesurés dans la population sont de plus de 99 % chez les adultes et de plus de 97 % chez les enfants. Les moyennes géométriques sont, respectivement de 12,09  $\mu\text{g. g}^{-1}$  de créatinine chez les adultes et de 12,8  $\mu\text{g. g}^{-1}$  de créatinine chez les enfants. La recherche des déterminants de l'exposition a montré que le statut tabagique influençait les concentrations urinaires en cuivre chez les adultes : les fumeurs sont plus imprégnés que les non-fumeurs. Chez les enfants, la consommation plus fréquente de légumes issus de l'agriculture biologique est associée à une augmentation des concentrations urinaires en cuivre.

L'étude Esteban a permis pour la première fois de décrire l'exposition au cuivre chez les adultes et les enfants vivant en France métropolitaine en 2014-2016. Les concentrations urinaires en cuivre sont similaires à celles retrouvées dans les études à l'étranger. Ces données permettent d'avoir une première description de la concentration en cuivre dans la population française qui sera utile pour évaluer les tendances temporelles lors de prochaines enquêtes de biosurveillance.

**MOTS CLÉS :** BIOSURVEILLANCE ; ESTEBAN ; POPULATION GÉNÉRALE ; IMPRÉGNATION ; EXPOSITION ; SUBSTANCES CHIMIQUES ; MÉTAUX ; CUIVRE ; ENFANTS ; ENVIRONNEMENT

**Citation suggérée :** Fillol C, Oleko A, Gane J, Saoudi A, Zeghnoun A. *Imprégnation de la population française par le cuivre. Programme national de biosurveillance, Esteban 2014-2016.* Saint-Maurice : Santé publique France, 2021. 31 p. Disponible à partir de l'URL : <https://www.santepubliquefrance.fr>

ISSN : 2609-2174 - ISBN-NET : 979-10-289-0710-5 - RÉALISÉ PAR LA DIRECTION DE LA COMMUNICATION, SANTÉ PUBLIQUE FRANCE - DÉPÔT LÉGAL : JUILLET 2021

## Abstract

### Impregnation of the french population by copper

National Human Biomonitoring Program, Esteban 2014-2016

Copper has many industrial or agricultural applications. It is an essential trace element and there are few data on possible health consequences associated with copper concentrations.

Quantification rates are over 99% in adults and over 97% in children. The geometric means are 12.09  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  creatinine in adults and 12.8  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  creatinine in children, respectively. Research into the determinants of exposure has shown that smoking status influenced urinary copper concentrations in adults: smokers are more impregnated than non-smokers. In children, more frequent consumption of organically grown vegetables increases urinary copper concentrations.

The Esteban study made it possible for the first time to present exposure to copper in adults and children living in metropolitan France in 2014-2016. However, urinary copper concentrations are similar to those found in studies abroad. These data provide a first description of the copper concentration in the French population, which will be useful for evaluating temporal trends during future biomonitoring surveys.

**KEY WORDS:** BIOMONITORING; ESTEBAN; GENERAL POPULATION;  
IMPREGNATION ; EXPOSURE ; CHEMICAL SUBSTANCES ;  
METALS ; COPPER ; CHILDREN ; ENVIRONMENT

## Auteurs

**Clémence Fillol, Amivi Oleko, Jessica Gane, Abdessattar Saoudi, Abdelkrim Zeghnoun**

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

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

# Sommaire

<b>Introduction</b> .....	<b>6</b>
<b>1. GÉNÉRALITÉS SUR LE CUIVRE</b> .....	<b>7</b>
1.1 Utilisations et réglementations.....	7
1.2 Exposition de la population.....	8
1.2.1 Expositions alimentaires.....	8
1.2.2 Expositions environnementales.....	8
1.3 Devenir dans l'organisme .....	9
1.3.1 Absorption et distribution .....	9
1.3.2 Élimination .....	9
1.4 Effets sanitaires .....	9
1.5 Mesure et interprétation des niveaux biologiques du cuivre .....	10
<b>2. MATÉRIEL ET MÉTHODES</b> .....	<b>11</b>
2.1 Contexte et objectifs .....	11
2.2 Population .....	11
2.3 Recueil des données .....	12
2.4 Collecte et traitement des échantillons biologiques urinaires .....	12
2.5 Dosage du cuivre.....	12
2.6 Dosage de la créatinine.....	13
2.7 Analyses statistiques .....	13
2.7.1 Plan de sondage et pondérations.....	13
2.7.2 Traitement des données manquantes et censurées à gauche .....	14
2.7.3 Description des niveaux d'imprégnation.....	14
2.7.4 Recherche des déterminants des niveaux d'imprégnation.....	14
2.7.5 Logiciels utilisés.....	15
<b>3. RÉSULTATS DES ANALYSES DESCRIPTIVES DE L'IMPRÉGNATION PAR LE CUIVRE CHEZ LES ADULTES</b> .....	<b>16</b>
3.1 Description des concentrations en cuivre chez les adultes.....	16
3.2 Comparaison avec des études françaises et internationales.....	17
<b>4. RÉSULTATS DES ANALYSES DESCRIPTIVES DE L'IMPRÉGNATION PAR LE CUIVRE CHEZ LES ENFANTS</b> .....	<b>18</b>
4.1 Niveaux de cuivre chez les enfants .....	18
4.2 Comparaison avec des études françaises et internationales.....	19
<b>5. DÉTERMINANTS DE L'IMPRÉGNATION PAR LE CUIVRE CHEZ LES ADULTES ET ENFANTS</b> .....	<b>20</b>
<b>6. DISCUSSION</b> .....	<b>23</b>
<b>7. VALEURS DE RÉFÉRENCE D'EXPOSITION (VRE) AU CUIVRE À PARTIR DES RÉSULTATS DE CUIVRE URINAIRE DE L'ÉTUDE ESTEBAN</b> .....	<b>25</b>
<b>8. CONCLUSION</b> .....	<b>26</b>
<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>27</b>
Annexe 1 / Liste des variables testées dans les modèles multivariés chez les adultes .....	30
Annexe 2 / Liste des variables testées dans les modèles multivariés chez les enfants .....	31

# Introduction

Le cuivre a de nombreuses applications industrielles ou agricoles, et il est un élément naturellement présent dans l'environnement.

À l'heure actuelle, il n'existe pas de données objectives permettant d'estimer l'imprégnation de la population française à cette substance.

Pour la première fois, des mesures de cuivre ont été réalisées grâce à l'étude transversale Esteban (Étude de santé sur l'environnement, la biosurveillance, l'activité physique et la nutrition). Cette étude a permis de mesurer les niveaux d'imprégnation par le cuivre chez les adultes et les enfants âgés de 6 à 74 ans sur l'ensemble de la France continentale. Les analyses ont été réalisées à partir d'un échantillon de 2 419 adultes et 1 052 enfants, inclus dans l'étude entre avril 2014 et mars 2016.

Après un rappel des généralités sur le cuivre en termes de sources d'exposition et d'effets sur la santé (1), ce document présente la méthode suivie pour la collecte des données et leur analyse (2), puis les résultats descriptifs des niveaux d'imprégnation observés dans le cadre de l'étude Esteban (3 et 5) et enfin la recherche des déterminants de l'exposition chez les adultes et les enfants (4 et 6).

# 1. GÉNÉRALITÉS SUR LE CUIVRE

## 1.1 Utilisations et réglementations

Les secteurs d'utilisations du cuivre, de ses alliages et de ses composés sont nombreux : électrique, électronique et communication (câbles et fils), bâtiment (canalisations et toitures), transport (freins et caténaires), agriculture (fongicides, insecticides, herbicides, molluscicides), catalyseurs ou additifs (industrie du caoutchouc, pétrolière, etc.). Il se retrouve dans des produits tels que les pigments, les peintures, les cellules photovoltaïques des panneaux solaires, les puces de l'industrie des semi-conducteurs et dans les produits de consommations courantes tels que les chaudronneries et les pièces de monnaie.

Le cuivre et ses composés ont de nombreuses applications industrielles :

- Fabrication de nombreux alliages à base de cuivre : bronze (avec l'étain), laiton (avec le zinc), alliages de joaillerie (avec l'or et l'argent) ;
- Utilisation dans la fabrication de matériels électriques (câbles, fils, enroulements de moteurs, dynamos, transformateurs), de matériels pour l'électronique (circuits imprimés, résistances électriques et autres composants électroniques), de matériels de plomberie (canalisations, tuyauteries), de matériels pour l'automobile (sièges à soupapes), de matériels pour le bâtiment (couvertures), de matériels pour les équipements industriels (hélices, organes de pompes, tubes de condenseurs), fabrication de pièces de monnaie ;
- Fabrication de catalyseurs en synthèse organique ;
- Fabrication de bains colorants pour métaux, de pigments pour le verre, les céramiques, les émaux, les peintures, encres et vernis ;
- Industrie pétrolière : agents désodorisants, désulfurants, agents de flottation ;
- Industrie textile : teinture des textiles, mordant, tannage du cuir ;
- Hydrométallurgie : raffinage des métaux ;
- Galvanoplastie, traitements de surfaces, électrodes de galvanisation, bains électrolytiques ;
- Soudage : fabrication de pâtes pour brasures ;
- Agents de polissage pour les verres optiques ;
- Fabrication de produits biocides : produits antisalissure, produits de protection du bois, désinfectants non en contact avec les denrées alimentaires ;
- Fabrication de produits phytopharmaceutiques : herbicides, fongicides (anti-mildiou), bouillie bordelaise, sulfate de cuivre tribasique ;
- Photographie : fixateur ;
- Pyrotechnie : production de couleurs dans les compositions pyrotechniques.

En France, la réglementation relative à la qualité aux eaux destinées à la consommation humaine 2001 impose une limite de concentration en cuivre inférieure ou égale à 2,0 mg. L<sup>-1</sup>.

Le cuivre et certains de ses composés sont soumis à la réglementation biocides (articles L. 522-1 et suivants du Code de l'environnement). La mise sur le marché et l'utilisation du cuivre et de certains de ses composés pour différents types de produits ou usages ont été interdits ; par exemple :

- l'utilisation du cuivre (CAS : 7440-50-8) a été interdite en France à partir du 1 août 2013 pour les types de produit suivants :
  - « Désinfectants utilisés dans le domaine privé et dans le domaine de la santé publique et autres produits biocides »,
  - « Désinfectants pour les surfaces en contact avec les denrées alimentaires et les aliments pour animaux »,
  - « Désinfectants pour eau de boisson » et
  - « Protection des liquides utilisés dans les systèmes de refroidissement et de fabrication » (arrêté du 17 juillet 2012) ;

- l'utilisation du sulfate de cuivre (CAS : 7758-98-7) a été interdite en France à partir du 1 août 2013 pour les types de produit suivants :
  - « Produits biocides destinés à l'hygiène humaine »,
  - « Désinfectants pour les surfaces en contact avec les denrées alimentaires et les aliments pour animaux » (arrêté du 17 juillet 2012).

Ils sont également utilisés comme produits phytopharmaceutiques et sont soumis à autorisation de mise sur le marché (article. L.253-1 du Code rural).

Pour les engrais organiques, divers seuils en métaux lourds sont fixés par les législations européennes et nationales.

Pour les engrais minéraux, il n'existe pas de réglementation européenne, néanmoins l'évaluation du règlement CE 2003/2003 relatif aux engrais préconise d'inclure dans le règlement des dispositions concernant les teneurs maximales en métaux lourds.

Le règlement CE/473/2002 de la Commission du 15 mars 2002 modifie les annexes du règlement CE/2092/91 limitant l'usage du cuivre en agriculture biologique. Ainsi, depuis le 31 mars 2005, les apports de cuivre sont limités à 6 000 g/ha/an de cuivre métal (moyenne sur 5 ans).

## 1.2 Exposition de la population

### 1.2.1 Expositions alimentaires

Le cuivre n'est pas surveillé dans les denrées végétales et animales à la distribution et à la production.

Dans l'enquête Alimentation totale 2 (EAT2) (1) et dans l'enquête Alimentation totale infantile (EATi) (2), le cuivre a été recherché sous sa forme minérale. La mesure du cuivre dans les EAT reflète donc toutes les sources de contamination confondues. Dans l'EAT2, les plus fortes teneurs moyennes sont retrouvées dans les abats. Dans une moindre mesure, les autres aliments les plus riches en cuivre sont les fruits secs et graines oléagineuses, le chocolat, et les mollusques et crustacés. Dans l'EATi, les teneurs moyennes les plus élevées dans les aliments sont observées dans les biscuits sucrés, salés et barres, puis dans les pâtes et les entremets, crèmes desserts et laits gélifiés. La concentration la plus élevée a été relevée dans un échantillon de poudre cacaotée et sucrée pour boisson au chocolat.

Les aliments les plus contributeurs pour le cuivre chez les adultes sont le café et chez les enfants : les pâtes, les pains et produits de panification sèche, les abats, le chocolat et les eaux.

### 1.2.2 Expositions environnementales

Le cuivre est présent naturellement dans la croûte terrestre et dans les océans, les lacs, les rivières sous différentes formes et concentrations. C'est un des métaux existant à l'état natif, cependant il est majoritairement présent sous la forme de minerais. Le transport par le vent des poussières de sol, les éruptions volcaniques, les décompositions végétales, les feux de forêts et les aérosols marins constituent les principales sources naturelles d'exposition. Les apports de cuivre anthropique ont principalement pour origine :

- les activités industrielles qui émettent majoritairement dans les eaux et les sols ;
- les activités urbaines et le trafic routier qui émettent principalement dans l'air ;
- les activités agricoles (les épandages des fumiers et lisiers de bovins, porcins et de volailles ; les traitements phytosanitaires des cultures des vignes et des arbres ; l'utilisation d'engrais



minéraux ; l'épandage de composts et des boues issues des STEP) qui émettent principalement vers les sols.

Les principaux émetteurs de cuivre vers l'eau sont le traitement des déchets, le secteur des transports et l'industrie. Le secteur des transports représente près de 90 % des émissions de cuivre vers l'atmosphère. Le principal émetteur de cuivre vers le sol est l'agriculture (plus de 70 %). De façon agrégée pour tous les compartiments de l'environnement, les principaux émetteurs de cuivre sont l'agriculture et secteur des transports, donc des sources principalement diffuses.

## 1.3 Devenir dans l'organisme

Le cuivre est un oligoélément essentiel intervenant dans de nombreux systèmes enzymatiques ; il est également impliqué dans la transcription des gènes et dans le bon fonctionnement du système immunitaire (3).

### 1.3.1 Absorption et distribution

Le cuivre peut être absorbé par voie pulmonaire sous forme de poussières ou de fumées ; le niveau d'absorption n'est pas connu. La biodisponibilité par voie cutanée n'est pas connue. Le taux d'absorption par voie orale est très variable, de 15 à 97 % et dépend de plusieurs facteurs tels que la forme chimique du cuivre, la nature de l'alimentation, l'interaction avec d'autres métaux ; elle est inversement proportionnelle à la quantité de cuivre dans l'estomac (4, 5). Le cuivre est principalement absorbé au niveau du duodénum et de l'iléon, et dans une moindre mesure par l'estomac ; il est transporté par la circulation portale sous forme liée à l'albumine et à la transcupréine jusqu'au foie où il est incorporé à la coeruleoplasmine pour être finalement distribué à tous les tissus à partir du sang circulant (6). En liaison avec ses fonctions organiques multiples, le cuivre présente une large distribution dans l'organisme via le sang associé à des protéines dont la céruloplasmine (80-90 %), l'albumine et divers acides aminés (7). Les plus fortes concentrations tissulaires en cuivre sont mesurées au niveau du foie, des muscles et de la moelle osseuse. Le foie est le principal organe cible.

Le cuivre ne s'accumule pas dans l'organisme, sauf en cas d'anomalies génétiques comme dans la maladie de Wilson (affection familiale rare, caractérisée par une accumulation de cuivre dans l'organisme, en particulier le foie, le cerveau et la cornée, responsable d'un tableau de cirrhose et de manifestations neurologiques) ou encore dans le cas d'une administration chronique à doses élevées, où il s'accumule dans le foie.

### 1.3.2 Élimination

L'excrétion est rapide, principalement par voie biliaire (80 % du cuivre hépatique) d'où une élimination majoritairement (72 %) par voie fécale (8). Il n'y a pas de cycle entéro-hépatique. Des quantités significatives de cuivre lié aux métalloprotéines contenues dans les cellules intestinales de la barrière en brosse sont éliminées par voie fécale ; de plus faibles quantités sont excrétées dans les urines (environ 3 %), la salive, la sueur et les phanères (9).

## 1.4 Effets sanitaires

La cytotoxicité du cuivre observée lors d'intoxication se ferait par inhibition enzymatique du système pyruvate-oxydase par compétition au niveau des groupements sulfhydriles des protéines. La glucose-6-phospho-deshydrogénase et la glutathion-réductase sont inhibées (inhibition compétitive) proportionnellement à la concentration intracellulaire du cuivre (4). De plus, le cuivre en excès produit des radicaux libres responsables de lésions cellulaires au niveau de l'ADN et d'organites tels que les mitochondries ou les lysosomes (3).

Une sensibilité accrue à la toxicité du cuivre est observée chez les enfants âgés de moins de 1 an (10), et chez les individus déficients en glucose-6-phosphatase déshydrogénase (11).

L'inhalation aiguë de fumées d'oxydes métalliques peut provoquer un syndrome pseudo-grippal appelé « fièvre des métaux », et des troubles digestifs, hépatiques voire des atteintes rénales par voie orale. Il est irritant cutané, voire caustique pour la muqueuse pour les sels de cuivre et rarement sensibilisant. L'inhalation chronique peut générer une irritation des voies respiratoires, une pneumoconiose appelée « poumon du viticulteur » et une altération de l'état général. Des cas de cancers pulmonaires ont été rapportés chez des salariés professionnellement exposés au cuivre et à d'autres polluants. Aucune donnée de génotoxicité ou de reprotoxicité n'est disponible chez l'Homme à la date de publication de ces résultats. Pour le cuivre et ses composés, il n'existe pas de classification de cancérogénicité.

## 1.5 Mesure et interprétation des niveaux biologiques du cuivre

Le cuivre peut être dosé chez l'homme dans le sang, les urines ou les cheveux.

La demi-vie du cuivre dans le sang est de 13 à 33 jours (4). L'intervalle de valeurs physiologiques (habituellement retrouvées) de cuivre dans le sérum est de 800 à 1 200 mg. L<sup>-1</sup> (12). Ces valeurs sont plus élevées de 10 % chez la femme.

Les dosages sanguins et urinaires de cuivre ne sont pas de pratique courante pour la surveillance biologique de l'exposition professionnelle dans la mesure où la corrélation avec l'exposition n'est pas toujours bonne ; de plus, de nombreux facteurs (traitements hormonaux, pathologies thyroïdiennes, hépatiques...) viennent influencer les résultats. Il n'existe donc pas de valeur guide professionnelle pour ces paramètres.

## 2. MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 2.1 Contexte et objectifs

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

- Le volet périnatal mis en œuvre au sein de la cohorte Elfe (Étude longitudinale française depuis l'enfance, 2011). L'objectif était d'estimer l'exposition des femmes enceintes et de leurs enfants in utero à certains polluants présents dans l'environnement et les déterminants de ces niveaux d'imprégnation (13, 14). Ce volet a fourni pour la première fois en France des indicateurs nationaux fiables et pertinents sur l'imprégnation aux polluants environnementaux des femmes enceintes.
- L'étude nationale transversale en population générale nommée Esteban (Étude de santé sur l'environnement, la biosurveillance, l'activité physique et la nutrition), dont un des volets a été conçu pour estimer l'imprégnation de la population générale âgée de 6 à 74 ans à diverses substances de l'environnement et pour améliorer la compréhension des déterminants de l'exposition. La phase de collecte des données de l'étude Esteban a eu lieu d'avril 2014 à mars 2016.

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

- décrire les niveaux de cuivre de la population française continentale et établir de nouvelles valeurs de référence d'exposition ;
- étudier les variations temporelles et géographiques des niveaux d'imprégnation par le cuivre par une comparaison avec les résultats d'études antérieures menées en France et à l'étranger ;
- analyser les déterminants des niveaux d'imprégnation de la population.

### 2.2 Population

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

Les inclusions des participants se sont déroulées entre avril 2014 et mars 2016, au cours de quatre vagues successives, de durées égales, afin d'équilibrer les inclusions en fonction de la saisonnalité des expositions environnementales et de l'alimentation.

Pour être éligibles, les individus devaient résider au moins quatre jours par semaine dans leur résidence habituelle, maîtriser suffisamment la langue française, ne pas déménager en dehors des zones géographiques couvertes au cours de la période d'étude et ne pas souffrir d'une pathologie rendant impossible la réalisation de l'étude (alimentation artificielle entérale ou parentérale, contre-indication à un prélèvement sanguin).

## 2.3 Recueil des données

Les données relatives aux trois grandes thématiques étudiées dans Esteban ont principalement été recueillies par questionnaires (renseignés en face à face avec un enquêteur se rendant au domicile des participants et par auto-questionnaires papier ou via internet selon le choix des participants). Des données démographiques, socio-économiques, sur l'alimentation, l'activité physique, la sédentarité, l'environnement résidentiel et professionnel, la santé générale et la consommation de soins ont été recueillies à travers la passation de différents questionnaires. D'autre part, l'ensemble des mesures et des prélèvements biologiques (sang, urines, mèche de cheveux) de l'étude Esteban ont été effectués dans le cadre d'un examen de santé. Pour ce faire, Santé publique France s'est appuyé sur le réseau des centres d'examen de Santé de l'Assurance maladie (CES). Pour les enfants, et les adultes qui en avaient exprimé le choix, l'examen de santé était effectué à domicile, avec la venue d'un infirmier diplômé d'état (IDE). Les traitements immédiats des prélèvements biologiques ont été réalisés dans les laboratoires d'analyses rattachés aux CES.

Des informations plus détaillées sur l'ensemble des données recueillies et sur les aspects opérationnels de la réalisation de l'étude Esteban sont disponibles dans un article spécifique décrivant le protocole de l'étude (15).

## 2.4 Collecte et traitement des échantillons biologiques urinaires

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

À l'arrivée des prélèvements urinaires dans les laboratoires, aucun traitement n'était nécessaire hormis leur homogénéisation. Les échantillons ont ensuite été aliquotés en petits volumes (1 mL, 2 mL, 5 mL et 10 mL) à l'aide de pipettes en verre afin d'éviter de potentielles contaminations pouvant impacter les dosages des biomarqueurs.

L'ensemble des échantillons en provenance des laboratoires ont été transportés par camion réfrigéré au centre de ressources biologiques de l'hôpital Bretonneau au CHU de Tours afin d'y être conservés dans des congélateurs à -80°C. Le transport des échantillons des laboratoires vers la biothèque était organisé de façon régulière tout au long de l'enquête.

## 2.5 Dosage du cuivre

Le laboratoire **ChemTox** (France, 67) disposait d'un volume de 10 mL pour réaliser l'analyse de tous les métaux urinaires d'Esteban dont le cadmium. Les échantillons d'urine étaient conditionnés en tubes en polypropylène de 5 mL et 10 mL. Afin de limiter au maximum la manipulation des échantillons pour éviter d'éventuelles contaminations lors de pools de tubes, l'analyse a été préférentiellement réalisée sur les tubes de 10 mL lorsqu'ils étaient disponibles.

Le laboratoire a développé une méthode analytique permettant le dosage de 27 éléments métalliques par spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICP-MS) après calibration externe et dilution de l'échantillon au 1/10 dans l'acide nitrique. (Standard interne  $^{103}\text{Rh}$  et isotope  $^{65}\text{Cu}$ ).

La limite de quantification (LOQ) a été calculée sur la base de 3 fois l'intensité moyenne du bruit de fond déterminé sur le signal le moins sensible suite à la réalisation de mesures répétées (n=10), à

un niveau de concentration estimé proche de cette valeur. La limite de détection (LOD) du cuivre était de 0,07 µg. L<sup>-1</sup> et la limite de quantification (LOQ) était de 0,024 µg. L<sup>-1</sup>.

Le laboratoire a réalisé un étalonnage complet tous les 100 échantillons à l'aide de 5 niveaux de concentration et vérifié l'étalonnage proche de la LOQ tous les 20 échantillons. Un « blanc méthode » a été analysé tous les 10 échantillons pour garantir le circuit analytique ainsi que des contrôles de qualité internes (CQI) au cours des séries analytiques sur plusieurs niveaux de concentration, pour établir des cartes de contrôle et satisfaire aux critères de Westgard. Le laboratoire a utilisé des matériaux de référence urine SERONORM pour vérifier la justesse de sa méthode et a participé à des contrôles de qualité externes organisés par le centre de toxicologie du Québec.

Les calculs de justesse, fidélité intermédiaire et d'incertitude (k=2) ont été réalisés sur 3 niveaux de concentrations (proche LOQ, moyen et élevé). Les biais de justesse et les coefficients de variabilité (CV) associés à la fidélité intermédiaire étaient inférieurs à 30 % selon les niveaux de concentration.

Six échantillons dits « témoins » (ampoule d'eau ultrapure en verre) ont été envoyés au laboratoire pour être dosés dans les mêmes conditions que les échantillons de l'étude. Aucun des échantillons témoins ne présentait de concentration en cadmium urinaire à un niveau quantifiable montrant ainsi l'absence d'une éventuelle contamination par l'environnement de préparation des échantillons ou liée au matériel de collecte et de cryoconservation.

Afin d'apprécier la fidélité intermédiaire des analyses, des répliqués ont été introduits à l'aveugle dans les séries analytiques, c'est-à-dire que deux cryotubes d'urines appartenant au même participant ont fait l'objet d'un dosage, avec des identifiants différents. Six couples de répliqués ont été analysés, avec des résultats concordants.

Ainsi, 2 419 échantillons « adultes » et 1 052 échantillons « enfants » ont été analysés pour le cuivre.

## 2.6 Dosage de la créatinine

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

## 2.7 Analyses statistiques

### 2.7.1 Plan de sondage et pondérations

Le plan de sondage de l'étude Esteban est stratifié à trois degrés. Au premier degré, un échantillon stratifié d'unités primaires (communes ou regroupements de communes) a été tiré au sort. Au deuxième degré, dans chaque unité primaire, des ménages ont été tirés au sort par échantillonnage téléphonique. Au troisième degré, un seul individu (adulte ou enfant) a été tiré au sort parmi les membres éligibles du ménage (méthode Kish). La stratification a été réalisée en fonction de deux variables : la région (8 zones géographiques) et le degré d'urbanisation (5 strates : rural ; < 20 000 habitants ; 20 000 - 100 000 habitants ; > 100 000 habitants, Paris). Le plan d'échantillonnage est décrit de façon détaillée dans l'article précédemment publié sur le protocole de l'étude Esteban (1).

Le dosage du cuivre a été réalisé sur l'ensemble de l'échantillon parmi les individus qui avaient participé au volet examen de santé de l'étude et disposaient d'une quantité d'urine suffisante (10 mL) en biothèque pour permettre de réaliser ce dosage.

Le processus de calcul des pondérations a été effectué en trois étapes. La première étape a consisté à établir des pondérations initiales dues au plan de sondage. En second lieu, les poids de sondage ont été ajustés par rapport à la non-réponse totale. Cette étape a été réalisée en utilisant la méthode des scores (2), méthode basée sur le principe des groupes de réponse homogènes et faisant appel à des informations disponibles à la fois pour les répondants et les non-répondants. Enfin, un calage a été effectué en utilisant les marges issues du recensement permettant à la population d'étude d'être comparable avec la population source selon certains critères (âge, sexe, niveau de diplôme, vit seul ou en couple...).

## 2.7.2 Traitement des données manquantes et censurées à gauche

Les données manquantes des variables issues des différents questionnaires et les valeurs censurées à gauche des biomarqueurs (niveaux biologiques inférieurs à la LOD ou LOQ) ont été imputées en utilisant la méthode d'imputation multiple par équations chaînées. Cette méthode est très flexible permettant à la fois d'imputer des variables quantitatives, qualitatives et censurées. Elle est implémentée dans la package ICE de Stata (16). Les valeurs imputées ne pouvant pas être traitées comme des données réelles mesurées, le processus d'imputation a été répété une dizaine de fois afin d'obtenir des jeux de données complets. Ces derniers ont été analysés séparément et les résultats ont été combinés afin de tenir compte de l'incertitude liée aux données imputées (17).

## 2.7.3 Description des niveaux d'imprégnation

La distribution des niveaux d'imprégnation est décrite sous forme de percentiles (10, 25, 50, 75, 90, 95) et d'une moyenne géométrique (MG) avec les intervalles de confiance à 95 % (IC 95%) pour la moyenne géométrique et le percentile 95. Les résultats sont présentés chez les enfants et les adultes par tranche d'âges et par sexe. L'ensemble des analyses prend en compte le plan de sondage de l'étude.

## 2.7.4 Recherche des déterminants des niveaux d'imprégnation

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

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

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

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

Les facteurs de risque du cuivre testés dans les modèles construits pour les adultes et les enfants sont listés en annexe.

### 2.7.5 Logiciels utilisés

L'imputation des données manquantes ou censurées a été réalisée avec le module ICE de la version 14 de Stata (18). Les analyses statistiques (descriptives et multivariées) ont été réalisées avec le package Survey (19) du logiciel R (20).

# 3. RÉSULTATS DES ANALYSES DESCRIPTIVES DE L'IMPRÉGNATION PAR LE CUIVRE CHEZ LES ADULTES

## 3.1 Description des concentrations en cuivre chez les adultes

Les résultats d'imprégnation par le cuivre sont présentés dans les tableaux 1 et 2.

Plus de 97 % de la population présente des concentrations détectables et quantifiables en cuivre (supérieures à la LOD de 0,07  $\mu\text{g. L}^{-1}$  et supérieurs à la LOQ de 0,24  $\mu\text{g. L}^{-1}$ ).

La moyenne géométrique est égale à 9,08  $\mu\text{g. L}^{-1}$  (12,09  $\mu\text{g. g}^{-1}$  de créatinine). Le 95<sup>e</sup> percentile de la distribution des niveaux d'imprégnation au cuivre est égal à 22,95  $\mu\text{g. L}^{-1}$  (31,48  $\mu\text{g. g}^{-1}$  de créatinine). Lorsque les résultats sont exprimés en  $\mu\text{g. L}^{-1}$ , les femmes semblent moins imprégnées en cuivre que les hommes mais cette observation s'inverse lorsque les résultats sont exprimés en  $\mu\text{g. g}^{-1}$  de créatinine, effet certainement dû aux concentrations en créatinine.

**TABLEAU 1**

**Distribution des concentrations urinaires en cuivre (en  $\mu\text{g. L}^{-1}$ ) des adultes âgés de 18 à 74 ans, France continentale (2014-2016)**

	n	MG	IC 95 % MG	P10	P25	P50	P75	P90	P95	IC 95 % P95
<b>Total</b>	2419	9,08	[8,66 ; 9,52]	4,69	6,73	9,82	13,95	19,19	22,95	[21,89 ; 24,07]
<b>Sexe</b>										
<b>Homme</b>	1060	10,27	[9,79 ; 10,77]	5,43	7,77	10,55	14,38	19,02	22,67	[21,55 ; 23,71]
<b>Femme</b>	1359	8,11	[7,53 ; 8,72]	4,29	6,00	9,04	13,34	19,24	23,38	[21,11 ; 25,55]
<b>Âge (ans)</b>										
<b>18-29</b>	161	11,94	[11,02 ; 12,94]	6,00	9,00	11,99	16,44	21,16	24,70	[21,26 ; 30,97]
<b>30-44</b>	609	10,35	[9,65 ; 11,10]	5,35	7,91	10,93	15,33	20,94	24,40	[22,62 ; 27,34]
<b>45-59</b>	893	8,37	[7,66 ; 9,14]	4,61	6,36	9,33	12,76	16,96	21,05	[18,67 ; 24,24]
<b>60-74</b>	756	7,15	[6,55 ; 7,80]	3,96	5,50	7,81	11,59	16,13	19,60	[17,76 ; 22,36]

LOD = 0,07  $\mu\text{g. L}^{-1}$  ; %>LOD = 97,4 % ; LOQ = 0,24  $\mu\text{g. L}^{-1}$  ; %>LOQ = 97,4 %



**TABLEAU 2**

**Distribution des concentrations urinaires en cuivre (en  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de créatinine) des adultes âgés de 18 à 74 ans, France continentale (2014-2016)**

	n	MG	IC 95 % MG	P10	P25	P50	P75	P90	P95	IC 95 % P95
<b>Total</b>	2419	12,09	[11,53 ; 12,68]	7,00	8,99	12,05	16,82	23,99	31,48	[28,88 ; 34,38]
<b>Sexe</b>										
Homme	1060	11,27	[10,69 ; 11,88]	6,63	8,11	10,65	14,34	20,58	27,46	[23,69 ; 31,70]
Femme	1359	12,91	[12,11 ; 13,76]	7,85	10,28	13,33	18,39	26,75	34,94	[30,49 ; 44,13]
<b>Âge (ans)</b>										
18-29	161	11,63	[10,63 ; 12,73]	6,64	8,54	10,84	14,65	19,92	25,76	[20,19 ; 35,91]
30-44	609	11,75	[10,89 ; 12,67]	6,84	8,51	11,18	16,16	23,36	31,04	[25,59 ; 36,93]
45-59	893	11,85	[10,93 ; 12,85]	6,98	9,04	12,05	16,48	23,71	32,62	[27,49 ; 40,14]
60-74	756	13,25	[12,30 ; 14,27]	7,67	10,67	13,78	19,11	26,91	33,91	[29,70 ; 39,84]

### 3.2 Comparaison avec des études françaises et internationales

Le tableau 3 présente les résultats d'imprégnation par le cuivre de différentes études en population générale en France ou à l'étranger exprimés en  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  à des fins de comparaison.

En France, l'imprégnation par le cuivre au sein de la population générale n'a pas été précédemment estimée. Dans cette étude, la concentration urinaire médiane en cuivre est égale à  $9,82\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  pour la population générale adulte âgée entre 18 et 74 ans. Cette médiane ainsi que le percentile 95 sont similaires à ce qui a pu être retrouvé dans d'autres études européennes (21-23) ou internationales (24, 25).

**TABLEAU 3**

**Niveaux d'imprégnation par le cuivre observés en France et à l'étranger chez les adultes (en  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )**

Pays	Étude	Année	Population	n	Matrice	Med ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	P95 ( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	%>LOQ (LOQ $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )
France	Esteban	2014 - 2016	Adultes (18-74 ans)	2419	Urine	9,82	22,95	97,4% (0,24)
Angleterre	(23)	2014	Adultes (18-66 ans)	132	Urine	8,75	19,33	100 % (0,50)
Taiwan	(25)	2005-2008	Enfants et Adultes (7-84 ans)	1601	Urine	13,66	-	-
Belgique	(22)	2010-2011	Adultes (18-80 ans)	1022	Urine	8,18	19,60	-
Canada	ECMS (24)	2007-2009	6-79 ans	5492	Urine	9,99	26,67	99,8 % > LOD (LOD = 0,64)
Slovénie	(21)	2008-2014	Adultes (18-49 ans)	812	Urine	6,27	22,3	72,5 % > LOD (LOD = 3 $\mu\text{g}/\text{L}$ )

# 4. RÉSULTATS DES ANALYSES DESCRIPTIVES DE L'IMPRÉGNATION PAR LE CUIVRE CHEZ LES ENFANTS

## 4.1 Niveaux de cuivre chez les enfants

Les résultats d'imprégnation par le cuivre chez les enfants sont présentés dans les tableaux 4 et 5. Presque toute la population d'enfants présente des concentrations détectables en cuivre (supérieures à la LOD de 0,07  $\mu\text{g. L}^{-1}$ ), et presque tous ont des niveaux de cuivre quantifiables (supérieurs à la LOQ de 0,24  $\mu\text{g. L}^{-1}$ ).

La moyenne géométrique est égale à 13,1  $\mu\text{g. L}^{-1}$  (12,8  $\mu\text{g. g}^{-1}$  de créatinine). Le 95<sup>e</sup> percentile de la distribution des niveaux d'imprégnation par le cuivre est égal à 24,6  $\mu\text{g. L}^{-1}$  (26,0  $\mu\text{g. g}^{-1}$  de créatinine).

**TABLEAU 4**

**Distribution des concentrations urinaires en cuivre (en  $\mu\text{g. L}^{-1}$ ) des enfants âgés de 6 à 17 ans, France continentale (2014-2016)**

	n	MG	IC 95 % MG	P10	P25	P50	P75	P90	P95	IC 95 % P95
<b>Total</b>	1 052	13,06	[12,50 ; 13,63]	7,46	10,04	13,60	17,83	21,71	24,64	[23,24 ; 26,60]
<b>Sexe</b>										
Garçon	535	13,42	[12,72 ; 14,17]	7,92	10,90	13,68	17,96	21,57	24,35	[22,28 ; 26,81]
Fille	517	12,70	[11,91 ; 13,55]	7,21	9,48	13,48	17,57	21,81	24,82	[23,17 ; 26,90]
<b>Âge (ans)</b>										
6-10	477	12,91	[12,16 ; 13,71]	7,47	9,90	13,12	17,17	21,10	23,76	[22,08 ; 26,37]
11-14	389	13,30	[12,51 ; 14,13]	7,36	10,00	13,74	18,35	21,54	24,93	[22,83 ; 27,86]
15-17	186	12,95	[11,69 ; 14,36]	7,41	10,77	14,06	17,79	22,52	25,36	[22,63 ; 26,90]

LOD = 0,07  $\mu\text{g. L}^{-1}$  ; %>LOD = 99,9 % ; LOQ = 0,24  $\mu\text{g. L}^{-1}$  ; %>LOQ = 99,9 %

**TABLEAU 5**

**Distribution des concentrations urinaires en cuivre (en  $\mu\text{g. g}^{-1}$  de créatinine) des enfants âgés de 6 à 17 ans, France continentale (2014-2016)**

	n	MG	IC 95 % MG	P10	P25	P50	P75	P90	P95	IC 95 % P95
<b>Total</b>	1 052	12,84	[12,43 ; 13,27]	7,73	9,84	12,37	16,42	22,14	26,00	[24,07 ; 29,39]
<b>Sexe</b>										
Garçon	535	13,02	[12,40 ; 13,68]	7,68	10,08	12,41	16,91	23,34	27,83	[24,31 ; 31,14]
Fille	517	12,66	[12,09 ; 13,26]	7,78	9,62	12,34	16,06	21,05	24,00	[22,62 ; 26,22]
<b>Âge (ans)</b>										
6-10	477	16,25	[15,52 ; 17,01]	10,47	12,76	15,75	20,10	25,26	30,08	[26,59 ; 32,45]
11-14	389	11,85	[11,27 ; 12,45]	7,46	9,55	11,49	14,26	18,62	23,52	[19,37 ; 25,97]
15-17	186	9,40	[8,81 ; 10,02]	6,30	7,88	9,65	11,44	13,37	15,18	[13,55 ; 16,44]

## 4.2 Comparaison avec des études françaises et internationales

Le tableau 6 présente les résultats d'imprégnation par le cuivre de l'étude Esteban et de l'étude canadienne (ECMS) exprimés en  $\mu\text{g. L}^{-1}$  à des fins de comparaison.

En France, l'imprégnation par le cuivre au sein de la population des enfants n'avait pas été précédemment estimée. Dans cette étude, la concentration urinaire médiane en cuivre est égale à  $13,60 \mu\text{g. L}^{-1}$  pour la population des enfants âgés entre 6 et 17 ans. Cette médiane ainsi que le percentile 95 est similaire à ce qui a pu être retrouvé dans l'étude canadienne (24) ou dans l'étude tchèque non présentée dans ce tableau car la médiane est exprimée par g de créatinine et égale à  $16,1 \mu\text{g. g}^{-1}$  de créatinine (26).

**TABLEAU 6**

### Niveaux d'imprégnation par le cuivre observés en France et à l'étranger chez les enfants (en $\mu\text{g. L}^{-1}$ )

Pays	Étude	Année	Population	n	Med ( $\mu\text{g. L}^{-1}$ )	P95 ( $\mu\text{g. L}^{-1}$ )	%>LOQ (LOQ $\mu\text{g. L}^{-1}$ )
France	Esteban	2014 - 2016	Enfants (6-17 ans)	1052	13,60	24,64	99,9% (0,24)
Canada	ECMS (24)	2007-2009	6-11 ans	1031	15,75	26,92	99,7% > LOD (LOD = 0,64)
			12-19 ans	982	10,11	20,03	

## 5. DÉTERMINANTS DE L'IMPRÉGNATION PAR LE CUIVRE CHEZ LES ADULTES ET ENFANTS

Les concentrations urinaires en cuivre sont augmentées chez les personnes adultes qui déclaraient être fumeuses (17,7 %). Par contre, les résultats n'ont pas montré d'augmentation des concentrations urinaires en cuivre avec les autres variables testées.

**TABLEAU 7**

**Déterminants associés aux concentrations urinaires en cuivre ajustées sur la concentration en créatinine (variables qualitatives)**

Variable qualitative	Effectif de l'échantillon (% dans la population)	% Augmentation [IC 95%]
<b>Sexe</b>		
Homme	1 060 (47,9)	-1,8 (-7,8 ; 4,6)
Femme	1 359 (52,1)	Référence
<b>Nombre d'enfants dans le foyer*</b>		
Pas d'enfant	1 622 (65,0)	Référence
Au moins un enfant	797 (35,0)	2,4 [-5,3 ; 10,7]
<b>Diplôme*</b>		
Aucun, CEP, BEP, BEPC, CAP, Brevet élémentaire, Brevet de compagnon,	678 (48,0)	Référence
Baccalauréat (Général, Technologique)	462 (20,2)	-6,4 [-13,7 ; 1,6]
1 <sup>er</sup> cycle	601 (15,1)	-5,9 [-13,1 ; 1,8]
2 <sup>e</sup> cycle	678 (16,6)	-3,1 [-10,7 ; 5,2]
<b>Statut tabagique</b>		
Non fumeur, non exposé au tabagisme passif	1 110 (45,9)	Référence
Non fumeur, exposé au tabagisme passif	165 (9,7)	-8,7 [-25,2 ; 11,4]
Ex fumeur	636 (24,1)	6,6 [-3,4 ; 17,6]
Fumeur	508 (24,4)	<b>17,7 [7,6 ; 28,6]</b>
<b>Consommation de céréales provenant de l'agriculture biologique</b>		
Jamais ou moins d'une fois par semaine	1 494 (70,0)	Référence
1 à 3 fois par mois	297 (11,5)	-1,8 [-12,2 ; 9,2]
1 à 3 fois par semaine	195 (8,8)	4,5 [-6,3 ; 16,5]
4 à 7 fois par semaine	268 (9,7)	8,4 [-2,1 ; 20,0]

\* *variable d'ajustement*

**TABLEAU 8****Déterminants associés aux concentrations urinaires en cuivre ajustées sur la concentration en créatinine (variables quantitatives)**

Variable quantitative	P50 [P25 – P75]	Variation entre le P25 et le P75 % [IC 95%]
Log (créatinine)* (g. L <sup>-1</sup> )	0,8 [0,5 ; 1,3]	94,3 [77,2 ; 113,0]
Âge (ans)	47,0 [35,0 ; 59,0]	-5,8 [-12,5 ; 1,4]
IMC	24,9 [22,3 ; 28,4]	1,8 [-4,8 ; 8,7]
Consommation de pain, biscottes... (g par jour)	92,5 [64,3 ; 127,4]	-2,2 [-8,1 ; 4,1]

\* variable d'ajustement

Dans cette étude, comme présenté dans les tableaux 9 et 10, les concentrations urinaires en cuivre sont augmentées chez les enfants plus jeunes (diminution des concentrations en cuivre de 16,2 % entre les enfants âgés de 8 ans et ceux de 14 ans) et avec un IMC plus bas (diminution des concentrations en cuivre de 10,6 % entre les enfants ayant un IMC de 16 et 20,9). L'imprégnation en cuivre est également augmentée chez les enfants ayant une consommation plus fréquente de légumes en provenance de l'agriculture biologique. Les concentrations urinaires en cuivre sont augmentées de 8 % chez ceux consommant plus de 4 fois par semaine des légumes en provenance de l'agriculture biologique par rapport à ceux n'en consommant jamais ou rarement.

**TABLEAU 9****Déterminants associés aux concentrations urinaires en cuivre ajustées sur la concentration en créatinine (variables qualitatives) chez les enfants de l'étude Esteban 2014-2016**

Variable qualitative	Effectif de l'échantillon (% dans la population)	% Augmentation [IC 95%]
<b>Sexe</b>		
Garçon	535 (49,6 %)	1,2 (-4,4 ; 7,1)
Fille	517 (50,4 %)	Référence
<b>Ressenti sur les finances du foyer*</b>		
<b>À l'aise</b>	221 (16,3 %)	0,1 [-7,4 ; 8,1]
Ça va	394 (34,1 %)	-3,7 [-9,4 ; 2,3]
C'est juste	103 (10,0 %)	9,5 [-1,7 ; 21,9]
Il faut faire attention ou arrive difficilement ou avec des dettes	330 (39,6 %)	Référence
<b>Vie en couple*</b>		
Oui	936 (81,5 %)	Référence
Non	116 (18,5 %)	-7,8 [-15,1 ; 0,1]
<b>Consommation de légumes en provenance de l'agriculture biologique</b>		
Jamais ou mois d'une fois par mois	527 (55,3 %)	Référence
1 à 3 fois par mois	161 (16,5 %)	0,3 [-7,1 ; 8,3]
1 à 3 fois par semaine	95 (15,7 %)	3,3 [-3,6 ; 10,7]
4 à 7 fois par semaine	<b>79 (12,4 %)</b>	<b>8,3 [1,0 ; 16,2]</b>

\* variable d'ajustement

## TABLEAU 10

### Déterminants associés aux concentrations urinaires en cuivre ajustées sur la concentration en créatinine (variables quantitatives) chez les enfants de l'étude Esteban 2014-2016

Variable quantitative	P50 [P25 – P75]	Variation entre le P25 et le P75 % [IC 95%]
Log (créatinine)* (g. L <sup>-1</sup> )	1,1 [0,7 ; 1,5]	48,6 [31,8 ; 67,6]
Âge (ans)	11 [8 ; 14]	-16,2 [-21,2 ; -10,8]
IMC	18,0 [16,0 ; 20,9]	-10,6 [-15,9 ; -4,9]
Consommation de biscuits, gâteaux et pâtisseries (g par jour)	51,0 [39,2 ; 65,9]	0,5 [-3,6 ; 4,8]
Consommation de chocolat (g par jour)	11,4 [6,3 ; 18,6]	1,4 [-2,8 ; 5,8]

\* variable d'ajustement

## 6. DISCUSSION

L'étude Esteban a permis de donner pour la première fois la distribution de cuivre chez les adultes et les enfants vivant en France métropolitaine en 2014-2016, il n'est donc pas possible de comparer ces données avec des études précédentes en population générale française.

L'expression de la concentration en une substance chimique par gramme de créatinine permet de tenir compte des effets de la dilution urinaire ainsi que de certaines différences physiologiques : fonction rénale, masse maigre de l'organisme (27, 28). L'excrétion de la créatinine peut varier selon l'âge, le sexe et l'origine ethnique. Il n'est pas conseillé de comparer les concentrations corrigées en fonction de la créatinine de différents groupes démographiques (ex : adultes - enfants, hommes - femmes...) (27).

Le guide de l'OMS de 1996 : « Biological Monitoring of Chemical Exposure in the Workplace » (population adulte exposée professionnellement) recommande d'exclure les individus ayant des concentrations en créatinine  $< 0,3 \text{ g. L}^{-1}$  ou  $> 3 \text{ g. L}^{-1}$  des analyses statistiques dans les études de biosurveillance. Il existe la même recommandation de la part de la commission allemande de biosurveillance humaine (*Standardisation of Substance Concentrations in Urine – Creatinine, 2005*). Cet intervalle convient principalement comme critère d'évaluation pour une population active dans le cadre de l'évaluation de l'exposition professionnelle. L'excrétion de la créatinine peut s'avérer significativement plus faible, en particulier chez les enfants et les personnes âgées. De ce fait, en population générale, on peut retrouver une fréquence plus importante d'échantillons d'urines dont les concentrations en créatinine sont inférieures à  $0,3 \text{ g. L}^{-1}$ .

Santé Canada observe de grandes variations en créatinine à la hausse ou à la baisse, dépendant du cycle d'ECMS. Selon le programme américain NHANES (*National Health and Nutrition Examination Survey*), il semble que ces variations soient attendues<sup>1</sup>.

Santé Canada n'a pas appliqué la recommandation de l'OMS et de la commission allemande d'exclure ces individus. Ces données sont donc présentées dans les résultats de leurs rapports.

L'équipe de NHANES n'a exclu aucun résultat, non plus, basé sur les concentrations en créatinine inférieures à  $0,3 \text{ g. L}^{-1}$  ou supérieures à  $3 \text{ g. L}^{-1}$  dans les tableaux descriptifs de leurs rapports<sup>2</sup>. D'un autre côté, dans les analyses statistiques utilisées pour étudier les associations entre exposition et effets sur la santé et en fonction de la variable étudiée, elle suit les recommandations de l'OMS.

Au vu du nombre important de sujets potentiellement concernés par l'exclusion, nous avons décidé comme les programmes étrangers nord-américains de ne pas exclure les participants adultes ayant une concentration en créatinine inférieure à  $0,3 \text{ g. L}^{-1}$  ou  $> 3 \text{ g. L}^{-1}$  dans les analyses statistiques sachant que ces individus sont plutôt des femmes plus âgées mais sans autre caractéristique particulière. Concernant les enfants, étant donné la faible proportion d'individus avec une créatinine anormale et en l'absence de recommandations internationales, il est proposé de les conserver pour la réalisation des analyses. Toutefois, les résultats descriptifs d'Esteban sont systématiquement exprimés en  $\mu\text{g. L}^{-1}$  et en  $\mu\text{g. g}^{-1}$  de créatinine et la créatinine est introduite comme un facteur d'ajustement dans le modèle multivariable.

Les résultats obtenus dans l'étude Esteban sont comparables aux résultats retrouvés dans la littérature à l'étranger. Toutefois, les dosages sanguins et urinaires de cuivre ne sont pas de pratique courante pour la surveillance biologique dans la mesure où la corrélation avec l'exposition n'est pas toujours clairement démontrée. Par ailleurs, le cuivre est un oligoélément essentiel intervenant dans de nombreux systèmes enzymatiques ; il ne s'accumule donc pas dans l'organisme sauf en cas d'anomalies génétiques ou lors d'une administration chronique à doses élevées et il fait l'objet d'une

<sup>1</sup> <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28265873>

<sup>2</sup> <https://www.cdc.gov/exposurereport/>

régulation physiologique. Ainsi, la similitude des concentrations retrouvées dans les différentes études n'est pas surprenante.

Dans cette étude, le seul déterminant retrouvé chez les adultes est la consommation de tabac, déterminant commun à l'augmentation de l'imprégnation à de nombreux métaux.

Chez les enfants, l'âge et l'IMC sont retrouvés comme influençant les concentrations urinaires en cuivre. Les enfants les plus jeunes sont plus imprégnés en cuivre. Ce résultat a déjà été retrouvé pour d'autres substances car ceux-ci ont un poids corporel plus faible par rapport à leurs apports alimentaires, comparativement aux adultes ou aux enfants plus âgés. Ils peuvent également avoir des comportements plus exposants.

Dans cette étude, la consommation plus fréquente de légumes issus de l'agriculture biologique augmente également les niveaux d'imprégnation par le cuivre dans la population des enfants. En effet, le cuivre est traditionnellement utilisé en agriculture et très utilisé en agriculture biologique pour prévenir ou traiter certaines maladies fongiques comme les mildious ou les maladies bactériennes des arbres fruitiers, de la vigne ou des productions légumières. Toutefois, cette relation n'a pas été observée chez les adultes peut être en raison d'une diversification plus importante de leur alimentation.



## 7. VALEURS DE RÉFÉRENCE D'EXPOSITION (VRE) AU CUIVRE À PARTIR DES RÉSULTATS DE CUIVRE URINAIRE DE L'ÉTUDE ESTEBAN

D'une manière générale, la VRE renseigne sur un niveau particulier d'imprégnation de la population générale française (population de référence) au-delà duquel on peut vraisemblablement considérer l'imprégnation comme anormalement élevée. Les VRE ne renseignent pas sur un quelconque effet sanitaire et ne doivent pas être confondues avec les valeurs limites biologiques d'imprégnation. La VRE établie à partir des données d'exposition permet de comparer les résultats mesurés chez un individu ou un sous-groupe de population par rapport à l'imprégnation de la population de référence. Ainsi, il est possible d'identifier des individus surexposés par rapport à la population de référence. En France, les seules VRE existantes pour la population générale sont celles produites à partir des résultats de l'étude ENNS en 2006-2007. L'étude Esteban, réalisée en 2014-2016 permet leur actualisation et fournit pour la première fois des VRE chez les enfants âgés de 6 à 17 ans. La multiplicité des méthodes disponibles pour produire des VRE a conduit Santé publique France à définir et publier une stratégie nationale de production des VRE (29, 30). La méthode de production des VRE françaises a été inspirée des travaux de la commission allemande de biosurveillance (31) et des travaux canadiens à partir de l'enquête ECMS (32). C'est donc la valeur arrondie du percentile 95, comprise dans l'intervalle de confiance à 95%, qui a été choisie.

Chez les enfants, les découpages de la population en classes d'âges n'ont pas mis en évidence de différences significatives entre les percentiles 95 de chacune des tranches d'âge. Il n'a donc pas été jugé pertinent d'établir des VRE tenant compte d'un critère « âge » comme critère de partition.

La VRE proposée pour la population infantile âgée de 6 à 17 ans exprimée en  $\mu\text{g. L}^{-1}$  de cuivre est présentée dans le tableau ci-dessous.

**TABLEAU 11**

**Valeur de référence d'exposition chez les enfants à partir des concentrations en cuivre ( $\mu\text{g. L}^{-1}$ ) dans les urines de la population vivant en France continentale, Esteban 2014-2016**

Biomarqueur	Effectif	Classe d'âge	P95 (IC 95%)	VRE <sub>95</sub>
Cu	1052	6-17 ans	24,64 [23,24 ; 26,60]	24

Chez les adultes, les découpages de la population en classes d'âges n'ont pas mis en évidence de différences significatives entre les percentiles 95 de chacune des tranches d'âge. Il n'a donc pas été jugé pertinent d'établir des VRE tenant compte d'un critère « âge » comme critère de partition.

La VRE proposée pour la population générale adulte âgée de 18 à 74 ans exprimée en  $\mu\text{g. L}^{-1}$  de cuivre est présentée dans le tableau ci-dessous.

**TABLEAU 12**

**Valeur de référence d'exposition chez les adultes à partir des concentrations en cuivre ( $\mu\text{g. L}^{-1}$ ) dans les urines de la population vivant en France continentale, Esteban 2014-2016**

Biomarqueur	Effectif	Classe d'âge	P95 (IC 95%)	VRE <sub>95</sub>
Cu	2419	18-74 ans	22,95 [21,89 ; 24,07]	22

## 8. CONCLUSION

L'étude Esteban a permis pour la première fois de décrire l'exposition au cuivre chez les adultes et les enfants vivant en France métropolitaine en 2014-2016 et d'établir une valeur de référence d'exposition chez les adultes de 22  $\mu\text{g. L}^{-1}$  et de 24  $\mu\text{g. L}^{-1}$  chez les enfants. Les concentrations urinaires en cuivre, oligoélément essentiel, sont similaires à celles retrouvées dans les études à l'étranger. Ces données permettent d'avoir une première description de la concentration en cuivre dans la population française qui sera utile pour évaluer les tendances temporelles lors de prochaines enquêtes de biosurveillance.

## Références bibliographiques

1. Anses. Étude de l'alimentation totale française 2 (EAT 2). Tome 1 : Contaminants inorganiques, minéraux, polluants organiques persistants, mycotoxines, phyto-oestrogènes, Maisons-Alfort : 2011.
2. Anses. Étude de l'Alimentation Totale Infantile (EAT i). Exposition alimentaire des enfants de moins 3 ans à certaines substances Tome 2 – Partie 2 : Composés inorganiques. Maisons-Alfort : 2016.
3. (1998). OI. Environmental Health Criteria n°200: copper. World Health Organisation, International Programme on chemical Safety. <http://www.inchem.org/fullist.htm>.
4. Barceloux DG. Copper. Journal of toxicology Clinical toxicology. 1999;37(2):217-30.
5. Strickland GT, Beckner WM, Leu ML. Absorption of copper in homozygotes and heterozygotes for Wilson's disease and controls: isotope tracer studies with <sup>67</sup> Cu and <sup>64</sup> Cu. Clinical science. 1972;43(5):617-25.
6. Luza SC, Speisky HC. Liver copper storage and transport during development: implications for cytotoxicity. The American journal of clinical nutrition. 1996;63(5):812s-20s.
7. Owen CA, Jr. Metabolism of radiocopper (<sup>64</sup>Cu) in the rat. The American journal of physiology. 1965;209(5):900-4.
8. Bush JA, Mahoney JP, Markowitz H, Gubler CJ, Cartwright GE, Wintrobe MM. Studies on copper metabolism. XIV. Radioactive copper studies in normal subjects and in patients with hepatolenticular degeneration. The Journal of clinical investigation. 1955;34(12):1766-78.
9. Harris ED. Copper transport: an overview. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine Society for Experimental Biology and Medicine (New York, NY). 1991;196(2):130-40.
10. Müller-Höcker J, Meyer U, Wiebecke B, Hübner G, Eife R, Kellner M, *et al.* Copper storage disease of the liver and chronic dietary copper intoxication in two further German infants mimicking Indian childhood cirrhosis. Pathology, research and practice. 1988;183(1):39-45.
11. Calabrese EJ, Moore GS. Can elevated levels of copper in drinking water precipitate acute hemolysis in G-6-PD deficient individuals? Medical hypotheses. 1979;5(4):493-8.
12. (1996). O. Copper. Trace element in human nutrition and health. Geneva, World Health Organization, vol chap. 7, pp. 123-143.
13. Dereumeaux C FC, Saoudi A, Pecheux M, de Crouy Chanel P, Berat B, *et al.* Imprégnation des femmes enceintes par les polluants de l'environnement en France en 2011 - Tome 2 : métaux et métalloïdes [En ligne]. Saint-Maurice : Santé publique France; 2017. 225 p. p. [consulté le 10/09/2019]. Disponible: [www.santepubliquefrance.fr](http://www.santepubliquefrance.fr).
14. Dereumeaux C, Saoudi A, Pecheux M, Berat B, de Crouy-Chanel P, Zaros C, *et al.* Biomarkers of exposure to environmental contaminants in French pregnant women from the Elfe cohort in 2011. Environment international. 2016;97:56-67.
15. Balicco A OA, Szego E, Bosch L, Deschamps V, Saoudi A, *et al.* . Protocole Esteban : une Étude transversale de santé sur l'environnement, la biosurveillance, l'activité physique et la nutrition (2014-2016) Toxicologie analytique & clinique 2017; 29:517-37.
16. Royston P WI. Multiple imputation by chained equations (MICE): Implementation in Stata. Journal of Statistical Software. 2011;45:1-20.
17. Little RJA RD. Statistical analysis with missing data. 2 éd. New York : Wiley Series in Probability and Statistics; 2002. 408 p. .
18. 2015. S. Stata Statistical Software: Release 14. College Station, TX: StataCorp LP.
19. T. L. Survey: analysis of complex survey samples. R package version 3.35-1, 2019.

20. Team. RC. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2013. URL <http://www.R-project.org/>.
21. Snoj Tratnik J, Falnoga I, Mazej D, Kocman D, Fajon V, Jagodic M, *et al.* Results of the first national human biomonitoring in Slovenia: Trace elements in men and lactating women, predictors of exposure and reference values. *International journal of hygiene and environmental health.* 2019;222(3):563-82.
22. Hoet P, Jacquerye C, Deumer G, Lison D, Haufroid V. Reference values and upper reference limits for 26 trace elements in the urine of adults living in Belgium. *Clinical chemistry and laboratory medicine.* 2013;51(4):839-49.
23. Morton J, Tan E, Leese E, Cocker J. Determination of 61 elements in urine samples collected from a non-occupationally exposed UK adult population. *Toxicology letters.* 2014;231(2):179-93.
24. Canada. S. Rapport sur la biosurveillance humaine des substances chimiques de l'environnement au Canada, Résultats de l'Enquête canadienne sur les mesures de la santé Cycle 1 (2007-2009), Ottawa (Ontario) 2010.
25. Kai-Wei Liao W-HP, Saou-Hsing Liou, Chien-Wen Sun, Po-Chin Huang, Shu-Li Wang. Levels and temporal variations of urinary lead, cadmium, cobalt, and copper exposure in the general population of Taiwan. *Environ Sci Pollut Res Int* 2019 Feb;26(6):6048-6064.
26. Milena Černá AK, Mája Čejchanová, Věra Spěváčková. Human biomonitoring in the Czech Republic: An overview. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* Volume 215, Issue 2, February 2012, Pages 109-119.
27. Barr DB, Wilder LC, Caudill SP, Gonzalez AJ, Needham LL, Pirkle JL. Urinary creatinine concentrations in the U.S. population: implications for urinary biologic monitoring measurements. *Environmental health perspectives.* 2005;113(2):192-200.
28. Pearson MA, Lu C, Schmotzer BJ, Waller LA, Riederer AM. Evaluation of physiological measures for correcting variation in urinary output: Implications for assessing environmental chemical exposure in children. *Journal of exposure science & environmental epidemiology.* 2009;19(3):336-42.
29. Rambaud L SA, Zeghnoun A, Dereumeaux C, Fillol C. . Elaboration de valeurs de références d'exposition à partir de données de biosurveillance [En ligne]. Saint-Maurice, France : Santé publique France; 2017. 26 p. [consulté le 24/01/2020]. Disponible: <https://www.santepubliquefrance.fr>.
30. Rambaud L FC. Élaboration de valeurs de référence en population générale à partir d'études avec biomarqueurs. *Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement.* 2017;78(2):175-81.
31. Schulz C, Wilhelm M, Heudorf U, Kolossa-Gehring M. Update of the reference and HBM values derived by the German Human Biomonitoring Commission. *International journal of hygiene and environmental health.* 2011;215(1):26-35.
32. Saravanabhavan G, Werry K, Walker M, Haines D, Malowany M, Khoury C. Human biomonitoring reference values for metals and trace elements in blood and urine derived from the Canadian Health Measures Survey 2007-2013. *International journal of hygiene and environmental health.* 2017;220(2 Pt A):189-200.



## Annexe 1 / Liste des variables testées dans les modèles multivariés chez les adultes

---

### Variables

#### Facteurs d'ajustements

Indice de masse corporelle  
Age  
Sexe  
Composition du ménage  
Personne de référence du ménage active  
Nombre d'enfants dans le foyer  
Statut tabagique  
Diplôme  
Créatinine

#### Déterminants

Quantité d'eau du robinet consommée (comprenant le thé, le café...)  
Consommation de crustacés et mollusques  
Consommation de pain et de biscottes  
Consommation de riz et de pâtes  
Consommation de pommes de terre  
Consommation de foie, rognon, gésiers...  
Consommation de biscuits, gâteaux et pâtisseries  
Consommation de chocolat  
Consommation de cacahuètes, amandes, pistache  
Consommation de fruits issus de l'agriculture biologique  
Consommation de légumes issus de l'agriculture biologique  
Consommation de céréales issues de l'agriculture biologique  
Fréquence d'utilisation de matériaux en métal dans les activités de loisir  
Fréquence d'activités de loisir telles que l'assemblage, la réparation de composants électroniques etc...  
Domaines d'activité actuels exposant aux métaux : métallurgie; recyclage métaux; usinage polissage de métaux ; fabrication du verre  
Exposition aux métaux sur le lieu de travail actuel  
Exposition aux métaux autres (cuivre) sur le lieu de travail actuel

---

## Annexe 2 / Liste des variables testées dans les modèles multivariés chez les enfants

---

### Variables

#### Facteurs d'ajustements

Indice de masse corporelle  
Âge  
Sexe  
Composition du ménage  
Personne de référence du ménage active  
Ressenti sur les finances du foyer  
Vie en couple  
Créatinine

#### Déterminants

Quantité d'eau du robinet consommée (comprenant le thé, le café...)  
Consommation de crustacés et mollusques  
Consommation de pain et de biscottes  
Consommation de riz et de pâtes  
Consommation de pommes de terre  
Consommation de foie, rognon, gésiers...  
Consommation de biscuits, gâteaux et pâtisseries  
Consommation de chocolat  
Consommation de cacahuètes, amandes, pistache  
Consommation de fruits issus de l'agriculture biologique  
Consommation de légumes issus de l'agriculture biologique  
Consommation de céréales issues de l'agriculture biologique  
Fréquence d'utilisation de matériaux en métal dans les activités de loisir  
Fréquence d'activités de loisir telles que l'assemblage, la réparation de composants électroniques etc.

---