



HAL
open science

Distribution et élimination de la chlordécone chez les animaux d'élevage – modélisation des processus

Aurore Fourcot

► **To cite this version:**

Aurore Fourcot. Distribution et élimination de la chlordécone chez les animaux d'élevage – modélisation des processus. Toxicologie. Université de Lorraine, 2020. Français. NNT : 2020LORR0260 . tel-03284812

HAL Id: tel-03284812

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-03284812v1>

Submitted on 12 Jul 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



UNIVERSITÉ
DE LORRAINE

SIReNa



INRAE

Université de Lorraine

École Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires

Unité de Recherche Animal et Fonctionnalités des Produits Animaux (UR AFPA)

École Doctorale Sciences et Ingénieries des Ressources Naturelles (SIReNa)

THÈSE :

Présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur de l'Université de Lorraine

Ecole Doctorale : Sciences et Ingénierie des Ressources Naturelles

Spécialité : Sciences Agronomiques

Distribution et élimination de la chlordécone chez les animaux d'élevage –
modélisation des processus

Soutenue publiquement le 16 décembre 2020 par :

Aurore FOURCOT

Devant le jury composé de :

Nicole HAGEN-PICARD	Professeur, ENVT, Toulouse	Rapporteur
Jacob VAN MILGEN	Ingénieur de recherche, INRAE, Rennes	Rapporteur
Céline BROCHOT	Docteur, INERIS, Verneuil en Halatte	Examinatrice
Moez SANAA	Chef d'unité UERALIM, Anses, Maisons-Alfort	Examineur
Guido RYCHEN	Professeur, Université de Lorraine – ENSAIA, Vandoeuvres-lès-Nancy	Examineur <i>Directeur</i>
Cyril FEIDT	Professeur, Université de Lorraine – ENSAIA, Vandoeuvres-lès-Nancy	Examineur <i>Co-directeur</i>
Jean-Luc GOURDINE	Ingénieur de recherche, INRAE, Petit-Bourg	Invité <i>Encadrant</i>
Laurent NOËL	Chef du Bureau de la Coordination en matière de Contaminants Chimiques ou Physiques, DGAL, Paris	Invité

L'utilisation de la chlordécone (CLD), un pesticide organochloré utilisé dans les bananeraies des Antilles Françaises de 1972 à 1993, a conduit à une pollution durable des surfaces agricoles. En ingérant des aliments ou des matrices environnementales (sol, eau ou végétaux) contaminés, les animaux sont susceptibles d'être exposés à la CLD. Ces travaux de thèse s'intègrent dans l'objectif de sécurisation des filières animales vis-à-vis du risque CLD.

Les objectifs de cette thèse sont (1) d'apporter des connaissances sur les mécanismes de distribution et d'élimination de la CLD chez les animaux d'élevage et (2) de développer des outils d'aide à la décision pour accompagner les filières animales locales.

Pour cela, des expérimentations *in vivo* ont été réalisées chez le porc en croissance et la brebis adulte. Chez le porc, deux expérimentations consistant à suivre les cinétiques d'élimination sérique et fécale suite à une administration intraveineuse en dose unique de CLD ou de CLDOH (chlordécol) ont été réalisées. Des approches non compartimentales et compartimentales ont été utilisées pour estimer les paramètres toxicocinétiques de la CLD et de ses métabolites à partir des cinétiques sériques. Les cinétiques fécales ont permis de caractériser le métabolisme de la CLD et de quantifier son excrétion fécale. Chez la brebis, l'ensemble de ces données toxicocinétiques étant déjà disponibles dans la littérature, l'objectif était de les compléter en caractérisant la distribution de la CLD. Une expérimentation impliquant des abattages sériés pendant une phase de contamination et de décontamination a permis de caractériser la dynamique de distribution de la CLD. Des corrélations de concentrations entre les tissus ont ainsi été établies et des temps de demi-vies tissulaires ont été calculés. Le suivi de la cinétique fécale a également permis de compléter les connaissances sur l'excrétion de la CLD.

L'ensemble des résultats toxicocinétiques obtenus chez la brebis ont été utilisés pour développer un modèle pharmacocinétique à base physiologique (PBPK) permettant de prédire les concentrations de CLD dans différents tissus. Ce modèle servira de base pour l'élaboration d'outils d'aide à la décision pour accompagner les filières animales dans les zones contaminées par la CLD. Une étude *in vivo* est envisagée chez le porc pour caractériser la dynamique de distribution tissulaire et ainsi pouvoir développer des outils similaires à ceux construits chez la brebis.

Mots clés : Chlordécone, Toxicocinétique, Ruminants, Porc, Modélisation

The use of chlordecone (CLD), an organochlorine pesticide used in the French West Indies banana fields between 1972 and 1993, resulted in a long-term pollution of agricultural areas. Animals may be exposed to CLD by ingesting contaminated food or environmental matrices (soil, water or plants). This PhD project is integrated in the objective of securing animal sectors against CLD risk.

The aims of this thesis are (1) to provide knowledge on distribution and elimination mechanisms of CLD in farm animals and (2) to develop decision support tools to assist local animal sectors.

To this end, *in vivo* experiments were performed in adult ewes and growing pigs. In pigs, two experiments consisting of monitoring serum and fecal elimination kinetics following a single intravenous administration of CLD or CLDOH (chlordecol) were performed. Non-compartmental and compartmental approaches were used to estimate toxicokinetic parameters of CLD and its metabolites from serum kinetics. Faecal kinetics were used to characterize metabolism of CLD and to quantify its faecal excretion. In ewes, these toxicokinetic data were already available in literature, so the objective was to complete them by characterizing CLD distribution. An experiment involving sequentially slaughters during contamination and decontamination phases allowed to characterize the distribution dynamics of CLD. Correlations between concentrations in tissues were established and CLD half-lives in tissues were calculated. The monitoring of fecal kinetics provided additional knowledge on CLD excretion.

All toxicokinetic results obtained in ewes were used to develop a physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model to predict CLD concentrations in various tissues. This model will be used to develop decision support tools to assist animal sectors in CLD contaminated areas. An *in vivo* study is being considered in pigs to characterize the dynamics of CLD tissue distribution and thus be able to develop similar tools to those developed in ewes.

Keywords: Chlordecone, Toxicokinetics, Ruminants, Pigs, Modelling

A mes encadrants de thèse

Je remercie chaleureusement mon directeur de thèse M. Guido Rychen et mes co-directeurs M. Cyril Feidt et M. Jean-Luc Gourdine. Un grand merci à Mme Agnès Fournier qui a eu un rôle majeur dans mon encadrement de thèse. Guido et Cyril, je vous remercie de m'avoir fait confiance et de m'avoir toujours encouragée. Malgré vos emplois du temps chargés, entre enseignement et recherche, vous avez toujours su vous rendre disponibles. Merci pour votre patience, votre franchise et vos conseils avisés qui m'ont permis de grandir. Agnès, je te remercie sincèrement pour ton aide tout au long de ma thèse, pour tes encouragements et tes conseils qui m'ont poussée à tendre vers le meilleur. Jean-Luc, merci pour ton aide en Guadeloupe et nos échanges sur les pratiques d'élevage et la modélisation. Je mesure la chance d'avoir été très bien encadrée et guidée par des personnes très complémentaires. Ces conditions idéales m'ont permis de m'épanouir dans ce travail et de donner le meilleur de moi-même.

Aux membres de mon jury et de mon comité de thèse

J'adresse mes plus sincères remerciements au Pr Nicole Hagen-Picard et au Pr Jacob van Milgen qui ont accepté d'examiner ce travail en tant que rapporteurs. Je remercie également Céline Brochot, Moez Sanaa, Laurent Noël, Guido Rychen, Cyril Feidt et Jean-Luc-Gourdine d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse. C'est un honneur de vous compter parmi les membres du jury.

Je remercie également les membres de mon comité de suivi de thèse pour leurs conseils, leurs propositions et leurs remarques constructives : Alain Bousquet-Mélou, Luc Multigner et Harry Archimède.

Aux directeurs des structures d'accueil

J'ai eu la chance de réaliser ma thèse entre Nancy et la Guadeloupe. Je remercie les directeurs des structures de rattachement pour leur accueil : Pascal Fontaine (UR AFPA), Nathalie Mandonnet (Unité de Recherches Zootechniques, INRAE) et Jérôme Fleury (Plateforme Tropicale d'Expérimentation sur l'Animal).

Pour les conseils scientifiques et humains

Je remercie Alain Bousquet-Mélou et Aude Ferran de m'avoir accompagnée sur les approches de toxicocinétique. Alain, je te remercie chaleureusement pour la richesse des échanges que nous avons eu à de nombreuses reprises, le temps que tu m'as accordé et ton soutien. J'ai beaucoup appris à tes côtés. Aude, merci de m'avoir initiée à Monolix et de m'avoir accordé de ton temps.

Je remercie les partenaires du LEAE-CART (Liège) : Jean-Pierre Thomé et Célia Joaquim-Justo. Jean-Pierre, un merci tout particulier pour nos échanges, ton aide sur la partie analytique et pour tes nombreux encouragements.

Je tiens à remercier sincèrement Yves Le Roux, mon mentor statistique. Yves, tu t'es pleinement investi dans ma thèse, tu as su me guider, m'encourager et me rassurer. Merci beaucoup !

Je remercie Laurent Noël pour ses nombreux encouragements et ses conseils. Laurent, au-delà de ton expertise scientifique, tu as toujours été prêt à m'écouter, me rassurer et m'encourager. Merci infiniment pour ta présence.

Pour l'aide technique et les analyses

Un grand merci à l'ensemble de l'équipe porc de la PTEA (INRAE, Petit-Bourg) pour leur investissement. Bruno, David, Félix, Katia, Laurent, Mario et Mélain, merci pour votre implication et votre efficacité.

Merci à l'ensemble des membres de l'URZ (INRAE, Petit-Bourg) pour leur accueil et leur aide, en particulier Harry Archimède, Jean-Christophe Bambou et Maurice Mahieu. Je remercie également Carine Marie-Magdeleine-Chevry et l'ensemble de l'équipe du laboratoire de l'URZ pour leur investissement : Dalila, Lucien, Suzite et Yoann. Dali, un merci tout particulier pour ton écoute, ta gentillesse et tes multiples coups de main.

Je remercie Alain Chauvin, Francis Le Gouevic et Maurice Alix (UEPR, INRAE Rennes) pour leur aide. Alain et Francis, merci pour votre rigueur pendant les chirurgies, votre pédagogie et votre bonne humeur ! Maurice, merci pour l'organisation de notre séjour à Rennes et ton efficacité pendant les broyages.

Je remercie Fiona Lobo (Anses) et Catherine Adam (LEAE-CART) pour les analyses de chlordécone. Merci pour votre réactivité et votre rigueur, ce fut un plaisir de travailler avec vous !

Je voudrais exprimer mon immense gratitude à l'ensemble des membres de l'équipe de l'UR AFPA pour leur soutien et leur aide dans les expérimentations. Un grand merci à Paméla Hartmeyer pour son aide précieuse. Pam, merci pour ton investissement et ta bonne humeur, tu as toujours su m'épauler et m'alléger. Je mesure la chance de t'avoir eu à mes côtés. Je tiens à remercier Marion Cizo et Claire Soligot pour leur aide au laboratoire et notamment pour les analyses de lipides. Merci à Hadja Ramata Sidibe et Hadiza Ado Kanto pour leur aide à l'animalerie pendant leur stage. Merci à l'ensemble des personnes mobilisées lors des abattages : Stefan Jurjanz, Alain Iuretig, Claire Collas, Frédéric Desor, Sylvain Slaby, François Le Cor, Matthieu Delannoy, Hervé Toussaint. Je n'oublie pas Catherine Larrière, Nathalie Vuillaume et Nathalie Cadario pour avoir facilité la gestion de mes déplacements.

A mes amis et à ma famille

Chloé, tu étais là aux prémices de cette aventure en Guadeloupe, tu m'as encouragée et soutenue dans la décision de commencer cette thèse. Trouve dans ces quelques lignes le témoignage de tout mon amour.

Steve et Colombine, merci infiniment pour votre soutien et nos fous rires... Je garde en mémoire chacun des précieux moments que nous avons partagé en Guadeloupe et j'espère que nous nous retrouverons très bientôt !

François, Aseel, Mailie, Aurélie, Sylvain, Maxime, Matthieu, Nadine, Vincent, Sonia... J'ai adoré passer ces années avec vous où nous avons su trouver un équilibre entre travail et détente. Merci d'avoir rendu ces trois années beaucoup plus légères et joyeuses ! François, tu sais déjà tout... merci de m'avoir accompagnée dans cette aventure et d'être toujours là pour moi. Aseel, merci pour nos merveilleux moments de vie à la colloc, nos week-end Forro, la folie et pour ta présence infaillible. Syl et Vincent, merci pour votre aide et votre soutien sans faille sur la dernière ligne droite.

Annie, tu as su m'apporter de grandes bouffées d'air frais pendant cette troisième année. Merci pour tes attentions, nos soirées culinaires et tout l'amour que tu me portes.

Un merci à mes amis du Forro Mirabelle : Rafa, Emilie, Maria Clara, Matthias et Greg ! Je garderai longtemps en mémoire nos soirées soupes du lundi et nos soirées danse du jeudi. Merci d'avoir apporté de la chaleur et du soleil dans mes semaines bien chargées.

Merci à mes amis de VetAgro Sup. Chloé, Diego, Kévin, Manon, Pauline, la distance et le temps ne nous ont pas permis de nous voir souvent mais chaque retrouvaille a été une réelle bouffée d'oxygène. Je tiens beaucoup à vous.

Jacques, tu as toujours montré un intérêt pour ma thèse et en as fait une priorité. Tu as su m'épauler, m'encourager et me changer les idées. Je te remercie infiniment.

Je n'oublie pas mon frère, ma sœur et mes parents. J'espère que vous serez fiers de moi.

PUBLICATIONS INTERNATIONALES :

Fourcot, A., Feidt, C., Bousquet-Mélou, A., Ferran, A.A., Gourdine, J.L., Bructer, M., Joaquim-Justo, C., Rychen, G., Fournier, A., 2020. Modeling chlordecone toxicokinetics data in growing pigs using a nonlinear mixed-effects approach. *Chemosphere*. 250, 126151.

Gourdine, J.L., **Fourcot, A.**, Lefloch, C., Naves, M., Alexandre, G., 2020. Assessment of ecosystem services provided by livestock agroecosystems in the tropics: the case studies in tropical island environment of Guadeloupe. *En révision dans Tropical Animal Health and Production*.

Fourcot, A., Feidt, C., Thomé, J.P., Rychen, G., Fournier, A.. Characterization of chlordecone distribution and elimination in ewes during daily exposure and depuration. *En révision dans Chemosphere*.

Fourcot, A., Saint-Hilaire, M., Bousquet-Mélou, A., Rychen, G., Thomé, J.P., Parinet, J., Feidt, C., Fournier, A.. Use of toxicokinetic parameters to quantify pollutant transfer from animals to the environment during depuration process – application to chlordecone in ewes. *En préparation*.

COMMUNICATIONS ORALES :

- **Nationales / Internationales**

Les communications orales internationales prévues ont été annulées en raison du COVID-19.

- **Divers**

Fourcot, A., Feidt, C., Rychen, G., Fournier, A., 2020. Modélisation du transfert de chlordécone chez le ruminant. 1^{er} Webinaire du Réseau ECOTOX. 16-17 novembre 2020.

Fourcot, A., 2019. Participation au concours « Ma Thèse de 180 secondes », finale régionale, Université de Lorraine, 28 mars, Nancy, France.

COMMUNICATIONS AFFICHEES :

- **Congrès internationaux**

Coulange, M., **Fourcot, A.**, Fournier, A., Narduzzi, L., Rychen, G., Le Bizec, B., Feidt, C., Dervilly, G., 2019. Metabolomics as a powerful strategy to highlight chlordecone exposition and identify candidate biomarkers in serum. DIOXIN 2019 - 39th International Symposium on Halogenated Persistent Organic Pollutant, August 25-30th, Kyoto, Japan.

Coulange, M., **Fourcot, A.**, Fournier, A., Narduzzi, L., Rychen, G., Le Bizec, B., Feidt, C., Dervilly, G., 2019. Metabolomics as a powerful strategy to highlight chlordécone exposition & effects and identify candidate biomarkers in serum. 9th International Symposium on Recent Advances in Food Analysis, November 5-8th, Prague, Czech Republic.

Feidt, C., Mahieu, M., Archimède, H., Fourdine, J.L., **Fourcot, A.**, Saint-Hilaire, M., Rychen, G., Fournier, A., 2020. Stratégie de décontamination. Actes de colloque. Recueil de communications sélectionnées dans le cadre du colloque international de recherche interdisciplinaire Transitions Ecologiques en transactions et actions « T2020 », programmé à Toulouse, Université J. Jaurès, en juin 2020.

Fourcot, A., Saint-Hilaire, M., Lastel, M.L., Parinet, J., Thomé, J.P., Mahieu, M., Archimède, H., Gourdine, J.L., Rychen, G., Feidt, C., Fournier, A., 2020. Transfert et devenir de la chlordécone chez l'animal. Actes de colloque. Recueil de communications sélectionnées dans le cadre du colloque international de recherche interdisciplinaire Transitions Ecologiques en transactions et actions « T2020 », programmé à Toulouse, Université J. Jaurès, en juin 2020.

Fourcot, A., Saint-Hilaire, M., Mahieu, M., Archimède, H., Parinet, J., Bousquet-Mélou, A., Ferran, A.A., Rychen, G., Feidt, C., Fournier, A., 2020. Quantification du rejet de chlordécone via les fèces chez les animaux d'élevage. Actes de colloque. Recueil de communications sélectionnées dans le cadre du colloque international de recherche interdisciplinaire Transitions Ecologiques en transactions et actions « T2020 », programmé à Toulouse, Université J. Jaurès, en juin 2020.

- **Congrès nationaux**

Fourcot, A., Gourdine, J.L., Feidt, C., Archimède, H., Mahieu, M., Thomé, J.P., Adam, C., Joaquim-Justo, C., Rychen, G., Fournier, A., 2018. Toxicocinétique de la chlordécone chez l'espèce porcine, comparaison des génotypes Créole et Large White. Colloque Scientifique et d'information sur la pollution par la chlordécone, 16-19 octobre, Fort-de-France (Schoelcher), France.

Fourcot, A., Feidt, C., Saint-Hilaire, M., Parinet, J., Gourdine, J.L., Archimède, H., Bructer, M., Thomé, J.P., Adam, C., Joaquim-Justo, C., Rychen, G., Fournier, A., 2019. Evaluation du rejet de chlordécone via les fèces par des animaux d'élevage en décontamination. Quatrièmes Rencontres nationales de la Recherche sur les sites et sols pollués, 26-27 novembre 2019, Paris, France.

- **Séminaire de l'école doctorale SIRENA**

Fourcot, A., Feidt, C., Gourdine, J.L., Archimède, H., Bructer, M., Mahieu, M., Thomé, J.P., Adam, C., Joaquim Justo, C., Rychen, G., Fournier, A., 2019. Quelles solutions pour maintenir l'élevage sur des territoires contaminés en chlordécone ? Focus sur l'espèce porcine. Séminaire de l'école doctorale SIRENa, 7 février 2019. (Communication affichée)

Fourcot, A., Saint-Hilaire, M., Rychen, G., Bousquet-Mélou A., Parinet, J., Joachim Justo, C., Feidt, C., Fournier, A., 2020. Quantification du rejet de chlordécone via les fèces chez la brebis - application à un protocole de décontamination. Séminaire de l'école doctorale SIRENa, 13 février 2020. (Communication affichée)

COLLABORATIONS SCIENTIFIQUES :

- **Institut national de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement (INRAE), Unité de Recherche Zootechnique (URZ, UR 143) et la Plateforme Tropicale d'Expérimentation sur l'Animal (PTEA, UE 1294), Petit-Bourg, France :** Collaboration scientifique dans le cadre du projet INSSICCA. Cette convention a permis de réaliser une expérimentation toxicocinétique sur des porcs en croissance à la PTEA de janvier à mai 2018 (Expérimentation C1). Encadrement effectué par Jean-Luc Gourdine (URZ).
- **Center for Analytical Research and Technology (CART) Liège, Belgique :** Collaboration scientifique dans le cadre du dosage de la chlordécone dans les sérums de brebis (expérimentation B) et de porc (expérimentation C1). Contribution de Jean-Pierre Thomé, Célia Joaquim-Justo, Catherine Adam et d'autres membres de l'équipe du CART.
- **Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses), Laboratoire de Sécurité des Aliments (LSAI), Unité Pesticides et Biotoxines Marines (UPBM), Maisons-Alfort, France :** Collaboration scientifique dans le cadre du dosage de la chlordécone et de ses métabolites dans la bile, les contenus digestifs et les fèces de brebis (expérimentation B) et dans le sérum, l'urine, la bile, les contenus digestifs et les fèces de porc (expérimentations C1 et C2).
- **LABoratoire d'Etude des Résidus et Contaminants dans les Aliments (LABERCA), Nantes, France :** Collaboration scientifique dans le cadre d'analyses métabolomiques dans des échantillons de sérum de brebis (expérimentation B). Contribution de Laetitia Jaillardon, Gaud Dervilly, Bruno Le Bizec et Nicolas Soetart.
- **INRAE, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (ENVT), Unité mixte InTheRes (Innovations thérapeutiques et résistances), Toulouse, France :** Collaboration scientifique entre l'UR AFPA et l'InTheRes dans le cadre de discussions sur la toxicocinétique et la rédaction des articles 2 et 3. Contribution d'Alain Bousquet-Mélou, Aude Ferran et d'autres membres de l'InTheRes.

ENCADREMENTS / ENSEIGNEMENT :

- **Hadja Ramata Sidibe**, stagiaire de Master de 1^{ère} année (Master Nutrition et Sciences des Aliments, Université de Lorraine, Nancy). Encadrement effectué à l'UR AFPA d'avril à mai 2019. Contribution à l'expérimentation B menée chez la brebis.
- **Hadiza Ado Kanto**, stagiaire de Master de 2^{ème} année (Master Protection de l'Environnement et Amélioration des Systèmes Agraires Sahéliens, Université Abdou Moumouny, Niamey, Niger). Encadrement effectué à l'UR AFPA de mars à juillet 2019. Contribution à l'expérimentation B menée chez la brebis.
- **Apprentis chercheurs, INRAE URZ-PTEA (Petit-Bourg) :** encadrement d'élèves du secondaire (collégiens et lycéen) dans le cadre de l'action Apprentis Chercheurs qui permet aux étudiants de mener un projet expérimental au sein du laboratoire de recherche (30 h).
- **Projet initiation recherche et développement (ENSAIA, Vandoeuvre-lès-Nancy) :** « Quelles recherches mener en toxicocinétique pour aider les éleveurs antillais touchés par la chlordécone ? », encadrement d'un groupe d'étudiants de 1^{ère} année à l'ENSAIA.

INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE 1 : ETAT DES CONNAISSANCES.....	5
PARTIE 1: Les filières animales locales fragilisées par la problématique chlordécone	6
1. Pratiques d'élevage aux Antilles françaises.....	6
1.1. Contexte climatique en Guadeloupe et en Martinique et impact sur les productions animales	6
1.2. Panorama des différents types d'élevage aux Antilles Française et localisation sur le territoire.....	7
1.2.1. Poids de l'agriculture dans l'économie et place de l'élevage.....	7
1.2.2. Différents systèmes d'élevage.....	7
1.2.3. Localisation des productions animales sur le territoire	8
1.2.4. Consommation de viande et approvisionnement.....	8
1.3. Caractérisation de l'élevage bovin aux Antilles	9
1.3.1. Race Créole bovine	9
1.3.2. Typologie de l'élevage bovin.....	9
1.4. Caractérisation de l'élevage de petits ruminants aux Antilles.....	10
1.4.1. Races Créole ovine et caprine	10
1.4.2. Typologie de l'élevage de petits ruminants.....	11
1.5. Caractérisation de l'élevage porcin aux Antilles.....	12
1.5.1. Race Créole porcine	12
1.5.2. Typologie de l'élevage porcin.....	12
1.6. Contraintes associées à l'élevage Antillais et évolution des systèmes d'élevage	13
2. Des niveaux d'exposition différents en fonction des pratiques.....	14
2.1. Le sol : voie d'exposition majeure des produits animaux	14
2.2. Identification des types d'élevage les plus touchés par la problématique chlordécone	15
3. Gestion de la crise chlordécone : conseils et réglementations sur les Denrées Alimentaires d'Origine Animale.....	17
3.1. Réglementations, plans de surveillance et de contrôle sur les Denrées Alimentaires d'Origine Animale	17
3.2. Conseils de consommation pour limiter l'exposition.....	18
4. Importance de préserver l'élevage antillais malgré le risque de contamination lié à la chlordécone	18
4.1. Services écosystémiques associés à l'élevage antillais	18
4.2. Le programme INSSICCA : préserver l'élevage local malgré le risque chlordécone tout en garantissant la santé de la population	19
Résumé de la Partie 1	20
PARTIE 2: Toxicocinétique de la chlordécone chez les animaux d'élevage.....	21
1. Extraction de la chlordécone des matrices contaminées durant le transit intestinal.....	21
2. Absorption de la chlordécone par l'animal	22

2.1. Mécanismes associés à l'absorption de la chlordécone.....	22
2.2. Biodisponibilité absolue de la chlordécone.....	22
3. Distribution de la chlordécone dans l'organisme.....	24
3.1. Caractérisation générale de la distribution de la chlordécone : volume de distribution.....	24
3.2. Organotropisme particulier de la chlordécone.....	24
3.2.1. Bioaccumulation, stockage et remobilisation.....	24
3.2.2. Comparaison des teneurs de chlordécone entre les tissus.....	25
3.3. Facteurs déterminant la distribution de la chlordécone.....	25
3.3.1. Propriétés physico-chimiques de la molécule.....	26
3.3.2. Liaison aux protéines plasmatiques.....	26
3.3.3. Caractéristiques physiologiques des tissus.....	27
4. Elimination de la chlordécone par l'animal.....	28
4.1. Elimination globale de la chlordécone.....	28
4.1.1. Clairance d'élimination de la chlordécone.....	28
4.1.2. Temps de demi-vie d'élimination de la chlordécone.....	28
4.2. Métabolisme de la chlordécone.....	29
4.2.1. Description des phases du métabolisme de la chlordécone.....	29
4.2.2. Comparaison du métabolisme de la chlordécone entre différentes espèces.....	31
4.3. Excrétion de la chlordécone et de ses métabolites.....	34
4.3.1. Voies d'excrétion de la chlordécone et mécanismes associés.....	34
4.3.2. Formes d'excrétion de la chlordécone.....	35
Résumé de la Partie 2.....	37
PARTIE 3: La modélisation toxicocinétique, différents modèles pour répondre à différents niveaux de questionnement.....	39
1. L'analyse non compartimentale.....	39
1.1. Définition, principes et applications de l'analyse non-compartimentale.....	39
1.2. Paramètres obtenus par l'analyse non-compartimentale.....	39
2. L'analyse compartimentale individuelle.....	41
2.1. Définition, principe et applications des modèles compartimentaux individuels.....	41
2.2. Paramètres et construction d'un modèle compartimental.....	41
3. L'analyse compartimentale de population.....	43
3.1. Définition, principe et applications des modèles compartimentaux de population.....	43
3.2. Paramètres et construction d'un modèle compartimental de population.....	43
3.2.1. Modélisation de l'individu à la population.....	45
3.2.2. Etude de l'effet des covariables sur les paramètres.....	46
3.2.3. Evaluation de la modélisation.....	46
4. Les modèles pharmacocinétiques à base physiologique (PBPK).....	46
4.1. Définition et objectifs des modèles PBPK.....	46
4.2. Synthèse des modèles PBPK chez les mammifères d'élevage.....	47
4.2.1. Structure des modèles.....	50
4.2.2. Equations différentielles et description des étapes ADME.....	51
4.2.3. Paramétrisation : calibration et ajustement.....	54
4.2.4. Logiciel et résolution des équations différentielles.....	55
4.2.5. Evaluation du modèle.....	56
4.3. Synthèse des modèles PBPK pour représenter le transfert de chlordécone chez les animaux.....	56
4.3.1. Objectifs des modèles chlordécone.....	56

4.3.2. Structure des modèles chlordécone	57
4.3.3. Mise en équations des processus ADME dans les modèles chlordécone.....	57
4.3.4. Paramètres des modèles chlordécone et leur calibration	59
4.3.5. Apports et limites des modèles chlordécone	59
Resumé de la partie 3.....	61
Objectifs de la thèse et démarche	63
CHAPITRE 2 : ETUDES TOXICOCINETIQUES DE LA CHLORDECONE CHEZ LA BREBIS ADULTE ET LE PORC EN CROISSANCE	65
Introduction du chapitre 2	67
PARTIE 1: Caractérisation des étapes de distribution et d'élimination de la chlordécone chez la brebis adulte	69
1. Plan expérimental.....	69
1.1. Schéma expérimental	69
1.2. Prélèvement, traitement et analyse des échantillons	70
1.2.1. Sang.....	70
1.2.2. Organes et tissus.....	71
1.2.3. Fèces.....	72
1.3. Analyse des données	73
1.3.1. Analyse des données sanguines.....	73
1.3.2. Analyse des données tissulaires	73
1.3.3. Analyse des données fécales	76
2. Résultats	77
2.1. Caractérisation de la distribution de la chlordécone chez la brebis.....	77
2.1.1. Corrélations entre les concentrations de chlordécone dans les tissus et leurs temps de demi-vies.....	77
ARTICLE 1 Characterization of chlordecone distribution and elimination in ewes during daily exposure and depuration.....	79
2.1.2. Distribution hétérogène de la chlordécone selon les tissus expliquée par la composition en lipides	100
2.2. Caractérisation de l'élimination de la chlordécone chez la brebis	102
ARTICLE 2 Use of toxicokinetic parameters to quantify pollutant transfer from animals to the environment during depuration process – application to chlordecone in ewes.....	103
Bilan de la partie 1	127
PARTIE 2: Toxicocinétique de la chlordécone chez le porc en croissance.....	129
1. Plan expérimental.....	130
1.1. Schéma expérimental	130
1.1.1. Expérimentation C1 : injection intraveineuse dose unique de chlordécone.....	130
1.1.2. Expérimentation C2 : injection intraveineuse dose unique de chlordécol	130
1.2. Prélèvement, traitement et analyse des échantillons	131
1.2.1. Sang.....	131
1.2.2. Urine, fèces et contenus digestifs	132

1.2.3. Organes et tissus	132
1.2.4. Bile	133
1.3. Analyse des données.....	134
1.3.1. Analyse des données sanguines.....	134
1.3.2. Analyse des données tissulaires.....	135
1.3.3. Analyse des données urinaires	136
1.3.4. Analyse des données fécales	137
1.3.5. Données de bile et de contenus digestifs.....	138
2. Résultats et discussion.....	139
2.1. Toxicocinétique sanguine globale de la chlordécone et de ses métabolites chez le porc en croissance	139
ARTICLE 3 Modeling chlordecone toxicokinetics data in growing pigs using a nonlinear mixed-effects approach	141
2.2. Données préliminaires de la caractérisation de la distribution de la chlordécone chez le porc en croissance	150
2.2.1. Effet du génotype sur les concentrations de chlordécone dans les tissus	150
2.2.2. Concentrations de chlordécone selon le tissu considéré.....	150
2.2.3. Estimation des quantités totales de chlordécone dans l'organisme	153
2.2.4. Bilan sur la distribution tissulaire de la chlordécone chez le porc	154
2.3. Caractérisation de l'élimination de la chlordécone chez le porc en croissance.....	155
2.3.1. Caractérisation de l'élimination globale de la chlordécone et du chlordécol	155
2.3.2. Caractérisation des voies d'excrétion de la chlordécone	158
2.3.3. Caractérisation du métabolisme de la chlordécone : étude du transfert de la chlordécone et du chlordécol de la bile vers les fèces	158
2.3.4. Analyse quantitative des quantités de chlordécone et de chlordécol excrétées en fonction de la dose administrée	159
2.3.5. Applications pour les stratégies de décontamination	161
Bilan de la partie 2	164
CHAPITRE 3 : INTEGRATION DES DONNEES TOXICOCINETIQUES POUR LA CONCEPTION D'OUTILS D'AIDE A LA DECISION	165
Introduction du chapitre 3	166
PARTIE 1: Création d'un outil de gestion pour prédire la conformité des carcasses et calculer des temps de décontamination à partir de matrices de biomonitoring.....	168
1. Détermination de la concentration de chlordécone dans la matrice de gestion permettant d'obtenir une carcasse et/ou des abats conformes	169
1.1. Méthode de traitement des données.....	169
1.1.1. Sélection des données expérimentales.....	169
1.1.2. Etablissement des relations entre les concentrations de chlordécone dans les différentes matrices et construction des intervalles de prédiction	171
1.2. Résultats et discussion.....	171
1.2.1. Corrélations entre les concentrations de chlordécone dans le tissu adipeux périrénal et la hampe.....	171
1.2.2. Corrélations entre les concentrations de chlordécone dans le tissu adipeux périrénal et le foie	173

1.2.3. Corrélations entre les concentrations de chlordécone dans le tissu adipeux périrénal et le cœur	175
2. Identification des matrices de biomonitoring pertinentes	175
2.1. Méthode de traitement des données	175
2.2. Résultats et discussion.....	175
2.2.1. Le sang comme matrice de biomonitoring	175
2.2.2. Le tissu adipeux sous-cutané comme matrice de biomonitoring.....	177
2.2.3. Les fèces comme matrice de biomonitoring.....	179
2.2.4. Bilan : quelle matrice semble le meilleur compromis pour réaliser du biomonitoring ?	179
2.3. Application de la méthode de prédiction chez le bovin	183
3. Utilisation des intervalles de prédiction pour estimer des temps de décontamination associés à une probabilité pour obtenir une carcasse conforme	184
3.1. Méthode de traitement des données	184
3.1.1. Estimation de la concentration initiale dans le tissu adipeux périrénal à partir d'un échantillon de sérum.....	184
3.1.2. Calcul du temps d'attente pour obtenir une carcasse conforme	185
3.2. Résultats	185
Bilan de la partie 1	188
PARTIE 2: Modélisation pharmacocinétique à base physiologique de la chlordécone chez la brebis.....	189
1. Animaux et expérimentations <i>in vivo</i> réalisées	189
2. Développement du modèle PBPK.....	189
2.1. Structure du modèle.....	189
2.2. Paramétrisation et mise en équation des mécanismes de transfert	191
2.2.1. Paramètres physiologiques	191
2.2.2. Exposition et absorption.....	191
2.2.3. Distribution de la chlordécone	192
2.2.4. Elimination de la chlordécone.....	193
2.3. Définition du modèle de référence	195
2.4. Analyse de sensibilité.....	195
2.5. Evaluation du modèle de référence	197
2.6. Analyse de Monte Carlo.....	197
3. Résultats	201
3.1. Développement et évaluation du modèle de référence	201
3.2. Analyse de sensibilité.....	201
3.3. Premières approches de la variabilité interindividuelle.....	204
4. Discussion	207
4.1. Construction du modèle de référence : hypothèses, forces et faiblesses	207
4.2. Analyse de sensibilité.....	209
4.3. Analyse de Monte Carlo et définition de la variabilité des paramètres.....	210
4.4. Validation et applications du modèle	212
4.5. Extrapolations du modèle à d'autres stades physiologiques	213
Bilan de la partie 2	214

DISCUSSION GENERALE	215
PARTIE 1: Apports de connaissances sur la toxicocinétique de la chlordécone chez la brebis adulte et le porc en croissance	219
1. Apport de connaissances sur l'élimination de la chlordécone.....	219
1.1. Différents types de modélisation pour déterminer les paramètres toxicocinétiques de la chlordécone et du chlordécol.....	219
1.2. Etude des formes de chlordécone dans les matrices d'excrétion pour caractériser le métabolisme	220
1.3. Utilisation des clairances pour estimer l'excrétion fécale, une méthode générique	221
2. Apport de connaissances sur la distribution de la chlordécone	222
3. Bilan et perspectives.....	222
PARTIE 2: Applications du modèle PBPK pour la mise en place de stratégies de décontamination <i>in situ</i>.....	224
1. Applications du modèle PBPK : simulation de scénarios de décontamination	224
1.1. Estimation de la contamination initiale de l'animal	224
1.2. Définition des scénarios de décontamination	225
2. Estimation des temps d'attente pour atteindre une concentration cible	225
3. Estimation du retour au sol et modification des concentrations de chlordécone dans le sol des aires de décontamination.....	229
3.1. Estimation du retour au sol.....	229
3.2. Modification des teneurs en chlordécone sur les parcelles de décontamination	230
PARTIE 3: Réflexions sur la structure du modèle PBPK pour des extrapolations à d'autres espèces.....	231
1. Origine des différences de demi-vies entre espèces	231
2. Conséquences pour la construction de modèles PBPK	233
2.1. Adaptation de la distribution	235
2.2. Adaptation du métabolisme.....	235
2.3. Adaptation de l'excrétion	235
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	237
ANNEXES	241
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	267

Figure 1: Cartographie des risques actualisée des risques de contamination des sols guadeloupéens par la chlordécone	16
Figure 2: Cartographie des risques de contamination des sols martiniquais par la chlordécone.....	16
Figure 3: Représentation schématique des phases d'absorption de la chlordécone chez l'animal.....	23
Figure 4 : Voies de métabolisme de la chlordécone proposées par Fariss et al. (1980) chez l'homme ...	30
Figure 5: Schéma global de l'élimination de la chlordécone chez le ruminant.....	36
Figure 6: Représentation des modèles compartimentaux	42
Figure 7: Représentation de la distribution d'un xénobiotique dans un organe à perfusion limitante (A) et un organe à diffusion limitante (B).....	53
Figure 8: Bilan des connaissances sur la toxicocinétique de la chlordécone chez les animaux d'élevage et positionnement des objectifs de la thèse	62
Figure 9: Schéma expérimental du protocole toxicocinétique chez la brebis	68
Figure 10: Concentrations de chlordécone obtenues dans les différents muscles	100
Figure 11: Corrélations entre les concentrations de chlordécone dans les muscles en fonction des concentrations en lipides polaires (cholestérol libre et phospholipides)	101
Figure 12: Corrélations entre les concentrations de chlordécone dans les muscles et dans le foie en fonction des concentrations en lipides polaires (cholestérol libre et phospholipides).....	102
Figure 13: Schéma expérimental des protocoles toxicocinétiques menés chez le porc	128
Figure 14: Effet du tissu sur les concentrations de chlordécone tissulaires	151
Figure 15: Corrélations entre les concentrations de chlordécone dans la hampe et dans le tissu adipeux péirénal (données DAAF).....	152
Figure 16: Corrélations entre les concentrations de chlordécone dans le foie et dans le tissu adipeux péirénal (données DAAF)	153
Figure 17: Corrélations entre les concentrations de chlordécone dans le cœur et dans le tissu adipeux péirénal (données DAAF).....	153
Figure 18: Evolution des concentrations de chlordécone (CLD), chlordécol (CLDOH) et chlordécol-total (CLDOH-t) dans le sérum et les fèces après (A) une administration intraveineuse de 1 mg CLD kg ⁻¹ PV (expérimentation C1, n=14) et (B) une administration intraveineuse de 1 mg CLDOH kg ⁻¹ PV (expérimentation C2, n=4).....	155
Figure 19: Concentrations de chlordécone (CLD), chlordécone-total (CLD-t), chlordécone-conjugué (CLD-C), chlordécol (CLDOH), chlordécol total (CLDOH-t) et chlordécol conjugué (CLDOH-C) dans les urines et les fèces au temps moyen t = 36 h après une administration intraveineuse de 1 mg CLD kg ⁻¹ PV.....	156
Figure 20: Concentrations de chlordécone (CLD), chlordécol (CLDOH) et chlordécol-conjugué (CLDOH-C) dans la bile 84 j après administration <i>i.v.</i> de CLD (n=14) ou 3 j après administration <i>i.v.</i> de CLDOH (n=4).....	158
Figure 21: Transfert intestinal du chlordécol (CLDOH) et de chlordécol conjugué (CLDOH-C) 72 h après <i>i.v.</i> dose unique de CLDOH (1 mg CLDOH kg ⁻¹ PV)	159
Figure 22: Relations individuelles entre le taux d'excrétion fécale de la CLD et la concentration respective dans le sérum.....	160
Figure 23: Schéma du devenir de la chlordécone chez le porc.....	161

Figure 24: Corrélations entre les concentrations de chlordécone (CLD) dans le sérum et les fèces collectés simultanément après une administration intraveineuse unique de 1 mg CLD kg ⁻¹ PV	162
Figure 25: Illustration de la méthodologie mise en place pour estimer la concentration dans la matrice prédite en fonction de la probabilité d'obtenir une concentration inférieure ou égale à la concentration cible.....	170
Figure 26: Relation entre les concentrations de chlordécone dans la hampe et dans le tissu adipeux périrénal.....	172
Figure 27: Relation entre la concentration de chlordécone dans le tissu adipeux périrénal et la probabilité d'obtenir une concentration de chlordécone dans la hampe inférieure ou égale à 20 µg kg ⁻¹ PF	172
Figure 28: Relation entre les concentrations de chlordécone dans le foie et dans le tissu adipeux périrénal.....	173
Figure 29: Relation entre les concentrations de chlordécone dans le cœur et dans le tissu adipeux périrénal.....	174
Figure 30: Relation entre la concentration de chlordécone dans le tissu adipeux périrénal et la probabilité d'obtenir une concentration de chlordécone dans le cœur inférieure ou égale à 20 µg kg ⁻¹ PF	174
Figure 31: Relation entre les concentrations de chlordécone dans le tissu adipeux périrénal et dans le sérum	176
Figure 32: Relation entre la concentration de chlordécone dans le sérum et la probabilité d'obtenir une concentration de chlordécone dans le tissu adipeux périrénal inférieure ou égale à 20 µg kg ⁻¹ MG.....	177
Figure 33: Relation entre les concentrations de chlordécone dans le tissu adipeux périrénal et dans le tissu adipeux sous-cutané	178
Figure 34: Relation entre la concentration de chlordécone dans le tissu adipeux sous-cutané et la probabilité d'obtenir une concentration de chlordécone dans le tissu adipeux périrénal inférieure ou égale à 20 µg kg ⁻¹ MG	178
Figure 35: Relation entre la concentration de chlordécone dans les fèces et la probabilité d'obtenir une concentration de chlordécone dans le tissu adipeux périrénal inférieure ou égale à 20 µg kg ⁻¹ MG.....	179
Figure 36: Relation entre la concentration de chlordécone dans le sérum et la probabilité d'obtenir une concentration de chlordécone dans le tissu adipeux périrénal inférieure ou égale à 27 µg kg ⁻¹ MG.....	184
Figure 37: Représentation schématique du modèle PBPK de la chlordécone chez la brebis après une administration orale via un aliment contaminé.....	190
Figure 38: Sorties du modèle de référence établi sur le scénario expérimental et les concentrations de chlordécone observées expérimentalement (moyennes ± SD) dans (A) le sérum, (B) le foie, (C) le muscle, (D) le gras et (E) les fèces	200
Figure 39: Concentrations de chlordécone observées en fonction des concentrations de chlordécone prédites par le modèle de référence dans les compartiments sérum, foie, muscle, gras et fèces.....	202
Figure 40: Graphiques représentant la sensibilité des paramètres du modèle sur (A) les concentrations à l'équilibre et sur (B) la constante d'élimination pendant la phase de décontamination dans le sérum, le foie, le muscle, le « rest of the body » et les fèces	203
Figure 41: Simulations de Monte Carlo sur 100 individus, concentrations de chlordécone simulées dans (A) le sérum, (B) le foie, (C) le muscle, (D) le gras et (E) les fèces	205

Figure 42: Distribution des temps de demi-vies obtenus dans les compartiments suite à l'analyse de Monte Carlo.....	206
Figure 43: Distribution des concentrations à 182 j dans les compartiments suite à l'analyse de Monte Carlo.....	207
Figure 44: Principaux résultats obtenus dans la thèse	218
Figure 45: Evolution des concentrations de chlordécone dans le tissu adipeux périrénal pendant la période de décontamination sur des parcelles contaminées à 0, 5 et 200 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MS avec une concentration initiale de (A) 40 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MG et (B) 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MG dans le tissu adipeux périrénal....	227

Tableau 1: Données sur les cheptels et la production de viande en Guadeloupe et Martinique.....	8
Tableau 2: Temps de demi-vie de la chlordécone (en jours) dans différents tissus chez la volaille	25
Tableau 3 : Ratios entre les concentrations sanguines et tissulaires de chlordécone observés dans la littérature	26
Tableau 4 : Temps de demi-vie de la chlordécone chez différentes espèces.....	29
Tableau 5: Synthèse du rapport de concentrations CLD / CLDOH-t dans différentes matrices et chez différentes espèces	32
Tableau 6: Exemples d'études utilisant une approche non-compartmentale pour déterminer les paramètres toxicocinétiques de polluants	40
Tableau 7: Exemples de modèles compartimentaux pour obtenir les paramètres toxicocinétiques de la chlordécone.....	40
Tableau 8: Exemples de modèles pharmacocinétiques de population.....	44
Tableau 9: Synthèse des modèles PBPK chez les espèces bovine, caprine, ovine et porcine (d'après Lautz et al., 2019).....	48
Tableau 10: Caractéristiques des modèles PBPK de la chlordécone chez le rat	57
Tableau 11: Caractéristiques des principales méthodes de modélisation en toxicocinétique.....	60
Tableau 12: Comparaison des concentrations de chlordécone dans les tissus après abattage à 84 j	150
Tableau 13: Ratios de concentrations de chlordécone entre les tissus après abattage.....	152
Tableau 14: Quantités de chlordécone dans les tissus (en mg) et parts du body burden correspondantes (en %)	154
Tableau 15: Paramètres toxicocinétiques d'élimination de la chlordécone et du chlordécol	157
Tableau 16: Paramètres toxicocinétiques d'élimination fécale de la chlordécone et du chlordécol	160
Tableau 17: Evolution de la réglementation entre 2005 et 2019	167
Tableau 18: Résultats des plans de surveillance et plans de contrôle mis en place en 2019	167
Tableau 19: Description des données obtenues sur les lots D, E et F dans l'expérimentation toxicocinétique menée chez la brebis	169
Tableau 20: Utilisation des intervalles de prédiction pour la création d'un outil de gestion pour prédire la conformité des carcasses	180
Tableau 21: Limites de détection et de quantification de la chlordécone dans le sérum, le tissu adipeux et les fèces.....	182
Tableau 22: Critères de performance analytique dans le sérum, le tissu adipeux et les fèces.....	182
Tableau 23: Estimation des concentrations initiales dans le tissu adipeux périrénal et des temps d'attente nécessaires pour obtenir une carcasse conforme à partir d'une prise de sang.....	187
Tableau 24: Estimation des concentrations initiales dans le tissu adipeux périrénal et des temps d'attente nécessaires pour obtenir une carcasse présentant des teneurs de chlordécone dans le tissu adipeux périrénal inférieures à la limite de quantification (soit 3,0 µg kg ⁻¹ MG)	187
Tableau 25: Avantages et inconvénients de chaque matrice de biomonitoring.....	188
Tableau 26: Paramètres physiologiques fixés dans le modèle PBPK	191
Tableau 27: Paramètres fixés dans le modèle PBPK liés à la distribution	193

Tableau 28: Equations différentielles décrivant le taux de variation de la chlordécone dans chaque compartiment.....	193
Tableau 29: Paramètres fixés dans le modèle PBPK liés à l'élimination.....	194
Tableau 30: Paramètres d'exposition et de la ration utilisés pour le modèle de référence.....	196
Tableau 31: Paramètres d'exposition et de la ration considérés pour l'analyse de Monte Carlo.....	198
Tableau 32: Valeurs et distribution des paramètres utilisés pour l'analyse de Monte Carlo.....	198
Tableau 33: Conditions des exemples de scénarios de décontamination proposés.....	226
Tableau 34 : Temps d'attente pour atteindre la LMR ou la LQ en fonction d'un niveau de contamination initiale et du scénario de décontamination considéré.....	228
Tableau 35: Quantification du retour au sol (horizon 0-5 cm).....	229
Tableau 36: Temps de demi-vies sériques de la chlordécone chez différentes espèces.....	231
Tableau 37: Caractéristiques principales de distribution et d'élimination chez différentes espèces.....	234

LISTE DES ABREVIATIONS

Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion		DAAF	7
ADME	21	Etalon interne de CLD	
Acétonitrile		13C-CLD	129
ACN	130	Etalon interne du CLDOH	
Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail		13C-CLDOH	129
Anses	2	Gain moyen quotidien	
Agences régionales de santé		GMQ	132
ARS	2	Hexachlorocyclohexane	
Aire sous la courbe		HCH	2
AUC	22	High density lipoproteins	
Aldo-céto réductase		HDL	27
AKR	30	Innovative Strategies to Secure livestock production in Chlordecone Contaminated Areas	
Aldo-céto réductases de la famille 1 (sous-famille C4)		INSSICCA	19
AKR1C4	30	Intraveineuse	
Chlordécol		i.v.	22
CLDOH	30	Limite de détection	
Chlordécol conjugué		LD	179
CLDOH-C	30	Limite de quantification	
Chlordécone		LQ	17
CLD	2	Limites Maximales de Résidus	
Chlordécone-conjuguée		LMR	17
CLD-C	30	Low density lipoproteins	
Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse		LDL	27
GC-MS	129	Matière grasse	
Chromatographie en phase gazeuse couplée à un détecteur à capture d'électron		MG	17
GC-ECD	106	Matière sèche	
CLDOH total		MS	15
CLDOH-t	31	Matière sèche ingérée	
Coefficient de partage		MSi	14
K _p	55	Pharmacocinétique à base physiologique	
Coefficient de partage octanol/eau		PBPK	41
K _{ow}	22	Plans de surveillance et plans de contrôle	
Coefficient de sensibilité normalisé		PSPC	18
CSN	195	Poids corporel	
Commission Européenne		PC	17
CE	17	Poids frais	
Constante de Michaelis		PF	15
K _m	54	Poids vif	
Denrées Alimentaires d'Origine Animale		PV	24
DAOA	3	Polluants organiques persistants	
Dichlorodiphényltrichloroéthane		POP	2
DDT	27	Polychlorobiphényles	
Direction de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt		PCB	27
		Polychlorodibenzo-p-dioxine	
		PCDD	88
		Produits intérieurs bruts	
		PIB	7

Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe QuECHERS	72	Toxicocinétique à base physiologique PBTK	46
Service écosystémique SES	18	Valeur Toxicologique de Référence VTR	17
Surface Agricole Utile SAU	2	Very low density lipoproteins VLDL	27
Tissu adipeux périrénal TAPR	70	Vitesse initiale maximale Vmax	54
Tissu adipeux sous-cutané TASC	70	Voie orale v.o.	21

1

Introduction Générale

Le scandale environnemental et sanitaire lié à la chlordécone (CLD) a fortement marqué l'histoire contemporaine de la Guadeloupe et de la Martinique. Le rapport de la commission d'enquête de l'Assemblée Nationale du 26 novembre 2019 a tenté d'identifier des responsables publics et privés de ce scandale en retraçant l'historique d'utilisation de cette molécule. A partir de la deuxième moitié du 20^{ème} siècle, la culture bananière s'est fortement développée aux Antilles avec une augmentation des exportations sur le marché métropolitain. Ces cultures ont souffert de la présence du charançon du bananier dont les larves détruisent la plante en se nourrissant de ses racines. A l'époque, les organochlorés comme l'hexachlorocyclohexane (HCH), l'aldrine, la dieldrine ou le lindane étaient d'usage courant (1950-1970) mais des phénomènes de résistances se sont mis en place. Dans ce contexte, le Kepone[®] (dénomination commerciale de la CLD) a été commercialisé à partir de 1972 aux Antilles suite à des autorisations provisoires de vente. Des plans d'épandages ont alors été menés lors de la plantation des bananiers. L'arrêt de la production de Kepone[®] en 1978 a interrompu son utilisation aux Antilles. Cependant, en 1979 et 1980, deux cyclones ont ravagé les bananeraies des Antilles Françaises ce qui a augmenté la pression parasitaire. Malgré les résultats inquiétants mis en évidence sur la persistance de la molécule dans l'environnement et sa toxicité par les rapports Snagaroff (1977) et Kermarrec (1980), la CLD a été réutilisée aux Antilles en 1981 sous la dénomination commerciale Curlone[®] suite à une nouvelle autorisation. Suite à l'avis de la commission d'étude de la toxicité, la commercialisation de la CLD a été interdite en 1990 mais cette dernière a continué à être utilisée dans les bananeraies suite à des dérogations successives pour écouler les stocks. Son utilisation a été définitivement interdite en 1993.

Malgré son interdiction depuis 1993, la CLD est toujours présente dans l'environnement et près de 20% de la Surface Agricole Utile (SAU) des îles antillaises françaises est polluée. Cette molécule classée parmi les polluants organiques persistants (POP) est très stable et se transfère des sols contaminés à la chaîne alimentaire. L'étude épidémiologique KANNARI¹ a permis pour la première fois de décrire l'imprégnation de la population antillaise par la CLD. Les premiers résultats de cette étude montrent que près de 30 ans après son interdiction, les populations de Martinique et de Guadeloupe sont largement exposées à la CLD car 90% des 742 personnes étudiées ont présenté des concentrations détectables de CLD dans le sérum (supérieures à 0,02 µg L⁻¹). Le scandale environnemental de la CLD est donc également un scandale sanitaire. Sa toxicité aiguë a été décrite suite aux symptômes observés sur les ouvriers américains. Des travaux récents ont montré les effets de cette molécule sur les risques de cancer et autres pathologies chroniques mais également ceux sur la reproduction et le développement des enfants. Pour préserver la santé du consommateur, l'exposition humaine doit donc être réduite. L'étude KANNARI a identifié les voies d'exposition de la population antillaise à la CLD : l'exposition est liée au lieu de résidence et aux consommations alimentaires qui peuvent entraîner des surexpositions à la CLD notamment lorsque ces

¹ Etude menée de 2014 à 2017 par les Agences régionales de santé (ARS) de Martinique et de Guadeloupe, Santé Publique France, l'Anses (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail) et les Observatoires régionaux de santé de Martinique et de Guadeloupe.

produits proviennent de circuits informels. Les Denrées Alimentaires d'Origine Animale (DAOA) peuvent être contributrices à l'exposition humaine. Pour sécuriser les DAOA, la contamination des animaux doit être maîtrisée en réduisant leur exposition et/ou en proposant des stratégies de décontamination des animaux. Pour mettre en place ces stratégies de décontamination et pouvoir faire des recommandations aux éleveurs, aux acteurs locaux et à la population, le comportement de la CLD chez les animaux d'élevage doit être caractérisé.

Dans ce contexte, cette thèse a pour objectif de caractériser les dynamiques de distribution et d'élimination de la CLD chez deux modèles animaux : la brebis adulte et le porc en croissance. Différentes approches de modélisation seront utilisées pour caractériser ces processus : de la toxicocinétique classique à des approches plus complexes intégrant des caractéristiques physiologiques. Ces deux modèles animaux ont été choisis pour pouvoir comparer le comportement de la CLD chez le ruminant et le monogastrique. La brebis non lactante non gestante est utilisée comme modèle animal pour d'éventuelles extrapolations au bovin pour des raisons de proximité physiologique et de facilité de manipulation. Le caprin n'a pas été choisi comme espèce modèle car les caprins présentent des capacités à détoxifier qui se traduisent souvent par une élimination plus rapide des xénobiotiques. La première partie de ce travail consiste en une synthèse bibliographique sur les pratiques d'élevage aux Antilles, la toxicocinétique de la CLD et sur les modèles toxicocinétiques de transfert de polluants chez les animaux d'élevage. La deuxième partie décrit et discute les expérimentations *in vivo* mises en place pour caractériser la distribution et l'élimination de la CLD chez les deux modèles animaux étudiés. La troisième partie présente les applications de ces connaissances toxicocinétiques pour la gestion du risque CLD dans les élevages. Enfin, une discussion générale et une brève conclusion sont proposées.

2

Chapitre 1 : Etat des connaissances

PARTIE 1: Les filières animales locales fragilisées par la problématique chlordécone

1. Pratiques d'élevage aux Antilles françaises

1.1. Contexte climatique en Guadeloupe et en Martinique et impact sur les productions animales

La Guadeloupe est composée de deux régions principales aux origines et conditions pédoclimatiques hétérogènes : la Basse-Terre et la Grande-Terre. D'autres îles appelées « dépendances » sont rattachées administrativement à la Guadeloupe : l'archipel des Saintes, Marie-Galante et la Désirade. L'ensemble de ces îles occupe une superficie de 1 628 km². La Martinique est une île volcanique d'une superficie de 1 128 km² qui présente des reliefs importants.

Les Antilles sont caractérisées par un climat océanique tropical. Les pluies sont fortement influencées par la topographie et par la saison. Le climat antillais est caractérisé par la succession d'une période de pluies (appelée « Hivernage », qui s'étend de mai à novembre) parfois accompagnée de phénomènes cycloniques et d'une période plus sèche (appelée « Carême » qui s'étend de janvier à mai).

L'histoire géologique complexe des îles Antillaises a mené à une diversité de sols (ferrallitiques, andosols, vertisols), de reliefs et de conditions pédoclimatiques sur ces îles (Galan et al., 2008a, 2008b). La Basse-Terre (848 km²) est une île volcanique, montagneuse qui bloque les nuages tropicaux sur la Soufrière (altitude de 1 467 m). Cette île est fortement irriguée avec de nombreux cours d'eau et une hygrométrie importante (2000 à 4000 mm par an). Le croissant bananier se situe sur le versant Sud de la Soufrière. La Grande-Terre (588 km²) est une île calcaire plane où les nuages ne sont pas retenus (les précipitations sont inférieures à 1 500 mm d'eau par an) et les sols calcaires ne retiennent pas l'eau. Les Saintes sont des îles montagneuses d'origine volcanique tandis que la Désirade et Marie Galante sont deux îles calcaires. En Martinique, la partie Nord de l'île, montagneuse, se distingue de la partie Sud qui présente des mornes et des petites plaines. Les précipitations sont plus importantes sur l'Est de l'île et sur les zones où l'altitude est importante. La période de « Carême » entraîne donc un déficit hydrique surtout au sud de l'île.

Le climat tropical humide est à la fois un atout et une contrainte pour l'élevage. Les précipitations importantes et régulières en Basse-Terre ou au Nord de la Martinique permettent d'obtenir des bons rendements d'herbe mais peuvent engendrer des problèmes de piétinement et de faible valeur alimentaire des fourrages surtout en saison humide. Cette pousse de l'herbe en continu engendre également une pression parasitaire importante, un des principaux problèmes sanitaires chez les petits ruminants aux Antilles (Mahieu, 2014). En Grande-Terre ou au sud de la Martinique, le manque d'eau en période de Carême engendre des déficits fourragers importants. Pour compenser ces déficits, certains éleveurs utilisent des co-

produits de canne ou de banane (fruits et feuilles) pour compléter les ruminants (Archimède et al., 2011a, 2011b). Par ailleurs, le passage de cyclones peut engendrer des dégâts sur les bâtiments et les troupeaux. Enfin, les conditions climatiques tropicales (chaleur, humidité) peuvent limiter les performances de croissance des animaux, notamment dans les élevages hors-sols car la consommation alimentaire est réduite (Renaudeau et al., 2004).

1.2. Panorama des différents types d'élevage aux Antilles Française et localisation sur le territoire

1.2.1. Poids de l'agriculture dans l'économie et place de l'élevage

L'agriculture aux Antilles se caractérise par une grande diversité de systèmes, liée à la fois à l'histoire de ces territoires, aux conditions pédoclimatiques et aux contextes socio-économiques (Perrette et al., 2020). L'agriculture représente 3% et 4% des produits intérieurs bruts (PIB) régionaux respectifs de Guadeloupe et de Martinique. En 2005, une étude de la Direction de l'Alimentation, de l'Agriculture et de la Forêt (DAAF) a évalué les actifs du secteur agricole à respectivement 3% et 3,4% de la population active guadeloupéenne et martiniquaise (IEDOM, 2019a, 2019b). Les productions d'origine végétale et animale participent respectivement à 83% et 17% du chiffre d'affaires de l'agriculture antillaise (IEDOM, 2015). La majorité de la SAU est orientée vers les productions de banane et de canne à sucre et 50% des actifs de Martinique travaillent dans la filière banane. Les autres cultures maraichères et fruitières sont principalement à destination de la population locale et commercialisées en circuits courts. La majorité des exploitations agricoles sont des exploitations de polyculture-élevage (Stark et al., 2016). L'agriculture antillaise est caractérisée par de très nombreuses microstructures avec moins de 5 ha. Environ 25% et 38% des exploitations agricoles de Guadeloupe et de Martinique ont une activité d'élevage (monogastriques et/ou ruminants ; Agreste, 2019a, 2019b ; Galan et al., 2008a, 2008b).

1.2.2. Différents systèmes d'élevage

Sur les deux îles, toutes les espèces domestiques sont représentées et réparties sur l'ensemble du territoire : bovins, petits ruminants, porcins, volailles de chair, poules pondeuses et lapins. Le tableau 1 présente les données clés de l'élevage antillais (Agreste, 2019a, 2019b ; Galan et al., 2008a, 2008b). Par rapport à la production de viande totale, la production bovine représente 35% en Guadeloupe et 23 % en Martinique. La production porcine représente 41 % en Guadeloupe et 32 % en Martinique. La production de volaille représente 23% en Guadeloupe et 43% en Martinique. La production de petits ruminants ne représente que 1% pour la Guadeloupe et la Martinique. Les effectifs des cheptels montrent que la production ovine est plus importante en Martinique qu'en Guadeloupe et que les productions bovines et caprines sont plus importantes en Guadeloupe qu'en Martinique.

Tableau 1: Données sur les cheptels et la production de viande en Guadeloupe et Martinique
(Agreste, 2019a, 2019b)

	Guadeloupe	Martinique
Nombre total EA	6 647	2 700
SAU (ha)	28 123	23 196
Surface Toujours en Herbe (ha)	9 433	8 581
Cheptel bovin (nombre de têtes)	39 012	16 386
Cheptel ovin (nombre de têtes)	1 370	10 827
Cheptel caprin (nombre de têtes)	7 109	3 947
Cheptel porcine (nombre de têtes)	14 495	9 765
Effectifs de volaille (milliers de têtes)	507	1 471
Viande bovine (TEC)	1 607	888
Viande ovine (TEC)	8	42 (ovins + caprins)
Viande caprine (TEC)	39	
Viande porcine (TEC)	1 872	1 240
Viande volaille (TEC)	1 083	1 662
Viande lapin (TEC)	NA	37
Taux d'approvisionnement viande bovine	24%	17,6
Taux d'approvisionnement viande ovine – caprine	NA	3,4
Taux d'approvisionnement viande porcine	13%	25,6
Taux d'approvisionnement viande volaille	NA	12,9

TEC : tonne équivalent carcasse ; Taux d'approvisionnement : production locale / (production locale + importations)
EA : exploitation agricole

1.2.3. Localisation des productions animales sur le territoire

La grande majorité des ruminants se trouve sur Grande-Terre et Marie Galante pour la Guadeloupe et dans le sud de la Martinique, soit dans les zones les plus sèches. Fortement liés à la culture indienne, les élevages caprins sont principalement situés dans l'Est de Grande-Terre et dans les dépendances de la Guadeloupe (Désirade et Marie-Galante). Pour la production monogastrique (volailles, porcs, lapins), la localisation est moins marquée, surtout en Martinique où la production est répartie de façon équilibrée. La production porcine en Guadeloupe est principalement localisée en Basse-Terre (Galan et al., 2008a, 2008b).

1.2.4. Consommation de viande et approvisionnement

Globalement, les Antillais consomment moins de viande que les métropolitains : la consommation annuelle de viande est estimée à 50 et 67 kg par habitant en Guadeloupe et en Martinique respectivement. Pour les deux îles, la proportion de viande rouge et de viande blanche consommée est similaire avec environ 50% de viande de volaille, 20% de viande de porc et 30% de viande de ruminants (Galan et al., 2008a, 2008b). A l'exception des œufs, le taux d'approvisionnement local pour les productions animales de Guadeloupe et de Martinique est faible (tableau 1), la majorité des produits animaux sont importés. Pour la viande de petits

ruminants, le taux d'approvisionnement est difficile à préciser car l'autoconsommation et la vente directe via des circuits informels sont importantes, il serait plutôt de l'ordre de 5 à 10 % (Mahieu et al., 2011).

Pour l'ensemble de ces filières, une grande diversité est observée dans les systèmes d'élevages qui vont de petits ateliers intégrés à de gros élevages spécialisés (Galan et al., 2008a, 2008b). Les systèmes d'élevage seront décrits plus précisément dans les parties suivantes.

1.3. Caractérisation de l'élevage bovin aux Antilles

Les bovins font partie du patrimoine Antillais, ils étaient jadis utilisés pour la traction. Actuellement, l'élevage bovin est spécialisé dans la production de viande.

1.3.1. Race Créole bovine

Le bovin Créole est issu d'un métissage de différentes races bovines. Les premiers bovins ont été importés par les premiers colons et navigateurs au XV^{ème} siècle, ces animaux étaient d'origine ibérique. A partir du XIX^{ème} siècle, des introductions de zébus indiens, des races africaines et plus récemment de races européennes ont modifié le cheptel bovin des Antilles (Naves et al., 2011). Au niveau morphologique, les bovins Créole actuels sont caractérisés par un petit format. Ils sont adaptés au climat tropical, résistants au parasitisme (Aumont et al., 1991) et peuvent mobiliser leurs réserves corporelles pour supporter des périodes de déficit alimentaire (Naves et al., 2001 ; Naves et Menendez-Buxadera, 1997).

1.3.2. Typologie de l'élevage bovin

Trois types d'éleveurs peuvent être distingués aux Antilles (Galan et al., 2008a, 2008b) :

(i) Les détenteurs d'animaux : Ces détenteurs sont souvent des pluriactifs ou des retraités qui considèrent l'élevage comme un moyen de placer son argent. Ce type d'élevage représente environ 50% du cheptel, 30% de la production locale et 70 et 90% des propriétaires de bovins pour la Guadeloupe et la Martinique respectivement. Ces détenteurs possèdent des cheptels très faibles (moins de 5 vaches) et des surfaces inférieures à 1 ha. Ils valorisent donc souvent des lopins de terres familiaux ou les bords de route (Alexandre et al., 2008 ; Naves, 2003). Les bovins sont principalement Créole ou croisés avec des races exotiques et sont conduits au piquet toute l'année. En fonction de la saison, l'éleveur peut donner des compléments fourragers à ses animaux. Le suivi sanitaire (parasitisme, tiques) est variable. Aucun schéma de reproduction n'est mis en place, la reproduction se fait par insémination artificielle ou par monte naturelle avec un taureau voisin.

(ii) Les cultivateurs avec un atelier bovin complémentaire : Ces élevages sont principalement situés dans le nord de la Basse-Terre et en Grande-Terre pour la Guadeloupe et dans le Nord de la Martinique. Ces

élevages sont prédominants en Guadeloupe mais plus rares en Martinique (Galan et al., 2008b). Presque 70% de la production locale est réalisée par ce type d'élevages en Guadeloupe, contre 30% en Martinique. L'objectif de ces éleveurs est de dégager un revenu d'appoint et de valoriser les co-produits de cultures (écarts de banane ou bagasse) ou les surfaces disponibles. Le cheptel moyen est composé de 10 à 20 vaches. Les systèmes sont souvent naisseurs engraisseurs mais peuvent être uniquement engraisseurs (surtout en Martinique, répartis sur l'ensemble de l'île). Les animaux sont de type Brahman ou Créole, avec des métissages réguliers avec des races exotiques. Dans les systèmes naisseurs engraisseurs, les animaux sont conduits au piquet (surtout pour les mâles et en Martinique) ou en pâturage tournant. Dans les systèmes uniquement engraisseurs, les animaux sont conduits en paddock, en stabulation couverte ou en pâturage. Contrairement aux détenteurs d'animaux, ces éleveurs traitent régulièrement leurs animaux contre les tiques ou le parasitisme. La reproduction se fait par insémination artificielle ou par monte naturelle.

(iii) Les éleveurs spécialisés : La production spécialisée est plus présente en Martinique (35% de la production locale) qu'en Guadeloupe (moins de 5% de la production locale). Ces élevages spécialisés sont principalement situés en Basse-Terre et un peu dans le centre de Grande-Terre pour la Guadeloupe et dans le centre et le Sud de la Martinique. Ces éleveurs possèdent un cheptel généralement supérieur à 25 vaches. Les éleveurs spécialisés sont soit naisseurs soit naisseurs-engrailleurs. Les animaux utilisés sont de race exotique ou croisés Créole/Exotique en Guadeloupe et typés Brahman ou croisés avec des races exotiques en Martinique. La conduite d'élevage est basée sur du pâturage tournant avec des complémentations en fourrage en période de Carême. Pour les systèmes engrailleurs, l'engraissement peut être mené soit en pâturage soit en stabulation. La reproduction se fait principalement par monte naturelle souvent avec un taureau importé de race exotique (Limousine, Blonde d'Aquitaine...).

1.4. Caractérisation de l'élevage de petits ruminants aux Antilles

Aux Antilles, les petits ruminants sont principalement élevés pour la viande (Naves et al., 2001). Les cheptels ovins et caprins ne sont pas les mêmes entre les deux îles : la Guadeloupe possède plus de caprins que la Martinique et a un cheptel ovin très réduit. La filière petits ruminants est divisée entre un secteur professionnel réduit et un secteur informel important. Les pratiques d'élevage entre les ovins et les caprins ne sont pas très différentes. Ces ateliers ont une forte efficacité économique et apportent souvent une valeur ajoutée aux exploitations.

1.4.1. Races Créole ovine et caprine

Les ovins ont été introduits aux Antilles dès les débuts de la colonisation européenne. La race ovine locale est issue de croisement entre animaux en provenance du Golfe de Guinée et de l'Afrique de l'Ouest. La race Martinik est reconnue officiellement depuis 1993. Au niveau morphologique, l'ovin Martinik est caractérisé

par l'absence de laine, l'absence de cornes et l'absence d'onglons de couleur blanche. Les ovins Martinik ont des gabarits moyens : les brebis adultes pèsent entre 35 et 45 kg, les béliers entre 50 et 70 kg (Bastien et al., 1991). Les brebis Martinik ne sont pas saisonnées et sont caractérisées par une bonne fertilité et prolificité. Ces qualités reproductrices, maternelles et les niveaux de croissance pré-sevrage observés en font des brebis performantes en milieu tropical. Par ailleurs, l'ovin Martinik possède des capacités de résistance au parasitisme gastro-intestinal et à la chaleur comparativement aux races européennes (Aumont et al., 2003 ; Mahieu, 2014). La viande de mouton Martinik est recherchée par les consommateurs locaux (Vertueux et al., 2006).

La race caprine Créole est issue de croisements entre les races d'Europe, d'Inde et les races naines d'Afrique depuis le début de la colonisation (Alexandre et al., 1999). Le caprin Créole est trapu, de petite taille et a le poil court. Les chèvres Créole sont caractérisées par une bonne fertilité et une prolificité élevée (Naves et al., 2001). Ces qualités reproductrices, maternelles et les niveaux de croissance pré-sevrage observés en font des chèvres très performantes et les classent parmi les génotypes tropicaux les plus productifs (Alexandre, 1991 ; Alexandre et al., 1999 ; Chemineau et al., 1991). Cette race est caractérisée par une rusticité et une résistance aux parasites élevées (Mandonnet et al., 2001). Les cabris Créole ont une bonne image auprès des consommateurs et contrairement aux ovins, ils sont peu concurrencés par les importations (Tatareau et al., 1991).

1.4.2. Typologie de l'élevage de petits ruminants

Trois types d'éleveurs de petits ruminants peuvent être distingués :

(i) les éleveurs naisseurs engraisseurs : Ces animaux constituent souvent un atelier complémentaire à une activité agricole ou non agricole permettant de compléter les revenus et de valoriser les surfaces (Alexandre, 1991 ; Naves et al., 2001 ; Tatareau et al., 1991). Nombreuses sont les familles à posséder quelques caprins destinés à l'autoconsommation ou à la vente informelle. Les troupeaux comptent généralement entre 10 et 30 femelles. Les animaux sont menés en pâturage tournant et complétés avec du concentré en période de Carême. Seulement 4% des fermes élèvent des caprins de race Créole uniquement, les autres sont conduits avec des animaux issus de croisements entre individus Créole et de races importées (Boer, Anglo-Nubienne) afin d'obtenir des animaux de plus gros gabarits (Alexandre et al., 2003). La reproduction est réalisée par monte naturelle (Chemineau et al., 1991 ; Vertueux et al., 2006). La commercialisation se fait principalement par les circuits-courts auprès d'engraisisseurs ou de particuliers. Les animaux sont vendus toute l'année mais subissent une forte demande de la population lors des fêtes familiales ou religieuses comme les fêtes de Pâques, les baptêmes, les communions et les mariages pour la viande ovine (Galan et al., 2008a) et lors des cérémonies indiennes pour la viande caprine. La filière est organisée avec la coopérative SCACOM en Martinique et avec la coopérative CABRICOOP en Guadeloupe mais la commercialisation informelle en circuits courts reste prédominante.

(ii) **les éleveurs engraisseurs** : Les élevages engraisseurs sont souvent liés à l'autoconsommation, les cérémonies religieuses et indiennes. Ils possèdent peu d'animaux destinés à l'autoconsommation.

(iii) **les éleveurs « spécialisés »** : Ces éleveurs ont une activité agricole et l'atelier petits ruminants constitue l'activité principale de l'exploitation. Les caprins et les ovins se retrouvent souvent au sein d'une même exploitation. Ce type d'élevage est surtout présent en Martinique et représente 50% de la production locale. Les troupeaux sont constitués de 30 à 100 mères. Les moutons sont de race Martinik ou croisés avec des races exotiques. Les caprins sont souvent des individus Créoles croisés avec des races exotiques. Les animaux sont menés en pâturage ou dans des bergeries sommaires. La commercialisation se fait principalement via les coopératives.

1.5. Caractérisation de l'élevage porcin aux Antilles

1.5.1. Race Créole porcine

Le porc Créole est issu de croisements successifs de populations provenant de races ibériques, anglaises, américaines et françaises (Canope et al., 1980). Le porc Créole présente différentes couleurs de robes mais les robes noires ou grises cendrées sont les plus courantes. Par rapport aux races européennes (exotiques) comme le Large White, le porc Créole est caractérisé par des performances de reproduction et de croissance plus faibles. La race Créole présente une précocité sexuelle, de bonnes qualités maternelles, une grande rusticité et une bonne capacité d'adaptation aux contraintes du milieu tropical (Canope et al., 1980). Par ailleurs, les caractéristiques de la carcasse et de la qualité de la viande sont différentes entre le Large White et le Créole. Le porc Créole a une forte adiposité corporelle et aurait des qualités organoleptiques supérieures au Large White (Renaudeau et al., 2006, 2003).

1.5.2. Typologie de l'élevage porcin

La production de porcs aux Antilles est divisée en deux types de systèmes.

(i) **les éleveurs spécialisés** : En Guadeloupe, la production porcine est principalement assurée par des élevages hors-sols d'environ 60 truies. Les exploitations « spécialisées » produisent 65% de la production locale en Guadeloupe et 40% de la production locale en Martinique. Ces exploitations possèdent entre 30 et 70 truies et les animaux sont élevés en bâtiments semi-ouverts et alimentés avec du concentré industriel à base de maïs, blé et tourteau de soja. Dans ce type de systèmes, la race Créole est peu utilisée, ces systèmes privilégient les races plus productives comme le Large White ou le Piétrain (Buflot et al., 2008 ; Zebus et al., 2005). Ces élevages produisent des porcs charcutiers entre 65 et 80 kg. La commercialisation de la production de ces élevages spécialisées est assurée par des organisations de producteurs ou coopératives : SEPG-Karukera Porc et Cooporg en Guadeloupe et Coopmar et Socoporc en Martinique.

(ii) **les éleveurs avec un atelier porcin complémentaire** : Les petites exploitations où l'élevage fait office d'activité secondaire pour de l'autoconsommation ou de complément à d'autres activités agricoles sont nombreuses. Ces petites exploitations possèdent au maximum 6 truies. Ces élevages se caractérisent par une diversité de pratiques et de conditions d'élevage. Les animaux peuvent être alimentés par de l'aliment commercial mais peuvent aussi valoriser les coproduits de cultures (canne, tubercules) ou du jardin. Dans ce type d'élevage, en plus des porcs Créole, des races productives européennes et des animaux croisés peuvent être retrouvés (Gourdine et al., 2011). Les animaux sont élevés principalement en plein air ou au piquet mais peuvent aussi être logés en bâtiment sur sol ou béton. Dans ces cas, les porcs sont souvent abattus sur l'exploitation et vendus en vente directe ou autoconsommés (Buflot et al., 2008 ; Zebus et al., 2005). Environ un tiers de la production totale de viande de porc serait commercialisée en vente directe en Guadeloupe (Galan et al., 2008a).

Des enquêtes ont été menées entre février et juillet 2018 afin de caractériser les pratiques d'élevage porcin dans le secteur informel et combler le manque de données (Gourdine et al., 2020² ; *en révision*). Pendant cette période, 71 élevages ont été enquêtés. Il ressort de ces enquêtes que les porcs sont de types génétiques variés : 34 % de race Créole, 38 % de croisés avec des races européennes et 28 % de races ou de lignées européennes comme le Large White, le Piétrain. 57% des élevages enquêtés sont de type familial. Parmi les exploitations de ce type, 6% des porcs sont élevés pour de l'autoconsommation, 32% pour assurer un complément de revenus et 61% pratiquent l'élevage par plaisir et/ou par tradition (dans cette catégorie, les porcs sont certainement autoconsommés à un moment). Concernant les pratiques d'élevage, 78% des élevages se font au contact du sol (piquet ou plein air clôturé) et 96% des élevages utilisent les résidus de récolte (banane, canne à sucre, maraîchages, tubercules) en complément de l'aliment commercial pour les animaux. La part d'aliment qui est issue de l'exploitation varie entre 5 et 100% de la ration. Ces élevages produisent des porcs charcutiers de 50 à 80 kg qui sont commercialisés soit en coopérative soit en circuits courts.

1.6. Contraintes associées à l'élevage Antillais et évolution des systèmes d'élevage

L'élevage aux Antilles fait face à diverses contraintes tant bio-physiques (nature des sols, altitude, pluviosité, insularité) que socio-économiques (chômage, pluri-activités). Le climat tropical peut être une contrainte pour l'élevage : le manque d'eau en période de Carême engendre des déficits fourragers importants dans certaines zones des Antilles et la chaleur limite les performances de croissance des animaux (Renaudeau et al., 2004). Les exploitations antillaises font également face à la difficulté d'accès au foncier et au morcellement important du parcellaire. Par ailleurs, l'éloignement de l'Union Européenne engendre des difficultés de disponibilité des aliments concentrés. Le coût alimentaire est donc bien supérieur à celui observé dans des élevages du même type en métropole (Renaudeau et al., 2011). Ces coûts supplémentaires

² Article co-écrit, intégré en Annexe 1

d'élevage entraînent un prix de la viande locale (viande « peyi ») supérieure à celle de métropole. La viande locale se trouve donc concurrencée par les importations de viande sous-vide congelée bien moins chères. Les filières locales ont pour objectif d'augmenter leur contribution à la consommation locale de viande. Peu importe la filière, les élevages sont de plus en plus professionnalisants et les petites structures sont de moins en moins nombreuses. Enfin, l'élevage de petits ruminants doit faire face au problème récurrent des vols d'animaux et des attaques de chien errants (Mahieu, 2014).

En plus de ces contraintes, la problématique CLD a tendance à fragiliser encore plus ces élevages locaux, particulièrement dans les zones contaminées. Pour les élevages professionnels touchés par cette problématique, les impacts économiques sont importants car les carcasses saisies lors de contrôles à l'abattoir ne font pas l'objet de compensations financières. Pour la filière informelle, aucune analyse n'est réalisée sur les animaux abattus à la ferme ce qui peut engendrer des impacts importants sur la santé des consommateurs.

2. Des niveaux d'exposition différents en fonction des pratiques

2.1. Le sol : voie d'exposition majeure des produits animaux

Le sol est le principal réservoir de la CLD car celle-ci a une forte affinité avec la matière organique du sol (IPCS, 1984). Le sol constitue une matrice à risque pour le transfert de la CLD vers les animaux d'élevage. En effet, ces animaux d'élevage ingèrent volontairement ou involontairement des quantités importantes de sol soit directement soit par ingestion de fourrage salis par le sol (Jurjanz et al., 2014). L'ingestion de sol peut être favorisée par différents facteurs : les conditions environnementales comme l'humidité du sol, les caractéristiques du sol (nature du sol, type de fourrage), les caractéristiques des animaux (espèce, race, statut physiologique) ainsi que les pratiques d'élevage (rotation, longueur de chaîne du piquet, chargement ; Collas et al., 2019).

Chez le bovin, l'ingestion peut aller jusqu'à 10% de la ration (Jurjanz et al., 2017). Chez l'ovin, des études se sont intéressées à l'ingestion de sol principalement en Inde, Nouvelle-Zélande et Royaume-Uni. L'ingestion de sol est supérieure en hiver qu'en été du fait de l'humidité des sols et peut aller jusqu'à 11 à 15 % de la matière sèche ingérée (MSi ; Green et al., 1996 ; Healy et Ludwig, 1965 ; Smith et al., 2009). Les études menées au Pays de Galles sur des terrains inondables rapportent des ingestions de sols très élevées pouvant aller jusqu'à plus de 40% de la MSi (Abrahams et Steigmajer, 2003 ; Smith et al., 2009). Ces conditions sont extrêmes mais montrent que lorsque le terrain est détrempé, l'ingestion de sol peut être très importante. Aucune étude d'ingestion de sol n'a cependant été réalisée chez l'ovin en milieu tropical. Chez le porc non plus, aucune étude d'ingestion de sol en condition tropicale n'a été réalisée. Cependant, le porc étant un animal fouisseur, le pourcentage de sol ingéré dans la ration est probablement plus élevé que chez les ruminants.

Les animaux peuvent également se contaminer en ingérant de l'eau contaminée. L'eau potable n'est pas une source d'exposition car la concentration maximale autorisée est de $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ (Directive 2000/60/CE (DCE), 2000). Cependant, en zones contaminées, les cours d'eaux peuvent contenir jusqu'à $30 \mu\text{g L}^{-1}$ (Jannoyer et al., 2016) bien que les taux soient généralement inférieurs à $0,4 \mu\text{g L}^{-1}$ (Godard, 2007).

Les légumes ou plantes contaminés peuvent aussi être contributeurs de l'exposition des animaux d'élevage à la CLD. Les fourrages contiennent moins de $0,2 \mu\text{g kg}^{-1}$ de matière sèche (MS ; Jannoyer et al., 2016). En revanche, les légumes racines peuvent être très chargés avec des teneurs allant jusqu'à $130 \mu\text{g kg}^{-1}$ de poids frais (PF) pour l'igname et $100 \mu\text{g kg}^{-1}$ PF pour la patate douce.

Pour les plus jeunes, le lait maternel est également une voie d'exposition. Une étude sur des vaches laitières contaminées a montré que la contamination du lait est proportionnelle à l'ingestion quotidienne de CLD (Smith et Arant, 1967). Aucune étude n'a été menée chez les animaux d'élevage pour montrer le transfert de CLD de la mère aux petits. Cependant, chez l'homme, l'étude HIBISCUS a montré la possibilité de transfert de la CLD de la mère au fœtus via le placenta et de la mère à l'enfant via le lait maternel (ANSES, 2011).

2.2. Identification des types d'élevage les plus touchés par la problématique chlordécone

Les élevages touchés par la problématique CLD sont les élevages qui sont situés dans des zones contaminées par la CLD ou qui donnent des produits issus de zones contaminées à leurs animaux. Les figures 1 et 2 présentent la cartographie des risques de contamination des sols par la CLD en Guadeloupe et en Martinique respectivement. Les ruminants sont principalement élevés en plein air donc ils peuvent ingérer du sol contaminé mais également se contaminer via l'eau de boisson si celle-ci est contaminée. Tout facteur qui augmente l'ingestion de sol (humidité du sol, chargement trop important, longueur de chaîne du piquet trop courte...) augmente l'exposition des animaux à la CLD. Pour les élevages porcins « spécialisés », dans les rares cas de contamination, les animaux étant essentiellement élevés hors-sol, la voie d'exposition majeure est l'eau de boisson si cette dernière est contaminée et prélevée dans l'environnement. Les élevages porcins traditionnels ont des pratiques qui peuvent générer une exposition accrue : les animaux sont en plein air, à l'attache ou alimentés avec des racines, tubercules ou légumes potentiellement contaminés par la CLD.

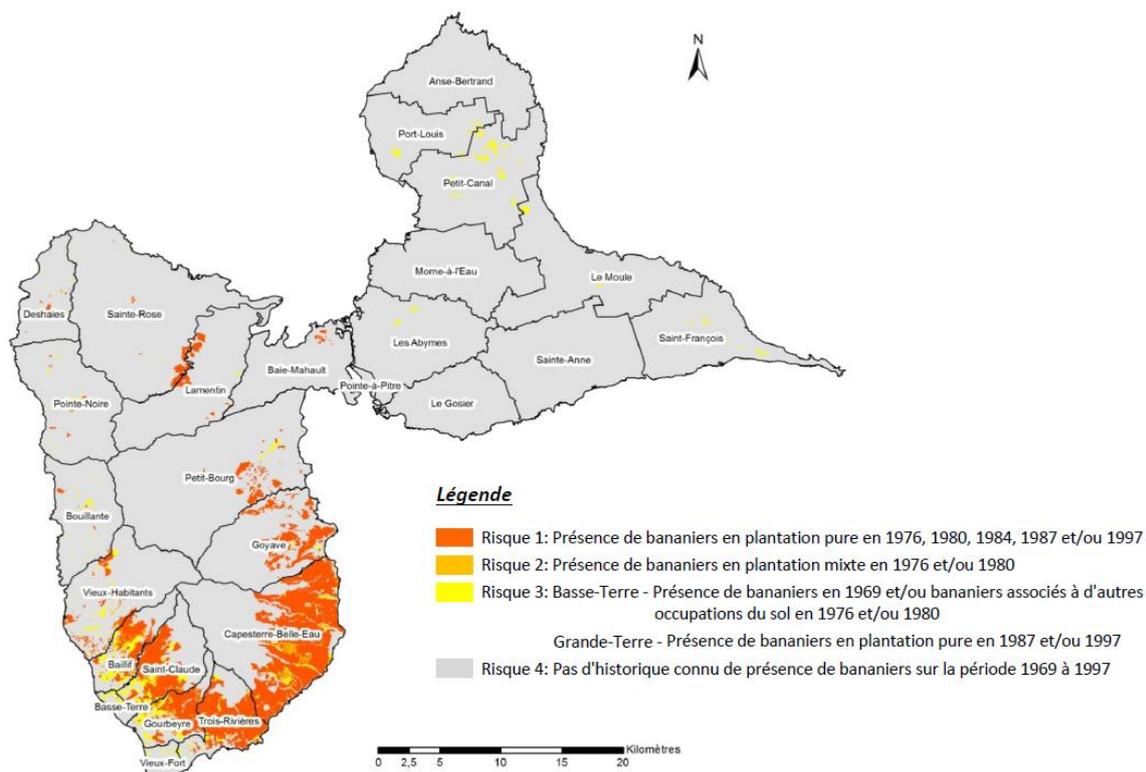


Figure 1: Cartographie des risques actualisée des risques de contamination des sols guadeloupéens par la chlordécone
(Projet ChleauTerre ; Rochette et al., 2017)

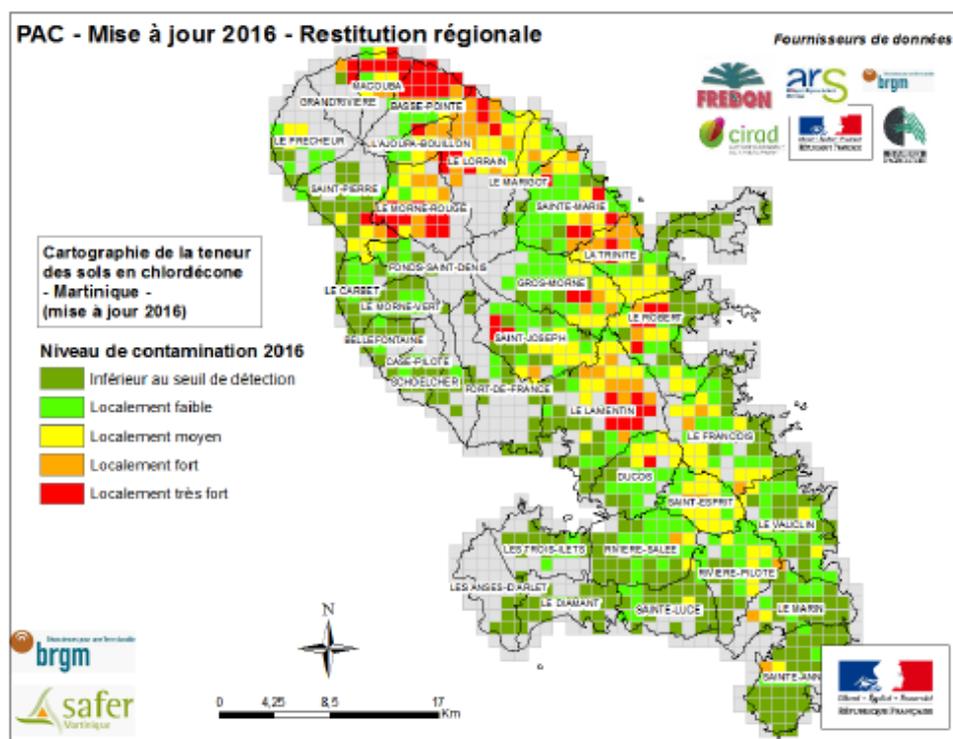


Figure 2: Cartographie des risques de contamination des sols martiniquais par la chlordécone
(seuil de détection de $0,001 \text{ mg kg}^{-1} \text{ MS}$; Desprats et al., 2016)

3. Gestion de la crise chlordécone : conseils et réglementations sur les Denrées Alimentaires d'Origine Animale

3.1. Réglementations, plans de surveillance et de contrôle sur les Denrées Alimentaires d'Origine Animale

Pour protéger la santé des consommateurs, l'Anses proposa en 2003 de fixer des Valeurs Toxicologiques de Référence (VTR). Les VTR sont des indices toxicologiques qui permettent, par comparaison avec l'exposition, de définir la quantité de substance que peut ingérer un individu moyen pendant toute la durée de sa vie, sans risque pour sa santé. Pour la CLD, les valeurs retenues sont de $0,5 \mu\text{g kg}^{-1}$ poids corporel (PC) j^{-1} pour des expositions chroniques et de $0,01 \text{ mg kg}^{-1}$ PC j^{-1} pour des expositions aiguës. Ces valeurs ont été confirmées par l'Anses suite à l'étude KANNARI. Afin de garantir des niveaux d'exposition inférieurs à la VTR chronique, des Limites Maximales de Résidus (LMR) ont été fixées en 2005 par la Commission Européenne par le règlement (CE) n°396/2005. En 2005, la Commission Européenne a fixé une valeur de LMR de $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ PF pour l'ensemble des denrées animales terrestres. Cette limite est un outil réglementaire qui définit la concentration maximale de résidus de CLD autorisée légalement dans les denrées alimentaires en tenant compte de la toxicité de la CLD et de la consommation de ces denrées.

En 2008, l'arrêté du 30 juin 2008 a défini les LMR applicables aux résidus de CLD dans les produits animaux en considérant le caractère lipophile de la CLD :

- **$100 \mu\text{g kg}^{-1}$ de matière grasse (MG) dans les denrées animales contenant 20% de MG (bovins, ovins, caprins, porcins)**
- **$200 \mu\text{g kg}^{-1}$ de MG dans les denrées animales contenant 10% de MG (viande de volaille).**

Les dosages de CLD sur animaux de boucherie sont réalisés dans la graisse périrénale conformément à la directive 2002/63/CE.

En 2016, une étude de corrélation entre les teneurs de CLD dans le tissu adipeux périrénal, le foie et le muscle a été menée sur 200 bovins (ANSES, 2018). Suite à ces résultats, l'arrêté du 30 juin 2008 a été modifié uniquement pour la viande bovine par l'arrêté du 25 janvier 2019 en fixant la valeur limite de $27 \mu\text{g kg}^{-1}$ MG dans la graisse de bovins afin de ne pas dépasser la limite maximale de résidus de CLD de $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ PF dans le muscle. Par ailleurs, dès lors que la teneur de CLD mesurée dans la graisse est supérieure à la limite de quantification (LQ), les foies doivent être écartés. Afin d'avoir une réglementation homogène entre les produits carnés, l'arrêté du 25 janvier 2019 a été modifié par l'arrêté du 23 mai 2019. Cet arrêté a redéfini les concentrations maximales dans la graisse périrénale afin de ne pas dépasser la LMR de $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ PF dans le muscle à **$27 \mu\text{g kg}^{-1}$ MG pour les bovins, $21 \mu\text{g kg}^{-1}$ MG pour les porcins et $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ MG pour les ovins, caprins et volailles.**

Des plans de surveillance et plans de contrôle (PSPC) sont mis en place chaque année afin de maîtriser la sécurité sanitaire des aliments. Les plans de surveillance correspondent à un échantillonnage aléatoire pour évaluer un niveau de contamination global des produits et identifier des mesures de gestion associées pour réduire le risque. Les plans de contrôle correspondent à un échantillonnage ciblé dans des zones à risque pour permettre d'évaluer l'efficacité des mesures de gestion.

3.2. Conseils de consommation pour limiter l'exposition

L'étude KANNARI a montré que les populations les plus exposées se fournissent principalement dans le secteur informel non contrôlé. Les individus qui s'approvisionnent majoritairement en circuits contrôlés ne dépassent pas la VTR (ANSES, 2017). Ainsi, baisser les LMR pour les DAOA ne se traduirait pas par une baisse des expositions pour les populations les plus exposées. Pour ces populations, des recommandations de consommation semblent plus pertinentes. Certaines ont déjà été formulées : limiter la consommation de produits de la mer à 4 fois par semaine, la consommation de racines et tubercules à 2 fois par semaine et la non consommation de produits d'eau douce issus des zones d'interdiction de pêche (Afssa, 2007). L'Anses préconise d'étendre ces recommandations à d'autres denrées issues de circuits informels comme les volailles ou les œufs, forts contributeurs de l'exposition.

4. Importance de préserver l'élevage antillais malgré le risque de contamination lié à la chlordécone

4.1. Services écosystémiques associés à l'élevage antillais

La notion de service écosystémique (SES) renvoie à la valeur des écosystèmes qui offrent des biens et des services pour l'homme nécessaires à son bien-être et à son développement (Constanza et al., 2017). Le rapport Millennium Ecosystem Assessment (2005) définit les SES comme « les bénéfices que les hommes tirent des écosystèmes » et classe ces services en 4 catégories : les services de supports, les services d'approvisionnement, les services de régulation et les services culturels. Une étude récente a quantifié les services écosystémiques fournis par les animaux et notamment par les races Créole (Gourdine et al., 2020, *soumis*). Le service d'**approvisionnement** alimentaire est le plus commun, l'élevage permet d'approvisionner la population en produits animaux, ces produits sont ensuite vendus, troqués ou autoconsommés. L'élevage antillais rend également des services de **régulation**. Il maintient les paysages. Par exemple en Guadeloupe, les délaissés routiers sont souvent valorisés par des bovins au piquet. L'élevage s'inclut souvent dans un système de polyculture élevage ou en complément d'autres activités agricoles. Lorsque qu'un porc valorise des coproduits de culture, il fait entièrement partie du système. Les menaces sur l'élevage provoquent donc des menaces sur les systèmes de polyculture-élevage. Enfin, l'élevage antillais est ancré dans la **culture** antillaise (Gourdine et al., 2020, *soumis*). Il crée du lien social car l'élevage

familial est souvent lié à du don à la famille, aux voisins ou à du troc. Il permet de maintenir des traditions comme l'élevage au piquet ou l'abattage sous le manguier mais également le patrimoine génétique des races locales. De plus, lors de fêtes religieuses ou familiales, la demande de viande de mouton ou de porc augmente fortement (IEDOM, 2019a). Par ailleurs, l'élevage local contribue à développer l'agro-tourisme car les touristes aiment manger des produits locaux. Malgré la menace de la CLD, l'élevage local doit donc être maintenu car il approvisionne la population, crée de l'emploi, du lien social et maintient les pratiques culturelles et les races locales. Le remplacement de la viande produite localement par de la viande importée pour éviter le risque chlordécone doit être évité. C'est le défi du programme INSSICCA³.

4.2. Le programme INSSICCA : préserver l'élevage local malgré le risque chlordécone tout en garantissant la santé de la population

L'enjeu du programme INSSICCA est de conserver l'activité d'élevage local tout en garantissant la santé de la population malgré la menace de la CLD. Pour pouvoir préserver la santé de la population locale, l'exposition alimentaire doit être réduite au maximum. Ce projet a pour but de caractériser l'exposition à la CLD des élevages locaux (WP1), de caractériser la biodisponibilité de la CLD, son comportement et sa biotransformation dans l'organisme (WP2) et de développer des stratégies innovantes permettant de fixer la CLD via des charbons actifs ou biochars (WP3) afin d'éviter l'absorption dans l'organisme. Sur la base des résultats obtenus dans les volets WP1, WP2 et WP3 du programme, des stratégies d'élevage permettant *in fine* d'obtenir des produits animaux sains seront proposées pour les zones d'élevages contaminées en CLD. Dans les volets WP4 et WP5, les approches socio-économiques seront développées afin de promouvoir le développement durable dans les territoires ruraux de ces îles tropicales et d'évaluer les conditions d'adoption des pratiques innovantes proposées.

Cette thèse s'intègre dans le volet WP2 du programme INSSICCA. L'application de la toxicocinétique constitue une solution prometteuse pour sécuriser les filières animales dans la mesure où elle permet d'envisager la mise en place de stratégies de décontamination des animaux contaminés. Si les stratégies de décontamination ne peuvent pas être mises en place en raison de temps d'attente trop longs, les pratiques d'élevage devront être adaptées afin de réduire l'exposition des animaux.

³ Innovative Strategies to Secure livestock production in Chlordecone Contaminated Areas

Aux Antilles Françaises, l'élevage est marqué par une diversité de structures allant de petits ateliers intégrés à de gros élevages spécialisés. Les filières porcines et de petits ruminants sont divisées entre un secteur professionnel et un secteur informel.

En plus des contraintes liées à l'insularité et au climat tropical, la problématique de la CLD fragilise fortement les filières de production animale locales. En ingérant involontairement du sol ou des aliments contaminés, les animaux se contaminent. Les DAOA contribuent ainsi à l'exposition humaine. Suite à l'étude KANNARI, le rapport de l'Anses précise que les circuits non contrôlés contribuent majoritairement à l'exposition humaine. Pour protéger le consommateur, l'objectif est de fournir aux éleveurs et à la population des recommandations afin de produire et de consommer des produits animaux dont les teneurs sont inférieures aux LMR en vigueur. Pour maintenir l'élevage antillais, des solutions doivent être proposées.

La stratégie de décontamination des animaux avant abattage semble être une solution pertinente. Cependant, pour proposer de telles solutions, les processus associés au devenir de la CLD chez les animaux d'élevage doivent être mieux caractérisés.

PARTIE 2: Toxicocinétique de la chlordécone chez les animaux d'élevage

Un xénobiotique est une molécule chimique étrangère à un organisme, les pesticides ou les antibiotiques en sont des exemples. La toxicocinétique (ou pharmacocinétique pour les substances pharmaceutiques) décrit le devenir d'un xénobiotique après son administration dans l'organisme qui peut être divisé en quatre phases. La première phase est la phase d'**absorption** qui correspond à l'entrée du xénobiotique dans la circulation générale. La deuxième est la phase de **distribution** où la molécule se distribue dans les organes et tissus de l'organisme. La molécule peut ensuite être biotransformée dans certains organes pendant la phase de **métabolisme**. Enfin, la molécule sous forme parente ou biotransformée est éliminée de l'organisme, c'est la phase d'**excrétion**. Ces quatre phases sont résumées par l'acronyme ADME pour Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion. L'élimination de la molécule englobe les phases de métabolisme et d'excrétion. La rédaction des parties théoriques sur les fondamentaux de la toxicocinétique s'est appuyée sur l'ouvrage « Pharmacocinétique : les fondamentaux » (Chatelut, 2018) et sur l'article de Fan et de Lannoy (2013).

1. Extraction de la chlordécone des matrices contaminées durant le transit intestinal

Dans le cas d'une administration par voie orale (*v.o.*), la molécule est extraite de la matrice dans laquelle elle est présente par dissolution dans le milieu gastro-intestinal avant de subir la phase d'absorption. Après l'ingestion de sol contaminé, la CLD est extraite des particules de sol par les processus digestifs. La CLD étant connue pour avoir une forte affinité aux sols volcaniques antillais, la capacité des processus digestifs à extraire la CLD du sol a été évaluée en comparant les concentrations tissulaires de la CLD suite à l'ingestion de sols contaminés (nitosol ou andosol) ou d'huile contaminée (matrice de référence) par des animaux. Comme aucune différence significative n'a été observée dans les concentrations tissulaires suite à l'ingestion des sols et de la matrice de référence, la biodisponibilité relative de la CLD dans l'andosol et le nitosol a été estimée à 100% chez les ruminants (agneaux ; Jurjanz et al., 2014) et les monogastriques (poules pondeuses et porcelets ; Bouveret et al., 2013 ; Jondreville et al., 2013). **La CLD est donc presque intégralement libérée des constituants du sol dans la lumière intestinale.** Ainsi, toute ingestion de sol augmente le risque de contamination de la viande, proportionnellement au niveau de CLD présente dans le sol.

Suite à l'ingestion et l'étape d'extraction de la matrice contaminée, la CLD subit les processus ADME.

2. Absorption de la chlordécone par l'animal

La phase d'absorption décrit le processus par lequel la molécule atteint la circulation générale sous forme parente. Elle peut entrer dans l'organisme par deux voies : la voie intravasculaire et la voie extravasculaire. Dans le cas d'administration intravasculaire, la molécule est directement injectée dans le circuit sanguin donc la phase d'absorption n'existe pas. La CLD étant principalement ingérée par voie orale, seuls les mécanismes liés à l'absorption gastro-intestinale seront décrits ici.

2.1. Mécanismes associés à l'absorption de la chlordécone

Après l'ingestion par voie orale, la CLD passe de la lumière intestinale au milieu intérieur. Pour passer la membrane intestinale, la molécule peut réaliser un passage transcellulaire et/ou un passage paracellulaire via les jonctions gap de l'épithélium digestif et de l'endothélium vasculaire. Peu de données sont disponibles sur les mécanismes qui pilotent le passage de la CLD de la lumière intestinale à la circulation générale. Cependant, la CLD étant une molécule lipophile (K_{ow} élevé), la diffusion passive semble être le mécanisme le plus associé au passage de la CLD à travers la membrane intestinale (Bungay et al., 1981). Pour certains xénobiotiques, l'absorption peut également être associée à de la diffusion facilitée via des transporteurs saturables ou par transport actif qui nécessitent de l'énergie. Aucune étude n'a pour l'instant montré l'existence de transporteurs de la CLD.

La deuxième phase est une phase de métabolisme, la molécule peut subir une dégradation au premier contact avec les cellules des organes atteints avant d'atteindre la circulation générale : c'est l'**effet de premier passage**. La figure 3 schématise les mécanismes associés à l'absorption de la CLD. Lorsqu'une molécule est administrée par voie orale, elle arrive dans l'intestin en passant par l'œsophage, l'estomac pour atteindre la veine porte qui conduit le sang veineux de l'intestin, du pancréas et de la rate vers le foie avant de rejoindre le cœur et la circulation artérielle pour se distribuer dans les différents organes. L'effet de premier passage peut avoir lieu au niveau de la muqueuse intestinale et/ou au niveau du foie. L'effet de premier passage pulmonaire peut exister mais est considéré minoritaire par rapport aux deux autres. Dans le cas de la CLD, l'organe de biotransformation étant le foie, l'effet de premier passage, s'il existe, est surtout hépatique.

2.2. Biodisponibilité absolue de la chlordécone

La **biodisponibilité**, notée F , est un paramètre qui mesure la quantité de xénobiotique arrivant dans la circulation générale sous forme inchangée. La fraction absorbée correspond à la fraction bioaccessible qui passe la barrière intestinale et la fraction biodisponible est celle qui atteint la circulation systémique. Pour déterminer la **biodisponibilité absolue d'une molécule**, la voie extravasculaire et la voie intraveineuse (*i.v.* ; correspondant à 100% de biodisponibilité) sont comparées. En général, la biodisponibilité est estimée

en comparant les aires sous la courbe (AUC) des concentrations sanguines de la substance obtenues suite à une administration par voie orale (AUC_{vo}) et par voie intraveineuse (AUC_{iv}) :

$$F = \frac{AUC_{vo}}{AUC_{iv}} \times \frac{Dose_{iv}}{Dose_{vo}}$$

L'effet de premier passage peut expliquer une éventuelle différence entre l'absorption et la biodisponibilité absolue car un xénobiotique qui passe très bien la membrane intestinale mais qui est fortement métabolisé lors du premier passage hépatique aura une faible biodisponibilité.

Des études toxicocinétiques menées chez le rat et la chèvre ont montré que **la CLD est absorbée à plus de 90%** (Egle et al., 1978 ; Fournier et al., 2017).

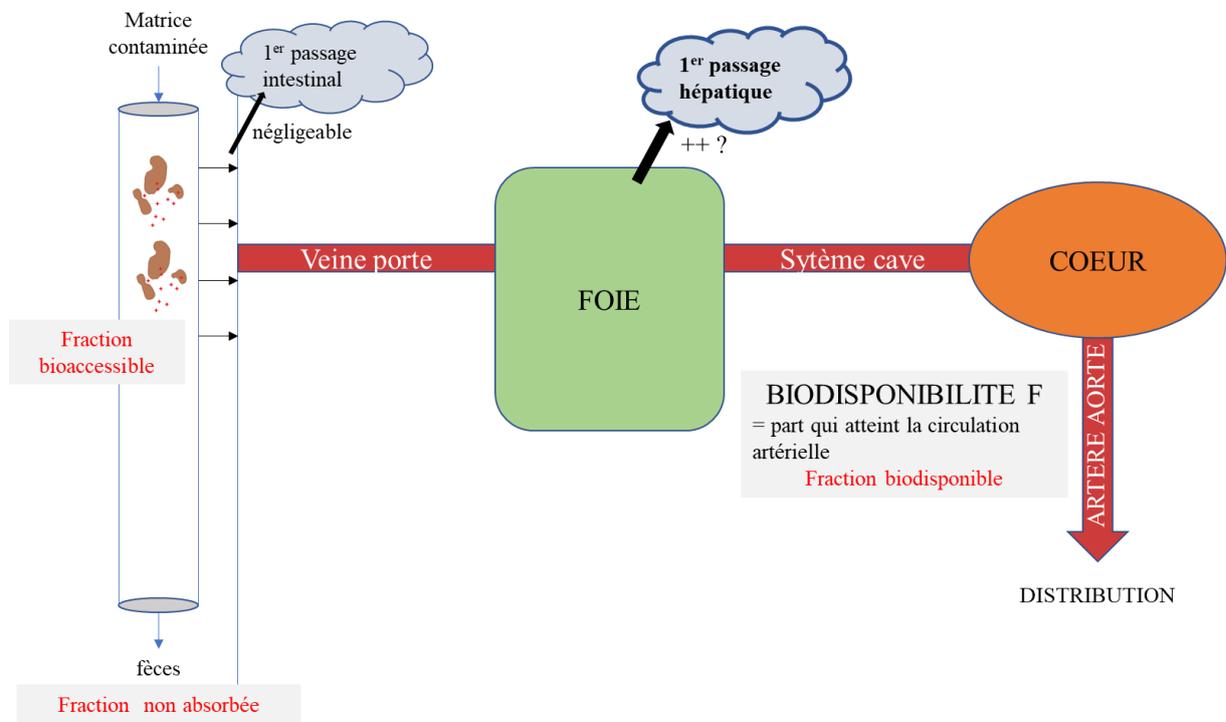


Figure 3: Représentation schématique des phases d'absorption de la chlordécone chez l'animal

3. Distribution de la chlordécone dans l'organisme

3.1. Caractérisation générale de la distribution de la chlordécone : volume de distribution

Une fois que la CLD atteint la circulation sanguine, elle passe du compartiment central (sang) aux autres tissus de l'organisme dans les espaces extracellulaires et intracellulaires. La distribution d'un xénobiotique peut être évaluée en calculant des vitesses de distribution et l'intensité de la distribution. Les constantes de vitesse de distribution seront développées dans le chapitre suivant concernant les modèles toxicocinétiques. L'intensité de la distribution est mesurée par le **volume de distribution (Vd)**, un paramètre toxicocinétique fondamental qui évalue la capacité de distribution du xénobiotique dans l'organisme. Il est défini comme la constante de proportionnalité entre la quantité de xénobiotique dans l'organisme et sa concentration plasmatique (Toutain et Bousquet-Mélou, 2004). L'unité du Vd est un volume, souvent rapporté au poids de l'organisme (L kg⁻¹ ou mL kg⁻¹). Ce volume n'est pas un volume physiologique mais un volume fictif qui représente le volume que devrait occuper l'organisme s'il était un milieu homogène ayant une concentration égale à la concentration plasmatique. Plus le Vd est élevé, plus la distribution est large c'est-à-dire que plus la molécule sera distribuée dans des compartiments profonds.

Suite à une administration intraveineuse, le Vd peut être calculé en connaissant la dose administrée et la concentration plasmatique extrapolée à l'origine C₀ : Vd = dose / C₀. Cependant, cette méthode est souvent fautive car l'estimation de la concentration à l'origine peut être imprécise. Une autre méthode de calcul de Vd consiste à se placer pendant la phase d'élimination et de le calculer à partir de la constante d'élimination k_e et l'AUC :
$$Vd = \frac{dose}{AUC \times k_e}.$$

Des études récentes ont calculé le volume de distribution de la CLD à 1,6 et 1,7 L kg⁻¹ de poids vif (PV) chez la chèvre et la brebis, respectivement (Fournier et al., 2017 ; Saint-Hilaire et al., 2019).

3.2. Organotropisme particulier de la chlordécone

3.2.1. Bioaccumulation, stockage et remobilisation

Suite à une exposition quotidienne à la CLD, la quantité totale dans l'organisme augmente jusqu'à atteindre au bout d'un certain temps un plateau où l'excrétion de la CLD est équivalente à la quantité quotidienne apportée.

Lors de la contamination, certains organes peuvent se charger plus rapidement que d'autres. Chez *Macrobrachium rosebergii* (ouassous), la CLD est distribuée en premier vers l'hépatopancréas. Pendant les 6 heures qui suivent l'exposition, 90% de la CLD se retrouve dans l'hépatopancréas. La molécule est ensuite distribuée vers les autres compartiments que sont les muscles et la carapace. Dans les 6 heures

suyvantes, la CLD retrouvée dans l'hépatopancréas est ensuite d'environ 50 % de la charge corporelle totale en CLD (Lafontaine et al., 2017). Aucune étude n'a été réalisée chez les mammifères pour caractériser la dynamique de distribution tissulaire de la CLD. Cependant, si ce phénomène était également observé chez les mammifères, le foie pourrait par exemple se charger plus rapidement en CLD que d'autres organes ou tissus.

Lorsque l'animal n'est plus exposé, il se décontamine et les organes se déchargent en CLD parfois plus ou moins rapidement. Chez le rat, le foie se décontamine deux fois plus lentement que le tissu adipeux et le muscle (Egle et al., 1978). Peu d'études caractérisent l'élimination de la CLD dans les tissus. Cependant, chez la volaille, les temps de demi-vie de la CLD dans le foie, le muscle, le gras et l'œuf ne sont pas significativement différents au sein d'une même espèce (tableau 2). Les différences de temps de demi-vies entre la poule pondeuse et le canard peuvent s'expliquer par des différences de niveau de ponte.

Tableau 2: Temps de demi-vie de la chlordécone (en jours) dans différents tissus chez la volaille

	Foie	Muscle	Gras	Œuf	Référence
Canard (n=29)	17	21	22	19	Jondreville et al., 2014b
Canard (n=42)	17	21	22	22	Clostre et al., 2013
Poule (n=44)	5,0	-	5,3	5,5	Jondreville et al., 2014a

3.2.2. Comparaison des teneurs de chlordécone entre les tissus

Pour l'ensemble des animaux d'élevage, **la CLD se concentre préférentiellement dans le foie** mais est aussi retrouvée dans leurs muscles et tissus adipeux. Le tableau 3 présente les ratios de concentrations de CLD entre le foie, le muscle, le tissu adipeux et le sang chez différentes espèces. Chez les ruminants, plusieurs études ont montré que les ratios étaient assez stables bien que dans la plupart de ces études les animaux n'étaient pas à l'équilibre. Chez le porc, peu de données sont disponibles sur les ratios de concentrations tissulaires.

3.3. Facteurs déterminant la distribution de la chlordécone

Plusieurs facteurs déterminent la distribution tissulaire : les propriétés physico-chimiques de la molécule, la liaison aux protéines plasmatiques et les caractéristiques physiologiques des tissus. Des transferts des tissus au sang ont également lieu pour pouvoir atteindre les organes d'élimination (foie et reins).

3.3.1. Propriétés physico-chimiques de la molécule

Le log Kow et le pKa sont des paramètres qui reflètent respectivement le caractère lipophile et l'état d'ionisation d'une molécule. Ces paramètres influent sur la distribution tissulaire. La CLD ayant un log Kow assez élevé (5,41 ; Hansch et al., 1995), elle peut facilement diffuser passivement à travers les membranes, se distribuer dans les tissus et s'accumuler dans les tissus adipeux. Par ailleurs, la CLD a un poids moléculaire relativement faible (490,6 g mol⁻¹) ce qui facilite sa diffusion dans les tissus.

Tableau 3 : Ratios entre les concentrations sanguines et tissulaires de chlordécone observés dans la littérature

Espèce	Durée exposition décontamination	Foie / Muscle	Foie / TA	TA / muscle	Foie / sang	Base calcul	Référence
Bovin (n=28-34)	-	8/1	4/1	2/1	18/1 (sérum)	PF	Lastel, 2016
Bovin (n=37)	-	-	57/1	0,1/1	-	MG	Lastel, 2016
Bovins (n=200)	-	6,6/1	3,4/1	1,9/1	-	PF	ANSES, 2018
Chevreau	IV multiple 10 j VO exposition 21 j	8/1	143/1	0,04/1	-	MG	Lerch et al., 2018
Brebis (n=3)	IV unique décontamination de 3 j	7,9/1	4,7/1	1,7/1	-	PF	Saint-Hilaire, 2018
Canard (n= 29)	abattages sériés	-	3,9/1	1,7-2,0/1	-	PF	Jondreville et al., 2014b
Canard (n=42)	abattages sériés	6/1	3/1	2/1	-	PF	Clostre et al., 2013
Poule (n=44)	abattages sériés VO exposition 42 j 35 j de décontamination	-	4,5/1	2,7/1 (n=8)	-	PF	Jondreville et al., 2014a
Porcelet (n=2)	IP unique 35 j de décontamination	-	-	-	20 et 42/1 (plasma)	PF	Soine et al., 1983
Rat (n=2-4)	IV dose unique abattages sériés décontamination de 182 j	10/1	3/1	3/1	47/1	C ¹⁴	Egle et al., 1978

TA : tissu adipeux ; PF : Base poids frais ; MG : Base matière grasse ; IV : intraveineuse ; VO : voie orale ; IP : intrapéritonéale

3.3.2. Liaison aux protéines plasmatiques

Certaines protéines plasmatiques peuvent fixer la CLD. La **fraction libre** (f_u , pour *unbound plasma fraction*) est un paramètre important de la distribution car seule cette fraction est capable de franchir les membranes biologiques et d'atteindre les tissus. La fraction libre est définie par le rapport entre la concentration libre

plasmatique et la concentration totale (libre et liée). Le pourcentage de liaison de la CLD marquée au carbone 14 a été estimée à partir d'expérimentations *in vitro* sur du plasma d'homme, de rat et de porc (Soine et al., 1982). Les fractions de protéines et de lipoprotéines ont été séparées par plusieurs ultracentrifugations. Pour confirmer les résultats obtenus avec cette première méthode, les VLDL (very low density lipoproteins) et LDL (low density lipoproteins) ont été précipitées avec de l'héparine et du manganèse et une électrophorèse a été réalisée sur gel d'agarose pour déterminer si les techniques de séparation modifiaient la liaison de la CLD aux composants du plasma. La fraction liée chez l'homme a été estimée à 94% : 6% aux VLDL, 20% aux LDL, 30% aux HDL (high density lipoproteins) et 46% à la fraction à haute densité restante. Chez le rat, la fraction liée a été estimée à 98% : 6% aux VLDL, 8% aux LDL, 54% aux HDL et 31% à la fraction à haute densité restante. Chez le porc, la fraction liée a été estimée à 94% : 29% aux VLDL et LDL, 33% aux HDL et 33% à la fraction à haute densité restante. Les résultats obtenus par électrophorèse ont validé les résultats obtenus par ultracentrifugation.

Une fois dans le tissu, la molécule peut se fixer aux protéines ou lipides tissulaires, la « **fraction libre tissulaire** » correspond à la fraction non liée à ces composants tissulaires. Comme les autres composés organochlorés (PCB ou DDT par exemple), le caractère hydrophobe de la CLD peut laisser penser qu'elle se lie préférentiellement aux tissus adipeux alors que ce n'est pas le cas. En effet, le DDT présente un ratio de concentrations tissus adipeux/sang de 280/1 contre un ratio de 7/1 pour la CLD chez l'homme (Cohn et al., 1978 ; Skalsky et al., 1979). Le comportement de distribution particulier par rapport aux autres polluants peut être expliqué par ses affinités particulières pour certaines protéines du sang et lipoprotéines. Son transport est principalement assuré par l'albumine et les lipoprotéines HDL (Skalsky et al., 1979 ; Soine et al., 1982). Les HDL sont produites par le foie puis libérées dans la circulation sanguine (van der Vorst, 2020). D'autres polluants comme le DDT, sont quant à eux transportés par l'albumine et les β -lipoprotéines (LDL). Le foie possédant des récepteurs aux HDL, la CLD se stockerait préférentiellement dans cet organe (Soine et Blanke, 1984). La CLD peut donc être qualifiée de **non-lipotrope à fort tropisme hépatique**.

3.3.3. Caractéristiques physiologiques des tissus

La cinétique de distribution tissulaire dépend de la vascularisation et du débit de perfusion des organes. Le phénomène de distribution a plus de chance d'être rapide et intense au niveau des organes fortement perfusés (cerveau, cœur, poumons, foie, rein) que des organes faiblement perfusés (os, tissus adipeux). Par ailleurs, la composition en gras des tissus (teneur en lipides totaux, en lipides neutres ou phospholipides) peut également influencer sur la distribution de la CLD.

4. Elimination de la chlordécone par l'animal

4.1. Elimination globale de la chlordécone

L'élimination globale de la CLD peut être caractérisée par la clairance d'élimination et le temps de demi-vie sanguine. Cette élimination globale est la résultante des mécanismes de métabolisme et d'excrétion.

4.1.1. Clairance d'élimination de la chlordécone

La clairance d'élimination (CL) de la CLD mesure la capacité globale de l'organisme à éliminer la molécule. Elle est définie comme la constante de proportionnalité entre la vitesse d'élimination du xénobiotique $v_e(t)$ et la concentration plasmatique $C(t)$. L'unité de la clairance est un débit, souvent rapporté au poids de l'organisme ($L j^{-1} kg^{-1}$ ou $L h^{-1} kg^{-1}$). La clairance correspond au volume de sang totalement débarrassé du xénobiotique par unité de temps soit par métabolisme, soit par excrétion. Suite à une administration unique par voie intraveineuse, la clairance d'élimination peut être calculée à partir de la dose et de l'AUC :

$$CL = \frac{dose}{AUC}.$$

Cette clairance d'élimination globale résulte de plusieurs processus d'élimination, l'élimination rénale (clairance rénale, CL_r) et l'élimination hépatique (clairance hépatique, CL_h) : $CL = CL_r + CL_h$.

Quand le xénobiotique est administré par voie orale, la dose administrée ne correspond pas forcément à la dose qui a réellement atteint la circulation sanguine. La dose doit donc être corrigée avec la fraction du médicament qui atteint la circulation sanguine (F).

La clairance sérique de la CLD a été estimée à 66 et 51 $mL kg^{-1} j^{-1}$ chez la chèvre et la brebis respectivement (Fournier et al., 2017 ; Saint-Hilaire et al., 2019).

4.1.2. Temps de demi-vie d'élimination de la chlordécone

Le temps de demi-vie d'élimination correspond au temps nécessaire pour que la concentration sanguine de CLD diminue de moitié suite à son administration. Le temps de demi-vie ($t_{1/2elim}$) peut être calculé suite à une administration unique par voie intraveineuse à partir de la pente de la phase d'élimination notée k_e ou

en fonction de la clairance d'élimination (CL) et du volume de distribution (Vd) : $t_{1/2elim} = \frac{\ln(2)}{k_e} = \frac{\ln(2) \times Vd}{CL}$.

Le temps de demi-vie dépend donc des deux paramètres principaux (CL et Vd) qui sont indépendants. Un temps de demi-vie d'élimination long peut donc être dû à un volume de distribution élevé ou à une clairance faible.

Les temps de demi-vies moyens d'élimination de la CLD rapportés dans la littérature chez différentes espèces figurent dans le tableau 4. D'une espèce à l'autre, le temps de demi-vie est très variable, il peut être très court (5 j pour la poule en ponte ; Jondreville et al., 2014a) ou très long (153 j pour l'homme ; Guzelian, 1982). Pour une même espèce, le temps de demi-vie dépend du stade physiologique (Fournier et al., 2017 ; Lastel, 2016) : si l'animal est en croissance, un effet de dilution réduit le temps de demi-vie. Par ailleurs, le temps de demi-vie chez la poule pondeuse est court par rapport aux autres espèces car la CLD est exportée dans les œufs quotidiennement.

Chez l'homme, le temps de demi-vie est largement plus long que chez les autres espèces. Plusieurs hypothèses peuvent expliquer ce temps de demi-vie long : les individus continuaient peut-être à être exposés très faiblement ou la demi-vie présentée est peut-être une troisième demi-vie.

Tableau 4 : Temps de demi-vie de la chlordécone chez différentes espèces

Espèce	Nombre d'animaux	Dose (mg kg ⁻¹)	Voie	t _{1/2} sérum (j)	Référence
Vache	40	Inconnue	VO	43	Mahieu et al., 2015
Chèvre	6	1	IV	20	Fournier et al., 2017
Chèvre	(4 jusqu'à la fin) 6	1	VO	20	Fournier et al., 2017
Chevreau	12	0,05 mg kg ⁻¹ (pendant 21 j)	VO	14	Lastel, 2016
Brebis	15	0,02 ; 0,4 ; 1	IV	24	Saint-Hilaire et al., 2019
Rat	(5 par dose) 2-4	40	VO	24-45	Egle et al., 1978
Porc	(abattages sériés) 1	40	IP	22	Soine et al., 1983
Porc	1	80	IP	12	Soine et al., 1983
Poules pondeuses	40 + 4 témoins (abattages sériés ; 4 par abattage)	0,5	VO	5,1	Jondreville et al., 2014a

IV : voie intraveineuse ; VO : voie orale ; IP : voie intrapéritonéale.

4.2. Métabolisme de la chlordécone

4.2.1. Description des phases du métabolisme de la chlordécone

Le métabolisme correspond à la biotransformation par une ou plusieurs réactions enzymatiques de la molécule parent en une ou plusieurs molécules appelées métabolites. Les métabolites créés sont plus hydrophiles que la molécule parent afin de faciliter l'élimination de la molécule par excrétion biliaire et/ou urinaire. Bien que les mécanismes de transfert de la CLD entre les cellules ne soient pas connus, les mécanismes de transformation de la molécule mère en métabolites ont été étudiés notamment avec les travaux de Fariss et al. (1980). La figure 4 décrit les biotransformations possibles de la CLD. La transformation métabolique de la CLD se fait en plusieurs phases.

(i) Métabolisme de phase I : La phase I est une phase de « fonctionnalisation » de la molécule qui a pour objectif de produire des métabolites plus réactifs et polaires en transformant la fonction cétone en fonction

alcool afin de former du chlordécol (CLDOH). La CLD est transformée en CLDOH grâce à une enzyme cytosolique hépatique appelée chlordécone réductase. Elle appartient à la famille des aldo-céto réductases (AKR), plus précisément à la famille des AKR1C4 (Molowa et al., 1986b, 1986a). Les travaux de Molowa et al. (1986a) ont montré que le foie est le site principal de biotransformation de la chlordécone. Des travaux récents chez la brebis ont confirmé la non réversibilité de la réaction de réduction de CLD en CLDOH (Saint-Hilaire, 2018).

(ii) Métabolisme de phase II : La phase II est une phase de « conjugaison » qui permet d'ajouter un groupement conjugué hydrophile sur la molécule parent ou le métabolite primaire. La CLD et le CLDOH peuvent être conjugués en chlordécone-glucuroné ou sulfaté et chlordécol-glucuroné ou sulfaté à l'aide d'UDP-glucuronosyl transférases et de sulfo-transférases (Fariss et al., 1980). Les métabolites conjugués chlordécone-conjuguée (CLD-C) et chlordécol conjugué (CLDOH-C) sont plus polaires et hydrophiles que la CLD ou le CLDOH ce qui facilite leur élimination via les urines ou la bile.

Remarque : Chez l'animal, des doutes subsistent sur la présence de CLD-C. Cette forme a été détectée chez le porc dans la bile et le plasma dans l'étude de Soine et al. (1983). Cependant, ce métabolite n'a pas été détecté dans des études récentes et notamment dans les travaux de Saint-Hilaire (2018) menés chez la brebis.

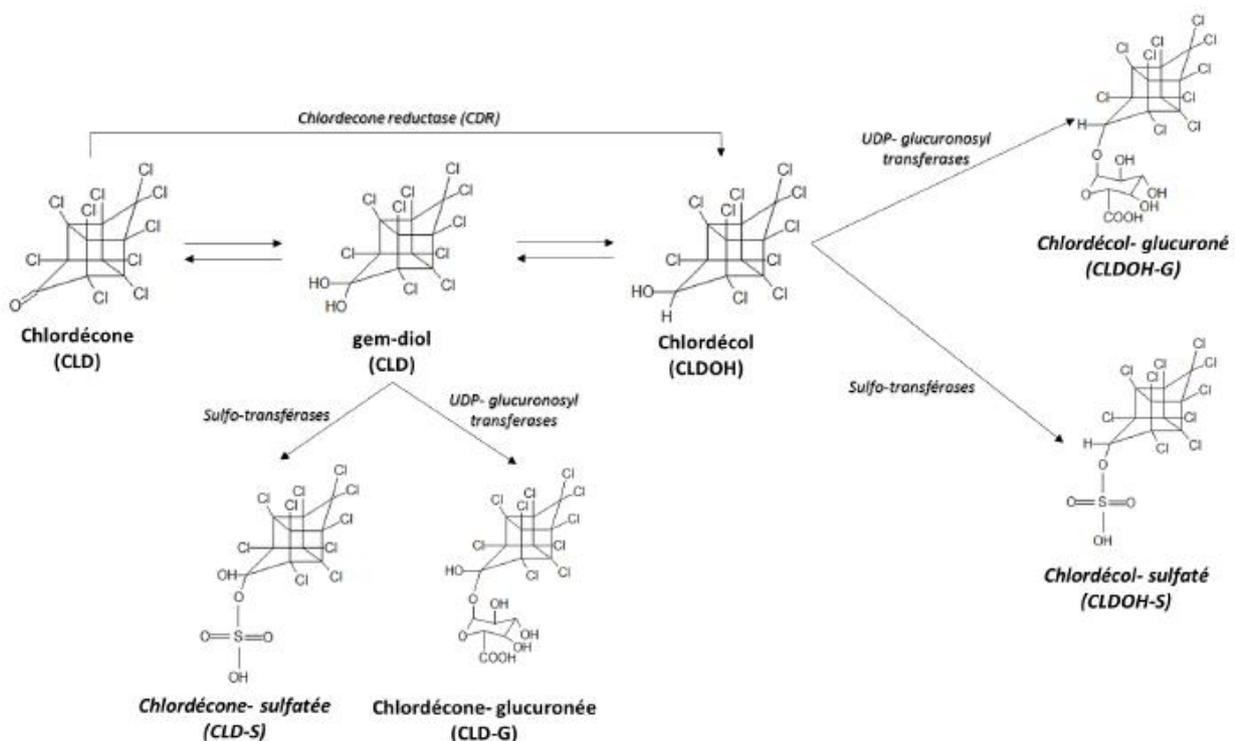


Figure 4 : Voies de métabolisme de la chlordécone proposées par Fariss et al. (1980) chez l'homme (adapté par Saint-Hilaire, 2018)

4.2.2. Comparaison du métabolisme de la chlordécone entre différentes espèces

(i) Données *in vitro* : tests de présence et d'activité spécifique de l'aldocétoréductase chez différentes espèces

Des tests immunoblots ont permis d'identifier la présence de l'aldocétoréductase chez différentes espèces animales (Molowa et al., 1986a). Ces tests ont été réalisés à partir d'anticorps synthétisés par des lapins qui ont subi une injection de chlordécone réductase. Ils ont permis de mettre en évidence la présence de cette enzyme chez le cochon d'inde, la gerbille, le lapin et l'Homme. Une étude plus récente basée sur la méthode des Western-Blot sur la base des travaux de Molowa et al. (1986a) a montré la présence de l'AKR1C4 dans les cytosols de foie de perche, porc, canard, brebis et chevreau (Saint-Hilaire, 2018). Cette enzyme n'a cependant pas été retrouvée chez le rat, la souris et le hamster (Molowa et al., 1986b ; Saint-Hilaire, 2018). A l'aide d'anticorps de type AKR1C4 et d'une méthode ELISA, une chlordécone réductase a été mise en évidence chez la ouassous, crevette d'eau douce (*M. Rosebergii* ; Vassaux et al., 2013). Bien que l'AKR1C4 soit présente chez de nombreuses espèces, cette enzyme ne s'exprime pas avec le même niveau d'intensité chez toutes les espèces. Molowa et al. (1986b, 1986a) ont mimé *in vitro* la réaction de réduction de la CLD en CLDOH afin de mesurer l'activité spécifique de l'enzyme (exprimée en pmol de CLDOH formé par min par mg de protéines cytosolique) chez plusieurs espèces. Ces travaux ainsi que ceux de Saint-Hilaire (2018) ont permis d'apporter des données préliminaires montrant que l'activité spécifique de l'enzyme varie d'une espèce à une autre ce qui suppose que la CLD n'est pas éliminée à la même vitesse chez toutes les espèces. Certaines espèces comme le cochon d'Inde ou le rat possèdent l'enzyme mais celle-ci n'est pas active car la transformation de la CLD en CLDOH n'a pas eu lieu dans ces expériences *in vitro*. Par ailleurs, des phénomènes d'induction ont été mis en évidence car des gerbilles traitées à la CLD ont présenté une activité spécifique 38% plus forte que celle observée chez des gerbilles non traitées (Molowa et al., 1986a).

(ii) Données *in vivo* : comparaison inter-espèces de la répartition des métabolites dans différentes matrices

Le tableau 5 synthétise les résultats des études sur la répartition des métabolites dans les fèces, la bile, le plasma et l'urine à travers le ratio CLD/CLDOH-t (CLDOH total, non conjugué et conjugué) dans les différentes matrices.

La comparaison des ratios CLD/CLDOH-t dans la bile entre espèces permet de comparer le métabolisme entre les espèces. En effet, ces ratios dans la bile diffèrent fortement d'une espèce à l'autre ce qui suggère des différences d'activité ou d'équipement enzymatique. Contrairement aux autres espèces, le CLDOH-t n'est pas détecté dans la bile de rat, de cochon d'Inde et de hamster, ni dans aucune autre matrice. Cela confirme que le rat, le cochon d'Inde et le hamster ne métabolisent pas la CLD en CLDOH soit par absence de chlordécone réductase, soit par inactivité de cette enzyme notamment chez le rat et le cochon d'Inde (Saint-Hilaire, 2018). Par ailleurs, les pourcentages de CLDOH-C par rapport au CLDOH-t dans la bile

Tableau 5: Synthèse du rapport de concentrations CLD / CLDOH-t dans différentes matrices et chez différentes espèces

Espèce	Dose	Ratio CLD/CLDOH-t						Référence
		Fèces	Bile	Plasma	Urine	Foie	TA	
Homme	NA	1/3,9	1/3,0 dont 93% du CLDOH sous forme CLDOH-C et 9% de la CLD sous forme CLD-C	53/1	1/26	-	-	Fariss, 1980 Fariss et al., 1980
Singe	IV 15 mg kg ⁻¹	5,1/1	2.0/1	>65/1 CLDOH ND	>1/1 CLDOH ND	-	-	Fariss, 1980
Lapin	IP 20 mg kg ⁻¹	33/1	6.8/1	9.2/1	1/63	-	-	Fariss, 1980
Souris	IP 40 mg kg ⁻¹	39/1	NA	NA	>8/1 CLDOH ND	-	-	Fariss, 1980
Rat	VO 40 mg kg ⁻¹	>100/1 CLDOH ND	>62/1 CLDOH ND	>78/1 CLDOH ND	>6/1 CLDOH ND	-	-	Fariss, 1980
	IP 20 mg kg ⁻¹	>100/1 CLDOH ND	>60/1 CLDOH ND	-	-	>100/1 CLDOH ND	-	Houston et al., 1981
Cochon d'Inde	IP 20 mg kg ⁻¹	>100/1 CLDOH ND	>7/1 CLDOH ND	-	-	>100/1 CLDOH ND	-	Houston et al., 1981
Hamster	IP 20 mg kg ⁻¹	>100/1 CLDOH ND	-	-	-	>100/1 CLDOH ND	-	Houston et al., 1981
Gerbille	IP 20 mg kg ⁻¹	2,4/1	2/1 dont 70% du CLDOH sous forme CLDOH-C	-	-	31/1	-	Houston et al., 1981
Porc	IV 40 mg kg ⁻¹ 80 mg kg ⁻¹	10/1 et 8/1 dont 15% du CLDOH sous forme CLDOH-C et <3% de la CLD sous forme CLD-C	1/1,4 et 1/3,9 dont 85% du CLDOH sous forme CLDOH-C et 7-17% de la CLD sous forme CLD-C	1/1 à 6/1 dont 20% de la CLD sous forme CLD-C	-	-	-	Soine et al., 1983
Brebis	IV 1 mg kg ⁻¹	2/1 100% du CLDOH sous forme non conjuguée	1/0,5 CLDOH principalement sous forme CLDOH-C	36/1	1/16 100% du CLDOH sous forme CLDOH-C	1368/1	297/1	Saint-Hilaire, 2018

ND : non détecté ; IV : voie intraveineuse ; VO : voie orale ; IP : voie intrapéritonéale.

renseigne sur le métabolisme de phase II de la CLD. La quantification du CLDOH-C dans la bile chez l'homme, la gerbille, le porc et la brebis ont permis de démontrer l'existence du métabolisme de phase II chez ces espèces. Les pourcentages de CLDOH-C dans la bile diffèrent d'une espèce à l'autre, la gerbille présente des ratios CLDOH-C/CLDOH-t plus faible que chez l'homme, le porc et la brebis ce qui suggère un métabolisme de phase II moins intense (Fariss et al., 1980 ; Saint-Hilaire, 2018 ; Soine et al., 1983). Pour les espèces qui métabolisent la CLD, la bile contient de fortes concentrations de métabolites de la CLD surtout sous forme CLDOH-C. Chez la brebis et la gerbille, les quantités de métabolites quantifiées dans le foie sont très faibles (Houston et al., 1981 ; Saint-Hilaire, 2018), cela suppose que les métabolites conjugués de la CLD produits dans le foie sont rapidement transférés dans la bile.

Dans le sang, le CLDOH a été quantifié chez l'homme, le lapin, le porc et la brebis (Fariss, 1980 ; Saint-Hilaire, 2018 ; Soine et al., 1983). Les travaux les plus récents réalisés chez la brebis ont montré que parmi les métabolites recherchés (CLD-C, CLDOH et CLDOH-C), le seul métabolite quantifié dans le sang est le CLDOH-C (Saint-Hilaire, 2018). Ainsi, chez les autres espèces, il peut être supposé que le CLDOH-t quantifié dans le sang soit du CLDOH-C. Dans les tissus, seuls le foie et le tissu adipeux présentent des concentrations en métabolites au-dessus de la LQ mais ces concentrations sont très inférieures à celle de la CLD (Saint-Hilaire, 2018). Les formes de CLD retrouvées dans les matrices d'excrétion (urines, fèces) seront décrites dans la partie suivante.

(iii) Bilan : importance de ces données métaboliques sur le choix des modèles animaux

L'ensemble de ces données bibliographiques montrent que les profils métaboliques entre les monogastriques sont variés (Tableau 5). Bien que la toxicocinétique de la CLD ait été étudiée chez les rongeurs comme le rat, le cochon d'inde, le hamster ou la gerbille, les extrapolations de ces résultats au porc ou à l'homme ne semblent pas pertinentes du fait de ces différences marquées de métabolisme.

Les ratios CLD/CLDOH-t dans la bile semblent similaires entre l'homme et le porc, cependant, les ratios dans les autres compartiments (fèces et plasma) ne sont pas les mêmes. Peu de données sont disponibles et des études complémentaires seraient pertinentes pour caractériser les parts de CLD parent et de métabolites dans ces matrices sur un nombre d'individus plus importants. Cependant, ces premiers résultats laissent supposer que des similitudes dans les profils métaboliques existent entre ces deux espèces. Pour mieux comprendre la toxicocinétique de la CLD chez l'homme, le porc semble être un meilleur modèle que les rongeurs. Pour le modèle ruminant, les seules données disponibles sont apportées par les travaux de Saint-Hilaire (2018) menés chez la brebis.

4.3. Excrétion de la chlordécone et de ses métabolites

4.3.1. Voies d'excrétion de la chlordécone et mécanismes associés

(i) Voies d'excrétion de la chlordécone

Les fèces constituent la voie principale d'excrétion de la CLD chez le rat, l'homme, la gerbille et le porc (Cohn et al., 1978 ; Egle et al., 1978 ; Houston et al., 1981 ; Soine et al., 1983). Chez le rat, au bout de 84 j de décontamination, 65,5% de la dose administrée de CLD est excrétée dans les fèces contre 1,6% dans les urines (Egle et al., 1978). Chez la brebis, les mêmes observations ont été faites, l'élimination se fait majoritairement par les fèces, au bout de 84 j de décontamination, 54% de la CLD injectée est excrétée via les fèces contre 2% via les urines (Saint-Hilaire, 2018).

La CLD peut également être excrétée via d'autres matrices d'excrétion comme les œufs ou le lait. Jondreville et al. (2014a, 2014b) ont étudié la décontamination de la CLD chez la cane de barbarie et la poule pondeuse. Les temps de demi-vies observés dans l'œuf de la cane et de la poule sont de 19 et 5,5 j respectivement. La différence de temps de demi-vies entre ces deux espèces peut s'expliquer par le taux de ponte. Chez la vache laitière, après une contamination allant jusqu'à 5,0 ppm pendant 60 jours, au bout de 83 j de décontamination, seules des traces de CLD étaient présentes dans le lait (Smith et Arant, 1967). Les temps de demi-vie d'élimination sont relativement courts car les matrices œufs et lait se chargent fortement et permettent une décontamination rapide de l'animal.

Seuls les mécanismes d'excrétion biliaire et rénale seront détaillés ici car les modèles animaux étudiés dans cette thèse ne sont pas en lactation et ne concernent pas la volaille en ponte.

(ii) Mécanisme d'excrétion biliaire et non biliaire

L'élimination de la molécule parente et des métabolites vers la bile se fait principalement par transport actif. Les composés éliminés dans la bile sont transportés par le canal cholédoque jusqu'au duodénum. Une partie est excrétée dans les fèces et une autre peut être réabsorbée dans un cycle entéro-hépatique, comme si ces composés avaient été administrés par voie orale. Chez la brebis, des phénomènes de réabsorption de la CLD ont été suggérés (Saint-Hilaire, 2018). Ces composés réabsorbés au niveau de l'intestin rejoignent le foie par la veine porte puis en partie la circulation sanguine générale. Le cycle entéro-hépatique de la CLD, s'il existe, ralentit son élimination. Par ailleurs, l'existence d'une voie d'excrétion non biliaire semble être une hypothèse importante à prendre en compte (Bungay et al., 1981).

(iii) Mécanisme d'excrétion rénale

Aucune étude n'a permis de détailler les mécanismes d'excrétion rénale de la CLD. En général, une molécule peut subir deux phénomènes d'élimination au niveau d'un néphron : l'élimination glomérulaire et tubulaire. La filtration glomérulaire est évaluée par la clairance de filtration glomérulaire qui dépend du

débit de filtration glomérulaire et de la fraction libre plasmatique. La sécrétion tubulaire des xénobiotiques correspond au transfert du xénobiotique des capillaires sanguins péri-tubulaire à la pré-urine par transport actif. Le xénobiotique une fois dans la pré-urine de la lumière tubulaire peut être réabsorbé au niveau du tube distal par diffusion passive. Cette réabsorption a lieu si un gradient de concentration est assez important entre la pré-urine et le sang et si le xénobiotique a les caractéristiques pour diffuser à travers la membrane (lipophile et non polaire).

4.3.2. Formes d'excrétion de la chlordécone

Le tableau 5 présente les ratios CLD/CLDOH-t retrouvés dans la bile, les fèces et les urines chez différentes espèces.

(i) Formes de chlordécone dans les fèces

La CLD s'élimine sous forme de CLD et de CLDOH dans les fèces. Le CLDOH présent dans les fèces est majoritairement sous forme non conjuguée alors que la bile présente de fortes concentrations de CLDOH-C. Cela suppose une déconjugaison du CLDOH-C dans l'intestin par le microbiote intestinal ou une réabsorption de CLD et/ou des métabolites conjugués suite à la sortie de la vésicule biliaire (Saint-Hilaire, 2018 ; Soine et al., 1983). Par ailleurs, les ratios CLD/CLDOH-t dans les fèces varient fortement d'une espèce à l'autre. Par exemple, le ratio CLD/CLDOH est de 10/1 chez le porc contre 2/1 chez la brebis ce qui suppose soit un métabolisme de la CLD plus faible soit une réabsorption intestinale plus importante de CLDOH-C chez le porc que chez la brebis.

(ii) Formes de chlordécone dans les urines

Les études de Fariss (1980) ont montré que la CLD s'élimine faiblement par les urines mais les concentrations de CLDOH-t sont bien supérieures à celles de la CLD dans cette matrice. Chez la brebis, la CLD est excrétée sous forme de CLD et de CLDOH-C (Saint-Hilaire, 2018) ce qui suppose que le CLDOH-t retrouvé en grande quantité dans les urines chez les autres espèces soit également sous sa forme conjuguée, plus hydrophile.

(iii) Formes de chlordécone dans les autres matrices d'excrétion

Dans les études menées sur les matrices lait et œufs, seule la molécule mère a été recherchée (Jondreville et al., 2014a, 2014b) donc aucune donnée n'est disponible sur la présence de métabolites dans ces matrices.

La figure 5 présente un schéma global d'élimination de la CLD chez les espèces qui la métabolisent.

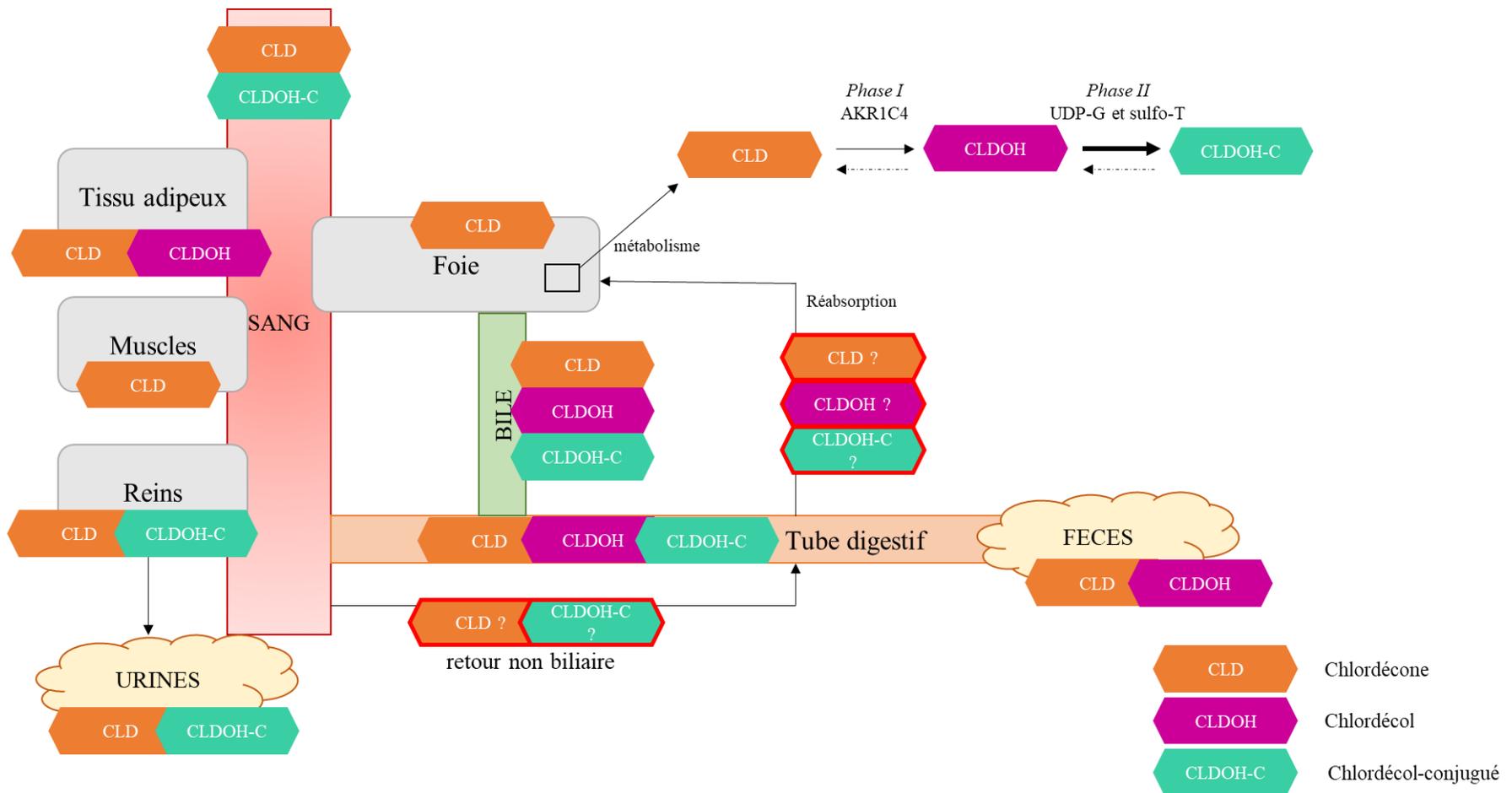


Figure 5: Schéma global de l'élimination de la chlordécone chez le ruminant
(d'après Saint-Hilaire, 2018)

RESUME DE LA PARTIE 2

La partie 2 de cette synthèse bibliographique a montré que certaines données sur la toxicocinétique de la CLD sont déjà acquises mais des lacunes subsistent pour comprendre l'ensemble des mécanismes ADME. Suite à l'ingestion d'une matrice contaminée (sol ou aliment), la CLD est extraite de cette matrice dans le tube digestif. La CLD subit ensuite les processus d'Absorption, de Distribution, de Métabolisme et d'Excrétion (ADME).

Biodisponibilité et absorption. L'absorption par voie orale de la CLD peut être considérée totale dès que l'animal est exposé à ce contaminant. Cependant, les mécanismes cellulaires spécifiques de l'absorption de la CLD n'ont pas encore été étudiés.

Distribution de la CLD. Une fois dans la circulation sanguine générale, la CLD se distribue dans les différents organes et tissus de l'organisme. Contrairement aux autres POPs, la CLD est une molécule non-lipotrope à fort tropisme hépatique. Des études ont permis de calculer des ratios de concentrations en CLD entre organes chez différentes espèces. Cependant, ces données proviennent d'animaux qui n'étaient pas forcément à un état d'équilibre. Or, les tissus et organes peuvent se charger et se décontaminer plus ou moins rapidement, les ratios de concentrations ne sont donc pas toujours les mêmes au cours du temps. Chez les mammifères, aucune donnée n'est disponible sur la cinétique de contamination en CLD des tissus et organes. Sauf chez la volaille, aucune donnée n'est disponible sur les temps de demi-vie de la CLD dans les tissus chez les animaux d'élevage. Ces lacunes sur la caractérisation de la distribution de la CLD sont donc importantes alors que ces données sont essentielles pour mettre en place des stratégies de décontamination. En effet, l'objectif serait d'établir des corrélations en dynamique afin de prédire les concentrations dans les tissus à partir d'un prélèvement de sang par exemple et prédire le temps de décontamination nécessaire pour obtenir un animal conforme présentant des concentrations tissulaires inférieures à la LMR.

Élimination de la CLD. L'élimination de la CLD est la résultante des mécanismes de métabolisme et d'excrétion. Chez de nombreuses espèces, l'élimination globale a été caractérisée avec le temps de demi-vie d'élimination sanguine (tableau 4). Des études toxicocinétiques fines ont été réalisées chez les petits ruminants et la volaille. Chez le porc, les données obtenues ne semblent pas assez robustes car elles ont été obtenues à partir d'une étude menée chez des porcelets contaminés avec des doses très élevées (40 et 80 mg kg⁻¹ PV ; Soine et al., 1983), loin de la réalité de terrain et avec un seul animal par dose. Par ailleurs, l'étude de la présence d'enzymes spécifiques dans le foie et la quantification de métabolites dans la bile a permis de caractériser en partie le métabolisme de la CLD chez différentes espèces. La CLD est d'abord transformée en CLDOH par l'enzyme AKR1C4 puis le CLDOH peut être conjugué à l'aide d'UDP-glucuronosyl transférases et de sulfo-transférases. Très peu de données sont disponibles sur l'activité spécifique de ces enzymes pour comparer l'intensité du métabolisme et

donc les capacités d'élimination entre les espèces. Chez le ruminant, des données récentes obtenues chez la brebis ont permis de mieux caractériser la distribution et l'élimination de ces métabolites. Bien que le métabolisme de la CLD chez le porc semble être proche de celui de l'homme, ce qui est intéressant pour un éventuel modèle animal, ces données sont trop lacunaires pour conclure. Concernant l'excrétion de la CLD, la voie fécale est considérée comme la voie majoritaire d'excrétion mais peu d'études quantitatives ont été menées pour caractériser et quantifier l'excrétion. Les travaux de Saint-Hilaire (2018) ont tout de même permis de mieux comprendre les mécanismes d'excrétion entre la bile et les fèces chez la brebis, notamment sur une éventuelle déconjugaison et/ou réabsorption du CLDOH-C entre la bile et les fèces. Chez le porc, ces mécanismes sont également supposés. Des études complémentaires seraient nécessaires pour valider ces hypothèses.

Pour mieux comprendre et caractériser les mécanismes ADME de la CLD, différentes approches de modélisation mathématique peuvent être utilisées. Ces approches sont définies et décrites dans la partie suivante.

PARTIE 3: La modélisation toxicocinétique, différents modèles pour répondre à différents niveaux de questionnement

La modélisation « toxicocinétique » (ou « pharmacocinétique » pour des substances thérapeutiques) permet de formaliser les connaissances, de comprendre et de quantifier par des paramètres les processus ADME que le xénobiotique subit dans l'organisme. Quatre méthodes d'analyse de données sont généralement utilisées en toxicocinétique : (i) l'analyse non compartimentale, et trois méthodes de modélisation compartimentale (ii) l'analyse compartimentale individuelle, (iii) l'analyse compartimentale de population et (iv) la modélisation pharmacocinétique basée sur la physiologie (PBPK). Cette partie a pour objectif de présenter les méthodes de modélisation principalement utilisées en toxicocinétique, de préciser les conditions d'applications ainsi que les avantages et limites de ces méthodes. Ces méthodes seront illustrées avec des modèles existants sur la CLD ou sur d'autres molécules.

1. L'analyse non compartimentale

1.1. Définition, principes et applications de l'analyse non-compartimentale

L'analyse non compartimentale consiste à décrire l'évolution de la concentration du xénobiotique étudié dans le compartiment « central » suite à son administration. Cette analyse ne nécessite pas d'hypothèse sur le type de modèle qui régit la cinétique et se base sur la cinétique du xénobiotique dans une matrice qui est généralement le sang (Gabrielsson et Weiner, 2012). Les approches non-compartimentales sont souvent utilisées en pharmacocinétique pour des études de bioéquivalence. Cependant, elles ne sont pas adaptées pour décrire les étapes de transfert d'une molécule dans l'organisme.

1.2. Paramètres obtenus par l'analyse non-compartimentale

Aucune approche non compartimentale n'a été encore utilisée pour estimer les paramètres toxicocinétiques de la CLD. Le tableau 6 présente quelques exemples d'études ayant utilisé une approche non-compartimentale pour déterminer les paramètres toxicocinétiques de polluants chez des animaux. Pour chacune de ces études, la méthode se base sur l'estimation de l'AUC (Gabrielsson et Weiner, 2012). L' AUC_{last} entre le début de décontamination et la dernière mesure de concentration est estimée par la méthode des trapèzes linéaires ou log-linéaires. La constante d'élimination est déterminée par une régression log-linéaire sur les derniers points. A partir de cette constante d'élimination k_e , l'AUC extrapolée de 0 à l'infini ($AUC_{0 \rightarrow \infty}$) peut être calculée : $AUC_{0 \rightarrow \infty} = AUC_{last} + C_{last} / k_e$; avec C_{last} la dernière concentration

Tableau 6: Exemples d'études utilisant une approche non-compartmentale pour déterminer les paramètres toxicocinétiques de polluants

Référence	Espèce	Molécule	Voie d'exposition	Durée de décontamination	Logiciel	Paramètres calculés
Collet et al., 2015	souris (n=40), rat (n=6), chien (n=6), porc (n=8), brebis (n=5), cheval (n=4)	Bisphenol A	IV unique 5 mg kg ⁻¹ PV	24-48 h	Phoenix® WinNonlin®	AUC _{0→∞} , CL, MRT, V _{ss} , t _{1/2}
Frew et al., 2018	poisson (n=48)	Imidacloprid	IA unique 45 (n=5) ; 100 (n=8) ; 250 (n=5) µg kg ⁻¹ PV	36-48 h	Kinetica	AUC _{0→∞} , CL, MRT, V _{ss} , t _{1/2}

IV : intraveineuse ; IA : intraartérielle ; PV : poids vif ; AUC : Aire Sous la Courbe, CL : clairance totale ; MRT : Temps Moyen de Résidence ; Vz : volume apparent de distribution ; V_{ss} : volume de distribution à l'équilibre ; t_{1/2} : temps de demi-vie.

Tableau 7: Exemples de modèles compartimentaux pour obtenir les paramètres toxicocinétiques de la chlordécone

Référence	Espèce	Voie d'exposition	Durée de décontamination	Type de modèle	Logiciel	Paramètres calculés
Fournier et al., 2017	chèvre	IV unique (n = 6) per os (n = 6) 1 mg kg ⁻¹ PV	163 j	Monocompartimental $C(t) = A e^{-kt}$	SAS	k, A, AUC _{0→∞} , CL, MRT, Vz, t _{1/2} , F
Saint-Hilaire et al., 2019	brebis	IV unique 0,04 ; 0.2 ; 1 mg kg ⁻¹ PV (n=5 par dose)	84 j	Bicompartimental $C(t) = A e^{-\alpha t} + B e^{-\beta t}$	R	α , A, β , B, k ₁₀ , K ₁₂ , K ₂₁ , AUC _{0→∞} , CL, V _{ss} , t _{1/2α} , t _{1/2β}

IV : intraveineuse ; AUC : Aire Sous la Courbe, CL : clairance totale ; MRT : Temps Moyen de Résidence ; Vz : volume apparent de distribution ; V_{ss} : volume de distribution à l'équilibre ; t_{1/2} : temps de demi-vie ; F : biodisponibilité ; t_{1/2 α} : temps de demi-vie de distribution ; t_{1/2 β} : temps de demi-vie de distribution.

mesurée. A partir de ces paramètres, d'autres paramètres comme le temps de demi-vie, la clairance, le volume de distribution ou le temps moyen de résidence peuvent être calculés.

2. L'analyse compartimentale individuelle

2.1. Définition, principe et applications des modèles compartimentaux individuels

Les modèles à compartiments sont des représentations simplifiées de l'organisme qui reposent sur des données empiriques sanguines et éventuellement fécales et urinaires. Ces modèles ont été développés suite à l'impossibilité d'obtenir des informations autres que les concentrations sanguines ou dans les matrices d'excrétion. L'organisme est composé d'un système de compartiments dans lesquels le compartiment central représente le sang et les organes très vascularisés et est relié à un ou plusieurs compartiments périphériques. Généralement, ces modèles se limitent à 2 ou 3 compartiments. Un compartiment est défini comme un ensemble homogène de substance au niveau cinétique (concentrations de la substance identique dans tout le compartiment). Ces compartiments sont virtuels et le volume de distribution du compartiment central ne reflète pas forcément le volume plasmatique réel. En effet, la distribution d'une substance est d'autant plus importante que la concentration plasmatique sous forme libre est élevée.

Cette approche ne permet pas d'apporter d'informations sur les cinétiques au sein des différents tissus. En effet, les modèles compartimentaux classiques sont définis à partir des données sanguines et non à partir de données anatomiques, physiologiques ou biochimiques. Ces limites ont conduit à développer un autre type de modèle compartimental, se voulant plus proche de la réalité biologique, appelé « modèles pharmacocinétiques à base physiologique » (aussi appelé PBPK).

2.2. Paramètres et construction d'un modèle compartimental

Deux modèles compartimentaux ont été construits pour obtenir les paramètres toxicocinétiques de la CLD chez la chèvre et la brebis (Fournier et al., 2017 ; Saint-Hilaire et al., 2019), ils permettront d'illustrer la méthode de construction des modèles compartimentaux. Le tableau 7 décrit ces modèles.

La modélisation compartimentale fait appel à une variable d'état qui correspond à la concentration de la molécule étudiée dans un compartiment, des paramètres d'entrées ou de structures (constantes de transfert, volume de distribution ou clairance), des variables indépendantes (la dose ou le temps) et des variables dépendantes (concentration sanguine). La figure 6 présente les modèles compartimentaux les plus souvent utilisés : le modèle monocompartimental comme celui de Fournier et al. (2017) et le modèle bicompartimental comme celui de Saint-Hilaire et al. (2019).

Cette approche toxicocinétique permet d'obtenir des paramètres toxicocinétiques primaires (clairance, volumes de distribution, temps de demi-vie d'élimination) à partir des **macroconstantes**. Entre les compartiments, des transferts réversibles ou irréversibles peuvent avoir lieu par transport physique (par le débit sanguin par exemple) ou par réaction chimique (biotransformation de la molécule en métabolite par exemple). Un équilibre est atteint lorsque la quantité de xénobiotique entrant est égale à la quantité de xénobiotique sortant. Généralement, ces transferts suivent une loi d'ordre 1 lors de diffusion passive ou de transport actif à vitesse constante, c'est-à-dire que la vitesse de transfert est proportionnelle à la quantité du xénobiotique présent dans le compartiment d'origine à chaque instant. Les échanges entre les différents compartiments peuvent être représentés par des constantes de transfert notées k_{ij} entre les compartiments qui correspondent à des constantes de proportionnalité permettant de calculer des vitesses de transfert entre les compartiments i et j . Elles sont appelées **microconstantes** du modèle. Ces microconstantes sont rarement interprétées biologiquement car elles sont dépendantes de plusieurs processus physiologiques. Les variations de quantités du xénobiotique dans les compartiments au cours du temps sont déterminées par des équations différentielles qui sont présentées sur la figure 6.

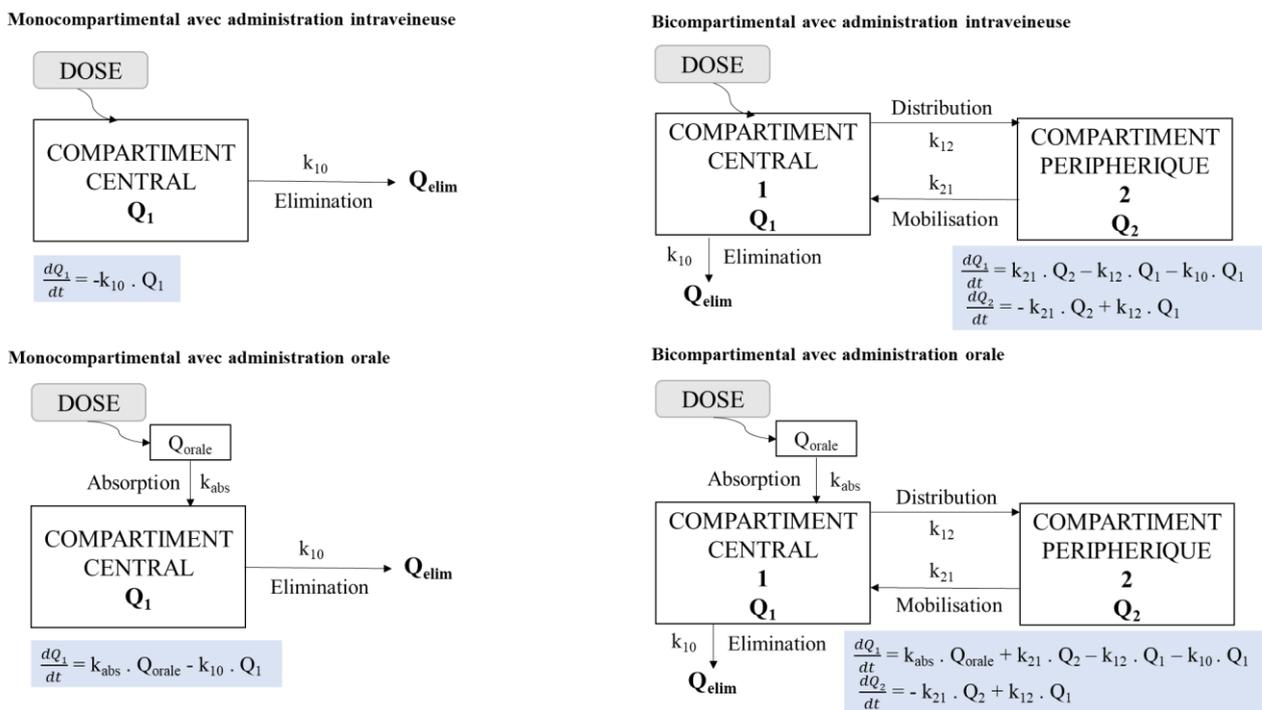


Figure 6: Représentation des modèles compartimentaux

Q_1 : quantité de xénobiotique dans le compartiment central ; Q_2 : quantité de xénobiotique dans le compartiment périphérique ; Q_{orale} : quantité de xénobiotique dans le compartiment d'administration ; k_{abs} : constante d'absorption ; k_{10} la constante d'élimination du contaminant ; Q_{elim} : quantité de xénobiotique éliminée de l'organisme ; k_{12} la constante de transfert du compartiment 1 vers le compartiment 2 et k_{21} la constante de transfert du compartiment 2 vers le compartiment 1.

3. L'analyse compartimentale de population

3.1. Définition, principe et applications des modèles compartimentaux de population

L'approche compartimentale de population ou approche non-linéaire à effets mixtes implique un ensemble d'individus. Pour chaque individu, des données toxicocinétiques (dose, données concentration/temps) et des caractéristiques physiologiques individuelles (poids, âge...) sont recueillies. Les données physiologiques constituent les covariables.

Contrairement aux études toxicocinétiques classiques où l'individu est l'unité d'étude, l'unité d'analyse est ici la « population ». L'objectif de cette analyse est d'estimer la distribution statistique des paramètres toxicocinétiques du xénobiotique étudié sur une population d'individus. L'intérêt de cette approche est de combiner la modélisation de la réponse (concentration en fonction du temps) en calculant les paramètres toxicocinétiques, la modélisation statistique de la variabilité interindividuelles et la modélisation de l'influence de facteurs physiologiques (covariables) sur les paramètres toxicocinétiques.

Généralement, ce type de modélisation est surtout utilisé après la mise sur le marché d'un médicament pour des programmes de suivi thérapeutique ou pour des essais cliniques de phase II ayant pour objectif de déterminer la posologie optimale. Ce type d'analyse porte donc sur un jeu de données ayant un nombre de prélèvements par individu faible mais le nombre d'individus est souvent élevé. Si le nombre d'individus est faible mais que le nombre de prélèvements par individu est important, la toxicocinétique de population peut être appliquée également.

3.2. Paramètres et construction d'un modèle compartimental de population

Ce type de modélisation est principalement utilisé pour l'étude de médicaments mais commence également à être utilisé pour caractériser la toxicocinétique de polluants (Gayraud et al., 2019). Le tableau 8 présente une liste non exhaustive d'études utilisant les modèles compartimentaux de population pour caractériser la pharmacocinétique de certains médicaments. L'objectif de cette partie est de décrire la méthode de construction d'un modèle toxicocinétique et la diversité des modèles à partir des exemples du tableau 8. La rédaction des parties théoriques sur les fondamentaux de la pharmacocinétique de population s'est appuyée sur l'article « La pharmacocinétique de population, aspects fondamentaux » de Urien (2003).

Tableau 8: Exemples de modèles pharmacocinétiques de population

Référence	Molécule	Espèce	Modèle	Paramètres choisis	Variabilité interindividuelle	Erreur résiduelle	Covariables
Pelligand et al., 2016	Robenacoxib	Chat	bicompartmental avec élimination de 1er ordre et absorption simultanée d'ordre 0 et 1	Ka, F, V1*, CL*, V2*, Q*	mixte	mixte	Aucune variable significative
Rodrigues et al., 2017	Oxcarbazepine	Homme (enfant)	bicompartmental avec absorption et élimination de 1er ordre	Ka, F, V1*, CL*, V2*, Q*	exponentielle	proportionnelle	sexe, comédication
Alqahtani et al., 2018a	Vancomycin	Homme	bicompartmental	V1, CL, V2, Q	mixte	mixte	poids, créatinine sérique, albumine
Alqahtani et al., 2018b	Cefuroxime	Homme	bicompartmental	V1, CL, V2, Q	mixte	mixte	créatinine sérique
Danielak et al., 2018	Treosulfan	Homme (enfant)	bicompartmental	V1, CL, V2, Q	exponentielle	mixte	Poids
de Kock et al., 2018	Sulfadoxine Pyrimethamine	Homme (adulte et enfant)	monocompartmental avec absorption et élimination de 1er ordre	Ka, F, CL*, V*	mixte	mixte	Poids, âge, statut nutritionnel
Pérez-Guillé et al., 2018	Dexmedetomidine	Homme (enfant)	bicompartmental	V1, CL, V2, Q	exponentielle	proportionnelle	Poids, âge

Ka : constante d'absorption ; F : bio-disponibilité ; V : volume de distribution ; V1 : volume de distribution du compartiment central ; CL : clairance globale d'élimination ; V2 : volume de distribution du compartiment périphérique ; Q : clairance intercompartimentale ; * paramètre apparent

3.2.1. Modélisation de l'individu à la population

(i) Modélisation structurelle : modélisation de chaque individu

La modélisation compartimentale classique est la base de la modélisation en toxicocinétique de population. La réponse prédite par le modèle est déterminée à l'erreur résiduelle ε_j près qui mesure la différence entre la valeur prédite et la valeur observée. La réponse prédite est une fonction du temps t et des paramètres choisis dans la structure du modèle.

Par exemple, pour un xénobiotique administré par voie intraveineuse et dont la cinétique est monocompartimentale, on obtient :

$$Y_j = \underbrace{\frac{D_j}{V} e^{-\frac{Cl}{V}t}}_{\text{Concentration prédite = modèle structurel}} + \underbrace{\varepsilon_j}_{\text{Erreur résiduelle}}$$

modèle statistique d'erreur

Concentration observée \nearrow Y_j \nwarrow Erreur résiduelle

Avec Y_j la concentration observée de l'individu au temps t , D_j la dose, Cl la clairance, V le volume de distribution individuel.

L'erreur résiduelle ε_j correspond à l'erreur intra-individuelle. Elle peut être modélisée de différentes façons, trois modèles sont couramment utilisés. L'erreur additive suppose que l'erreur est la même pour chaque observation ($Y_j = f(t_j, \theta) + \varepsilon_j$), l'erreur proportionnelle suppose que l'erreur est proportionnelle à la concentration ($Y_j = f(t_j, \theta) \times (1 + \varepsilon_j)$), l'erreur mixte est un compromis entre les deux types de modèles précédents ($Y_j = f(t_j, \theta) \times (1 + \varepsilon_j) + \varepsilon_j'$). Dans ces trois modèles, les erreurs sont supposées suivre une distribution normale. Dans les modèles non linéaires à effets mixtes, l'estimation de l'erreur résiduelle est notée σ .

(ii) Modélisation de la population

La modélisation de population permet de quantifier la variabilité interindividuelle par un modèle statistique. Les paramètres toxicocinétiques choisis dans le modèle structurel deviennent des variables aléatoires. Les paramètres du modèle seront estimés simultanément pour tous les individus et la distribution statistique de ces paramètres sera estimée dans la population considérée.

L'estimation ne porte pas sur les paramètres individuels mais sur les paramètres moyens de la population. L'équation devient alors : $Y_{ij} = f(t_{ij}, \theta_i) + \varepsilon_{ij}$

Où Y_{ij} représente la réponse du modèle pour l'individu i et au temps t_{ij} et θ_i les paramètres du modèle pour l'individu i . L'erreur ε_{ij} correspond à l'erreur résiduelle qui inclut les erreurs analytiques mais aussi les erreurs de mesures et la déviation entre l'individu biologique et le modèle mathématique.

De manière générale : $\theta_i = \theta + \eta_i$

Où η_i représente l'écart entre la valeur d'un paramètre toxicocinétique chez un individu i (θ_i) et la valeur moyenne de ce même paramètre dans la population (θ).

Les variances des η_i (notées Ω) peuvent être calculées, elles permettent d'obtenir la variance du paramètre étudié et de déterminer la variabilité interindividuelle des paramètres toxicocinétiques.

Comme pour l'erreur résiduelle, la variabilité interindividuelle peut-être modélisée par un modèle d'erreur additive ($\theta_i = \theta + \eta_i$), proportionnelle ($\theta_i = \theta \times (1 + \eta_i)$) ou exponentielle ($\theta_i = \theta \times \exp(\eta_i)$).

3.2.2. Etude de l'effet des covariables sur les paramètres

Après la construction des modèles structurel et statistique, l'objectif est d'étudier les relations qui peuvent exister entre les paramètres du modèle (clairance, volume de distribution par exemple) et les caractéristiques propres des individus (poids, âge par exemple). Cela permet d'identifier les facteurs qui influencent la réponse du modèle et d'augmenter la performance prédictive du modèle en diminuant les différences individuelles par rapport à l'estimation moyenne du paramètre.

3.2.3. Evaluation de la modélisation

La qualité de la modélisation peut être évaluée grâce à un ensemble de représentations graphiques. La représentation des valeurs prédites par le modèle en fonction des valeurs observées permet d'appréhender globalement la qualité de la modélisation.

4. Les modèles pharmacocinétiques à base physiologique (PBPK)

4.1. Définition et objectifs des modèles PBPK

Dans la littérature, le terme modèle pharmacocinétique à base physiologique (PBPK) est utilisé pour l'étude de molécules pharmaceutiques. Pour étudier le devenir d'une molécule toxique, le terme modèle toxicocinétique à base physiologique (PBTK) est plus approprié.

La rédaction des parties théoriques sur les fondamentaux de la modélisation PBPK s'est appuyée sur l'article « La modélisation toxico/pharmacocinétique à fondement physiologique : son rôle en évaluation du risque et en pharmacologie » de Brochot et al. (2014) et sur l'ouvrage « Pharmacocinétique : les fondamentaux » (Chatelut, 2018).

Les modèles PBPK permettent de simuler l'évolution de la concentration de la molécule étudiée dans les différents organes et fluides de l'organisme à partir d'une dose d'exposition en se basant sur les processus ADME. Afin d'obtenir une simulation réaliste, l'organisme est représenté par plusieurs compartiments correspondant à des organes (foie, rein, poumons...), des tissus (muscles, tissus adipeux...), des matrices d'excrétion (fèces, urine, lait) ou des fluides (sang, lymphe...). Un compartiment est défini comme un ensemble homogène au niveau cinétique. Plusieurs tissus ou organes peuvent être agrégés pour des raisons de données disponibles ou biologiques (par exemple pour des tissus ayant la même perfusion et la même affinité pour la molécule étudiée). Ces compartiments sont représentés par des paramètres anatomiques (poids et volume des compartiments), physiologiques (débits sanguins, coefficients de partage entre les tissus et le sang...) et/ou biochimiques (liaison aux protéines plasmatiques, capacités enzymatiques des organes...). Le modèle relie les compartiments entre eux par un fluide circulant (souvent le sang).

D'un point de vue scientifique, ces modèles physiologiques ont trois objectifs principaux. Tout d'abord, ils permettent de mieux comprendre les mécanismes ADME mis en place pour un xénobiotique donné. De plus, ils permettent de réaliser des simulations afin de tester l'influence de facteurs physiologiques (poids, âge...), d'exposition ou de séquestration... D'autre part, ces modèles peuvent être extrapolés entre espèces, voies d'administration ou substances.

Ces modèles sont souvent développés en toxicologie pour améliorer la caractérisation des relations dose-réponse ou évaluer les risques d'exposition à une molécule pharmaceutique ou à un toxique (EFSA, 2014).

Dans la partie suivante, les étapes de construction des modèles PBPK seront détaillées et illustrées par une synthèse bibliographique des modèles PBPK existants chez les animaux d'élevage puis par une synthèse bibliographique des modèles PBPK existants sur le transfert de CLD chez le rongeur.

4.2. Synthèse des modèles PBPK chez les mammifères d'élevage

Cette synthèse est principalement basée sur la revue bibliographique de Lautz et al. (2019). Cette revue synthétise l'ensemble des modèles PBPK chez les 10 espèces les plus communes d'animaux d'élevage. Parmi eux, seuls les modèles portant sur les espèces bovine, ovine, caprine et porcine seront traités dans cette synthèse. Cela a abouti à 29 modèles PBPK, principalement pour des molécules pharmaceutiques. L'objectif de cette synthèse est d'identifier l'ensemble des méthodes de modélisation PBPK afin de préparer la construction d'un modèle PBPK de la CLD chez la brebis. Un tableau de synthèse des modèles analysés est présenté dans le tableau 9. Chaque modèle est caractérisé par un objectif (espèce d'étude, stade physiologique, molécule(s) étudiée(s)), une structure (nombre de compartiments), une paramétrisation, un logiciel, une description mathématique des étapes ADME et une évaluation.

Parmi les 29 modèles identifiés, 10 modèles portent sur l'espèce bovine, 1 sur l'espèce caprine, 1 sur l'espèce ovine et 17 sur l'espèce porcine. La plupart des modèles portent sur un stade physiologique défini

Tableau 9: Synthèse des modèles PBPK chez les espèces bovine, caprine, ovine et porcine (d'après Lautz et al., 2019)

Référence	Espèce	Molécule	Compartiments	Voie d'exposition	Logiciel	Modèle d'exposition	Perfusion limitée	Perméabilité limitée	Fraction libre/liée	Sorties
Derks et al., 1994	Bovin	2,3,7,8-TCDD	6	oral	-	-	oui	oui (tous sauf gras)	non	-
van Eijkeren et al., 1998	Bovin*	lipophilic contaminants	5	oral	ACSL	direct dans foie	oui	oui (gras)	non	F, M
Freijer et al., 1999	Bovin	2,3,7,8-TCDD, Lindane, PCB-169	5	oral	ResAnA	direct dans foie	oui	non	non	M, l
Achenbach, 2000	Bovin	oxytetracycline	8	im ; sc	Excel	tractus gastro intestinal détaillé	oui	non	non	H, R
MacLachlan, 2009	Bovin	lipophilic contaminants	7	oral	lcc C compiler	tractus gastro intestinal détaillé	oui	oui (gras)	non	H, l
Hoogenboom et al., 2010	Bovin	Dioxin	5	oral	-	direct dans foie	oui	non	non	M, l
van Asselt et al., 2013	Bovin	PFOS	2	oral	ACSL	dans sang	oui	non	oui (sang)	l
Leavens et al., 2014	Bovin	flunixin	9	iv ; im	acsIX	dans sang et foie	oui	non	oui (foie)	R, M, l
Lin et al., 2016	Bovin ; Porcin	Ceftifur, Enrofloxacin, Flunixin, Sulfamethazine	8 ; 7	iv, sc, im, oral	acsIX	tractus gastro intestinal détaillé	oui	non	non	H, R
Li et al., 2017	Bovin ; Porcin	Penicillin G	7	im ; sc	Berkeley Madonna	dans muscle	oui	non	non	F, R, M
Leavens et al., 2012	Caprin	tulathromycin	8	sc	acsIX	dans sang	oui	oui	non	S
Craigmill, 2003	Ovin	oxytetracycline	7	im	ACSL	injection site	oui	non	non	R
Buur et al., 2005	Porcin	Sulfamethazine	6 ; 3	iv	ACSLxtreme	dans sang	oui	non	oui (sang)	H, R
Buur et al., 2006	Porcin	Sulfamethazine	8 ; 3	iv ; oral	ACSLxtreme	direct dans foie ou dans sang	oui	non	non	R, M
Hoogenboom et al., 2007	Porcin*	Dioxins	2	oral	-	compartiment central	oui	non	non	H
Buur et al., 2008	Porcin	Melamine	6	iv ; oral	ACSLxtreme	sang ou gut	oui	non	oui (sang)	H, R
Buur et al., 2009	Porcin	Sulfamethazine, flunixin	4 ; 3	iv	ACSLxtreme	dans sang	oui	non	oui (sang)	R, M
Yuan et al., 2010	Porcin	valnemulin	8	oral	ACSLxtreme	tractus gastro intestinal détaillé	oui	non	non	M, B, F
Chen et Seng, 2012	Porcin	soman	10	iv ; im	-	site d'injection	oui	oui (faiblement perfusé)	non	M
Sjögren et al., 2012	Porcin	repaglinide	9	iv	Berkeley Madonna	dans sang	oui	non	oui (sang)	M, B, R
Yang et al., 2012	Porcin	Doxycycline	7	iv ; im	ACSLxtreme	site d'injection	oui	non	non	H, R

Yang et al., 2014	Porcin	Olaquinox	5 ; 6	oral	ACSLxtreme	tractus gastro intestinal détaillé	oui	non	non	H, R
Yang et al., 2015	Porcin	Cyadox	4 ; 6	oral	acsIX	tractus gastro intestinal détaillé	oui	non	non	H, R
Huang et al., 2015	Porcin	Cyadox	7 ; 7	oral	acsIX	tractus gastro intestinal détaillé	oui	non	non	R, F, H
Qian et al., 2017	Porcin	Florfenicol	7	im	ACSLxtreme	site d'injection	oui	oui (poumons)	oui (plasma, tissus)	R, H
Zhu et al., 2017	Porcin	Quinocetone, Mequinodox	8 ; 7	oral	acsIX	tractus gastro intestinal détaillé	oui	non	non	F, M, B, R
Zeng et al., 2017	Porcin	Mequinodox	5 ; 6	oral ; im	Berkeley Madonna	tractus gastro intestinal détaillé	oui	non	non	R, F

F : fèces ; M : métabolisme ; B : biliaire ; H : hépatique ; R : rénal ; l : lait ; S : sanguine

* animaux en croissance

(juvénile ou adulte) sauf un modèle chez le bovin (van Eijkeren et al., 1998) et un modèle chez le porc (Hoogenboom et al., 2007) qui incluent un paramètre de taux de croissance permettant de réaliser des simulations sur l'animal tout au long de sa vie. La plupart des modèles portent sur une molécule pharmaceutique ou un contaminant spécifique. Trois modèles sont cependant plus génériques car ils décrivent le devenir de molécules lipophiles au sens large (Freijer et al., 1999 ; MacLachlan, 2009 ; van Eijkeren et al., 1998).

4.2.1. Structure des modèles

L'ensemble des tissus de l'animal ne sont pas représentés dans les modèles, seuls ceux nécessaires à la description des processus ADME le sont. Dans cette synthèse, les modèles comportent entre 2 et 10 compartiments. Le modèle le plus simple est composé d'un compartiment central correspondant au sérum et d'un compartiment de distribution correspondant à la carcasse (Hoogenboom et al., 2007 ; van Asselt et al., 2013). Certains modèles ont agrégé plusieurs tissus en un même compartiment en fonction de leur degré de perfusion correspondant à leur vitesse d'équilibration (Buur et al., 2009). D'autres modèles plus complexes sont composés de compartiments de distribution distincts comme le foie, le tissu adipeux et le sang et les autres tissus sont intégrés dans un compartiment « rest of the body » ou des compartiments « faiblement irrigués » et « fortement irrigués » (Buur et al., 2006, 2005 ; Derks et al., 1994 ; Freijer et al., 1999 ; Hoogenboom et al., 2010 ; Huang et al., 2015 ; Qian et al., 2017 ; van Eijkeren et al., 1998 ; Yang et al., 2015). Certains modèles encore plus complexes ont intégré un sous-modèle détaillant le devenir du ou des métabolites dans au moins autant de compartiments que la molécule parent (Buur et al., 2009, 2006 ; Huang et al., 2015 ; Zeng et al., 2017 ; Zhu et al., 2017). L'ensemble des publications disponibles ont proposé des schémas de la structure du modèle. Dans les modèles PBPK considérés, les compartiments les plus souvent impliqués sont des compartiments :

- (i) d'absorption avec une description du tractus digestif (Huang et al., 2015 ; Lin et al., 2016 ; MacLachlan, 2009 ; Zeng et al., 2017) ;
- (ii) de distribution de la molécule dans les tissus adipeux, muscles ou autres tissus ;
- (iii) d'élimination via le foie (Achenbach, 2000 ; Huang et al., 2015 ; MacLachlan, 2009 ; Qian et al., 2017), les reins (Achenbach, 2000 ; Buur et al., 2006 ; Craigmill, 2003 ; Leavens et al., 2014 ; Li et al., 2017), les fèces (Huang et al., 2015 ; Li et al., 2017 ; van Eijkeren et al., 1998 ; Zeng et al., 2017) ou le lait (Leavens et al., 2014 ; Li et al., 2017).

Systématiquement, le sang relie les compartiments suivant un sens de circulation sanguine précis, le sang artériel arrive aux organes et tissus et le sang veineux sort des compartiments.

4.2.2. Equations différentielles et description des étapes ADME

(i) Mode d'administration et absorption

Le transfert du xénobiotique du site d'administration jusqu'à la circulation sanguine est régi par des processus différents en fonction de la voie d'administration (orale, intramusculaire, intraveineuse...), de la dose ou encore de la durée d'exposition. Seuls les modèles d'absorption pour la voie orale seront détaillés dans cette partie.

Parmi les 29 modèles étudiés, 17 modèles ont un mode d'administration par voie orale. La modélisation du processus d'absorption la plus simple correspond à un transfert du xénobiotique de l'intestin à la veine porte représenté par une réaction d'ordre 1 (Buur et al., 2006 ; Freijer et al., 1999 ; van Asselt et al., 2013 ; van Eijkeren et al., 1998). Ce modèle suppose que l'ensemble du tube digestif est homogène et que la totalité du xénobiotique ingéré atteint la circulation sanguine.

D'autres modèles plus complexes permettent de segmenter le tube digestif pour décrire plus finement les mécanismes d'absorption. Seuls 7 modèles détaillent un compartiment d'absorption gastro-intestinal (Achenbach, 2000 ; Buur et al., 2008 ; Huang et al., 2015 ; Lin et al., 2016 ; MacLachlan, 2009 ; Yang et al., 2014, 2015 ; Zeng et al., 2017).

La modélisation la plus simple du tube digestif est celle proposée par Achenbach (2000) qui considère un compartiment « gut » qui représente les organes très perfusés comme l'estomac, l'intestin et l'œsophage. Ce compartiment est défini par un volume et un débit sanguin et il est placé entre le sang artériel et le foie. Lin et al. (2016) et MacLachlan (2009) ont proposé un modèle plus complexe avec une compartimentation du système digestif en 2 compartiments : l'estomac et l'intestin. La molécule est immédiatement disponible dans l'estomac après administration orale puis elle est distribuée dans l'intestin. La distribution dans l'intestin est régulée par une constante de vidange gastrique (Kemptying). La molécule est ensuite absorbée, cette étape est contrôlée par le taux d'absorption intestinale (Kabsorption). Le modèle présenté par Zeng et al. (2017) a la même structure de base que celle présentée par Lin et al. (2016) mais une constante de transit intestinale (Ktransit) est ajoutée. Pour avoir une approche de modélisation plus fine, d'autres paramètres peuvent être intégrés comme la solubilité ou la lipophilie de la molécule, la longueur de l'intestin, ou la perméabilité intestinale (Lin et al., 2016). Cependant, ces paramètres sont souvent difficiles à obtenir et calibrer.

(ii) Distribution

La distribution dépend de plusieurs facteurs : les caractéristiques de la molécule, la liaison aux protéines plasmatiques, la perméabilité des membranes cellulaires et le débit sanguin tissulaire (aussi appelé perfusion). La distribution peut être limitée par la perfusion ou par la perméabilité membranaire. Tous les modèles étudiés dans cette synthèse sont limités par la perfusion. Certains modèles limitent également la

diffusion par une constante de perméabilité dans certains compartiments (Derks et al., 1994 ; MacLachlan, 2009 ; Qian et al., 2017 ; van Eijkeren et al., 1998).

Tous les compartiments du modèle peuvent être subdivisés en trois sous-compartiments : la section vasculaire, l'espace extracellulaire et l'espace intracellulaire (Brochot et al., 2014). La plupart des modèles sont simplifiés et le compartiment n'est pas subdivisé en sous-compartiments car l'obtention d'informations expérimentales sur ces sous-compartiments est difficile.

Dans le cas d'une perfusion limitante, le composé est supposé se distribuer uniformément car l'équilibre entre les trois sous-compartiments se fait très rapidement. Les trois sous-compartiments sont donc agrégés en un seul compartiment. Ce type de modèle est souvent appliqué aux molécules lipophiles, de faible poids moléculaire et transportées rapidement à travers les membranes par diffusion passive. Ce processus peut être décrit par la loi de Fick où l'évolution de la quantité A_i du composé dans l'organe i est décrite par l'équation (1) :

$$\frac{dA_i(t)}{dt} = V_i \frac{dC_i(t)}{dt} = Q_i (C_{art}(t) - C_{ven}(t)) = Q_i (C_{art}(t) - \frac{C_i(t)}{P_i}) \quad (1)$$

Avec : V_i (mL) le volume de l'organe i ; C_i la concentration dans l'organe ; Q_i (mL min⁻¹) le débit sanguin tissulaire de l'organe ; C_{art} la concentration du composé à l'entrée de l'organe ; C_{ven} la concentration du composé à la sortie de l'organe ; P_i le coefficient de partage du tissu i .

Dans le cas d'une perméabilité limitante, l'organe peut être subdivisé en deux sous-compartiments : la section vasculaire et l'espace intracellulaire (Derks et al., 1994 ; MacLachlan, 2009 ; Qian et al., 2017 ; van Eijkeren et al., 1998). L'évolution des quantités du composé dans la section vasculaire extracellulaire (A_{bi}) et dans le tissu (A_{ti}) sont exprimées en fonction du coefficient de perméabilité PA_i (en unité de volume / temps / poids du tissu) dans les équations (2) et (3).

$$\frac{dA_{bi}(t)}{dt} = Q_i (C_{art}(t) - C_{ven}) - PA_i (C_{art}(t) - \frac{C_i(t)}{P_i}) \quad (2)$$

$$\frac{dA_{ti}(t)}{dt} = PA_i (C_{art}(t) - \frac{C_i(t)}{P_i}) \quad (3)$$

Si ces deux modèles ne parviennent pas à représenter correctement la distribution du composé étudié, il peut être nécessaire de modéliser des transports actifs et les éventuels phénomènes de saturation des transporteurs (Brochot et al., 2014).

La figure 7 présente les deux types de modélisation des processus de distribution.

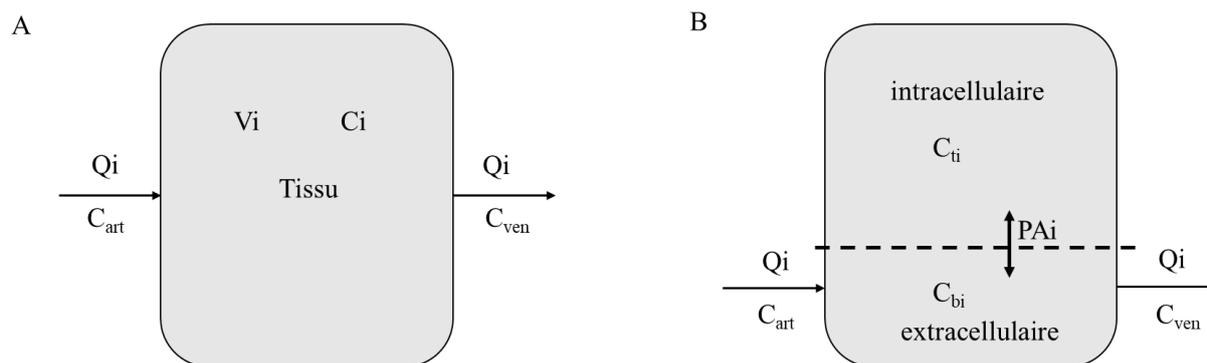


Figure 7: Représentation de la distribution d'un xénobiotique dans un organe à perfusion limitante (A) et un organe à diffusion limitante (B).

C correspond à la concentration dans l'artère (C_{art}), la veine (C_{ven}), le tissu i (C_i), l'espace extracellulaire (C_{bi}) et intracellulaire (C_{ti}). V_i correspond au volume du tissu i et PA_i au coefficient de perméabilité entre les deux sous-compartiments (d'après Brochot et al., 2014)

(iii) Elimination

L'élimination est la résultante de deux mécanismes, le métabolisme et l'excrétion. L'étude des différents modèles PBPK chez les animaux d'élevage montre que les voies d'élimination peuvent être diverses (voie rénale, fécale, biliaire...). Le tableau 9 présente les différentes voies d'élimination intégrées dans chaque modèle. Pour certains organes comme le foie ou les reins, la modélisation prend en compte les processus d'élimination qui sont caractérisés par la clairance de l'organe. La clairance globale de l'organe dépend de ses paramètres physiologiques comme la perfusion ou la fraction libre du composé. La **clairance intrinsèque** correspond à la capacité d'élimination de la molécule étudiée, indépendante des facteurs physiologiques (Brochot et al., 2014).

Les mécanismes d'élimination au niveau du foie (métabolisme et/ou excrétion biliaire) peuvent être représentés par un processus d'élimination de premier ordre ou par une relation de type Michaelis-Menten ou les deux. Dans tous les articles étudiés, les processus de métabolisme et d'excrétion biliaire sont modélisés par une relation linéaire entre la vitesse d'élimination et la concentration dans le foie. Cette modélisation suppose qu'aucun phénomène de saturation n'est observée c'est-à-dire que la concentration en substrat est inférieure au K_m . Seule la fraction libre du composé présent dans l'organe peut être éliminée. L'évolution de la quantité $A_i(t)$ du composé dans l'organe i est décrite par l'équation d'ordre 1 (4) :

$$\frac{dA_i(t)}{dt} = Q_i \left(C_{art}(t) - \frac{C_i(t)}{P_i} \right) - Cl_i \times \frac{C_{li}(t)}{P_i} \quad (4)$$

Avec : Q_i le débit sanguin tissulaire de l'organe i ; $C_{art}(t)$ la concentration du composé à l'entrée de l'organe au temps t ; $C_i(t)$ la concentration totale du composé dans l'organe au temps t ; P_i le coefficient de partage de l'organe ; $C_{li}(t)$ la concentration libre du composé dans l'organe i au temps t ; Cl_i la clairance intrinsèque de l'organe.

Dans le cas de saturation des enzymes, la relation de Michaelis-Menten peut être appliquée. L'évolution de la quantité A_i du composé dans l'organe i est décrite par l'équation (5) :

$$\frac{dA_i(t)}{dt} = Q_i (C_{art}(t) - C_{ven}(t)) = Q_i \left(C_{art}(t) - \frac{C_i(t)}{P_i} \right) - \frac{V_{max} \cdot C_i(t)}{K_m + C_i(t)} \quad (5)$$

Avec : K_m l'affinité entre le substrat et l'enzyme et V_{max} la vitesse maximale de transformation du substrat.

Cette deuxième méthode de modélisation est rarement utilisée car les coefficients K_m et V_{max} sont difficiles à obtenir.

(iv) Modélisation des concentrations sanguines systémiques

La concentration artérielle $C_{art}(t)$, correspondant à la concentration du composé à l'entrée de l'organe, apparaît dans toutes les équations ci-dessus. Or, cette concentration est difficile à mesurer. Dans les cas où il n'y a pas d'élimination par voie pulmonaire, il est possible de considérer que la concentration artérielle est égale à la concentration veineuse. L'évolution de la quantité de composé dans le compartiment sanguin A_s peut être décrite avec l'équation (6) :

$$\frac{dA_s(t)}{dt} = V_s \times \frac{dC_s(t)}{dt} = \sum_i^n (Q_i \times \frac{C_i(t)}{P_i}) - Q_s \times C_s(t) + g(t) \quad (6)$$

Avec : V_s le volume sanguin total ; $C_s(t)$ la concentration sanguine au temps t ; Q_i le débit sanguin tissulaire de l'organe i ; Q_s le débit sanguin total ; $\frac{C_i}{P_i}$ la concentration sanguine à la sortie du tissu i ; $C_i(t)$ la concentration totale du composé du tissu i au temps t ; P_i le coefficient de partage du tissu i ; $g(t)$ la fonction d'entrée du composé dans la circulation sanguine.

4.2.3. Paramétrisation : calibration et ajustement

Pour résoudre les équations précédentes permettant de décrire les processus ADME subis par la molécule étudiée, des paramètres de trois types doivent être considérés : (i) des paramètres physiologiques, (ii) des paramètres thermodynamiques et biochimiques et (iii) des paramètres d'exposition.

(i) Paramètres physiologiques indépendants de la molécule étudiée

Les paramètres physiologiques nécessaires correspondent principalement aux volumes tissulaires et aux débits sanguins locaux. Ces paramètres sont spécifiques de l'espèce modélisée, ils peuvent être mesurés mais sont pour la plupart des modèles étudiés issus des données présentes dans la littérature.

Dans le cas d'un manque d'information pour certains compartiments chez une espèce, une approche allométrique peut permettre d'estimer le volume des tissus en se basant sur les résultats d'une autre espèce (Huang et Riviere, 2014).

(ii) Paramètres thermodynamiques et biochimiques propres à la molécule étudiée

Le coefficient de partage **K_p** est un paramètre propre à chaque molécule, à chaque tissu et à chaque espèce qui traduit l'affinité de la molécule pour un tissu due à différents processus comme les liaisons protéiques. Il correspond au rapport entre la concentration dans l'organe et la concentration en sortie de l'organe. Sauf s'il existe des données spécifiques dans la littérature, ce paramètre doit être déterminé expérimentalement. *In vivo*, la concentration dans l'organe est simple à mesurer mais la concentration en sortie de l'organe est presque impossible. Pour pouvoir estimer cette concentration, une situation d'équilibre doit être atteinte afin de pouvoir considérer que la concentration dans le sang veineux correspond à la concentration sanguine en sortie d'organe (Brochot et al., 2014). L'animal doit donc être sacrifié pour réaliser des dosages dans le sang et dans les organes. Des approches *in vitro* permettent également de déterminer ce paramètre. Si ces données sont disponibles chez une autre espèce, il est possible de les extrapoler à l'espèce du modèle comme l'ont fait Buur et al. (2008) et Yuan et al. (2010) du rat au porc.

Pour résoudre les équations différentielles, la fixation protéique de la molécule doit souvent être caractérisée en estimant sa **fraction plasmatique libre** et sa **fraction tissulaire libre** (Buur et al., 2009, 2008 ; Leavens et al., 2014 ; van Asselt et al., 2013).

Les mécanismes d'élimination sont caractérisés par les clairances intrinsèques **hépatiques et rénales et par les activités enzymatiques** (K_m , V_{max} ; Lin et al., 2016).

L'ensemble de ces paramètres sont difficiles à obtenir expérimentalement. Dans la plupart des modèles considérés, ils ont été obtenus par ajustement des prévisions du modèles aux données expérimentales disponibles.

(iii) Paramètres d'exposition

En fonction des objectifs du modèle, les paramètres d'entrée d'exposition (dose, durée d'exposition) peuvent être renseignés (MacLachlan, 2009 ; Zeng et al., 2017).

4.2.4. Logiciel et résolution des équations différentielles

Le modèle mathématique constitué d'un système d'équations différentielles peut être résolu numériquement grâce des algorithmes informatiques. La majorité des modèles présentés dans le tableau 9 ont été construits sur Advanced Continuous Simulation Language (ACSL). Les autres modèles ont été construits sur des logiciels différents comme Berkeley Madonna® par exemple.

4.2.5. Evaluation du modèle

L'objectif d'un modèle PBPK est d'obtenir le modèle le plus fiable possible pour pouvoir prédire avec confiance des scénarii non testés expérimentalement. Une fois le modèle développé, une étape de validation de ce dernier doit être mise en œuvre. La validation externe consiste souvent à comparer les résultats prédits par le modèle avec de nouvelles données expérimentales qui n'ont pas servi à la calibration et à l'ajustement du modèle (Jones et Rowland-Yeo, 2013). 68% des modèles étudiés dans cette synthèse ont été validés en utilisant une base de données indépendante basée sur la littérature ou sur des données expérimentales. En complément, une validation interne peut-être réalisée en intégrant de la variabilité interindividuelle avec des approches de Monte Carlo par exemple. Ce type d'analyse a pour objectif de considérer une distribution probabiliste des paramètres du modèle. Une analyse de sensibilité préalable est nécessaire pour identifier les paramètres qui influent le plus sur le modèle et ainsi sélectionner les paramètres sur lesquels de la variabilité peut être ajoutée. Dans cette synthèse bibliographique, 58% des modèles ont réalisé une analyse de sensibilité sur certains paramètres (Achenbach, 2000 ; Leavens et al., 2014 ; Li et al., 2017 ; Lin et al., 2016) et 24 % ont intégré de la variabilité interindividuelle dans les paramètres physiologiques ou biochimiques (Li et al., 2017 ; Yang et al., 2014 ; Zeng et al., 2017 ; Zhu et al., 2017).

Aucun modèle PBPK n'a été construit pour modéliser la cinétique de la CLD chez les mammifères d'élevage. Cependant, des modèles ont été construits chez le rongeur. La partie suivante fait une synthèse des modèles PBPK sur le transfert de CLD chez les animaux.

4.3. Synthèse des modèles PBPK pour représenter le transfert de chlordécone chez les animaux

4.3.1. Objectifs des modèles chlordécone

Le tableau 10 résume les caractéristiques des trois modèles PBPK de la CLD identifiés. Bien que ces modèles aient tous été développés chez le rat, ils n'ont pas les mêmes objectifs.

Bungay et al. (1981) ont construit le premier modèle de transfert de la CLD chez le rat. L'objectif de ce modèle est de décrire la distribution de la CLD dans différents tissus et d'étudier finement les processus d'absorption de la molécule parent et d'excrétion au niveau du tractus gastrointestinal.

Heatherington et al. (1998) ont construit un modèle de transfert de la CLD chez le rat dont les objectifs sont de décrire la distribution de la CLD et les processus d'absorption percutanée de la CLD.

Plus récemment, Belfiore et al. (2007) ont développé un modèle permettant de caractériser la séquestration de la CLD par l'organisme et notamment les mécanismes de liaisons hépatiques suite à une exposition par voie orale.

Tableau 10: Caractéristiques des modèles PBPK de la chlordécone chez le rat

Référence	Compartiments	Voie d'exposition	Modèle d'exposition	Perfusion limitante	Perméabilité limitante	Fraction libre/liée	Sorties
Bungay et al., 1981	6	oral	sous-modèle tractus digestif puis dans le sang	oui	oui (tous)	non	H, F
Heatherington et al., 1998	5	percutanée	sous-modèle exposition cutanée puis dans le sang	oui	non	oui (foie et sang)	F, R
Belfiore et al., 2007	5	oral	Estomac / Intestin puis dans le sang	oui	oui (juste gras)	oui (foie et sang)	H

F : fèces ; H : hépatique ; R : rénal

4.3.2. Structure des modèles chlordécone

Dans ces trois modèles, l'ensemble de l'organisme est représenté par des compartiments comme le foie, le gras, le muscle, la peau, les reins et/ou la carcasse. Dans le modèle de Belfiore et al. (2007), certains tissus sont agrégés dans des compartiments « lentement perfusés » et « rapidement perfusés ». Tous ces compartiments sont définis par un volume physiologique et par un débit sanguin. Les compartiments sont reliés par le sang qui est séparé en deux compartiments : le sang artériel et le sang veineux. Sur ce modèle global de l'organisme, des sous-modèles d'absorption très détaillés ont été intégrés pour décrire l'absorption intestinale (Bungay et al., 1981) ou l'absorption percutanée (Heatherington et al., 1998).

4.3.3. Mise en équations des processus ADME dans les modèles chlordécone

(i) Absorption

Bungay et al. (1981) détaillent un modèle très fin de l'absorption de la CLD suite à une exposition par voie orale. Le tractus digestif est segmenté en plusieurs parties : l'estomac, l'intestin grêle, le caecum et le gros intestin. Chaque compartiment de ce tractus digestif est séparé en 3 sous-compartiments correspondant au sang, au tissu et aux composants du lumen. Cela suppose que le taux d'échange n'est pas limité par la perfusion mais également par la perméabilité entre ces sous-compartiments. La sous-compartimentation du tractus, bien que difficile à calibrer, permet de modéliser indépendamment différents mécanismes comme l'absorption, le retour non biliaire, l'excrétion biliaire ou la réabsorption.

Belfiore et al. (2007) ont proposé un module d'exposition par voie orale plus simple composé d'un estomac et d'un intestin. La CLD de l'estomac se distribue dans l'intestin en suivant une constante de vidange gastrique et est ensuite absorbée suivant une constante d'absorption.

Le modèle de Heatherington et al. (1998) détaille un sous-modèle d'absorption cutanée. La CLD arrive ensuite dans le compartiment sanguin pour se distribuer dans les différents compartiments.

(ii) Distribution

Tous ces modèles sont basés sur une perfusion limitante. Cependant, Bungay et al. (1981) et Belfiore et al. (2007) ont intégré dans certains compartiments une perméabilité limitante.

Heatherington et al. (1998) ont intégré des constantes de liaison de la CLD au sang car la CLD serait liée à 46% à l'albumine, 30 % aux HDL et 7,5 % aux autres lipoprotéines (Guzelian, 1982 ; Skalsky et al., 1979 ; Soine et al., 1982). En considérant ces pourcentages issus de la littérature, la fraction non liée de la CLD du plasma a été estimée à 0,16. En considérant le taux d'hématocrites dans le sang, la fraction libre dans le sang a été estimée à 0,18 (Heatherington et al., 1998). Par ailleurs, ce modèle a une spécificité car l'entrée de la CLD dans le foie n'est pas modélisée par un processus linéaire comme dans les autres tissus mais par une équation de Michaelis Menten. En effet, les auteurs ont considéré que la CLD entre dans le foie par perfusion mais également par d'autres mécanismes et notamment par fixation de l'albumine et des HDL aux récepteurs du foie.

Le modèle de Belfiore et al. (2007) décrit la distribution de la CLD dans les différents tissus en intégrant des paramètres de liaison au niveau du sang et du foie. Le pourcentage de liaison dans le sang utilisé est de 96% (Soine et al., 1982).

(iii) Métabolisme

Le rat ne métabolisant pas la CLD (Egle et al., 1978), aucun des trois modèles ne détaille les processus de métabolisme.

(iv) Excrétion

Bungay et al. (1981) intègrent une excrétion par voie biliaire avec une excrétion fécale et un cycle entéro-hépatique. Le développement de ce modèle a permis de décrire la diffusion de la CLD de manière bidirectionnelle. Une expérimentation a montré qu'en l'absence d'excrétion biliaire, la CLD est tout de même excrétée via les fèces ce qui valide l'hypothèse d'un retour non biliaire.

Le modèle de Heatherington et al. (1998) présente deux voies d'excrétion : la voie urinaire (minoritaire) et la voie fécale (majoritaire). L'excrétion urinaire a été modélisée par une réaction d'ordre 0 et l'excrétion fécale a été modélisée par une réaction d'ordre 1.

Dans le modèle de Belfiore et al. (2007), l'élimination globale de la CLD est modélisée par une sortie au niveau du foie. Ce processus est décrit par une constante de premier ordre correspondant à une clairance globale d'élimination.

Quelles que soient les voies d'excrétion de ces modèles, les processus ont été modélisés par des constantes d'élimination de premier ordre.

4.3.4. Paramètres des modèles chlordécone et leur calibration

Dans les trois modèles, les paramètres physiologiques de base comme les volumes des compartiments de distribution ou les débits sanguins proviennent de la littérature. Pour des paramètres plus spécifiques comme les volumes et les débits des compartiments du tractus digestif ou les vitesses de transits, des données expérimentales ont été acquises (Bungay et al., 1981). Les coefficients de partage ou les constantes de perméabilité ont été ajustés en utilisant des données expérimentales basées sur des protocoles *in vivo*, *in vitro* ou de la littérature.

Pour pouvoir réaliser un modèle précis d'absorption, Bungay et al. (1981) ont réalisé différentes expérimentations *in vivo* afin de générer des données expérimentales. Ils ont tout d'abord contaminé des rats par voie orale avec une dose unique de 1 mg CLD kg⁻¹ PV puis réalisé à différents temps des abattages sériés afin d'obtenir les concentrations de CLD dans le sang et dans différentes parties du tractus digestif. Par ailleurs, des données sur le retour non biliaire ont pu être obtenues en installant des canules biliaires sur des rats.

Belfiore et al. (2007) ont réalisé une administration dose unique par voie orale de 40 mg kg⁻¹ PV chez le rat puis ont réalisé des prélèvements dans le sang, le gras, le foie, le rein, le muscle et le plasma à t = 1, 14 ou 30 j après contamination afin de mesurer des teneurs en CLD dans ces tissus au cours du temps. Ils ont ajusté leur modèle en utilisant ces résultats expérimentaux mais aussi ceux de Egle et al. (1978), Soine et al. (1982), Soine et Blanke (1984) et Hewitt et al. (1986).

4.3.5. Apports et limites des modèles chlordécone

Ces trois modèles ont apporté des connaissances théoriques sur le comportement de la molécule dans l'organisme et particulièrement sur son absorption et son affinité particulière pour le foie. Ils ont permis d'estimer des paramètres biochimiques spécifiques de la CLD comme les constantes de liaison au sang ou au foie par exemple. Cependant, ces modèles ne modélisent pas très finement l'élimination de la CLD. Le métabolisme n'est jamais modélisé car le rat ne métabolise pas la CLD alors que c'est une voie d'élimination majeure de la CLD chez d'autres espèces. De plus, l'excrétion fécale, la réabsorption ou le retour non biliaire ne sont pas détaillés dans le modèle le plus récent (Belfiore et al., 2007).

Ces modèles sont souvent ajustés avec des données anciennes de la littérature ou avec peu de points expérimentaux. Par ailleurs, l'ensemble des données expérimentales obtenues ou issues de la bibliographie ont été obtenues suite à des administrations de CLD à des doses élevées (doses uniques allant de 20 à 40 mg CLD kg⁻¹ PV). A ces concentrations très élevées, le comportement de la CLD n'est peut-être pas le même que pour des expositions environnementales.

Tableau 11: Caractéristiques des principales méthodes de modélisation en toxicocinétique
(d'après Fournier, 2011)

Type de modèle	MODELISATION COMPARTIMENTALE			
	Non compartimental	Compartimental individuel	Population	PBPK
Objectif	Extraire rapidement les paramètres toxicocinétiques à partir de la cinétique sanguine	Estimer des paramètres toxicocinétiques (macroconstantes et microconstantes) à l'aide de modèles mathématiques établis à partir de la cinétique sanguine	Estimer simultanément les paramètres toxicocinétiques et la variabilité interindividuelle	Simuler l'évolution de la concentration du xénobiotique dans les différents organes et fluides de l'organisme et tester l'influence des paramètres physiologiques sur les concentrations
Hypothèses sur la modélisation	Peu nombreuses	Oui - distribution instantanée et linéaire - paramètres physiologiques constants dans le temps	Oui	Oui Distribution à perfusion ou à diffusion limitante
Données / paramètres nécessaires	Peu nombreux	Moins nombreux que pour le modèle PBPK Paramètres ajustés aux valeurs expérimentales	Moins nombreux que pour le modèle PBPK Nécessite peu de données si la population est importante	Nombreux : Quantités d'informations nécessaires importantes (données, paramètres, connaissances) et estimations difficiles
		Qualité du modèle dépend des données expérimentales		
Applicable aux administrations multiples	Non	Oui	Oui	Oui
Niveau de représentation mécanistique	Faible : l'organisme est une boîte noire	Bonne : approche compartimentale, les processus ADME sont représentés en fonction des compartiments et des flux considérés		Bonne : Approche compartimentale Modélisation complexe
Suivi des concentrations en dynamique	Non	Oui	Oui	Oui
Informations sur les cinétiques tissulaires	Non	Non	Non	Oui
Extrapolations	Non	Limitée		Oui : entre espèces, voies d'administration ou substances

RESUME DE LA PARTIE 3

La partie 3 de cette synthèse a montré qu'en fonction de l'objectif scientifique, différentes approches de modélisation existent pour caractériser les processus ADME : l'approche non-compartimentale, l'approche compartimentale individuelle, l'approche compartimentale de population et la modélisation pharmacocinétique à base physiologique (tableau 11). Des modèles monocompartimentaux et bicompartimentaux chez la chèvre et la brebis ont récemment permis d'obtenir les paramètres toxicocinétiques fondamentaux de la CLD chez ces deux espèces. La méthodologie est acquise mais n'a pas été appliquée chez le porc. Aucune approche de population n'a encore été explorée pour modéliser le devenir de la CLD chez les animaux. Cependant, cette approche pourrait apporter des informations intéressantes car elle permet simultanément de déterminer les paramètres toxicocinétiques et d'évaluer la variabilité interindividuelle.

La synthèse des modèles PBPK chez les animaux d'élevage a permis de comprendre les étapes de construction d'un modèle PBPK et les différentes façons de modéliser les processus. Quelques modèles à base physiologique décrivent le comportement de la CLD chez le rat et apportent des données préliminaires permettant de comprendre certains processus ADME de la CLD, notamment sur son absorption et son comportement particulier avec le foie. Cependant, le métabolisme de la CLD étant très différent entre le rat et d'autres espèces de monogastriques car il ne métabolise pas la CLD, ces modèles ne peuvent pas être extrapolés en l'état à d'autres espèces.

		Bovin	Ovin	Caprin	Porcin
TOXICOCINETIQUE	Absorption				
	Paramètres fondamentaux				X
	Distribution		X		
	Métabolisme		X		X
	Excrétion		X		X
MODELISATION	Non compartimentale		X	X	X
	Compartimentale individuelle				X
	Compartimentale de population				X
	PBPK		X		



Processus non étudié, données acquises



Connaissances acquises



Résultats préliminaires

X Lacunes à combler dans le cadre de la thèse



Extrapolations futures

Figure 8: Bilan des connaissances sur la toxicocinétique de la chlordécone chez les animaux d'élevage et positionnement des objectifs de la thèse

OBJECTIFS DE LA THESE ET DEMARCHE

La synthèse bibliographique a permis de mettre en évidence des lacunes dans la compréhension des mécanismes ADME de la CLD chez les animaux d'élevage. La figure 8 présente les lacunes de la bibliographie et situe les objectifs de la thèse pour les combler. Ainsi, cette thèse a pour objectifs de :

- (1) Décrire le comportement de la CLD chez deux modèles animaux, la brebis adulte (modèle ruminant) et le porc en croissance (modèle monogastrique) ;
- (2) Développer des outils d'aide à la décision permettant d'évaluer des stratégies d'élevage afin de sécuriser les produits animaux en contrôlant l'exposition des animaux à la CLD et/ou en les décontaminant.

Pour répondre au premier objectif, des protocoles expérimentaux *in vivo* ont été mis en place pour combler les lacunes de la bibliographie sur la caractérisation des processus ADME chez la brebis et le porc. Chez la brebis, les paramètres toxicocinétiques de la CLD et du CLDOH ont été obtenus récemment suite à une exposition dose unique par voie intraveineuse (Saint-Hilaire, 2018 ; Saint-Hilaire et al., 2019). Ces études ont également apporté des informations sur le métabolisme de la CLD et ses formes distribuées ou excrétées. Ces travaux de thèse permettront de compléter la caractérisation des processus d'élimination en quantifiant l'excrétion de la CLD chez la brebis. Ils apporteront également des connaissances sur la distribution de la CLD dans les tissus en dynamique et permettront de décrire les capacités de stockage et de relargage de la CLD dans différents tissus et d'établir des corrélations de concentrations entre eux. Chez le porc, la bibliographie est beaucoup plus réduite. Cette thèse permettra de déterminer les paramètres toxicocinétiques de la CLD et du CLDOH chez le porc et ainsi de caractériser l'élimination et la distribution globales de la CLD chez cette espèce.

Pour répondre au deuxième objectif, deux approches seront proposées. Tout d'abord, l'utilisation des intervalles de prédiction sur des données de concentrations tissulaires permettront de créer un outil de gestion pour estimer à partir de matrices de biomonitoring des temps d'attentes nécessaires pour obtenir des carcasses conformes. Ensuite, l'ensemble des résultats toxicocinétiques obtenus chez la brebis seront utilisés pour construire un modèle PBPK chez la brebis permettant de modéliser les cinétiques de concentrations de CLD dans différents compartiments.

3

Chapitre 2 : Etudes toxicocinétiques de la chlordécone chez la brebis adulte et le porc en croissance

La synthèse bibliographique a identifié des lacunes sur la compréhension des processus ADME, notamment sur la distribution et l'élimination de la CLD. Pour pouvoir envisager des stratégies de décontamination, ces mécanismes doivent être mieux connus. Actuellement, aucune donnée n'est disponible sur les dynamiques de distribution de la CLD chez le ruminant et le porc. Les niveaux de connaissances sur l'élimination diffèrent entre les modèles ruminants et porcs. Des études récentes menées chez la chèvre et la brebis ont permis d'obtenir les paramètres toxicocinétiques principaux de la CLD chez le ruminant. Chez la brebis, des données sur le métabolisme et l'excrétion urinaire et fécale ont également été acquises. Cependant, aucune étude toxicocinétique n'a encore été réalisée chez le porc. L'objectif du chapitre 2 est (i) de caractériser la dynamique de distribution et d'élimination de la CLD chez la brebis afin de compléter les résultats déjà obtenus et (ii) de déterminer les paramètres toxicocinétiques principaux de la CLD chez le porc et de caractériser son élimination.

PARTIE 1: Caractérisation des étapes de distribution et d'élimination de la chlordécone chez la brebis adulte

Les travaux menés dans le cadre de la thèse de Saint-Hilaire (2018) ont permis d'estimer les paramètres toxicocinétiques de la CLD et du CLDOH suite à des administrations doses uniques de CLD (expérimentation A1) et de CLDOH (expérimentation A2). Ces travaux ont également apporté des informations sur le métabolisme de la CLD et ses formes distribuées ou excrétées. Ces résultats seront mobilisés et complétés dans le cadre de cette thèse par des résultats permettant de caractériser la distribution et l'élimination de la CLD.

Une compréhension plus précise de la distribution de la CLD permettra de (i) prédire les niveaux de CLD d'une matrice à une autre en utilisant des méthodes de prélèvement d'échantillons peu invasives (sang ou fèces par exemple) avant abattage et (ii) de vérifier que les concentrations de CLD dans les produits animaux sont inférieures à la LMR.

Afin de compléter les connaissances sur l'élimination de la CLD et de décrire la dynamique de distribution et d'élimination de la CLD chez l'espèce ovine, une expérimentation *in vivo* a été conduite (expérimentation B). Les objectifs de cette étude ont été :

- (1) de caractériser l'évolution des concentrations de CLD dans les tissus au cours du temps pendant une période d'exposition suivie d'une période de décontamination ;
- (2) d'établir des relations entre les concentrations de CLD dans différents tissus au cours des processus de contamination et de décontamination ;
- (3) identifier des matrices de biomonitoring ;
- (4) de quantifier l'excrétion fécale de la CLD chez la brebis.

1. Plan expérimental

1.1. Schéma expérimental

L'expérimentation B a été menée à la Plateforme Bio-DA (UR AFPA, Vandoeuvre-lès-Nancy). 24 brebis (*Ovis aries*) non lactantes, non gestantes et en fin de croissance ont été utilisées afin de s'affranchir de la variabilité associée aux différents statuts physiologiques. Au début de l'expérimentation, les brebis pesaient $59,8 \pm 1,0$ kg (moyenne \pm SE). Les brebis ont été logées dans des boxes collectifs de 2 brebis. De l'eau, du sel et du foin étaient disponibles à volonté.

L'expérimentation a consisté en une période d'exposition de 90 j suivie d'une période de 127 j de décontamination. Après une période d'adaptation de 14 j, les brebis ont été exposées à la CLD pendant 90 j via un aliment contaminé à 0,01 mg CLD kg⁻¹ PV j⁻¹ afin de simuler une exposition environnementale. Les brebis ont été pesées deux fois par semaine afin d'adapter au mieux la quantité d'aliment contaminé journalière. La ration standard était composée de foin, de 50 g de maïs et de 100 g de luzerne déshydratée. Pendant la période d'exposition, la ration standard était complétée avec un aliment contaminé composé de maïs grain, de gluten de maïs, de pulpe de betterave déshydratée et d'huile de tournesol contaminée par la CLD. Cet aliment contaminé a été mélangé et granulé pour faciliter l'ingestion par les brebis. La concentration finale théorique de l'aliment était de 14,3 mg CLD kg⁻¹ MF.

Les brebis ont été réparties en 6 lots de 4 animaux abattus successivement après 21, 50, 90 j d'exposition et après 40, 80, 127 j de décontamination (correspondant aux groupes A, B, C, D, E et F, respectivement). Les cinétiques sanguine et fécale de la CLD ont été suivies sur le lot F abattu après 127 j de décontamination. A 0, 8, 22, 36, 50, 64, 78, 90, 92, 94, 99, 113, 127, 141, 155, 169, 183, 197, 217 j des prélèvements de sang et de fèces ont été réalisés. Pour chaque prélèvement, les fèces ont été collectés pendant 12 h. Chaque prélèvement de sang été réalisé au milieu de la période de collecte de fèces. Afin d'extrapoler au mieux les quantités de fèces excrétées sur 24 h, les fèces ont été collectées pendant 24 h à 64, 78, 90, 92 et 99 j. La figure 9 présente le schéma expérimental de l'étude.

Avant abattage, chaque brebis a été pesée et un prélèvement de sang a été réalisé. Après abattage, le foie, la bile, le tissu adipeux périrénal (TAPR), le tissu adipeux sous-cutané (TASC), la hampe, le muscle long dorsal et le cœur ont été prélevés. Pour le lot C abattu après 90 j de contamination, des muscles supplémentaires ont été prélevés : le masseter, le psoas, le triceps brachii, le biceps brachii, le supra spinais, le semi-tendineux, le semi-membraneux, le gluteus medius, le rectus abdominis et le peaussier. Pour les lots C et F, les carcasses restantes après prélèvement des tissus ont été entièrement broyées dans les installations expérimentales de l'INRAE-UEPR (Saint-Gilles, France).

1.2. Prélèvement, traitement et analyse des échantillons

1.2.1. Sang

Les échantillons de sang (4 x 7 mL) ont été collectés à l'aide d'un BD vacutainer® et laissés au repos pour coagulation 2 h à température ambiante puis 24 h à 4°C. Ils ont ensuite été centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min pour obtenir des échantillons de sérum qui ont été congelés avant analyse à -20°C.

Le dosage des échantillons a été réalisé au Centre de Recherche Analytique et Technologique (LAEA-CART, Liège, Belgique). Les concentrations de CLD dans le sérum ont été obtenues par GC-MS/MS.

La méthode est décrite précisément dans le paragraphe 2.3.1. de l'article 3 « Modeling chlordecone toxicokinetics data in growing pigs using a nonlinear mixed-effects approach » (Fourcot et al., 2020).

1.2.2. Organes et tissus

(i) Traitement des échantillons

Après prélèvement, les organes (foie, tissus adipeux et muscles) ont été pesés. Les échantillons ont ensuite été nettoyés des vaisseaux et tissus conjonctifs puis découpés finement pour obtenir des échantillons homogènes. Ils ont été congelés à -20°C avant analyse.

(ii) Dosage de chlordécone dans les échantillons

Les concentrations de CLD dans les différents tissus ont été dosées par le laboratoire LABOCEA (Quimper, France ; accrédité COFRAC) en se basant sur la méthode officielle de l'Anses (méthode ANSES PBM Pest LSA-INS-0163 v4, Maisons-Alfort, France ; ANSES, 2015). Brièvement, la CLD C13 a été utilisée comme étalon interne et ajoutée à tous les échantillons. La CLD a été extraite des tissus avec une solution de solvants : acétonitrile/dichlorométhane 75/25 (v/v) et hexane/acétone 75/25 (v/v) pour les tissus adipeux ou hexane/acétone 85/15 (v/v) pour le foie et les muscles. La CLD a été transformée en chlordécone-hydrate avec de la soude et la phase aqueuse a été rincée avec de l'hexane. La CLD a ensuite été soumise à une purification acide à l'aide d'acide sulfurique concentré à 60% et extraite avec une solution d'hexane/acétone 85/15 (v/v). Les extraits ont ensuite été analysés par LC-MS/MS. Les concentrations de CLD dans les tissus sont exprimées en $\mu\text{g CLD kg}^{-1}\text{ PF}$. La LQ était de $1,0 \mu\text{g CLD kg}^{-1}\text{ PF}$ dans les tissus musculaires et hépatiques et de $3,0 \mu\text{g CLD kg}^{-1}\text{ MG}$ dans les tissus adipeux.

(iii) Dosage et caractérisation des classes de lipides

Parmi les échantillons prélevés et analysés sur les brebis abattues après 90 j de contamination (lot C), les lipides ont été dosés et caractérisés dans les échantillons de foie, hampe, long dorsal, cœur, masseter, triceps brachii et peaussier. Ces analyses ont été réalisées à la plateforme Bio-DA (UR AFPA, Vandoeuvre-lès-Nancy).

Dosage des lipides totaux. Les lipides totaux ont été dosés en se basant sur la méthode de Folch et al. (1957). Cette méthode permet d'extraire et de purifier les lipides totaux contenus dans des échantillons biologiques lyophilisés et broyés. Une prise d'essai de 1 g par échantillon (foie, broyat de carcasse ou muscle) a été mise en présence de 10 mL de mélange Folch (chloroforme/méthanol ; 2/1 ; v/v) sous agitation pendant 15 min à température ambiante. Pour les tissus adipeux, la prise d'essai était de 0,5 g. Le mélange a ensuite été filtré sur une unité de filtration sous vide en verre. Le bécher a été rincé avec le mélange Folch à plusieurs reprises. Le filtrat a été collecté dans un tube ASE inséré dans la fiole à

vide puis transvasé dans une ampoule à décanter. Le tube ASE a été rincé plusieurs fois à l'aide du mélange Folch. La séparation de la phase inférieure (chloroforme et lipides) de la phase supérieure (alcool méthylique et eau) a été réalisée par ajout de NaCl à 0,73% (1 volume de NaCl pour 4 volumes de filtrat). La phase inférieure a été collectée dans un ballon. Le ballon a ensuite été mis sous évaporateur d'azote pendant 1 h puis dans un dessiccateur au moins 2 h afin d'évaporer le substrat. La quantité de lipides mise à sec a été pesée et le pourcentage de lipides totaux par rapport au poids initial de l'échantillon a pu ainsi être déterminé. Chaque échantillon a été analysé en duplicata.

Profil en classes de lipides. Les deux extraits mis à sec dans les tubes ASE ont été repris par vortex dans 5 mL de mélange Folch (chloroforme/méthanol, 2:1 v/v) afin de déterminer le profil en classes de lipides (triglycérides, cholestérol libre et estérifié, phospholipides, acides gras libres). Les classes de lipides issues de l'extrait lipidique ont été séparées par chromatographie sur couche mince (TLC) et quantifiées par ionisation de flamme (FID). Cette méthode a été présentée par (Mares et al., 1983). En fonction de la concentration en lipides de l'échantillon, le volume à prélever dans le mélange homogène et à diluer dans le réactif Folch a été calculé afin d'obtenir 10 mg de lipides totaux par mL. Le support chromatographique est une baguette de quartz appelée rod recouverte d'une pellicule de SiO₂. Après dépôt des échantillons sur les rods, les lipides ont migré le long des baguettes à l'aide d'un mélange de solvants organiques (hexane/diéthyle/acide formique, 9/10/1, v/v/v) et se sont séparés en fonction de leur affinité respective pour les phases mobile (solvant) et stationnaire (SiO₂). La détection a été effectuée par ionisation de flamme des analytes. Le résultat s'est traduit par un chromatogramme constitué de pics dont l'aire est proportionnelle à la quantité d'analytes. La quantification de l'aire des différents pics a permis de déterminer la proportion relative de chaque classe de lipides dans le mélange. Dans le sens de migration, chaque pic correspond respectivement au cholestérol estérifié, aux triglycérides, au cholestérol libre et aux phospholipides. Chaque échantillon a été analysé en duplicata. La concentration de chaque classe de lipides dans l'échantillon a pu être calculée à partir de la concentration en lipides totaux du mélange et son profil en classes de lipides.

1.2.3. Fèces

Les fèces ont été récoltées à l'aide de couches régulièrement changées. Elles ont été pesées, lyophilisées puis broyées. Chaque échantillon a été stocké à température ambiante dans des flacons ambrés avant analyse. Le dosage de la CLD et de ses métabolites dans les fèces a été réalisé en suivant la méthode présentée par Saint-Hilaire et al. (2018). Seuls la CLD et le CLDOH libres ont été analysés dans les fèces. Brièvement, la CLD libre et le CLDOH libre ont été extraits des fèces en utilisant une méthode QuEChERS suivie d'une analyse LC-MS/MS. La LQ dans les fèces est de 3,2 µg CLD kg⁻¹ MF et 5,8 µg CLDOH-t kg⁻¹ MF.

1.3. Analyse des données

1.3.1. Analyse des données sanguines

(i) Analyse des concentrations sériques de chlordécone obtenues lors des abattages

L'analyse des concentrations sériques de CLD obtenues à chaque abattage de l'expérimentation B est détaillée dans la partie 2.4.1.3. de l'article 1 « Characterization of chlordecone distribution and elimination in ewes during daily exposure and depuration ».

Brièvement, les données sériques obtenues lors des abattages pour la période de décontamination allant de $t = 90$ j à $t = 217$ j ($n=12$) étaient le mieux décrites par un modèle monocompartimental, suivant l'équation (1) :

$$C(t) = C_s(90)e^{-k_d t} \quad (1)$$

Avec : $C(t)$ la concentration sérique au temps t (ng mL^{-1}), $C_s(90)$ la concentration de CLD dans le sérum à $t = 90$ j (ng mL^{-1}), k_d la constante d'élimination dans le sérum (j^{-1}) et t le temps (j).

Pour chaque brebis, le temps de demi-vie a été calculé à partir de la constante d'élimination individuelle k_d suivant l'équation (2) :

$$t_{1/2\text{élim}} = \frac{\ln(2)}{k_d} \quad (2)$$

(ii) Analyse de la cinétique sanguine du lot F

La cinétique d'élimination sanguine du lot F pour la période de décontamination allant de $t = 90$ j à $t = 217$ j a été analysée en appliquant un modèle mono compartimental qui a permis de calculer une constante d'élimination individuelle. Pour chaque individu, l'AUC de la courbe d'évolution de la concentration sérique de la CLD au cours de la période de décontamination de $t = 90$ j à l'infini a été calculée mathématiquement suivant l'équation (3) :

$$\text{AUC}_{\text{sCLD}, 90 \rightarrow \infty} = \frac{C_s(90)}{k_d} \quad (3)$$

Avec : $C_s(90)$ la concentration de CLD dans le sérum à $t = 90$ j et k_d la constante d'élimination dans le sérum.

1.3.2. Analyse des données tissulaires

L'analyse des données tissulaires présentées dans les points (i), (ii) et (iii) est détaillée dans la partie 2.3. de l'article 1 « Characterization of chlordecone distribution and elimination in ewes during daily exposure and depuration ».

(i) Estimation de la charge corporelle en chlordécone (ou body burden)

Les quantités de CLD dans l'organisme (ou body burden) ont été calculées selon deux méthodes.

Méthode 1 : estimation du body burden à partir des dosages de carcasses. Pour les groupes C et F, le body burden à l'abattage a été estimé en additionnant les quantités de CLD dans la carcasse broyée et les quantités de CLD dans les tissus prélevés non intégrés dans le broyage de carcasse.

Méthode 2 : estimation du body burden à l'équilibre à partir du volume de distribution. Le volume de distribution correspond au ratio entre la quantité totale de la molécule étudiée et sa concentration sanguine à l'équilibre. Le volume de distribution moyen à l'équilibre (V_{ss}) a été estimé à $1,7 \pm 0,2$ L par Saint-Hilaire et al. (2019). Pour les groupes C et F, le body burden à $t = 90$ j de contamination a été estimé ($BB_{90,i}$) avec l'équation : $BB_{90,i} = Cs(90) \times V_{ss}$

Avec $Cs(90)$ la concentration de CLD individuelle dans le sérum à $t = 90$ j de contamination et V_{ss} le volume de distribution moyen à l'équilibre (1,7 L ; Saint-Hilaire et al. (2019)).

Comparaison des deux méthodes d'estimation. Les body burden calculés pour le lot à l'équilibre (lot C) à partir des dosages de carcasses et à partir du volume de distribution ont été comparés avec un test de Student ($\alpha = 0,05$).

(ii) Analyse des cinétiques tissulaires

Estimation des quantités de CLD dans les tissus. Pour le lot abattu après 90 j de contamination, les concentrations de CLD ont été utilisées pour estimer les quantités de CLD dans les tissus : sérum, muscle, tissu adipeux, cœur et foie. La masse totale de ces tissus a été estimée en considérant les pourcentages de PV respectifs chez la brebis présentés par Lautz et al. (2020) : 2,6% ; 35,3% ; 19,2% ; 0,4% et 15 % du PV pour respectivement le sang, le muscle, le tissu adipeux, le cœur et le foie. La quantité de CLD total dans ces tissus a été obtenue en multipliant le poids du tissu par la concentration de CLD respective obtenue lors de l'abattage. Pour estimer la quantité de CLD dans le muscle, la moyenne des concentrations de CLD dans la hampe et dans le long dorsal a été utilisée. Pour estimer la quantité de CLD dans le tissu adipeux, la moyenne des concentrations de CLD dans le TAPR et dans le TASC a été utilisée.

Etude de l'effet du temps d'abattage sur les concentrations de CLD dans les tissus. Pour tester l'effet du temps d'abattage sur les concentrations de CLD dans chaque tissu, une ANOVA a été réalisée suivie par un test post-hoc de Tukey.

Etude de l'effet du tissu sur les concentrations de CLD dans chaque groupe d'abattage. Un modèle non linéaire à effet mixte (package nlme, logiciel R) avec mesures répétées sur les brebis a été appliqué pour étudier l'effet du tissu sur les concentrations de CLD pour chaque groupe d'abattage.

Estimation des temps de demi-vies dans les tissus. Les temps de demi-vies de chaque tissu ont été calculés à partir des moyennes de concentrations obtenus à chaque abattage en utilisant un modèle monocompartimental (du même type que celui présenté pour le sérum en 1.3.1.(i).).

Estimation des corrélations entre les concentrations de CLD dans les différents tissus. Deux modèles de corrélations ont été construits : un en prenant en compte l'ensemble des données d'abattages (M1) et l'autre en prenant en compte les concentrations les plus faibles (correspondant aux lots d'abattages D, E et F ; M2). L'erreur du modèle M1 augmentant avec les concentrations, la création d'un sous-modèle sur les plus faibles concentrations permet d'obtenir des corrélations plus fiables sur les faibles concentrations qui correspondent à la majorité des données de terrain lors de contaminations environnementales. Ces modèles sont décrits dans la partie 2.3.2. de l'article 1.

(iii) Estimation des coefficients de partition

Les coefficients de partition (K_{pi}) ont été calculés pour chaque tissu i en utilisant les concentrations de CLD sériques et tissulaires obtenues sur les brebis abattues à 90 j de contamination (lot C) suivant l'équation (4) :

$$K_{pi} = \frac{C_i(90)}{C_s(90)} \quad (4)$$

Avec : $C_i(90)$ la concentration de CLD dans le tissu i à $t = 90$ j et $C_s(90)$ la concentration de CLD dans le sérum à $t = 90$ j (considéré comme l'état d'équilibre).

Les K_p obtenus ont été comparés entre les tissus avec une ANOVA avec mesures répétées sur les brebis suivie d'un test post-hoc de Tukey.

(iv) Comparaison des teneurs tissulaires de chlordécone entre les muscles du lot à l'équilibre et lien avec la composition en lipides

Les concentrations de CLD obtenues dans les 13 muscles prélevés sur les brebis abattues après 90 j de contamination (lot C) ont été comparés avec une ANOVA avec mesures répétées sur les brebis suivie d'un test post-hoc de Tukey.

Les corrélations entre la composition lipidique (concentration en triglycérides et concentration en lipides polaires) et la concentration de CLD ont été analysées en calculant un coefficient de Pearson. Pour $n=24$, la corrélation entre les deux concentrations est considérée statistiquement significative quand le coefficient de Pearson r est supérieur à 0,40. Pour les lipides corrélés à la concentration de CLD, un modèle linéaire a été construit. La qualité d'ajustement du modèle a été évaluée en calculant le R^2 . Le modèle a été validé en vérifiant la normalité des résidus en utilisant le test de Shapiro et en testant l'autocorrélation des résidus en utilisant le test de Durbin-Watson.

1.3.3. Analyse des données fécales

L'ensemble des calculs liés à l'excrétion fécale est présenté dans la partie 2.4. de l'article 2 « Use of toxicokinetic parameters to quantify pollutant transfer from animals to the environment during depuration process – application to chlordecone in ewes ». Dans cet article, les résultats des expérimentations A1 et A2 menés dans le cadre des travaux de Saint-Hilaire (2018) ont été valorisés et complétés par les données de l'expérimentation B.

Brièvement, l'expérimentation A1 a consisté en une administration *i.v.* unique de CLD (1 mg CLD kg⁻¹ PV, n=5) sur des brebis adultes non lactantes et non gestantes suivie d'une période de décontamination de 84 j. Cette première expérimentation a permis de calculer la clairance sérique d'élimination de la CLD mais aussi les clairances fécales et urinaires de la CLD et du CLDOH-t.

L'expérimentation A2 a consisté en une administration *i.v.* unique de CLDOH (1 mg CLDOH kg⁻¹ PV, n=3) sur des brebis adultes non lactantes et non gestantes suivie d'une période de décontamination de 3 j. Cette deuxième expérimentation a permis de calculer la clairance sérique d'élimination du CLDOH-t. A partir de ces paramètres toxicocinétiques, les pourcentages de CLD sérique excrétés via les fèces et les urines sous forme parent ou métabolites ont été calculés.

Les résultats de l'expérimentation B ont été analysés dans le but de montrer que l'utilisation des clairances sériques et fécales peuvent permettre d'estimer efficacement les quantités de CLD excrétées via les fèces sous forme parent et métabolites. Pour cela, deux méthodes de calculs ont été comparées pour estimer la CLD excrétée pendant la période de décontamination via les fèces dans l'expérimentation B. La première méthode a consisté à modéliser la cinétique fécale de CLD et de CLDOH, obtenue à partir des prélèvements réalisés tous les 14 j sur le lot F, pour calculer les quantités de CLD et de CLDOH excrétées pendant la période de décontamination. La seconde méthode a consisté à estimer les quantités de CLD et de CLDOH excrétés pendant la période de décontamination en se basant sur les cinétiques sanguines individuelles et en utilisant les paramètres de clairances fécales et sériques moyens obtenus dans l'expérimentation A1.

2. Résultats

2.1. Caractérisation de la distribution de la chlordécone chez la brebis

2.1.1. Corrélations entre les concentrations de chlordécone dans les tissus et leurs temps de demi-vies

Une partie des résultats du protocole B ont été valorisés dans l'article 1 « Characterization of chlordecone distribution and elimination in ewes during daily exposure and depuration », en révision dans Chemosphere et présenté ci-dessous.

Les objectifs de cet article sont de (i) caractériser la distribution et l'élimination de la CLD chez la brebis pendant une période d'exposition orale et une période de décontamination et (ii) d'établir des corrélations entre les concentrations de CLD dans les tissus.

**ARTICLE 1 CHARACTERIZATION OF CHLORDECONE DISTRIBUTION AND
ELIMINATION IN EWES DURING DAILY EXPOSURE AND DEPURATION**

1 Characterization of chlordecone distribution and elimination in ewes during 2 daily exposure and depuration

3 Aurore Fourcot¹, Cyril Feidt¹, Yves Leroux¹, Jean-Pierre Thomé², Guido Rychen¹, Agnès Fournier^{1*}

4 ¹ Université de Lorraine, INRA, USC 340, UR AFPA, TSA 40602, 54518 Vandœuvre-lès-Nancy, France

5 ² Université de Liège, LEAE-CART, Freshwater and Oceanic Sciences Unit of Research (FOCUS), B6C, Allée
6 du 6 Août, 11, 4000, Liège, Belgium

7 * Corresponding author. E-mail address: agnes.fournier@univ-lorraine.fr

8 Abstract

9 To reduce the exposure of the French West Indies population to the pollutant chlordecone (CLD), the
10 contamination of consumed products must be reduced. One of the strategies to secure safe animal
11 products is related to the depuration of contaminated animals. In order to set up this strategy *in situ*,
12 characterizing CLD distribution and elimination appears to be essential. The aim of this study is to
13 characterize CLD distribution and elimination in ewes, and establish correlations between CLD
14 concentrations in tissues following a continuous oral contamination period and a depuration period. The
15 experiment consisted in a 90-d period of CLD exposure via daily feeding at 0.01 mg kg⁻¹ body weight,
16 followed by a 127-d period of depuration. A total of 24 ewes were sequentially slaughtered and serum,
17 liver, perirenal fat, subcutaneous fat, shaft muscle, longissimus dorsi muscle and heart samples were
18 collected. CLD concentrations in serum and tissues were analyzed by GC-MS/MS and LC-MS/MS,
19 respectively. Whatever the time of sampling, CLD concentrations in liver were significantly higher than
20 in other collected tissues. However, the results showed that fat tissues stored the higher portion of CLD
21 body burden, followed by muscle, liver, serum and heart. CLD half-lives did not differ significantly
22 between tissues including serum and ranged between 20.2 ± 4.0 and 24.1 ± 4.9 d. Two linear models
23 were developed to estimate CLD concentration in tissues from a blood sample. This study illustrates the
24 theoretical methodology to estimate the time required to decontaminate farm animals from a blood
25 sample.

26 **Keywords:** Chlordecone, Ruminants, Tissues, Distribution, Depuration

27 Highlights

- 28 - The depuration half-life is not significantly different between tissues and is ranged between 20.2
29 ± 4.0 and 24.1 ± 4.9 d
- 30 - Significant differences were observed in CLD concentrations in tissues
- 31 - Serum is a good matrix for non-invasive biomonitoring CLD concentrations in tissues
- 32 - These results will be used to build a future CLD transfer model in ewes and to set up depuration
33 strategies of animals *in situ*

34 1. Introduction

35 Persistent organic pollutants (POPs) can affect territories in large scale and solutions must be found to
36 adapt breeding systems in order to ensure the production of safe products. In the French West Indies
37 (FWI), the use of the organochlorine pesticide chlordecone (CLD) from 1972 to 1993 has resulted in
38 long-term soil pollution and this compound may transfer from the contaminated soils to the food chain.
39 A recent study was conducted in 2013-2014 to characterize CLD impregnation of the FWI population,
40 and 90% of the FWI population presented detectable concentrations in serum (above 0.02 ng mL⁻¹;
41 ANSES, 2017). To reduce the exposure of the population, there is a real need to avoid the contamination
42 of consumed products.

43 In the FWI, ruminants (cattle, ewes and goats) are exclusively reared for meat. To protect the consumers'
44 health, the European Union fixed a Maximum Residue Limit (MRL) of 20 µg CLD kg⁻¹ of fresh matter
45 (FM) in meat (EFSA, 2020). Currently, the control of CLD level in carcasses is conducted in
46 slaughterhouses by analyzing a sample of perirenal fat. If the concentration of CLD in the perirenal fat
47 exceeds the MRL, the carcass has to be destroyed. In the FWI, the small ruminant sector is divided into
48 a small professional sector and a large informal sector. Animals are mainly raised outdoors whereas the
49 main route of animal exposure to CLD is related to involuntary soil ingestion (Jurjanz et al. 2017; Collas
50 et al., 2019). In the informal sector, animal products do not undergo any analysis. Therefore, the risk of
51 human exposure to CLD related to self-produced or informal sector products appears higher than in
52 conventional sector (ANSES, 2017). Different strategies have been proposed to adapt breeding systems
53 in order to ensure consumers' health protection. The depuration strategy consists in eliminating CLD
54 from the body by removing the access of the animals to contamination sources (Fournier et al., 2017;
55 Saint-Hilaire et al., 2019).

56 In order to implement *in situ* depuration strategies, toxicokinetic (TK) of CLD (absorption, distribution,
57 metabolization, excretion) needs to be characterized. A few studies have already provided data on these
58 processes. In ruminants, two TK studies based on a single intravenous injection of CLD were performed
59 in goats and ewes to estimate the main TK parameters of CLD (distribution volume and total body
60 clearance) in these two animal models (Fournier et al., 2017; Saint-Hilaire et al., 2019). Depuration
61 strategies appear to be relevant in ruminants because of the rather short elimination half-lives of CLD
62 (between 20 and 24 d in goats and ewes; Fournier et al., 2017; Saint-Hilaire et al., 2019) compared to
63 the overall rearing period of these species, ranging from about 1 year for small ruminants and 2-3 years
64 for cattle (Alexandre et al., 1999; Boval et al., 2015). In order to implement animal depuration strategies
65 *in situ*, the biomonitoring of CLD concentration in the different tissues and especially in perirenal fat
66 (management matrix) must be performed. Correlations between CLD concentrations in serum and
67 different tissues must be established and CLD half-lives in tissues must be known to estimate the
68 depuration time required to obtain CLD concentrations below the MRL. However, very few data are

69 available on CLD distribution in the organism to establish reliable correlations between tissues. Some
70 CLD concentration data in rats and cattle (Egle et al., 1978; ANSES, 2018) highlighted the particular
71 affinity of CLD for liver. To overcome the lack of data on CLD distribution, available data on other
72 organochlorine do not seem relevant to extrapolate to CLD because metabolic pathways and distribution
73 mechanisms are very different. Indeed, it is well established that PCBs or DDT are metabolized by
74 cytochrome P450s (Kaminsky et al., 1981; Safe, 1984) while CLD is metabolized by an
75 aldoketoreductase (Molowa et al., 1986). In addition, other organochlorine compounds often follow a
76 lipotropic distribution. Therefore, the dynamics of CLD distribution must be characterized to provide
77 CLD correlations between tissues and CLD half-lives in tissues.

78 In this study, ewes will be used as an animal model to characterize the TK processes of CLD in
79 ruminants. Indeed, ewes are easier to handle than cattle and these two species are physiologically close.
80 This study aimed to (i) characterize CLD distribution and elimination in ewes during an oral
81 contamination period and a depuration period, and (ii) establish correlations between CLD
82 concentrations in tissues.

83 **2. Material and methods**

84 2.1. Animals and management

85 This study was performed in the experimental facilities of the Bio-DA platform (URAFPA, Université
86 de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy, France). The experimental protocol was approved by the Lorraine
87 Ethics Committee (CELMEA) and the French Ministry of Higher Education and Research under the
88 project number APAFIS#15366-2018060510344515.

89 Twenty-four non-lactant and non-pregnant ewes (*Ovis aries*, from a farm located in Repel, France; 60.2
90 \pm 1.2 kg body weight (BW)) were used. Ewes were placed two-by-two in barns. Water, salt and meadow
91 hay were delivered *ad libitum*.

92 2.2. Experimental design

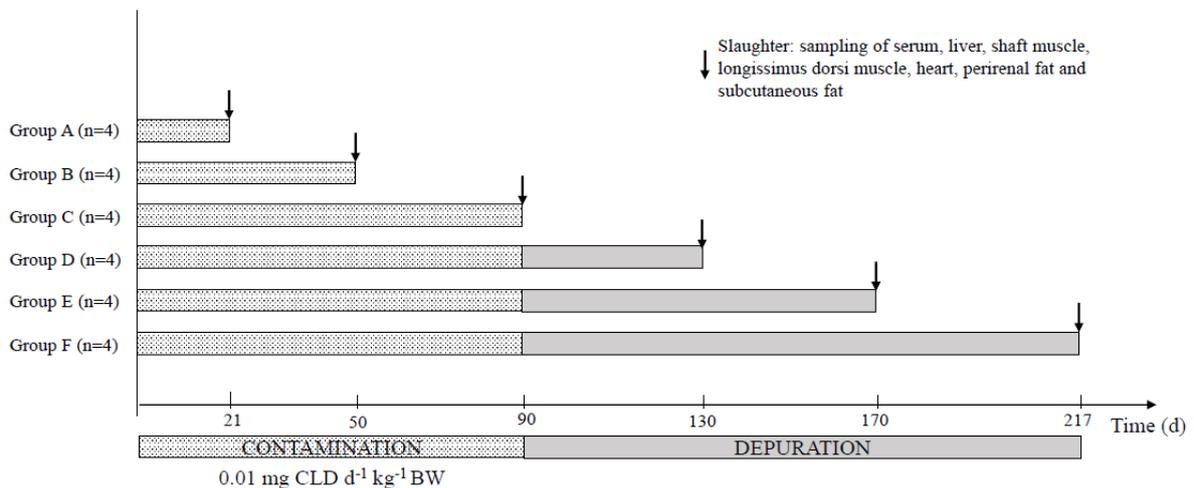
93 The experiment consisted in a 90-d period of CLD exposure followed by a 127-d period of depuration.
94 The experimental design is presented in Figure 1. After a 14-d acclimatization period, 24 ewes were
95 exposed to CLD during 90 d via daily feeding at 0.01 mg kg⁻¹ BW d⁻¹. The duration of the contamination
96 period was chosen knowing the serum half-life of CLD in ewes (24 \pm 1 d; Saint-Hilaire et al., 2019).
97 90% of the steady-state is assumed to be reached after 3.3 times the serum half-life. In this study, a
98 contamination period of 90-d (i.e. 3.75 times the serum half-life of CLD in ewes) was chosen to be close
99 to a steady-state in different tissues. The steady-state concentration can be estimated dividing the
100 administered daily dose (expressed in mg kg⁻¹ BW d⁻¹) by the total body clearance of CLD (50.6 mL d⁻¹
101 kg⁻¹ BW; Saint-Hilaire et al., 2019). Considering a daily dose of 0.01 mg kg⁻¹ BW, the steady-state

102 CLD concentration in serum could be estimated about $0.18 \mu\text{g mL}^{-1}$. This daily dose was chosen in order
 103 to obtain CLD concentrations in serum high enough to be easily measured all over the kinetics.
 104 Moreover, the total dose administered during the overall exposure period corresponds to 0.9 mg kg^{-1}
 105 BW which is close to the 1 mg kg^{-1} BW dose used in other CLD toxicokinetic studies in ewes or goats
 106 (Saint-Hilaire et al., 2019; Fournier et al., 2017).

107 Ewes were weighed twice a week during the exposure period to adjust the amount of contaminated feed
 108 per ewe. The standard diet was composed with meadow hay, 50 g of grain corn and 100 g of alfalfa.
 109 Complementary hay with corn and alfalfa aimed at meeting the nutritional requirements of this species.
 110 During the depuration period, ewes were only fed with the standard diet. During the exposure period,
 111 the standard diet was complemented with a feed mix composed of grain corn, corn gluten meal, beet
 112 pulp and contaminated sunflower oil with CLD (final CLD concentration in the feed mix: 14.3 mg CLD
 113 kg^{-1} FM). The composition of this contaminated mix was chosen to obtain a palatable and non-friable
 114 granulated feed. CLD concentration of the contaminated feed was chosen to obtain the daily dose in
 115 maximum 50 g of the granulated feed for ewe with an average weight of 70 kg, to maximize the
 116 ingestion.

117 The 24 ewes were divided into 6 groups of 4 ewes sequentially slaughtered (stunning followed by
 118 bleeding) after 21, 50 and 90 d of exposure and after 40, 80 and 127 d of depuration, corresponding to
 119 groups A, B, C, D, E and F, respectively.

120



121

122 Figure 1: Experimental design of the study

123 2.3. Measurement and sampling

124 *Blood sampling.* Before slaughter, a blood sample (4 x 7 mL) was taken by venipuncture (BD
 125 vacutainer®, ref 368815) at the jugular vein from all ewes. Collected blood samples were allowed to clot
 126 for 2 h at room temperature and at 4°C during 24 h before centrifugation at 3000 rpm for 15 min to

127 obtain serum samples which were stored at -20°C until analysis. Each sample was analyzed individually
128 to measure CLD concentration.

129 *Tissue sampling.* After slaughter, each ewe was weighed and several samples were taken: liver, perirenal
130 fat (PRF), last-rib subcutaneous fat (SCF), shaft muscle, longissimus dorsi (LD) muscle and heart. Three
131 types of muscles (more or less oxidative or glycolytic) were collected and analyzed in order to highlight
132 potential differences in CLD distribution between these muscles. Liver, PRF, shaft muscle, LD muscle
133 and heart were collected in their entirety and homogenized. A smaller sample was collected for
134 subcutaneous fat (18 ± 2 g; mean \pm SE) but always on the last rib. All tissue samples were weighed and
135 stored at -20°C until individual CLD analysis.

136 *Carcass crushing.* For groups C and F, the remaining carcasses (after tissue collection) were individually
137 crushed in the experimental facilities of INRAE-UEPR (Saint-Gilles, France). For each ewe, a
138 homogenous sample of the crushed mixture was collected and stored at -20°C until analysis. Each
139 sample was analyzed individually to measure CLD concentration.

140 2.4. Analytical methods of CLD in serum and tissues

141 2.4.1. CLD analysis in serum

142 CLD analysis in serum was conducted by the Center for Analytical and Research Technology at Liege
143 University (LEAE-CART, University of Liège, Belgium) as detailed in Fourcot et al. (2020). Briefly,
144 10-monohydrochlordecone (purity: 98%) synthesized by Dr. P.L. Saaidi (Génomique Métabolique,
145 Evry, France) according to Chevallier et al. (2019) was used as internal standard. This internal standard
146 was added to 2 mL of ewe serum sample in order to obtain a nominal concentration of $50 \text{ pg } \mu\text{L}^{-1}$ in the
147 final hexanic extract. After protein denaturation with trimethylamine and formic acid, CLD was
148 extracted with n-hexane/diethylether/acetonitrile/ethanol (80/15/4/1, v/v) using a solid-phase extraction
149 (SPE) on Supelclean Envi-C18 microcartridges (Supelco, Bellafonte, PA, USA) and subjected to acidic
150 purification using concentrated sulfuric acid 98% w/v. The final extract (100 μL of hexanic solution)
151 was spiked with PCB-209 ($100 \text{ pg } \mu\text{L}^{-1}$ in hexane) used as a volume internal standard in order to obtain
152 a nominal concentration of $50 \text{ pg } \mu\text{L}^{-1}$. The CLD limit of detection (LOD) was 0.02 ng mL^{-1} in the
153 serum, with a limit of quantification (LOQ) at 0.06 ng mL^{-1} . The extracts were analyzed by High
154 Resolution Gas Chromatography coupled to an ion trap mass spectrometer (Trace GC Ultra and ITQ
155 1100 from ThermoQuest, ThermoScientific, Waltham, MA, USA) in MS/MS mode. The recovery
156 efficiency of 10-monohydrochlordecone in the serum sample extracts ($n=98$) ranged from 76.12 % and
157 124.19 % with a mean value \pm standard deviation (SD) of 97.22 ± 15.25 %. Recovery rates were always
158 between 60 and 140% according to the requirement of SANCO (2014). The CLD concentrations were
159 corrected by the recovery percentage of the 10-monohydrochlordecone internal standard.

160 2.4.2. CLD analysis in tissues

161 CLD concentrations in liver, heart, shaft muscle, longissimus dorsi, perirenal fat, subcutaneous fat and
162 carcass samples were determined by Liquid Chromatography coupled with a tandem Mass Spectrometry
163 (LC-MS/MS) as described in Dromard et al. (2017), using the official method of the French National
164 Reference Laboratory (ANSES), in LABOCEA laboratory (Quimper, France), labeled by the French
165 Accreditation Committee (COFRAC). Briefly, CLD C13 was used as internal standard and added to all
166 samples. CLD was extracted from tissues with a solution of solvents: acetonitrile/dichloromethane
167 75/25 (v/v) and hexane/acetone 75/25 (v/v) for adipose tissue and hexane/acetone 85/15 (v/v) for liver
168 and muscle. CLD was transformed into chlordecone hydrate with soda and the aqueous phase was rinsed
169 with hexane. CLD was then subjected to acidic purification using concentrated sulfuric acid 60% and
170 extracted with a solution of hexane/acetone 85/15 (v/v). Concentrations of CLD in tissues were
171 expressed in $\mu\text{g CLD kg}^{-1}$ fresh matter (FM). The LOQ was $1.0 \mu\text{g CLD kg}^{-1}$ FM in muscle and liver
172 tissues and $3.0 \mu\text{g CLD kg}^{-1}$ FM in adipose tissues.

173 2.5. Toxicokinetic and statistical analyses

174 2.5.1. Estimations of CLD body burdens

175 *Estimation of body burden using carcass sample analysis.* For groups C and F, the body burden at
176 slaughter time was calculated by adding the CLD amount obtained in the crushed carcass and the CLD
177 amount obtained in tissue samples not incorporated into the crushed carcass. CLD amount in the crushed
178 carcass was calculated by multiplying the CLD concentration obtained in the carcass sample with the
179 crushed carcass weight. In the same way, the CLD amount in each sampled tissue was calculated by
180 multiplying the concentration in the tissue by its weight.

181 *Estimation of body burden using the distribution volume.* The volume of distribution reflects the
182 relationship between the xenobiotic amount in the body and the blood concentration at the steady-state.
183 The steady-state distribution volume of CLD in ewes has been estimated at 1.7 ± 0.2 L by Saint-Hilaire
184 et al. (2019). For the group C, the individual body burden of CLD (BB_{90}) at $t=90$ d was calculated
185 following the Eq. (1):

$$186 \quad BB_{90} = Cs(90) \times V_{ss} \quad (1)$$

187 where $Cs(90)$ is the individual CLD concentration in the serum at $t = 90$ d and V_{ss} the average steady-
188 state volume of distribution (1.7 L; Saint-Hilaire et al., 2019).

189 *Comparison of body burdens obtained in group C.* To compare the body burdens obtained in group C
190 using carcass sample analysis and using the average steady-state distribution volume of CLD in ewes, a
191 Student t-test was used (R version 3.6.2.). Before applying this parametric test, the normality of data
192 and equality of variances had been checked with a Shapiro-test and a F-test, respectively. The α level
193 for statistical significance was set at 0.05.

194 2.5.2. Tissues data analysis

195 All CLD concentrations in tissues are expressed in fresh matter (FM) basis and all data are shown as
196 mean \pm SE unless otherwise indicated. Statistical analyses were performed on R software (version
197 3.6.2.). The α level for statistical significance was set at 0.05.

198 *Estimation of CLD amounts in tissues.* CLD concentrations at slaughter obtained in tissues of the group
199 C ewes were used to estimate individual CLD amounts in blood, muscle, fat tissues, heart and liver.
200 Weight of the total mass of these tissues was estimated considering corresponding percentages of BW
201 in ewes presented in Lautz et al. (2020): 2.6 %, 35.3 %, 19.2 %, 0.4% and 1.5 % of the BW for serum,
202 muscle, adipose tissue, heart and liver, respectively. This review appears of adequate relevance since it
203 included sheep anatomical parameters from 48 independent studies. These percentages were multiplied
204 by the individual BW at slaughter to obtain the weight of the respective tissues. Total amounts of CLD
205 in tissues were obtained by multiplying the individual total weight of each tissue by corresponding
206 individual concentrations at slaughter. The average CLD concentration in shaft and longissimus dorsi
207 muscles was used to calculate the CLD amount in muscle. The average CLD concentration in PRF and
208 SCF was used to estimate the CLD amount in fat tissues.

209 *Effect of group on CLD concentrations for each tissue.* To study the effect of the slaughter time on CLD
210 concentrations for each tissue, a one-way analysis of variance (ANOVA) was used followed by Tukey's
211 post hoc test.

212 *Effect of tissue on CLD concentrations in each group.* A nonlinear mixed effects model (nlme package,
213 R software) with repeated measures on ewes was used to study the effect of the tissue on CLD
214 concentrations in each slaughter group. Since different tissues were taken from each animal at slaughter,
215 considering repeated measures helps to limit obtaining biased parameter estimates. The model was
216 followed by a Tukey's post hoc test.

217 *Estimation of CLD half-life in tissues.* For each tissue, mean CLD concentration kinetics were obtained
218 by calculating the mean of individual CLD concentrations (n=4) obtained for each slaughter time.
219 Considering the mean concentration kinetics during the depuration period (i.e. groups D, E and F), the
220 elimination half-life of CLD in tissue was estimated with a first order kinetic model following the Eq.
221 2:

$$222 \ln(C_{\text{tissue}}(t)) = \ln(C_{\text{tissue}}(90)) - k_{d, \text{tissue}} t \quad (2)$$

223 where $C_{\text{tissue}}(t)$ is the CLD concentration in the tissue i at time t , $C_{\text{tissue}}(90)$ the measured CLD
224 concentration in the tissue i after 90 d of exposure, $k_{d, \text{tissue}}$ the first order rate constant and t the time.

225 Elimination half-time life of each tissue ($t_{1/2, \text{tissue}}$) was calculated following the Eq. (3):

$$226 t_{1/2, \text{tissue}} = \ln(2) / k_{d, \text{tissue}} \quad (3)$$

227 *Estimation of correlations between CLD concentrations in tissues considering all slaughter groups.*
228 Correlations between CLD concentrations in liver, heart, shaft muscle, LD muscle, SCF, PRF and serum
229 were analyzed using a Pearson correlation coefficient. For n=24 (6 groups of 4 ewes), the correlation
230 between two tissues is considered statistically significant when the Pearson correlation coefficient r is
231 greater than 0.40. For tissues with a significant correlation, a linear regression model (M1) was built for
232 each tissue pair to estimate the equation that relates the concentrations between the two correlated tissues
233 and the associated 95% confidence range. The parameter “a” was estimated using a linear model of the
234 following form: $C_{\text{tissue } 2} = a C_{\text{tissue } 1} + b$, where $C_{\text{tissue } 1}$ is the CLD concentration in the tissue 1, $C_{\text{tissue } 2}$ is
235 the CLD concentration in the predicted tissue 2 and b the intercept. The reliability of the linear models
236 was assessed calculating the R-squared (R^2). The model was validated by verifying the normality of the
237 residues using the Shapiro-Wilk test and by testing the presence of serial correlations among the
238 residuals using the Durbin-Watson test. The absence of correlation between serial residuals
239 demonstrates the stability of the correlation quality over the studied range.

240 *Estimation of correlations between CLD concentrations in tissues considering only groups D, E and F.*
241 The error of the global linear model M1 is not constant and increases with the CLD concentration in
242 tissues. In order to estimate with more precision CLD concentration in tissues on animals with low or
243 medium contamination, a sub linear model was built (M2). Only tissue data from groups D, E and F
244 were used to build this sub-model. As in the model M1, the correlation between tissues was evaluated
245 using the Pearson test (n=12; r=0.58). For tissues with significant correlation, a linear model was built
246 for each tissue pair to estimate the correlation equation and the associated 95% confidence range. The
247 reliability of the model was assessed with the R-squared. Then, Shapiro and Durbin-Watson tests
248 allowed the validation of the model.

249 2.5.3. Estimations of partition coefficient of tissues

250 The partition coefficient K_{p_i} of a tissue i reflects the affinity of the molecule for a tissue (Toutain and
251 Bousquet-Mélou, 2004). This parameter is specific to each molecule, each tissue and each species. The
252 individual partition coefficient K_{p_i} of CLD was estimated from tissue concentrations of group C ewes
253 slaughtered after 90 d of contamination following the Eq. (4):

$$254 K_{p_i} = \frac{C_i(90)}{C_s(90)} \quad (4)$$

255 where $C_i(90)$ is the CLD concentration in the tissue i at t= 90 d and $C_s(90)$ the CLD concentration in
256 serum at t=90 d.

257 To compare K_p within a tissue group (fat tissues or muscles), a two-way ANOVA without interaction
258 was performed in each tissue group. The tissue was introduced as a factor and the ewe was introduced
259 as a block (n=4). The ANOVA was followed by Tukey’s post hoc test.

260 3. Results and discussion

261 3.1. CLD concentrations in serum and tissues

262 CLD concentrations in liver, PRF, SCF, shaft muscle, LD muscle, heart and serum according to the
263 slaughter group are presented in the Table 1. After the 127-d depuration period (group F), CLD
264 concentrations in the PRF, shaft muscle and LD muscle were below the LOQ ($3 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM). The chosen
265 daily dose resulted in CLD concentrations in PRF included in the concentration range observed *in situ*.
266 Indeed, the maximum CLD concentration in PRF observed in cattle during the control plans carried out
267 in 2019 were $182 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM in Guadeloupe and $252 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM in Martinique (internal communication,
268 French ministry of agriculture, Direction Générale de l'Alimentation (DGAL)).

269 For all tissues, time has a significant effect on CLD concentration in tissues ($P < 0.01$, one-way ANOVA;
270 Table 1). In each tissue, CLD concentration increased during the exposure period until it reached a
271 plateau of between 50 and 90 d (groups B and C). After the 90-d period of exposure (groups D to F),
272 CLD concentrations in all tissues rapidly decreased and were divided by approximately 9 between the
273 last day of contamination and the 40th d of the depuration period in all tissues except serum. For each
274 slaughter time, the tissue has a significant effect on CLD concentrations ($P < 0.05$, nonlinear mixed
275 effects model; Table 1). At each slaughter time, CLD is significantly more concentrated in liver than in
276 all other tissues or matrices. Overall, the liver is followed by fat tissues and heart, and by shaft, LD
277 muscles and serum.

278 Table 1 shows that no significant difference is observed between CLD concentrations in group B and
279 group C for all tissues except serum. This confirms that the steady-state can be considered to have been
280 reached after 90-contamination days. Indeed, since the 90-d contamination period is equivalent to 3.75
281 elimination half-lives (Saint-Hilaire et al., 2019), more than 90% of the equilibrium is assumed to have
282 been reached. The partition coefficient K_p of each tissue was estimated using CLD concentrations of
283 group C. The estimates of CLD K_p in the different collected tissues are presented in Table 2. In liver,
284 the K_p much higher ($K_p = 12.4 \pm 1.6$) than in other tissues confirms a peculiar affinity of CLD for liver.
285 This observation has been reported in humans (Cohn et al., 1978), in rats (Egle et al., 1978), in laying
286 hens (Jondreville et al., 2014b), in cattle (ANSES, 2018) and in pigs (Fourcot et al., 2020). Table 3
287 presents CLD concentration ratios between tissues in different animal species and highlights the
288 preferential affinity of CLD in liver. In addition, although the lack of data does not allow statistical
289 analyses, this table indicates that CLD concentration ratios seems to be quite similar between species.
290 This unusual distribution of CLD in liver may be due to peculiar affinities to albumin and high-density
291 lipoproteins (HDL; Soine et al., 1982; Soine et al., 1984). However, although CLD concentrations in
292 liver are higher than in fat or muscle tissues, in our study, fat tissues store the highest portion of CLD
293 body burden, followed by muscle, liver, serum and heart (Table 4).

294 Table 1: Chlordecone concentrations ($\mu\text{g kg}^{-1}$ fresh matter) vs. time in liver, adipose tissues, muscles and serum

295

Group	A	B	C	D	E	F	Time p-value	RMSE ¹
Exposure (d)	21	50	90	90	90	90		
Depuration (d)	0	0	0	40	80	127		
n	4	4	4	4	4	4		
CLD concentration ($\mu\text{g CLD kg}^{-1}$ FM)								
Liver	1118 \pm 76 ^{aA}	1780 \pm 71 ^{aB}	1875 \pm 30 ^{aB}	207 \pm 23 ^{aC}	144 \pm 39 ^{aC}	20 \pm 6 ^{aC}	< 0.01	96
PRF	309 \pm 17 ^{bA}	494 \pm 59 ^{bB}	475 \pm 60 ^{bB}	60 \pm 3 ^{bcC}	41 \pm 8 ^{bC}	<LOQ ^{bC}	< 0.01	71
SCF	313 \pm 21 ^{bA}	521 \pm 37 ^{bB}	487 \pm 19 ^{bB}	56 \pm 3 ^{bC}	36 \pm 5 ^{bC}	10 \pm 5 ^{abC}	< 0.01	39
Shaft muscle	137 \pm 8 ^{cA}	263 \pm 28 ^{cdB}	219 \pm 11 ^{cB}	22 \pm 2.3 ^{bcdC}	19 \pm 5 ^{bC}	<LOQ ^{bC}	< 0.01	26
LD	133 \pm 8 ^{cA}	222 \pm 7 ^{dB}	170 \pm 7 ^{cC}	20 \pm 2 ^{cdD}	16 \pm 3 ^{bD}	<LOQ ^{bD}	< 0.01	11
Heart	289 \pm 21 ^{bA}	452 \pm 18 ^{bcB}	442 \pm 10 ^{bB}	52 \pm 6 ^{bcC}	34 \pm 5 ^{bC}	5 \pm 2 ^{bC}	< 0.01	25
Serum	67.4 \pm 7.3 ^{cA}	104 \pm 10.3 ^{dA}	157 \pm 16.0 ^{cB}	8.3 \pm 0.3 ^{dC}	7.4 \pm 1.4 ^{bC}	1.7 \pm 0.3 ^{bC}	< 0.01	17
Tissue p-value	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01		
Ewe	0.027	0.818	0.092	0.113	0.038	0.015		
RMSE ²	54	84	51	17	26	5		

CLD: chlordecone; FM: fresh matter; PRF: perirenal fat; SCF: subcutaneous fat; LD: longissimus dorsi. Values are means \pm SE (n=4). When CLD concentrations were below LOQ, half of the limit of quantification was considered for the calculations. Values in the same row not followed by the same superscript capital letter differ significantly ($P < 0.05$). Values in the same column not followed by the same superscript lowercase letter significantly differ ($P < 0.05$).

Time p-value: effect of time on CLD concentrations in tissue (one-way ANOVA).

Tissue p-value: effect of tissue on CLD concentrations in each slaughter group (nonlinear mixed effects model with repeated measures on ewes).

Ewe: effect of the repeated measures on CLD concentrations in tissues.

RMSE: Root Mean-Square Error.

¹ RMSE corresponding to the one-way ANOVA to analyze the effect of group on CLD concentrations for each tissue.

² RMSE corresponding to the nonlinear mixed effects model with repeated measures on ewes to analyze the effect of tissue on CLD concentrations in each group.

296

In addition, K_p analysis allows a comparison of CLD behaviour in the fat tissues and muscles (Table 2). Similar K_p between PRF and SCF (P = 0.48) show that CLD may behave in the same way in both fat tissues. These observations are consistent with the results obtained by Lastel et al. (2016) who did not observe differences between CLD concentrations in PRF and SCF.

Unlike fat tissues, CLD distribution differs significantly between muscles. The calculated K_p of CLD are similar between shaft and LD muscles but significantly different between shaft muscle and heart (P < 0.01) and between LD muscle and heart (P < 0.01). These different K_p reveal a difference of CLD affinity between muscles that could be explained by muscle irrigation or lipid composition.

Table 2: Toxicokinetic parameters of CLD in liver, adipose tissues, muscles and serum

Tissue	k _d x 10 ³ (d ⁻¹)	R ² *	t _{1/2d} (d)	K _p
	mean ± SE		mean ± SE	
Liver	33.3 ± 5.7 ^a	0.95	20.8 ± 3.6 ^a	12.4 ± 1.6
PRF	33.7 ± 5.4 ^a	0.95	20.6 ± 3.4 ^a	3.2 ± 0.3 ^A
SCF	28.8 ± 5.7 ^a	0.93	24.1 ± 4.9 ^a	3.1 ± 0.4 ^A
Shaft muscle	30.3 ± 6.7 ^a	0.91	22.9 ± 5.2 ^a	1.4 ± 0.1 ^a
LD	34.3 ± 6.6 ^a	0.93	20.2 ± 4.0 ^a	1.1 ± 0.1 ^a
Heart	32.8 ± 6.6 ^a	0.95	21.1 ± 3.5 ^a	2.9 ± 0.4 ^b
Serum	32.5 ± 9.2 ^a	0.86	21.3 ± 6.5 ^a	-

Estimates obtained as described in the material and methods section.

PRF: perirenal fat; SCF: subcutaneous fat; LD: longissimus dorsi muscle.

k_d is the depuration rate constant; R² is the coefficient of determination; t_{1/2d} is the depuration half-life of CLD in the tissue; K_p is the partition coefficient of CLD in the tissue at the steady-state.

* The level of significance of the R² is 0.9025 or 0.81 considering α level for statistical significance at 0.05 or 0.1 respectively (n=4 sampling times with average CLD concentrations).

Values in the same column not followed by the same superscript letter differ significantly (P < 0.05).

Table 3: CLD concentrations ratio between different animal models

Specie	Liver / Muscle	Liver / Fat tissue	Fat tissue / Muscle	Reference
Ewes*	7.8 ± 0.4 / 1	3.7 ± 0.2 / 1	2.2 ± 0.1 / 1	Present study
Cattle	6.6 / 1	3.4 / 1	1.9 / 1	ANSES, 2018
Duck	-	3.9 / 1	2.0 / 1	Jondreville et al., 2014b
Laying hens	-	4.5 / 1	2.7 / 1	Jondreville et al., 2014a
Pigs	8.3 / 1	3.9 / 1	2.1 / 1	Fourcot et al., 2020
Rat	10 / 1	3 / 1	3 / 1	Egle et al., 1978
Human	-	2.2 / 1	-	Cohn et al., 1978

*Values are means ± SE (n=24) and considering shaft muscle.

Table 4: Estimated amounts of chlordecone into tissues on group C ewes after 90 contamination-days

Tissue	Tissue weight kg	CLD amounts µg	% of BB ²
Carcass	60.1 ± 1.9		
Serum	1.6 ± 0.1 ¹	257 ± 31 ^a	1.8 ± 0.1 ^a
Muscle	21.2 ± 0.7 ¹	4,131 ± 211 ^c	29.4 ± 1.0 ^c
Fat	11.5 ± 0.4 ¹	5,560 ± 486 ^d	39.5 ± 3.2 ^d
Heart	0.24 ± 0.01 ¹	106 ± 4 ^a	0.76 ± 0.06 ^a
Liver	0.90 ± 0.03 ¹	1,690 ± 48 ^b	12.1 ± 0.9 ^b

BW: body weight; BB: body burden

¹ Considering percentages of BW presented in Lautz et al. (2020)

The volume of serum was calculated considering that serum represents 55% of total blood

² Considering the BB estimated with carcass analysis, BB = 14.1 ± 1.0 mg

Values in the same column not followed by the same superscript letter differ significantly (P < 0.05).

3.2. Characterization of CLD elimination in serum and tissues

Estimation of CLD body burden. For the group C, the body burden obtained at t = 90 d of contamination using carcass sample analysis and using the steady-state distribution volume of CLD was of 14.1 ± 1.0 mg (mean ± SE) and 16.9 ± 2.0 mg (mean ± SE), respectively. No significant difference was observed between the two calculation methods of the body burden (P = 0.8643). The distribution volume is therefore an important TK parameter that allows a quick and reliable estimation of the body burden of an animal from a blood sample. This method is very important because the initial body burden of CLD must be estimated to consider depuration strategies *in situ*.

Characterization of global elimination of CLD. Serum concentration vs. time curve can be divided into two phases: the accumulation phase from t = 0 to t = 90 d, corresponding to the contamination phase and the decontamination phase from t = 91 to t = 217 d. In this study, the CLD half-life obtained in serum is 21.1 ± 6.5 d (mean ± SE). This half-life is consistent with that obtained of 23.9 ± 1.3 d (mean ± SE) in Saint-Hilaire et al. (2019) after a single intravenous (*i.v.*) administration of 1 mg CLD kg⁻¹ BW in ewes. For group F, the body burden at t = 90 d was estimated using carcass sample analysis method at 14.1 ± 1.0 mg (ewes of group C) and after 127 depuration-days, the remaining amount of CLD in the organism was estimated using carcass sample analysis at 0.1 mg ± 0.02 mg. Considering that the steady-state body burden is equal to the body burden at the beginning of the depuration phase, 99.3 ± 0.1 % of the initial body burden was eliminated during the 127-d depuration period. These results are consistent with the 24-d serum half-life of CLD in ewes (Saint-Hilaire et al., 2019). Indeed, the blood tissue reflects the overall contamination of the animal. After 127-depuration days, or 5.3 half-lives, more than 97% of CLD is expected to be eliminated.

Estimation of CLD half-lives in tissues. This study provided for the first-time data on CLD concentrations in tissues in ruminants undergoing contamination and depuration phases under controlled conditions. First order kinetic models were adjusted on depuration data to estimate CLD half-lives in different tissues. Estimates of the half-lives in tissues ranged from 20.2 ± 4.0 to 24.1 ± 4.9 d (Table 2) and are not significantly different. These observations are in accordance with results obtained in poultry that highlighted no significant difference in CLD half-lives between tissues. In hens, CLD half-lives were 5.0, 5.3 and 5.1 d in liver, abdominal fat and serum, respectively (Jondreville et al., 2014b). In ducks, CLD half-lives were 17; 22 and 21 d in liver, abdominal fat and muscle, respectively (Jondreville et al., 2014a). Half-life differences observed between hens and ducks are related to the egg laying rate. In ducks, the quite low laying rate probably limited the contribution of CLD elimination in eggs (Jondreville et al., 2014b). Thus, elimination rates of CLD appear similar between the different tissues for farm animals studied and this may be observed in other species. These results enable *in situ* application of depuration strategies. Indeed, if the elimination rate is similar between tissues, biomonitoring applications could be more easily implemented. Here, biomonitoring would consist in using a matrix to predict CLD concentration in other tissues. On the other hand, the study of Egle et al. (1978) on CLD distribution in rats highlighted that CLD levels declined in most tissues at a rate similar to those in blood, except for liver. Indeed, the liver: blood CLD concentrations ratio increased from 28:1 on day 1 to 126:1 on day 84 following a single oral administration of 40 mg kg^{-1} . This assumes a slower decontamination in liver than in other tissues (*i.e.* a higher half-life in liver). However, rats are considered to be a divergent model for CLD as they do not metabolize the molecule (Egle et al., 1978; Fariss et al., 1980). Indeed, CLD is known to be metabolized in humans, gerbils, pigs and ruminants (Fariss et al., 1980; Houston et al., 1981; Soine et al., 1983; Saint-Hilaire et al., 2018a; Saint-Hilaire et al., 2018b). The main metabolic pathway of CLD is the reduction of CLD to chlordecol (CLDOH) by an aldo keto reductase (called “chlordecone reductase”), then CLDOH can be conjugated by UDP glucuronosyl - or sulfonyl - transferase enzymes in glucuronated chlordecol (CLDOH-G) and sulfated chlordecol (CLDOH-S; Fariss et al., 1980).

3.3. Applications

Pearson coefficients estimates between tissues are between 0.88 and 0.99, meaning that all tissues present two-by-two significant correlations with each other ($n=24$; threshold at $P<0.05$; $r=0.40$). The Table 5 presents estimates of the correlation equations corresponding to the slope of the fitted lines obtained between CLD concentrations of the different tissues and the corresponding 95% confidence interval. Only the tissue pairs of interest to discuss biomonitoring (aim A) and carcass management (aim B) are presented in this table. Some of these correlations between CLD concentrations in tissues and the corresponding 95% confidence intervals are presented in Figure 2.

Use of serum matrix to estimate CLD concentrations in tissues (biomonitoring). Correlation between CLD concentrations in serum and liver, PRF and shaft muscle (table 5) shows that the serum matrix could be used as a biomonitoring matrix to estimate CLD concentrations in these tissues. The SCF could also be a good biomonitoring matrix to predict CLD concentration in the PRF. Indeed, the quality of the correlation between CLD concentrations in PRF and SCF is good ($R^2 = 0.94$; Figure 2). For other molecules such as PCDD, a significant correlation was found between dioxin levels in perirenal fat and subcutaneous fat ($R^2 = 0,9793$; SICVAF, 2009). According to these results, the authors proposed a biopsy of subcutaneous fat as an efficient method to guarantee the compliance of carcass with maximum levels for meat according to European regulation. However, an SCF sample collected by biopsy may be considered too invasive. In the following discussion, only serum will therefore be considered as a candidate biomonitoring matrix.

Estimation of the depuration time period required to obtain animal products under the MRL. In order to develop depuration strategies, the initial level of CLD contamination must be estimated and in particular the CLD concentration in the PRF. Indeed, in slaughterhouses, the level of CLD in a carcass is evaluated from a PRF sample. Currently, the MRL is set at $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM in the PRF to obtain less than $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM in meat (Arrêté du 23 mai 2019, NOR AGRG1913466A). To assess the CLD level in tissues, the statistical relationship between CLD concentrations in serum and tissues should be evaluated to perform biomonitoring.

Depending on the CLD level in the body, two correlation models were built. In a protective approach, the relationship between CLD concentrations in serum and PRF were described using the upper bound of the 95 % confidence interval.

For high concentrations (corresponding to CLD concentrations in serum above $10.7 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM or $63 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM in PRF), the global model M1 provides relationship between CLD concentration in tissues. CLD concentration in PRF can be estimated using CLD concentrations in serum following the Eq. (5):

$$C_{\text{PRF}, 97.5} = 3.7 C_{\text{serum}} + 53 \quad (5)$$

where $C_{\text{PRF}, 97.5}$ is the CLD concentration in the PRF considering the upper bound of the 95% confidence interval and C_{serum} the CLD concentration in serum. As the intercept was positive, it was integrated in the Eq. (5) to be protective (even if this parameter is not significant).

For low concentrations (corresponding to CLD concentrations in serum below $10.7 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM or $63 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM in PRF), the sub-model M2 is more appropriate. CLD concentration in PRF can be estimated using CLD concentration in serum following the Eq. (6):

$$C_{\text{PRF}, 97.5} = 8.8 C_{\text{serum}} \quad (6)$$

As the intercept was negative, it was not integrated in the Eq. (6) to be protective.

If the CLD concentration in the PRF is above the MRL, the carcass is destroyed. Knowing the relationship between CLD concentrations in PRF and serum, the CLD concentration in PRF can be estimated from a CLD serum sample and knowing the initial level of contamination in PRF, the decontamination time (t_d) to reach CLD concentrations in tissues below the MRL can be estimated following the Eq. (7):

$$t_d = -(1/k_{2.5}) \times \ln(\text{MRL} / C_{\text{PRF}, 97.5}) \quad (7)$$

where $k_{2.5}$ is the elimination rate constant of CLD in serum considering the lower bound of the 95% confidence interval (to obtain the highest half-life value and be protective); $k_{2.5} = k_{\text{mean}} - 2 \text{ SD}$.

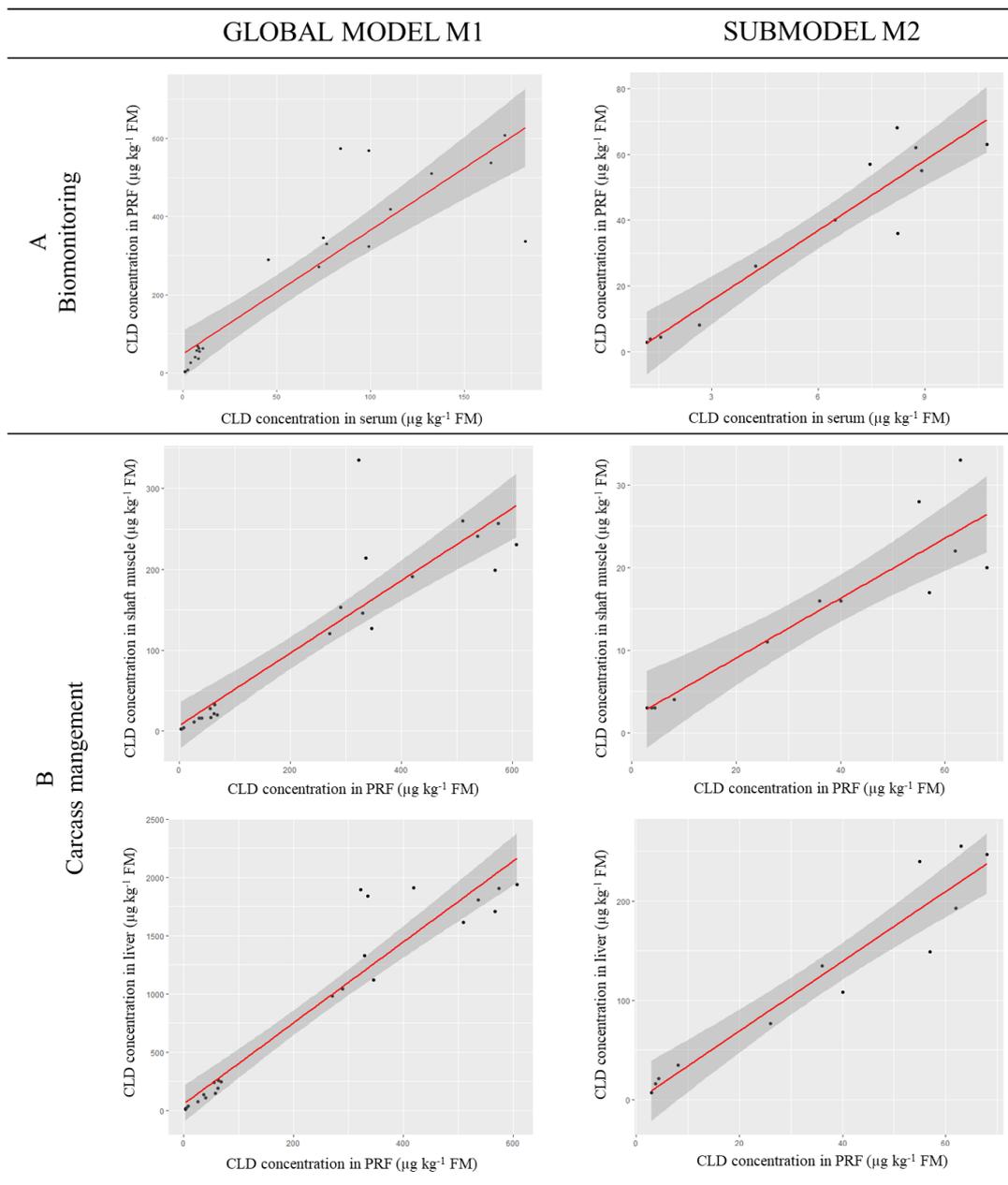


Figure 2: Correlations between CLD concentrations in tissues and corresponding 95% confidence intervals. PRF: perirenal fat; FM: fresh matter.

Use of correlations between CLD concentration in tissues for carcass management. Currently, the MRL is set in meat ($20 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM) but CLD control in carcasses are carried out from a perirenal fat sample (corresponding to the management matrix). In 2008, a decree set the MRL management value at $100 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM in perirenal fat (Arrêté du 30 juin 2008, NOR AGRG0816067A). In 2016, correlations between CLD concentrations in liver, muscle and perirenal fat were performed on 200 cattles reared in the FWI (ANSES, 2018). Following these results, the management value in perirenal fat has been modified by the French Ministry of Agriculture in cattle, from $100 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM to $27 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM, to respect the MRL in meat (Arrêté du 25 janvier 2019, NOR AGRG1901040A). In order to homogenize regulations between species, the management value has also been reduced in small ruminants and pigs (Arrêté du 23 mai 2019, NOR AGRG1913466A). Although no correlation data were available in ewes, the management value was set at $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM in perirenal fat to obtain $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM in meat. This study provided correlation data in ewes between CLD concentration in tissues and allow to discuss the current legislation. The correlations obtained between liver, shaft muscle and PRF in ewes are very close to those obtained in cattle. In cattle, the average slope 'a' relating CLD concentrations in shaft muscle and liver as a function of CLD concentration in PRF were 0.5 and 3.7 (ANSES, 2018) compared to 0.4 and 3.5 in ewes (sub model M2, Table 5), respectively. These similar results between the two species show the consistency of MRL modifications in ewes. To support this point, more precise calculations have been carried out. The calculations below are based on the correlations obtained with the sub-model M2 between CLD concentrations in PRF, liver, LD, shaft muscle and heart (Table 4). In a protective approach, because intercepts are non-significative, only positive intercepts were included in the calculations.

The concentration of $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM in the shaft muscle corresponds to an average concentration of $45 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM in the PRF. Using a 95% confidence interval, the concentration in the PRF is between 36 and $91 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM. A CLD concentration of $36 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM in PRF is therefore associated in 95% of cases with CLD concentrations in muscle below the target concentration of $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM in meat. In liver, the concentration of $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM corresponds to an average concentration of $5.7 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM in the PRF. Using a 95% confidence interval, the concentration in the PRF is between 4.7 and $7.1 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM. A CLD concentration of $4.7 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM in PRF is therefore associated in 95% of cases with CLD concentrations in liver below $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM in meat. Consequently, the MRL fixed at $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM in PRF is protective for muscle but not for liver. Since the liver is highly concentrated in CLD, if an animal presents quantifiable levels in PRF, the liver should be excluded to protect the consumer health. This measure is already used in carcass management. In the same way, CLD concentration of $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM in PRF is associated in 95% of cases with CLD concentrations in heart below $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM in meat. Consequently, the MRL fixed at $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ FM in PRF does not provide a large protection for heart. This point is not specified in the current legislation.

Conclusion

The current study confirms the peculiar distribution of CLD with a preferential accumulation in liver followed by a moderate accumulation in fat tissues and muscles. The quite short half-lives of CLD in the different tissues are not significantly different and ranged between 20.6 and 24.1 d. The similarity between the half-lives allows to consider the use of matrices such as serum to carry out biomonitoring and facilitate the implementation of depuration strategies *in situ*. This study provided correlation data between serum and different tissues that are essential to use serum to predict CLD concentrations in other tissues. This study also described a method to estimate depuration time period required to produce safe animal products. Tissue data, partition coefficients and tissue half-lives obtained in this study will be used to define the parameters of a physiologically based pharmacokinetic model of CLD in ewes (in preparation).

Acknowledgements

The experimentation was funded by ANR (Agence Nationale de la Recherche, Paris, France) through research program INSSICCA (ANR-16-CE21-0008-01). The authors thank Claire Collas, Matthieu Delannoy, Frédéric Desor, Hervé Toussaint, Stefan Jurjanz, Marion Cizo, Claire Soligot, Alain Iuretig, François Le Cor, Sylvain Slaby (UR AFPA) for their contribution. They thank Hadiza Ado Kanta and Hadja Ramata Sidibe (URAFPA) for their help in daily care of animals. They are grateful to Pamela Hartmeyer (UR AFPA) for her support during the experiments. They warmly thank Catherine Adam (LEAE-CART) for CLD analysis in serum. They thank the team of the experimental slaughterhouse of INRAE-UEPR (Rennes, France) for the carcass crushing.

Conflict of interest

The authors have no conflicts of interest.

References

- Alexandre, G., Aumont, G., Mainaud, J.C., Fleury, J., Naves, M., 1999. Productive performances of Guadeloupean Creole goats during the suckling period. *Small Ruminant Research*. 34,155-160. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(99\)00051-6](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(99)00051-6).
- ANSES, 2017. Exposition des consommateurs des Antilles au chlordécone, résultats de l'étude Kannari. <https://www.anses.fr/fr/system/files/ERCA2014SA0029Ra.pdf>.
- ANSES, 2018. Rapport de synthèse n°PBM / 2017 / 03. Recherche de chlordécone dans la graisse périrénale, le foie et le muscle de bovins en Martinique et Guadeloupe (TRIPLET). <https://www.anses.fr/fr/system/files/ERCA2018SA0202-Anx.pdf>.
- Boval, M., Edouard, N., Naves, M., Sauvants, D., 2015. Performances de croissance et efficacité alimentaire des bovins au pâturage en conditions tropicales : étude par méta-analyse. *INRA Productions Animales*. 28, 315-328. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2015.28.4.3036>.

Boylan, J.J., Cohn, W.J., Egle, J.L., Blanke, R.V., Guzelian, P.S., 1979. Excretion of chlordecone by the gastrointestinal tract: Evidence for a nonbiliary mechanism. *The Journal of Clinical Pharmacology*. 25, 579-585. <https://doi.org/10.1002/cpt1979255part1579>.

Cabidoche, Y.-M., Achard, R., Cattan, P., Clermont-Dauphin, C., Massat, F., Sansoulet, J., 2009. Long-term pollution by chlordecone of tropical volcanic soils in the French West Indies: A simple leaching model accounts for current residue. *Environmental Pollution*. 157, 1697-1705. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.12.015>.

Chevallier, M.L., Dela-Negra, O., Chaussonnerie, S., Barbance, A., Muselet, D., Lagarde, F., Darii, E., Ugarte, E., Lescaop, E., Fonknechten, N., Weissenbach, J., Woignier, T., Gallard, J.-F., Vuilleumier, S., Imfeld, G., Le Paslier, D., Saaidi, P.-L., 2019. Natural chlordecone degradation revealed by numerous transformation products characterized in key French West Indies environmental compartments. *Environmental Science & Technology*. 53, 6133-6143. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b06305>.

Cohn, W.J., Boylan, J.J., Blanke, R.V., Fariss, M.W., Howell, J.R., Guzelian, P.S., 1978. Treatment of chlordecone (kepone) toxicity with cholestyramine – results of a controlled clinical trial. *The New England Journal of Medicine*. 298, 243-248. <https://doi.org/10.1056/NEJM197802022980504>.

Collas, C., Mahieu, M., Tricheur, A., Crini, N., Badot, P.-M., Archimède, H., Rychen, G., Feidt, C., Jurjanz, S., 2019. Cattle exposure to chlordecone through soil intake. The case-study of tropical grazing practices in the French West Indies. *Science of the Total Environment*. 668, 161-170. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.384>.

EFSA, 2020. Statement on the dietary exposure assessment for the temporary maximum residue levels for chlordecone in certain products of animal origin. *EFSA Journal*. 18 (3), 6052-6058. <https://www.doi.org/10.2903/j.efsa.2020.6052>.

Egle, J.L., Fernandez, S.B., Guzelian, P.S., Borzelleca, J.F., 1978. Distribution and excretion of chlordecone (Kepone) in the rat. *Drug Metabolism and Disposition*. 6, 91-95.

Fariss, M.W., Blanke, R.V., Saady, J.J., Guzelian, P.S., 1980. Demonstration of major metabolic pathways for chlordecone (kepone) in humans. *Drug Metabolism and Disposition*. 8, 434-438.

Fourcot, A., Feidt, C., Bousquet-Mélou, A., Ferran, A.A., Gourdine, J.-L., Bructer, M., Joaquim-Justo, C., Rychen, G., Fournier, A., 2020. Modeling chlordecone toxicokinetics data in growing pigs using a nonlinear mixed-effects approach. *Chemosphere*. 250, 126151. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126151>.

Fournier, A., Feidt, C., Lastel, M.-L., Archimède, H., Thomé, J.-P., Mahieu, M., Rychen, G., 2017. Toxicokinetics of Chlordecone in goats: Implications for risk management in French West Indies. *Chemosphere*. 171, 564-570. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.054>.

Houston, T.E., Mutter, L.C., Blanke, R.V., Guzelian, P.S., 1981. Chlordecone alcohol formation in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*): a model for human metabolism of chlordecone (kepone). *Fundamental and Applied Toxicology*. 1, 293-298. [https://doi.org/10.1016/S0272-0590\(81\)80132-7](https://doi.org/10.1016/S0272-0590(81)80132-7).

-
- Jondreville, C., Lavigne, A., Jurjan, S., Dalibard, C., Liabeuf, J.M., Clostre, F., Lesueur-Jannoyer, M., 2014a. Contamination of free-range ducks by chlordecone in Martinique (French West Indies): a field study. *Science of the Total Environment*. 493, 336-341. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.083>.
- Jondreville, C., Fournier, A., Mahieu, M., Feidt, C., Archimède, H., Rychen, G., 2014b. Kinetic study of chlordecone orally given to laying hens (*Gallus Domesticus*). *Chemosphere*. 114, 275–281. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.05.008>.
- Jurjan, S., Collas, C., Lastel, M.-L., Godard, X., Archimède, H., Rychen, G., Mahieu, M., Feidt, C., 2017. Evaluation of soil intake by growing Creole young bulls in common grazing systems in humid tropical conditions. *Animal*. 11. <https://doi.org/10.1017/S1751731116002755>.
- Kaminsky, L.S., Kennedy, M.W., Adams, S.M., Guengerich, F.P., 1981. Metabolism of dichlorobiphenyls by highly purified isozymes of rat liver cytochrome P-450. *Biochemistry*. 20, 7379-7384. <https://doi.org/10.1021/bi00529a009>.
- Lastel, M.-L., Lerch, S., Fournier, A., Jurjan, S., Mahieu, M., Archimède, H., Feidt, C., Rychen, G., 2016. Chlordecone disappearance in tissues of growing goats after a one-month decontamination period – effect of body fatness on chlordecone retention. *Environmental Science and Pollution Research*. 23, 3176-3183. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5833-4>.
- Lautz, L.S., Dorne, J.L.C.M., Oldenkamp, R., Hendriks, A.J., Ragas, A.M.J., 2020. Generic physiologically based kinetic modelling for farm animals: Part I. Data collection of physiological parameters in swine, cattle and sheep. *Toxicology Letters*. 319, 95-101. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2019.10.021>.
- Molowa, D.T., Wrighton, S.A., Blanke, R.V., Guzelian, P.S., 1986. Characterization of a unique aldo-keto reductase responsible for the reduction of chlordecone in the liver of the gerbil and man. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 17, 375–384. <https://doi.org/10.1080/15287398609530832>.
- Safe S. Polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated biphenyls (PBBs): biochemistry, toxicology, and mechanism of action. *Critical Reviews in Toxicology*. 1984;13(4):319-95. <https://doi.org/10.3109/10408448409023762>.
- Saint-Hilaire, M., Bertin, T., Inthavong, C., Guérin, T., Fournier, A., Feidt, C., Rychen, G., Parinet, J., 2018a. Validation of analytical methods for chlordecone and its metabolites in the urine and feces of ewes. *Journal of Chromatography B*. 1093–1094, 66–76. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.06.058>.
- Saint-Hilaire, M., Inthavong, C., Bertin, T., Lavison-Bompard, G., Guérin, T., Fournier, A., FEidt, C., Rychen, G., Parinet, J., 2018b. Development and validation of an HPLC-MS/MS method with QuEChERS extraction using isotopic dilution to simultaneously analyze chlordecone and chlordecol in animal livers. *Food Chemistry*. 252, 147-153. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.01.092>.
- Saint-Hilaire, M., Rychen, G., Thomé, J.-P., Joaquim-Justo, C., Le Roux, Y., Feidt, C., Fournier, A., 2019. Linear toxicokinetic of chlordecone in ewe's serum. *Environmental Science and Pollution Research*. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05800-z>.

SANCO, 2014. Guidance Document on Analytical Quality Control and Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed. SANCO/12571/ 2013Supersedes SANCO/12495/2011, p. 48. http://www.eurl-pesticides.eu/library/docs/allcrl/AqcGuidance_Sanco_2013_12571.pdf (Accessed 6 September 2016).

SICVAF, 2009. Analytical capacities of National Reference Laboratories (NRLs) and Official Laboratories (OFLs) in case of dioxin incidents in the feed and food chain and conclusions for management in crisis situations. State Institute for Chemical and Veterinary Analysis of Food, Freiburg, Germany. July 2019. https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/cs_contaminants_catalogue_dioxins_emergency_analyses_en.pdf.

Soine, J.S., Blanke, R.V., Guzelian, P.S., Schartz, C.C., 1982. Preferential binding of chlordecone to the protein and high-density lipoprotein fractions of plasma from humans and other species. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 9, 107-118. <https://doi.org/10.1080/15287398209530146>.

Soine, P.J., Blanke, R.V., Schwartz, C.C., 1983. Chlordecone metabolism in the pig. *Toxicology Letters*. 17, 35–41. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(83\)90032-2](https://doi.org/10.1016/0378-4274(83)90032-2).

Soine, P.J. and Blanke, R.V., 1984. High-density lipoproteins decrease the biliary concentration of chlordecone in isolated perfused pig liver. *Journal of Toxicology and Environmental Health*. 14, 319-335.

Toutain, P. L. and Bousquet-Melou, A. 2004. Volumes of Distribution. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 27, 441–53. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2004.00602.x>.

L'article 1 a permis d'estimer les temps de demi-vies de la CLD dans les tissus et d'établir des corrélations entre les concentrations de CLD dans les tissus nécessaires pour pouvoir mettre en place des stratégies de décontamination *in situ*. Par ailleurs, des différences de distribution entre le cœur et les autres muscles (hampe et muscle long dorsal) ont été mises en évidence. Pour le lot abattu à l'équilibre (lot C), des muscles supplémentaires ont été prélevés et analysés pour étudier les potentielles différences de distribution entre les muscles. Ces résultats complémentaires sont présentés ci-dessous et feront l'objet d'une future publication.

2.1.2. Distribution hétérogène de la chlordécone selon les tissus expliquée par la composition en lipides

Pour explorer plus en détail les différences de distribution tissulaires, 13 muscles ont été prélevés sur le lot d'animaux abattu après 90 j de contamination (lot C, considéré à l'équilibre). La figure 10 présente les concentrations de CLD obtenues dans les différents muscles prélevés sur ce lot d'animaux.

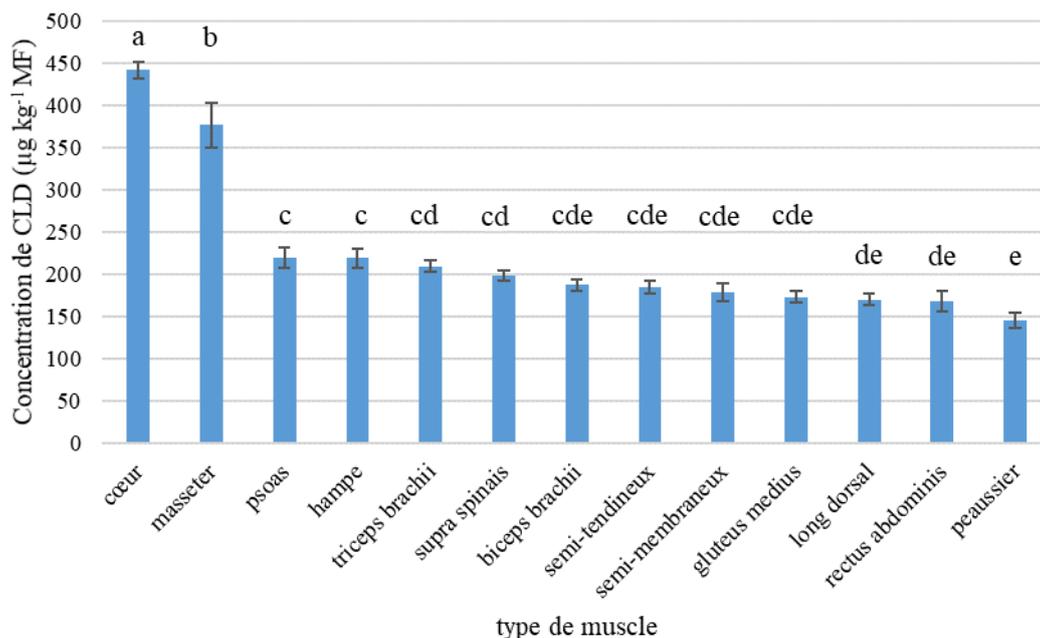


Figure 10: Concentrations de chlordécone obtenues dans les différents muscles

Les valeurs correspondent à la moyenne \pm SE (n=4).

La figure 10 montre que la distribution de la CLD diffère significativement entre les muscles. Ces différences de distribution entre les muscles peuvent être expliquées par le type de métabolisme du muscle (glycolytique ou oxydatif), par son irrigation ou par sa composition en lipides. Pour valider ou infirmer la troisième hypothèse, les lipides ont été dosés et caractérisés dans 6 muscles. Le coefficient de Pearson calculé entre les concentrations de CLD et les concentrations de triglycérides est de -0,038. La distribution de la CLD n'est donc pas pilotée par les triglycérides. Le coefficient de Pearson calculé entre les concentrations de CLD et les concentrations de lipides polaires (cholestérol libre et

phospholipides) est de 0,91. La figure 11 présente la corrélation entre les concentrations de lipides polaires et de CLD. La qualité de la corrélation est bonne car le R^2 est de 0,82. La distribution de la CLD dans les muscles est donc pilotée par les lipides polaires : les muscles les plus concentrés en lipides polaires sont les plus concentrés en CLD. Ces résultats sont cohérents avec ceux d'une étude menée chez le chevreau (Lerch et al., 2018). Cette dernière a montré que la concentration de CLD est beaucoup plus élevée dans le foie que dans le tissu adipeux ou le muscle lorsque la concentration est exprimée sur la base des lipides totaux alors que les concentrations ne sont pas significativement différentes entre les trois tissus lorsque les concentrations sont exprimées en base de lipides polaires. Cependant, à notre connaissance, aucune étude n'avait pour l'instant démontré une hétérogénéité de la distribution de la CLD entre les muscles ni identifié le pilotage de la distribution de la CLD par les lipides polaires.

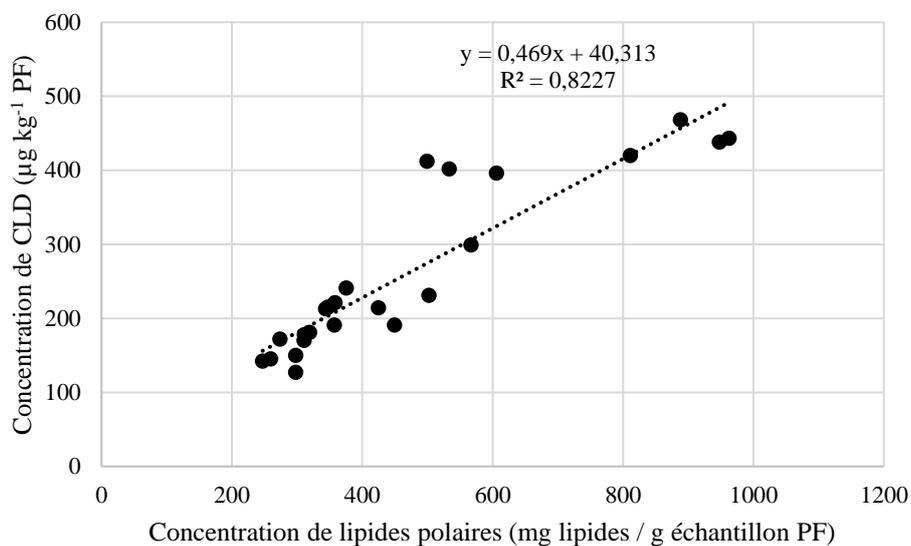


Figure 11: Corrélations entre les concentrations de chlordécone dans les muscles en fonction des concentrations en lipides polaires (cholestérol libre et phospholipides)

Les résultats présentés dans l'article 1 ont montré que bien que la CLD soit lipophile, la CLD a un comportement particulier avec le foie. Pour explorer cette distribution particulière, les lipides ont été dosés et caractérisés dans les échantillons de foie des brebis abattues après 90 j de contamination (lot C). La figure 12 présente les concentrations de CLD dans les muscles et dans le foie en fonction des concentrations en lipides polaires. La CLD ne se distribue pas de la même façon entre les muscles et le foie. Les lipides polaires n'expliquent donc pas à eux seuls la distribution particulière de la CLD dans le foie. Cette dernière peut être expliquée par d'autres mécanismes comme des liaisons aux protéines hépatiques par exemple (Belfiore et al., 2007). Par ailleurs, des études menées chez l'homme, le rat et le porc ont démontré une forte affinité de la CLD pour l'albumine et les lipoprotéines de haute densité (HDL, High-density lipoprotein ; Skalsky et al., 1979 ; Soine et al., 1982). La fixation de la CLD sur ces protéines ou lipoprotéines pourrait expliquer cette distribution particulière car la CLD serait éliminée du compartiment sanguin au niveau du foie.

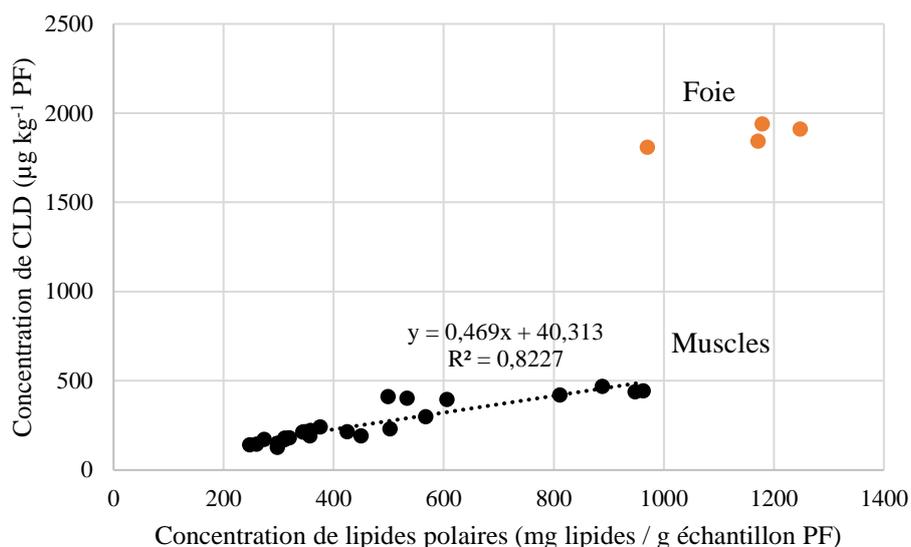


Figure 12: Corrélations entre les concentrations de chlordécone dans les muscles et dans le foie en fonction des concentrations en lipides polaires (cholestérol libre et phospholipides)

2.2. Caractérisation de l'élimination de la chlordécone chez la brebis

L'analyse des données sériques, fécales et urinaires des expérimentations A1 et A2 (Saint-Hilaire, 2018) ont été analysées dans cette thèse et complétées par les résultats des cinétiques sérique et fécale de CLD obtenues dans l'expérimentation B. L'ensemble de ces résultats ont été valorisés dans l'article 2 « Use of toxicokinetic parameters to quantify pollutant transfer from animals to the environment during depuration process – application to chlordane in ewes », en préparation et présenté ci-dessous.

Les objectifs de cet article sont (i) de caractériser et de quantifier l'élimination de la CLD chez la brebis pendant une période de décontamination par rapport à une dose ou une charge corporelle initiale et (ii) de présenter une méthode générique de quantification de l'excrétion basée sur le calcul de clairances sanguines, urinaires et fécales pouvant être utilisée pour des applications de toxicologie environnementale.

**ARTICLE 2 USE OF TOXICOKINETIC PARAMETERS TO QUANTIFY
POLLUTANT TRANSFER FROM ANIMALS TO THE ENVIRONMENT DURING
DEPURATION PROCESS – APPLICATION TO CHLORDECONE IN EWES**

1 Use of toxicokinetic parameters to quantify pollutant transfer from animals to
2 the environment during depuration process – application to chlordecone in ewes

3 Maïlie Saint-Hilaire¹, Aurore Fourcot¹, Alain Bousquet-Melou², Guido Rychen¹, Jean-Pierre Thomé³,
4 Julien Parinet⁴, Cyril Feidt¹, Agnès Fournier^{1*}

5 ¹ Université de Lorraine, INRAE, USC 340, UR AFPA, 54000 Nancy, France

6 ² INTHERES, Université de Toulouse, INRAE, ENVT, 31000 Toulouse, France

7 ³ Université de Liège, LEAE-CART, Freshwater and Oceanic Sciences Unit of Research (FOCUS), B6C, Allée
8 du 6 Août, 11, 4000, Liège, Belgium

9 ⁴ Université de Paris-Est, ANSES, Laboratory for Food Safety, 84700 Maisons-Alfort, France

10 * Corresponding author. E-mail address: agnes.fournier@univ-lorraine.fr

11 **Version non définitive, en préparation.**

12 **Maïlie Saint-Hilaire and Aurore Fourcot contributed equally to this work.**

13

14 Abstract

15 The use of chlordecone (CLD) as pesticide in the French West Indies resulted in long-term soil pollution.
16 This compound transfers from soil to the food chain, including animal products. One of the solutions
17 proposed to obtain safe animal products in CLD contaminated areas is the depuration strategy which
18 consists at avoiding CLD exposure a few weeks before slaughter. The aim of this study was to
19 characterize and quantify CLD elimination in ewes during depuration process. Experiment A1 consisted
20 in a single administration by *intravenous (i.v.)* route (1 mg CLD kg⁻¹ body weight, BW) followed by a
21 84-d depuration period (n=5) with collection of blood, faeces and urine samples. Experiment A2
22 consisted in a single administration of chlordecol (CLDOH, the main CLD metabolite) by *i.v.* route (1
23 mg CLDOH kg⁻¹ BW) followed by a 3-d depuration period (n=3) with collection of blood samples.
24 Experiment B consisted in a chronic oral administration of CLD during 90 d followed by a 127-d
25 depuration period (n=4) with collection of blood and faeces samples. After *i.v.* CLD administration
26 (experiment A1), CLD and conjugated-CLDOH (CLDOH-C) were quantified in serum and urine and
27 CLD and CLDOH were quantified in faeces. Based on experiments A1 and A2, faecal, urinary and body
28 clearances of CLD and total CLDOH (CLDOH-t) have been estimated. Faeces are the major route of
29 CLD excretion. About 82% of the CLD administered dose (experiment A1) was eliminated in faeces,
30 either as parent CLD (51 ± 4 %) or as CLDOH CLDOH-t (31 ± 5 %). This study showed that clearance
31 parameters can be used to quantify CLD excretion as parent CLD and CLDOH by animals during
32 depuration process.

33 **Keywords:** Chlordecone, Ruminants, Depuration, Chlordecol, Faeces

34 Highlights

- 35 - After CLD administration, CLD and CLDOH-C were quantified in serum and urine and CLD
- 36 and CLDOH were quantified in faeces.
- 37 - 82% of CLD is excreted in faeces as parent form or CLDOH.
- 38 - 3% of CLD is excreted in urine as parent form or CLDOH-C.
- 39 - CLD excretion during a depuration period can be easily quantified using faecal and urinary
- 40 clearances.

41 1. Introduction

42 Persistent organic pollutants (POPs) can lead to important soil pollution and solutions must be found to
43 adapt production systems in order to avoid contamination of food products. In the French West Indies
44 (FWI), extensive use of chlordecone in banana field from 1972 to 1993 has resulted in long-term
45 pollution of soils (Le Déaut and Procaccia, 2009). Part of these agricultural areas is cultivated or used
46 as pasture for grazing animals. It is known that CLD transfers from soil to the food chain, thus,
47 production of CLD-free products in contaminated areas may be compromised. However, farming
48 systems located on contaminated areas are important since they provide real ecosystemic benefits:
49 supporting, provisioning, regulating and cultural services. In the FWI, breeding represents almost 20%
50 of the total turnover of the agricultural production (IEDOM, 2015). One of the strategies that have been
51 proposed to adapt breeding systems and ensure consumers' health protection is based on depuration
52 process (Fournier et al., 2017). This strategy consists at removing the animals from CLD exposure to
53 ensure their depuration. This approach appears to be relevant because, although the elimination half-life
54 of CLD in ruminants is rather low (between 20 and 40 d; Mahieu et al., 2014; Fournier et al., 2017;
55 Saint-Hilaire et al., 2019) it is still short compared to the duration of the rearing period (around 1 year
56 for small ruminants and 2-3 years for cattle). If these depuration strategies are implemented, the quantity
57 of CLD and metabolites that would be released into the environment must be evaluated in order to
58 anticipate potential treatment of the contaminated effluents.

59 Some data are already available on CLD elimination by the organisms. CLD is known to be metabolized
60 in humans, gerbils, pigs and ruminants (Fariss et al., 1980; Houston et al., 1981; Soine et al., 1983;
61 Fourcot et al., 2020; Saint-Hilaire et al., 2018b). This compound is reduced to chlordecol (CLDOH) by
62 an aldo keto reductase, called the "*chlordecone reductase*" enzyme; then CLDOH can be conjugated by
63 UDP *glucuronosyl* - or *sulfonyl* - *transferase* enzymes in glucuronated chlordecol (CLDOH-G) and
64 sulfated chlordecol (CLDOH-S; Fariss et al., 1980). In contaminated ewes, it has been observed that
65 CLD is excreted in faeces either unchanged or in its metabolized form CLDOH. In urine samples, CLD
66 and conjugated CLDOH (CLDOH-C) could be quantified (Saint-Hilaire et al., 2018a). Overall, the
67 faecal route is supposed to be the main route of CLD excretion in rats and gerbils (Egle et al., 1978;
68 Houston et al., 1981). However, no data is available on quantification of CLD excretion. Moreover, the

69 rate of CLD biotransformation into metabolites and elimination of metabolites has never been studied
70 or quantified.

71 The aims of this study were first to characterize and quantify the main CLD elimination pathways in
72 ewes, and secondly to propose and validate a general methodology for the quantification of pollutant
73 transfer from animals to the environment. This quantification is essential because the transfer of CLD
74 on non-contaminated areas raises concerns, and based on this work, local stakeholders and authorities
75 should be able to evaluate acceptability of depuration strategies in terms of CLD excretion.

76 **2. Material and methods**

77 This study used data from three complementary experiments: A1, A2 and B. Two experiments (A1 and
78 A2) based on intravenous (*i.v.*) administration of CLD and CLDOH, respectively, were performed to
79 obtain toxicokinetic parameters (total body and faecal clearances) of CLD and CLDOH. These
80 toxicokinetic parameters are required for quantification of CLD elimination in ewes as parent or
81 metabolite forms. A third experiment (B) based on chronic oral administration of CLD followed by a
82 depuration period has been carried out to mimic a field exposure situation. This last experiment is
83 necessary to validate the calculation method using toxicokinetic parameters to quantify CLD excretion
84 in faeces during a depuration period. All the three experiments were performed in the experimental
85 facilities of the Bio-DA platform (URAFPA, Université de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy, France)
86 and were approved by the Lorraine Ethics Committee (CELM EA) and the French Ministry of Higher
87 Education and Research under the project number APAFIS#2016062217188805, APAFIS#14815-
88 2018042409503299 and APAFIS#15366-2018060510344515 for the experiments A1, A2 and B
89 respectively. A total of 12 ewes were used and no sign of physical stress or side effects on the body
90 weight, physiological status and behavior were reported.

91 2.1. Experimental designs

92 2.1.1. Ewes and management

93 Twelve non-lactating and non-pregnant adult ewes (*Ovis aries*, from farms located in Pulligny and
94 Repel, France) were used. For the experiment A1 and A2, five ewes (63.8 ± 4.9 kg body weight (BW),
95 mean \pm SD) and three ewes (76.0 ± 2.2 kg BW, mean \pm SD) were respectively placed in individual
96 barns. For the experiment B, four ewes (60.2 ± 1.2 kg BW, mean \pm SD) were placed two-by-two in
97 barns. Water, salt and prairie hay were delivered *ad libitum*. Ewes were weighed at least once a week.

98 2.1.2. Experiment A1

99 A 14-d adaptation period was applied before the beginning of the experiment, consisting in a single *i.v.*
100 administration of CLD (1 mg CLD kg⁻¹ BW). CLD supplied by *Azur Isotopes SAS* (CLD purity > 98%)

101 was dissolved in cremophor (polyethoxylated castor oil, Kolliphor® EL, Sigma-Aldrich). Before the
102 experiment, two external catheters (B. Braun, Germany) were inserted in the jugular veins, one being
103 used for CLD administration and the other one for blood sampling. After CLD administration, an 84-d
104 depuration period was applied. Blood samples (2 x 10 mL) were collected at 0, 5, and 30 min, 1, 3, 8,
105 and 12 h and 3, 7, 36 and 84 d after CLD administration, using one catheter for the first 24 hours and
106 then by direct venipuncture on the jugular vein (BD vacutainer®, ref 368815). Faeces were entirely
107 collected thanks to layers regularly changed during the 48 first hours and over an 8-h period at days 3,
108 7, 36 and 84. Urines were entirely collected with a Foley sonde (Rüsch Gold, France) during periods 0-
109 2, 2-4, 4-7, 7-25, 25-28, 28-34 h. Then, urines were collected at days 3, 7, 36 and 84 after CLD
110 administration, over an 8-h period for each day.

111 2.1.3. Experiment A2

112 A 7-d adaptation period was applied before the experiment. The experiment consisted in a single
113 administration of CLDOH by *i.v.* route (1 mg CLDOH kg⁻¹ BW). CLDOH supplied by *Azur Isotopes*
114 *SAS* (CLDOH purity > 98%) was dissolved in cremophor (polyethoxylated castor oil, Kolliphor® EL,
115 Sigma-Aldrich) before the *i.v.* administration. On each ewe, two intravenous external catheters (B.
116 Braun, Germany) were inserted in jugular veins to allow CLDOH administration and blood sampling.
117 After the CLDOH administration, a 3-d depuration period was applied. Blood samples (2 x 10 mL) were
118 collected at 0, 30 min, 1, 3, 8, 12, 24, and 72 h after CLDOH *i.v.* administration, using an intravenous
119 external catheter for the 24 first hours and then by direct venipuncture on the jugular vein (BD
120 vacutainer®, ref 368815).

121 2.1.4. Experiment B

122 The experiment consisted in a 90-d period of exposure to CLD followed by a 127-d period of depuration.
123 After a 14-d adaptation period, the four ewes were exposed to CLD during 90 d via daily feeding at 0.01
124 mg CLD kg⁻¹ BW d⁻¹. Ewes were weighted twice a week during the exposure period to adjust the amount
125 of contaminated feed per ewe. The standard diet consisted of prairie hay, 50 g of grain corn and 100 g
126 of alfalfa. During the exposure period, the standard diet was complemented with a feed mix composed
127 of grain corn, corn gluten meal, beet pulp and contaminated oil with CLD (final CLD concentration in
128 the feed mix: 14.31 mg CLD kg⁻¹). During the depuration period, ewes were only fed with the standard
129 diet. At 0, 8, 22, 36, 50, 64, 78, 90, 92, 94, 99, 113, 127, 141, 155, 169, 183, 197, 217 d, blood samples
130 (4 x 7 mL) were taken by venipuncture (BD vacutainer®, ref 368815) and faeces were collected for 12
131 h using layers regularly changed. At 64, 78, 90, 92 and 99 d, faeces were collected for 24 h to calculate
132 the fraction of faeces excreted during day and night used to extrapolate the excreted quantities of faeces
133 per day more precisely for the other samples.

134 2.2. Sample treatment

135 Collected blood samples were allowed clotting for 2 h at room temperature and at 4°C during 24 h before
136 centrifugation at 3000 rpm for 15 min to obtain serum samples which were stored at -20°C until analysis.
137 Faeces samples were weighed, lyophilized, crushed and then stored in amber vial at ambient temperature
138 until analysis. Urines samples were weighed, filtrated and stored in amber vials at -20°C until analysis.

139 2.3. Analytical methods of CLD and metabolites in serum, faeces and urine

140 2.3.1. Analysis in serum

141 2.3.1.1. Chlordecone analysis in serum for experiments A1, A2 and B

142 CLD analysis in serum was conducted by the Center for Analytical and Research Technology at Liege
143 University (CART, Belgium) with a proven method used routinely in the laboratory according to
144 Fourcot et al. (2020). Briefly, after protein denaturation with trimethylamine and formic acid, CLD was
145 extracted with n-hexane/diethylether/acetonitrile/ethanol (80/15/4/1, v/v) using a solid-phase
146 extraction (SPE) on Supelclean Envi-C18 microcartridges (Supelco, Bellafonte, PA, USA) and
147 subjected to acidic purification using concentrated sulfuric acid 98% w/v. The extracts were analyzed
148 by High Resolution Gas Chromatography coupled to an ion trap mass spectrometer (Trace GC Ultra and
149 ITQ 1100 from ThermoQuest, ThermoScientific, Waltham, MA, USA) in MS/MS mode as detailed in
150 Fournier et al. (2017).

151 2.3.1.2. Analysis of CLD metabolites in serum for experiments A1 and A2

152 In order to quantify CLD metabolites in serum, a method based on a validated method to extract CLD
153 and its metabolites in urine (Saint-Hilaire et al., 2018a) was developed for the serum matrix with slight
154 modifications. Since serum contains more proteins than urine, it was necessary to adapt the extraction
155 protocol. Two milliliters of serum (2.000 ± 0.001 mL) were placed in a 50 mL centrifuge tube named
156 “1” for the extraction of CLD and CLDOH. Another 2 mL of serum (2.000 ± 0.001 mL) was added to a
157 second 50 mL centrifuge tube named “2” for the extraction of total CLD (abbreviated CLD-t to stand
158 for extraction of both CLD and conjugated chlordecone CLD-C) and the extraction of total CLDOH
159 (abbreviated CLDOH-t to stand for extraction of both CLDOH and conjugated chlordecol CLDOH-C).
160 Then, the deconjugaison step was realized as indicated in (Mailie Saint-Hilaire et al., 2018) for the urine
161 matrix. For the extraction step, ten millimeters of acetonitrile (ACN) was added to each tube and then
162 were stirred for 1 min with the Genie 2 vortex in order to allow the protein precipitation. Instead of
163 directly adding the QuEChERS extraction kit for the original method as made for urine, each tube was
164 then centrifuged at 4000 rpm for 5 min with the Eppendorf 5810 centrifuge. After centrifugation, the
165 supernatant of tubes 1 and 2 were collected and the QuEChERS extraction kit for the original method
166 was then added to each tube. The two mixtures were stirred for 1 min with the Genie 2 vortex and then

167 centrifuged at 4000 rpm for 5 min with the Eppendorf 5810 centrifuge. The supernatant of tubes 1 and
168 2 (10 mL in each) was evaporated under a nitrogen flow at 37 °C. After evaporation, 1 mL of ACN was
169 added to the residues of each tube and analyzed by LC-MS/MS. As for urine, the conjugated metabolites
170 concentration (CLDOH-G + CLDOH-S) in serum was calculated by subtracting the result of the analysis
171 without the enzymatic pretreatment (CLDOH) from the result of the analysis with enzymatic
172 pretreatment (CLDOH-t).

173 2.3.2. Analysis of CLD and metabolites in faeces and urine

174 CLD and its metabolites in faeces and urine samples were analyzed as indicated by (Mailie Saint-Hilaire
175 et al., 2018). Only free CLD and CLDOH were quantified in ewe's faeces. Briefly, free CLD and free
176 CLDOH were extracted from faeces using the Quick, Easy, Cheap, Rugged and Safe (QuEChERS)
177 method followed by the LC-MS/MS analysis. In urines, CLD and CLDOH were extracted with and
178 without an enzymatic pretreatment using a QuEChERS method and the LC-MS/MS analysis. At the
179 end, the conjugated metabolites concentration in urines was calculated subtracting the analysis with the
180 enzymatic pretreatment from the analysis without the enzymatic pretreatment.

181 2.4. Toxicokinetic analysis

182 2.4.1. Serum data analysis

183 2.4.1.1. Experiment A1

184 CLD serum concentration vs. time profiles after *i.v.* administration were analyzed using R software (R
185 version 3.6.2.). A two-compartmental model provided the best fitting with individual curves. The
186 relation followed Eq. (1):

$$187 C(t) = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t} \quad (1)$$

188 where $C(t)$ (ng mL^{-1}) is the CLD serum concentration at time t ; A and B (ng mL^{-1}) are the intercepts of
189 the distribution and elimination phases, respectively; α and β (d^{-1}) are the first-order rate constants of
190 the distribution and elimination phases, respectively.

191 Individual areas under the serum concentration-time curve ($AUC_{0 \rightarrow \infty, \text{CLD}}$) and the main toxicokinetic
192 parameters of CLD were calculated with the classical equations of the non-compartmental approach:
193 total body clearance (Cl_{CLD}), mean residence time (MRT_{CLD}), steady state volume of distribution
194 ($V_{\text{ss,CLD}}$), serum elimination half-life ($t_{1/2\text{CLD}, A1}$).

195 2.4.1.2. Experiment A2

196 CLDOH serum concentration vs. time profiles after *i.v.* administration of CLDOH were analyzed using
197 R software (R version 3.6.2.). A three-compartmental model provided the best fitting with individual
198 curves. The relation followed Eq. (2):

$$199 \quad C(t) = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t} + Pe^{-\gamma t} \quad (2)$$

200 where $C(t)$ (ng mL⁻¹) is the CLD serum concentration at time t ; A , B and P (ng mL⁻¹) are the intercepts
201 of the distribution phase (A , B), and elimination (P) phase, respectively; α , β and γ (d⁻¹) are the first-
202 order rate constants of the distribution (α , β), and elimination (γ) phases, respectively.

203 Individual areas under the serum concentration-time curve ($AUC_{0 \rightarrow \infty, CLDOH}$), total body clearance
204 (Cl_{CLDOH}), mean residence time of CLDOH (MRT_{CLDOH}), volume of distribution of CLDOH ($V_{SSCLDOH}$)
205 and serum CLDOH elimination half-life ($t_{1/2CLDOH}$) were calculated with the classical equations of the
206 non-compartmental approach.

207 Total CLDOH (CLDOH-t, corresponding to free and conjugated CLDOH) serum concentration vs. time
208 profiles after *i.v.* administration of CLDOH were analyzed using R software (R version 3.6.2.). A two-
209 compartmental model provided the best fitting with individual curves. Using the same method as
210 presented in the section 2.4.1.1., individual areas under the serum concentration-time curves
211 ($AUC_{0 \rightarrow \infty, CLDOH-t}$), total body clearance of CLDOH-t ($Cl_{CLDOH-t}$) were calculated. This calculation
212 required the assumption that CLDOH is entirely and rapidly biotransformed in CLDOH-C.

213 2.4.1.3. Experiment B

214 CLD serum concentration vs. time profiles during the depuration period from $t = 90$ d to $t = 217$ d after
215 the 90-d exposure period (experiment B) were analyzed using R software (R version 3.6.2.). A one-
216 compartmental model provided the best fitting with individual curves. The relation followed the Eq. (3):

$$217 \quad C(t) = C(90) e^{-k_d t} \quad (3)$$

218 where $C(t)$ (ng mL⁻¹) is the CLD serum concentration at time t ; $C(90)$ (ng mL⁻¹) the CLD serum
219 concentration at $t = 90$ d and k_d (d⁻¹) the first order elimination rate constant.

220 Individual areas under the serum concentration-time curve, $AUC_{s90 \rightarrow \infty, CLD}$, were computed using the
221 mathematical way, following the Eq. (4):

$$222 \quad AUC_{s90 \rightarrow \infty, CLD} = \frac{C(90)}{k_d} \quad (4)$$

223 Serum CLD elimination half-life ($t_{1/2CLD,B}$; d) was calculated using the Eq. (5):

$$224 \quad t_{1/2CLD,B} = \frac{\ln(2)}{k_d} \quad (5)$$

225 2.4.2. Urine and faeces data analysis

226 2.4.2.1. Estimation of excreted faeces and urine quantities

227 A mean urinary excretion rate ($R_{u,mean}$) of 68.2 ± 13.8 mL (mean \pm SD) of urine per hour was obtained
228 based on the experiment A1. A mean faecal excretion rate ($R_{f,mean}$) of 31.5 ± 7.7 g of faeces (DM) per
229 hour was obtained based on experiments A1 and B.

230 2.4.2.2. Quantification of CLD and metabolites excretion following the *i.v.* administration of CLD

231 The analysis of experiments A1 and A2 data allowed to quantify the excreted CLD in faeces and urine
232 following the *i.v.* administration of CLD. This estimation method is based on clearance calculations.

233 *Calculation of urinary and faecal excretion rates of CLD and its metabolites.* Urinary and faecal
234 excretion rates of CLD correspond to the excreted quantity of CLD during the collection period (ΔT) of
235 the sample i and were calculated according to Eqs. (6) and (7):

236 Urinary excretion rate $_{CLD\ i} = [CLD]_{urine, \Delta Ti} \times R_{u,mean}$ (6)

237 Faecal excretion rate $_{CLD\ i} = [CLD]_{faeces, \Delta Ti} \times R_{f,mean}$ (7)

238 where $[CLD]_{urine, \Delta Ti}$ and $[CLD]_{faeces, \Delta Ti}$ are the individual concentrations of CLD in urine or faeces
239 measured during the ΔTi period of the sample collection i ; $R_{u,mean}$ and $R_{f,mean}$ are as previously described.

240 The urinary and faecal excretion rates of CLDOH-t (Urinary excretion rate $_{CLDOH-t\ i}$ and Faecal excretion
241 rate $_{CLDOH-t\ i}$, respectively) were calculated using the same method.

242 *Calculation of urinary and faecal clearances of CLD.* The urinary and faecal excretion rates calculation
243 above were used to calculate urinary ($Cl_{u,CLD}$) and faecal ($Cl_{f,CLD}$) clearances of CLD. As clearance is
244 the proportionality factor between excretion rate and circulating (blood/serum) concentrations, and
245 because several samples were performed on each animal, the data were analyzed by the linear models
246 described in Eq. (8) and (9):

247 Urinary excretion rate $_{CLD\ i} = Cl_{u,CLD} \times [CLD]_{serum, \Delta Ti}$ (8)

248 Faecal excretion rate $_{CLD\ i} = Cl_{f,CLD} \times [CLD]_{serum, \Delta Ti}$ (9)

249 where $[CLD]_{serum, \Delta Ti}$ is the CLD concentration in serum during the collection period ΔTi .

250 *Calculation of urinary and faecal clearances of CLDOH-t.* The urinary ($Cl_{u,CLDOH-t}$) and faecal
251 ($Cl_{f,CLDOH-t}$) clearances of CLDOH were calculated using the same method previously described for
252 $Cl_{u,CLD}$ and $Cl_{f,CLD}$.

253 *Percentages of CLD excreted in urine and faeces.* For each ewe, the percentage of CLD excreted in
254 urine as parent form ($\%excreted_{u,CLD}$) was defined as the ratio of the urinary clearance of CLD ($Cl_{u,CLD}$)
255 and the body clearance of CLD (Cl_{CLD}) following Eq. (10):

256 $\% \text{excreted}_{u, \text{CLD}} = \frac{Cl_{u, \text{CLD}}}{Cl_{\text{CLD}}} \times 100$ (10)

257 In the same way, for each ewe, the percentage of CLD excreted in faeces as parent form ($\% \text{excreted}_{f, \text{CLD}}$)
 258 was defined as the ratio of the faecal clearance of CLD ($Cl_{f, \text{CLD}}$) and the body clearance of CLD (Cl_{CLD})
 259 following Eq. (11):

260 $\% \text{excreted}_{f, \text{CLD}} = \frac{Cl_{f, \text{CLD}}}{Cl_{\text{CLD}}} \times 100$ (11)

261 *Percentages of metabolites excreted in urine and faeces.* For the following calculations, because no
 262 other metabolite was detected (see results), we hypothesized that all CLD not excreted in parent form
 263 (in faeces or urine) was metabolized to CLDOH. Percentages of CLDOH-t excreted in urine
 264 ($\% \text{excreted}_{u, \text{CLDOH-t}}$) after administration of CLD was calculated from the individual urinary clearance
 265 of CLDOH-t ($Cl_{u, \text{CLDOH-t}}$), the average total body clearance (n=3) of CLDOH-t ($Cl_{\text{CLDOH-t, mean}}$; based on
 266 data of the experiment A2) and the individual percentage of CLD remaining to be excreted, following
 267 Eq. (12):

268 $\% \text{excreted}_{u, \text{CLDOH-t}} = \frac{Cl_{u, \text{CLDOH-t}}}{Cl_{\text{CLDOH-t, mean}}} \times (100 - [\% \text{excreted}_{u, \text{CLD}} + \% \text{excreted}_{f, \text{CLD}}])$ (12)

269 In the same way, percentages of CLDOH excreted in faeces ($\% \text{excreted}_{f, \text{CLDOH}}$) after administration of
 270 CLD was calculated for each ewe following Eq. (13):

271 $\% \text{excreted}_{f, \text{CLDOH}} = \frac{Cl_{f, \text{CLDOH}}}{Cl_{\text{CLDOH-t, mean}}} \times (100 - [\% \text{excreted}_{u, \text{CLD}} + \% \text{excreted}_{f, \text{CLD}}])$ (13)

272 For each ewe, percentages of administered CLD which were excreted via urine ($\% \text{Dose}_u$) and faeces
 273 ($\% \text{Dose}_f$) during the depuration period have been calculated by summing percentages of the dose
 274 excreted as CLD and as metabolites, following Eqs. (14) and (15):

275 $\% \text{Dose}_u = \% \text{Excreted}_{u, \text{CLD}} + \% \text{Excreted}_{u, \text{CLDOH-t}}$ (14)

276 $\% \text{Dose}_f = \% \text{Excreted}_{f, \text{CLD}} + \% \text{Excreted}_{f, \text{CLDOH}}$ (15)

277 2.4.2.3 Estimation of faecal CLD excretion percentages of the initial body burden

278 Calculations presented in this section have been only performed on the experiment B data. CLD amounts
 279 excreted via the faecal route in CLD and CLDOH forms were estimated with two methods. The first
 280 method (M1, corresponding to the standard method), consisted of analyzing faecal sampling to estimate
 281 CLD and CLDOH amounts excreted during the depuration period. This first method corresponds to the
 282 standard reference method used for the validation of a second calculation method. This second method
 283 (M2) consisted of estimating CLD amounts excreted in faeces using the average faecal clearance of
 284 CLD obtained in experiment A1.

285 *Estimation of the initial body burden of each ewe.* The body burden can be estimated at the steady-state
 286 from the CLD concentration in serum and the steady-state volume of distribution of CLD (Toutain and

287 Bousquet-Mélou, 2004). The CLD body burden of the individual i at 90-d of contamination ($BB_{90,i}$) was
288 calculated following the Eq. (16):

$$289 \quad BB_{90,i} = C_{sCLD90,i} \times V_{ss,CLD} \quad (16)$$

290 where $C_{sCLD90,i}$ is the individual CLD concentration in the serum at $t = 90$ d and $V_{ss,CLD}$ the average steady
291 state volume of distribution (estimated in ewes at 1.7 L).

292 *Method 1: faeces sampling method.* In the faeces sampling method (method 1), the individual CLD
293 amount excreted as CLD and CLDOH were estimated using the faecal kinetics (12 faeces samples
294 collected for each ewe) during the depuration period. For each sample, the excretion rate of CLD and
295 CLDOH excreted in faeces per day was calculated by multiplying the concentrations of CLD and
296 CLDOH in faeces, separately, by the average quantity of faeces excreted over 24 hours. CLD and
297 CLDOH excretion rate in faeces vs. time curves were individually analyzed using R software (R version
298 3.6.2.). A one-compartmental model was used to describe these curves and provided the individual
299 elimination rate for CLD and CLDOH (k_{CLD} and k_{CLDOH}).

300 Based on this model, the individual total amount of CLD excreted during the depuration period from t
301 $= 90$ d to infinity ($Q_{fCLD90 \rightarrow \infty, M1}$) was estimated following Eq. (17):

$$302 \quad Q_{fCLD90 \rightarrow \infty, M1} = \frac{R_{CLD90}}{k_{CLD}} \quad (17)$$

303 where R_{CLD90} is the individual CLD excretion rate in faeces at $t = 90$ d of contamination ($\mu\text{g d}^{-1}$) and
304 k_{CLD} the individual CLD elimination rate (d^{-1}).

305 The individual total amount of CLDOH ($Q_{fCLDOH90 \rightarrow \infty, M1}$) excreted during the depuration period was
306 estimated using the same method.

307 Percentages of the initial body burden excreted under CLD and CLDOH forms during the depuration
308 period were expressed as function of the initial body burden at the beginning of the depuration period (t
309 $= 90$ d). Individual percentages of the individual initial body burden excreted as CLD and CLDOH
310 forms have been calculated following Eqs. (18) and (19), respectively:

$$311 \quad \% \text{Excreted}_{CLDM1} = \frac{Q_{fCLD90 \rightarrow \infty, M1}}{BB_{90}} \times 100 \quad (18)$$

$$312 \quad \% \text{Excreted}_{CLDOHM1} = \frac{Q_{fCLDOH90 \rightarrow \infty, M2}}{BB_{90}} \times 100 \quad (19)$$

313 The individual total percentage of the initial body burden excreted as CLD and CLDOH
314 ($\% \text{Total}_{CLDexcretedM1}$) was obtained by summing Eqs. (18) and (19) following Eq. (20):

$$315 \quad \% \text{Total}_{CLDexcretedM1} = \% \text{Excreted}_{CLDM1} + \% \text{Excreted}_{CLDOHM1} \quad (20)$$

316 *Method 2: clearance method.* In the clearance method (method 2), the individual CLD amount excreted
317 as CLD and CLDOH were estimated using toxicokinetic parameters of CLD obtained following the
318 experiments A1 and A2.

319 Individual areas under the serum concentration-time curve, $AUC_{s90 \rightarrow \infty, CLD}$, were estimated in 2.4.1.3.
 320 section. For each ewe, total amounts of excreted CLD during the depuration period ($Q_{f,CLD90 \rightarrow \infty,i}$) were
 321 estimated using the average faecal clearance of CLD in ewes ($Cl_{f,CLD}$) obtained in the experiment A1,
 322 following the Eq. (21):

$$323 \quad Q_{f,CLD90 \rightarrow \infty,M2} = AUC_{s90 \rightarrow \infty,CLD} \times Cl_{f,CLD} \times BW \quad (21)$$

324 With: $AUC_{s90 \rightarrow \infty}$ the individual area under the CLD concentrations in serum curve from $t = 90$ d to
 325 infinity; $Cl_{f,CLD}$ the average faecal clearance; BW the average individual body weight.

326 For each ewe, total amounts of excreted CLDOH during the depuration period ($Q_{f,CLDOH90 \rightarrow \infty,i}$) were
 327 estimated following the Eq. (22):

$$328 \quad Q_{f,CLDOH90 \rightarrow \infty,M2} = AUC_{s90 \rightarrow \infty,CLD} \times \%excreted_{f,CLDOH,mean} \times Cl_{CLD,mean} \times BW \quad (22)$$

329 With: $AUC_{s90 \rightarrow \infty}$ the individual area under the CLD concentrations in serum curve from $t = 90$ d to
 330 infinity; $\%excreted_{f,CLDOH}$ the average percentage of CLD excreted under CLDOH form in faeces;
 331 $Cl_{CLD,mean}$ the average total body clearance of CLD; BW the average individual body weight.

332 Individual percentages of excreted CLD and CLDOH as function of the initial body burden
 333 ($\%Excreted_{CLDM2,i}$) were calculated respectively following Eq. (23) and Eq. (24):

$$334 \quad \%Excreted_{CLDM2,i} = \frac{Q_{f,CLD90 \rightarrow \infty,i}}{BB_{90,i}} \times 100 \quad (23)$$

$$335 \quad \%Excreted_{CLDOHM2,i} = \frac{Q_{f,CLDOH90 \rightarrow \infty,i}}{BB_{90,i}} \times 100 \quad (24)$$

336 *Data comparison.* An analysis of variance (ANOVA) test was performed (R version 3.6.2.) to compare
 337 the two calculation methods of the excretion percentages under CLD and CLDOH forms. The α level
 338 for statistical significance was set at 0.05.

339 2.4.3. Correlations between CLD concentrations in faeces and serum

340 Correlations between CLD concentrations in faeces and serum were analyzed using a Pearson
 341 correlation coefficient. Only samples with CLD concentrations in serum below 150 ng mL^{-1} were
 342 included in the analysis because CLD concentrations in serum above 150 ng mL^{-1} are not observed *in*
 343 *situ* (Personal communication, French ministry of agriculture, Direction Générale de l'Alimentation
 344 (DGAL)). The analysis was performed on 68 pairs of samples from experiment A1 and experiment B.
 345 For $n=68$, the correlation between two tissues is considered statistically significant when the Pearson
 346 correlation coefficient r is greater than 0.25. A linear regression model was built to estimate the equation
 347 allowing to determine CLD concentrations in faeces and serum and the associated 95% confidence
 348 range. The parameter "a" was estimated using a linear model of the following form:

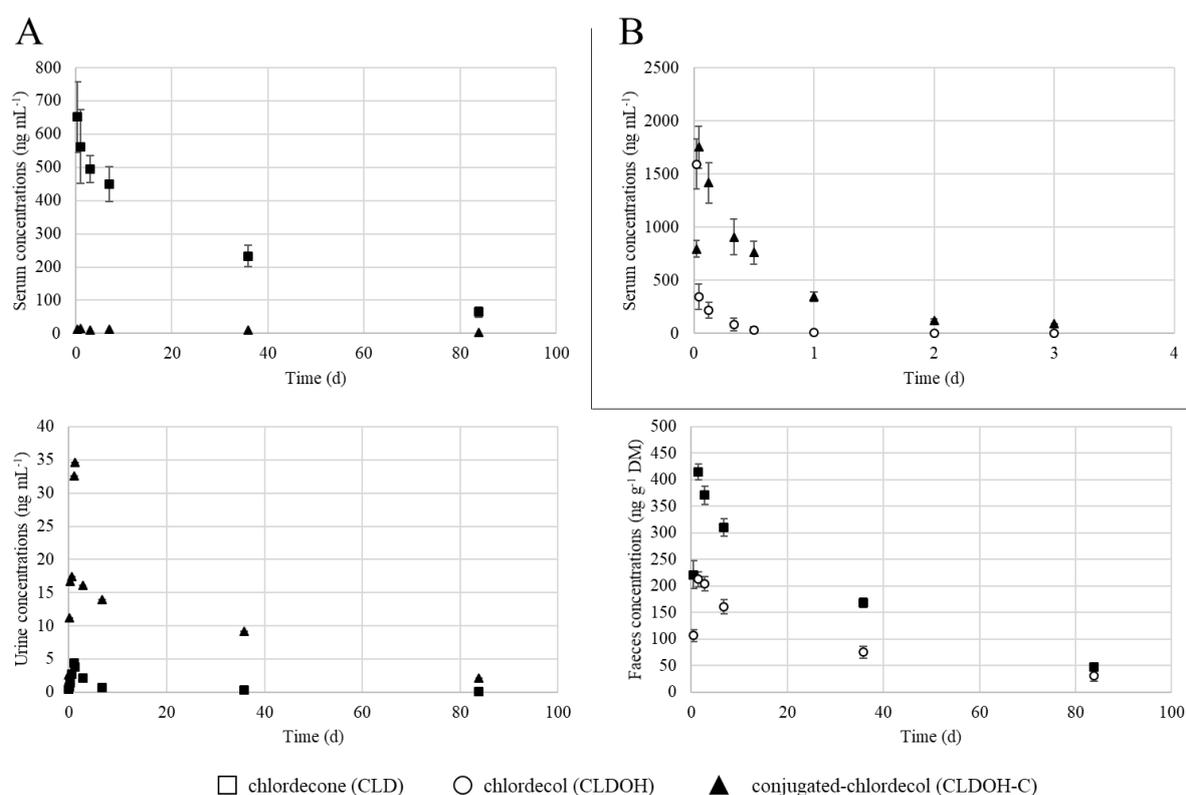
349 $C_{CLD, serum} = a C_{CLD, faeces} + b$, where $C_{CLD, faeces}$ is the CLD concentration in faeces, $C_{CLD, serum}$ is the CLD
 350 concentration in serum and b the intercept. The goodness of the fitting linear models was assessed
 351 calculating the R-squared (R^2). The model was validated verifying normality of the residues using the

352 Shapiro test and testing the presence of serial correlations among the residuals using the Durbin-Watson
353 test.

354 3. Results and discussion

355 3.1. CLD metabolic and elimination pathways

356 The analysis of CLD and its metabolites in different matrices (serum, urine and faeces) allowed to
357 characterize the elimination pathways of CLD in ewes. Figure 1A shows the kinetics of CLD and its
358 metabolites in serum, urine and faeces after *i.v.* CLD administration (experiment A1). For the first time,
359 CLDOH-C was quantified in serum but the predominant form was CLD. In accordance with results
360 obtained in human and pigs (Boylan et al., 1979; Soine et al., 1983), CLDOH was not quantified in
361 serum of ewes.



362
363 Figure 1: Chlordecone, chlordecol and conjugated-chlordecol in serum, urine and faeces concentration-
364 time curves following (A) an *i.v.* administration of 1 mg CLD kg⁻¹ BW (experiment A1, n=5) and (B)
365 an *i.v.* administration of 1 mg CLDOH kg⁻¹ BW (experiment A2, n=3). DM: Dry matter. Values are
366 means ± SE.

367 In urine samples, parent CLD and CLDOH-C have been quantified in accordance with the hypothesis
368 made by Houston et al. (1981). The mean ratio of CLD to CLDOH-C concentrations being 0.10 ± 0.02
369 (mean ± SE), the predominant form in urine was CLDOH-C. The quantification of CLD at low
370 concentrations in urine was also observed in the literature in human and rats (Cohn et al., 1978; Egle et

371 al., 1978). In faeces samples, CLD and CLDOH were quantified. However, conjugated metabolites were
372 not quantified in faeces. These results are similar with previous studies in human, gerbil and pig (Cohn
373 et al., 1978; Fariss et al., 1980; Houston et al., 1981; Soine et al., 1983). The mean ratio of CLD to
374 CLDOH concentrations of each faeces sample being 1.9 ± 0.1 (mean \pm SE), the main form quantified
375 in faeces was CLD. CLD/CLDOH faecal concentrations ratios in gerbils, humans and pigs were
376 respectively of 2.4, 0.25 and between 8 and 10 (Boylan et al., 1979; Houston et al., 1981; Soine et al.,
377 1983). The CLD/CLDOH faecal concentrations ratio observed in ewes was then closed to the ratio
378 obtained in gerbils. These differences could be explained by metabolism variations according to species.
379 Indeed, CLD is known to be metabolized in these species and differences in specific *chlordecone*
380 *reductase* activity between humans, gerbils and rabbits have been demonstrated (Molowa et al., 1986).
381 According to Houston et al. (1981), the differences in CLD/CLDOH ratio between species may be due
382 to CLDOH reoxydation to CLD. However, this hypothesis does not seem to be relevant. Indeed,
383 according to the experiment A2, after *i.v.* administration of CLDOH, CLD serum concentrations were
384 lower or very close to the LOQ in serum samples. This implies that the reversibility of CLDOH
385 metabolite to CLD parent compound if exists, is not significant. The second hypothesis already proposed
386 by Houston et al. (1981) is the difference in intestinal absorption or reabsorption between species.
387 This study thus allowed to identify the main metabolic and elimination pathways of CLD. CLD is
388 eliminated as parent form in urine and faeces and is also metabolized in CLDOH, which is very rapidly
389 and extensively conjugated in CLDOH-C. CLDOH-C is excreted as unchanged form in urine and as a
390 deconjugated form (CLDOH) in faeces.

391

392 3.2. CLD toxicokinetics and quantification of elimination pathways

393 3.2.1. Characterization of global elimination of CLD and CLDOH

394 Serum concentration vs. time profiles of CLD and CLDOH after *i.v.* administration (experiments A1
395 and A2, respectively) allowed to calculate toxicokinetic parameters of CLD and CLDOH presented in
396 Table 1. The serum half-life obtained after *i.v.* and oral administration were respectively of 24.8 ± 1.2
397 and 21.2 ± 0.9 d (mean \pm SE). No significative difference was found between the two administrations
398 routes ($P > 0.05$).

399 Figure 1B shows the concentration vs. time profiles of CLDOH and its conjugated forms in serum after
400 *i.v.* CLDOH administration (experiment A2). Following the *i.v.* administration of CLDOH, CLDOH
401 concentrations in serum decreased quickly because of the quick biotransformation of CLDOH into
402 CLDOH-C. Indeed, the body clearance of CLDOH is 16.8 times higher than the body clearance of
403 CLDOH-t.

404 Table 1: CLD and CLDOH toxicokinetic parameters obtained in ewes following a single *i.v.*
 405 administration of CLD (1 mg CLD kg⁻¹ BW) or CLDOH (1 mg CLDOH kg⁻¹ BW)
 406

Parameters	experiment A	experiment B
	single <i>i.v.</i> (n=5) 1 mg CLD kg ⁻¹ mean ± SE	single <i>i.v.</i> (n=3) 1 mg CLDOH kg ⁻¹ mean ± SE
CL_{CLD} mL d ⁻¹ kg ⁻¹ BW	50.0 ± 6.0	-
V_{SSCLD} mL kg ⁻¹ BW	1,747 ± 145	-
t_{1/2,CLD} d	24.8 ± 1.2	-
MRT_{CLD} d	35.8 ± 1.7	-
CL_{CLDOH} mL d ⁻¹ kg ⁻¹ BW	-	11,116 ± 2,626
V_{SSCLDOH} mL kg ⁻¹ BW	-	8,573 ± 2,206
t_{1/2,CLDOH} d	-	1.62 ± 0.21
MRT_{CLDOH} d	-	0.76 ± 0.08
CL_{CLDOH-t} mL d ⁻¹ kg ⁻¹ BW	-	660 ± 76
Cl_{f,CLD} mL d ⁻¹ kg ⁻¹ BW	25.1 ± 2.8	-
Cl_{u,CLD} mL d ⁻¹ kg ⁻¹ BW	0.33 ± 0.12	-
Cl_{f,CLDOH} mL d ⁻¹ kg ⁻¹ BW	422 ± 65	-
Cl_{u,CLDOH-t} mL d ⁻¹ kg ⁻¹ BW	39.2 ± 4.8	-
CLDOH-C/CLD _u	14 ± 3	-
CLD/CLDOH _f	1.9 ± 0.1	-

CLD: chlordecone; CLDOH: chlordecol; CLDOH-t: total chlordecol; CL_{CLD}: total body clearance of CLD; V_{SSCLD}: steady-state volume of distribution of CLD; t_{1/2,CLD}: elimination half-life of CLD; MRT_{CLD}: mean residence time of CLD; CL_{CLDOH}: total body clearance of CLDOH; V_{SSCLDOH}: steady-state volume of distribution of CLDOH; t_{1/2,CLDOH}: elimination half-life of CLDOH; MRT_{CLDOH}: mean residence time of CLDOH; CL_{CLDOH-t}: total body clearance of CLDOH-t; Cl_{f,CLD}: faecal clearance of CLD; Cl_{u,CLD}: urinary clearance of CLD; Cl_{f,CLDOH}: faecal clearance of CLDOH; Cl_{u,CLDOH-t}: urinary clearance of CLDOH-t; SE: Standard Error. *i.v.*: intravenous administration

407

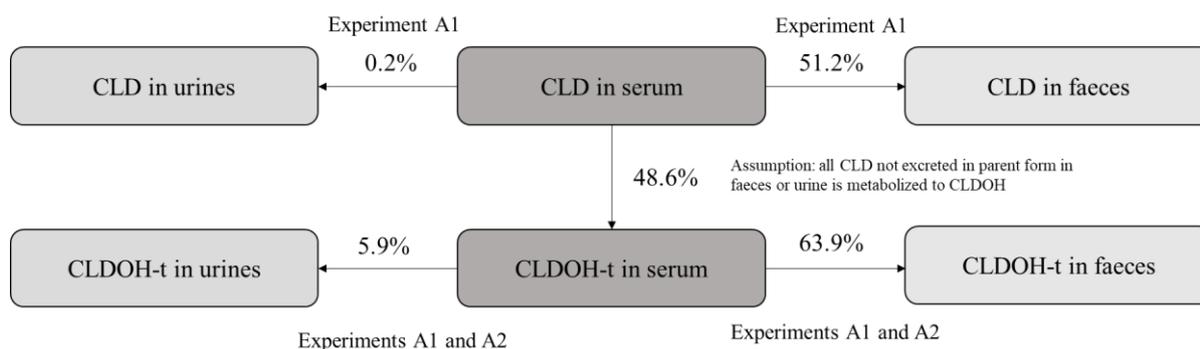
408 3.2.2. Quantification of elimination pathways

409 *Estimation of urinary and faecal clearances of CLD and CLDOH.* The estimated urinary and faecal
 410 clearances of CLD and CLDOH are presented in Table 1. Urinary and faecal clearances of CLD are 0.3
 411 ± 0.1 and 25.1 ± 2.8 mL d⁻¹ kg⁻¹ BW, respectively. Urinary and faecal clearances of CLDOH-t are 39.2
 412 ± 4.8 and 422 ± 65 mL d⁻¹ kg⁻¹ BW, respectively. These results highlight the small contribution of the
 413 urinary route in CLD and CLDOH excretion regarding the faecal route.

414 *Calculation of CLD and metabolites excreted percentages of the administered dose.* Serum, urinary and
 415 faecal clearances of CLD and its metabolites obtained following the *i.v.* administration of CLD and
 416 CLDOH (A and B) allowed to describe the elimination of CLD following an *i.v.* administration of CLD
 417 (Figure 2). 51.2% and 0.2% of CLD are excreted as parent form in faeces and in urine respectively. To
 418 quantify the percentage of biotransformation of CLD into CLDOH-C, we hypothesized that (1) all non-
 419 excreted CLD in urine and faeces is metabolized to CLDOH and (2) CLDOH in serum is rapidly and
 420 fully transformed into CLDOH-C. Considering these assumptions, 48.6% of CLD in serum is
 421 metabolized in CLDOH-t (sum of CLDOH and CLDOH-C). Then, 63.9% and 5.9% of the CLDOH-t in
 422 serum are excreted in faeces and in urine respectively.

423 These calculations allowed to estimate the percentages of CLD excreted as parent or metabolites forms
 424 (Table 2). The average percentage of CLD excreted in faeces was 82.5 ± 5.3 %, with 50.3 ± 3.6 % under
 425 its parent form CLD and 32.2 ± 5.3 % under its CLDOH form. The average percentage of CLD excreted
 426 in urine was 3.2 ± 0.6 %, with 0.24 ± 0.08 % under its parent form CLD and 3.0 ± 0.5 % under its
 427 CLDOH-C form. These results confirm that the faecal route is the main excretory route of CLD.

428



429

430 Figure 2: Synthesis of CLD elimination following a single *i.v.* administration of CLD

431

432 Table 2: Estimations of CLD excreted during the depuration period following a single *i.v.* administration
 433 of 1 mg CLD kg⁻¹ (experiment A1) and a chronic oral contamination during 90 d at 0.01 mg CLD kg⁻¹
 434 d⁻¹ (experiment B)

Parameters	Experiment A1	Experiment B	
	(n=5)	method 1	method 2
	mean ± SE	mean ± SE	mean ± SE
%excreted _{f, CLD}	51.2 ± 3.8 ^a	53.4 ± 5.8 ^a	49.5 ± 3.9 ^a
%excreted _{f, CLDOH-t}	30.9 ± 4.9 ^a	36.0 ± 2.8 ^a	31.0 ± 1.8 ^a
%Total _{f, excreted}	82.5 ± 5.3 ^a	89.4 ± 8.1 ^a	80.6 ± 4.7 ^a
%excreted _{u, CLD}	0.24 ± 0.08	-	-
%excreted _{u, CLDOH-t}	3.0 ± 0.5	-	-
%Total _{u, excreted}	3.2 ± 0.6	-	-

CLD: chlordecone; CLDOH-t: chlordecol total; %excreted_{f, CLD}: percentage of the administered dose (experiment A1) or initial body burden (experiment B) excreted as CLD form in faeces; %excreted_{f, CLDOH-t}: percentage of the dose or body burden excreted as CLDOH in faeces; %excreted_{u, CLD}: percentage of the dose or initial body burden excreted as CLD form in urine; %excreted_{u, CLDOH-t}: percentage of the dose or body burden excreted as CLDOH-t in urine; %Total_{f, excreted}: percentage of the dose or initial body burden excreted in faeces as CLD and CLDOH-t; %Total_{u, excreted}: percentage of the dose or initial body burden excreted in urine as CLD and CLDOH-t; SE: Standard Error.

Values not followed by the same superscript letter on the same row significantly differ (P < 0.05; Tukey test).

435
 436 *Identification of CLDOH sources in the environment.* This study showed that 32 ± 5 % of the CLD
 437 administered dose is eliminated in faeces under the CLDOH form. Recent studies revealed that 86.5%
 438 of the pesticides found in the analyzed watershed of Guadeloupe (Basse-Terre) were CLD, chlordecone-
 439 5b-hydro and CLDOH (Rochette et al., 2017). Because CLDOH was quantified in the Kepone® and
 440 Curlone® formulations (Macarie et al., 2016), the quantification of CLDOH in the environment could
 441 be partially explained by CLDOH impurities in CLD formulations. However, this study demonstrated
 442 that a significant quantity of CLDOH is released into the environment as a product of CLD
 443 metabolism by ruminants. The monitoring of this metabolite in the environment appears essential
 444 because assays on mitochondria demonstrated that CLDOH seems to be as or more toxic than CLD
 445 (Desaiah and Koch, 1975; Soileau and Moreland, 1983; Moreland and Soileau, 1988).

446 *An incomplete elimination mass balance of CLD.* We have estimated that more than 80% of CLD is
 447 excreted in faeces as parent CLD or CLDOH. Therefore, about 20% of CLD is missing to complete the
 448 excretion balance. This difference does not appear to be the result of an incorrect estimation of excreted
 449 faeces. Indeed, the sampling method of faeces was individual and layers used allowed to collect all
 450 faeces over the sampling period and the number of samples was significant to calculate an average faecal
 451 excretion. In rats, the excretion of CLD estimated after a depuration period was estimated using
 452 radioactivity at 65.5% of the administered dose (Egle et al., 1978). Even using radioactivity, the excreted
 453 balance was far from the CLD administered dose. Then, another hypothesis could be the presence of

454 other metabolic pathways. In fact, according to Fariss et al. (1980), pretreatment of humans' bile with
455 deconjugating enzymes plus acid hydrolysis released an additional increment of free CLD: 19% of CLD
456 was present in a form releasable only by hydrolysis acid. In gerbils' bile, the same study was led
457 (Houston et al., 1981), but no difference was obtained between CLD concentrations obtained with or
458 without deconjugating enzymes plus acid hydrolysis. This could indicate a difference of metabolism
459 between humans and gerbils. It would be interesting to check if ewes could be able to produce this form
460 only releasable by acid hydrolysis and maybe found another CLD metabolites which could be eliminated
461 by ewes. In urines, only 3.2 ± 0.6 % of the administered dose is eliminated. This result is consistent with
462 the excreted percentage in urine of 1.6% observed in rats (Egle et al., 1978). However, an unidentified
463 metabolite comprising two percent of the administered radioactivity appeared in the gerbil's urine during
464 the first two days after injection of the radioisotope (Houston et al., 1981). Consequently, in ewe's urine,
465 it could be interesting as for faeces to look for other metabolites. In the FWI, other transformation
466 products of CLD has been detected in water and soils samples from Martinique (Chevallier et al., 2019).
467 Some of these molecules could be produced by animals that may be able to metabolize some of these
468 transformation products.

469 3.3. Validation of the clearance method to quantify CLD excretion

470 Table 2 present the percentages of the initial body burden excreted as parent CLD or CLDOH during
471 the depuration phase obtained using the two calculation methods. Based on the method 1 consisting of
472 modeling the observed data of excreted CLD amounts during the depuration period, 89 ± 8 % of the
473 initial was excreted in faeces as parent (53 ± 6 %) and CLDOH forms (36 ± 3 %). Based on the method
474 2 consisting of applying the elimination parameters of CLD to estimate CLD excreted in faeces during
475 the depuration period, 81 ± 5 % of the initial body burden was excreted in faeces as parent (49 ± 4 %)
476 and CLDOH forms (31 ± 2 %). The percentage of the body burden excreted as parent form or CLDOH
477 form estimated with the method 1 and the method 2 do not significantly differ ($P = 0.82$ and $P = 0.83$,
478 respectively). These similar results allow the validation of the clearance method to estimate CLD
479 excretion from animals to the environment.

480 3.4. Applications for depuration strategies

481 *Evaluation of CLD and CLDOH transfer from animals to the environment during depuration process.*
482 This study provided toxicokinetic parameters of CLD and CLDOH-t required to evaluate the transfer of
483 CLD and CLDOH from animals to the environment. The proposed method allows from a blood sample
484 and the depuration time to quantify CLD released into the environment as parent CLD and CLDOH.
485 These results may be used by authorities to discuss acceptability of depuration strategies and the possible
486 treatment of excretion products.

487

488 From a blood sample, the initial concentration of CLD in serum can be obtained and the serum
489 concentration-time curve can be modeled following Eq. (25):

$$490 \quad C(t) = C_i e^{(-k_{95} t)} \quad (25)$$

491 where C_i is the initial CLD concentration in serum and k_{95} the elimination rate constant corresponding to
492 the highest bound of the 95% confidence interval to obtain the highest k value in order not to
493 underestimate excreted CLD amounts ($k_{95} = k_{\text{mean}} + 2$ standard deviation; Saint-Hilaire et al., 2019).

494 The area under the serum concentration-time curve ($AUC_{d,CLD}$) can be computed using the trapezoidal
495 rule. The total amount of excreted CLD during the depuration period ($Q_{CLD,depuration}$) can be estimated
496 following Eq. (26):

$$497 \quad Q_{CLD,depuration} = AUC_{d,CLD} \times Cl_{f,CLD} \times BW \quad (26)$$

498 where $AUC_{d,CLD}$ is the individual area under the CLD serum concentration-time curve during the
499 depuration period (ng d mL^{-1}); $Cl_{f,CLD}$ the faecal clearance of CLD ($25.1 \text{ mL d}^{-1} \text{ kg}^{-1}$) and BW the
500 individual body weight (kg).

501 The total amount of excreted CLDOH during the depuration period ($Q_{CLDOH,depuration}$) can be estimated
502 following Eq. (27):

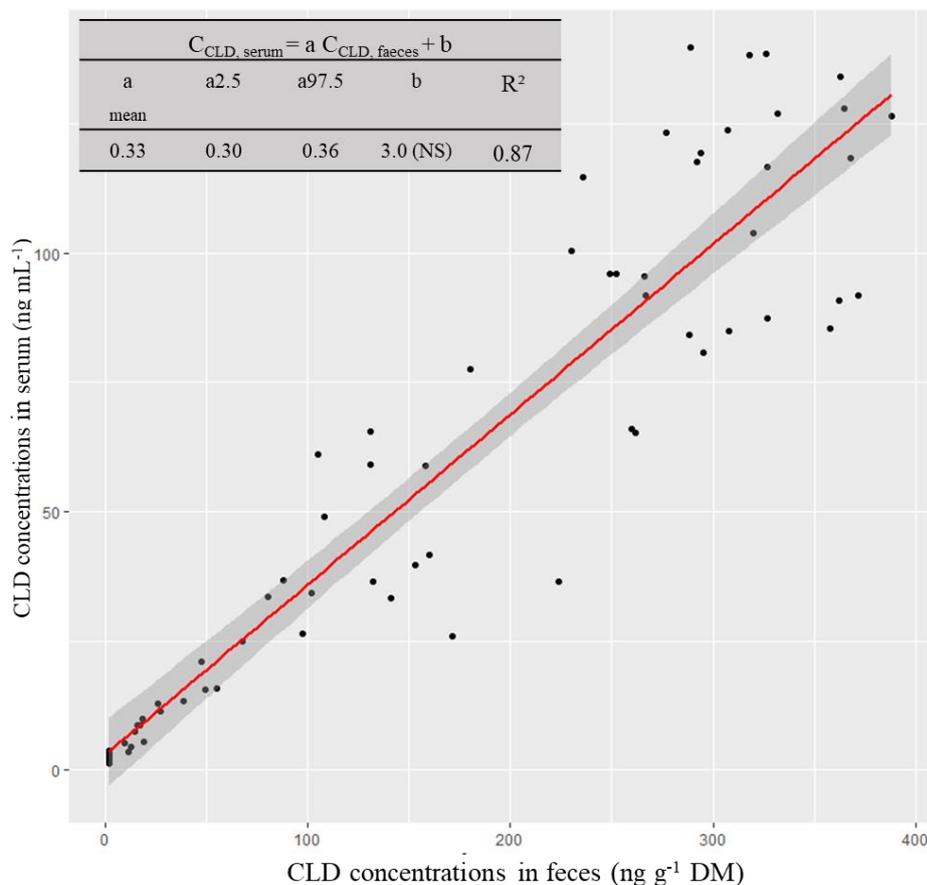
$$503 \quad Q_{CLDOH,depuration} = AUC_{d,CLD} \times \% \text{excreted}_{f,CLDOH,mean} \times Cl_{CLD,mean} \times BW \quad (27)$$

504 where $AUC_{d,CLD}$ is the individual area under the CLD serum concentration-time curve during the
505 depuration period (ng d mL^{-1}); $\% \text{excreted}_{f,CLDOH}$ the average percentage of CLD excreted under CLDOH
506 form in faeces (30.9%) and BW the individual body weight (kg).

507 This generic method could be used in environmental toxicology to estimate the transfer of drugs or
508 pollutants from animals to the environment. This has already been explored to evaluate the transfer of
509 doramectin, ivermectin and moxidectin from grazing cattle to soil via faecal pathway (Bousquet-Mélou
510 et al., 2004).

511 *Use of faeces as a biomonitoring matrix.* The environmental pollution of CLD in the FWI affect the
512 agricultural territory on a large scale and will last for several decades. Therefore, solutions must be
513 found to ensure consumers health protection while continuing to produce animals in these CLD
514 contaminated areas. The depuration strategy consists at excluding animals of CLD exposure a few weeks
515 before slaughter. The time period of depuration depends on species-specific toxicokinetic parameters
516 (Fournier et al., 2017; Saint-Hilaire et al, 2019; Fourcot et al., 2020) and on the initial CLD body burden
517 at the beginning of the depuration period. Knowing the contamination level of an animal, by measuring
518 CLD level in blood for example, the depuration time before slaughter can be calculated. However, blood
519 samples can be invasive and difficult to collect on guard animals. Faeces could be a good indicator to
520 estimate CLD contamination in ewes. Indeed, faeces and serum concentrations present significant

521 correlation with each other because Pearson coefficient estimate was 0.93 (n=65; threshold at P < 0.05;
 522 r=0.25).



523
 524 Figure 3: Correlations between CLD concentrations in serum and faeces following a single *i.v.*
 525 administration of 1 mg CLD kg⁻¹ BW and a chronic oral contamination during 90 d at 0.01 mg CLD d⁻¹
 526 kg⁻¹ BW

527 Correlations between CLD concentrations in faeces and serum obtained following CLD *i.v.*
 528 administration (experiment A1) and CLD oral treatment (experiment B) are presented in Figure 3. The
 529 adjusted R-squared of the linear model was of 0.87. The mean coefficient linking CLD concentrations
 530 in serum and faeces is 0.33 and the intercept is not significant. To estimate CLD concentration in serum
 531 while being protective, the 95% confidence interval (mean ± 2 SD) can be used. The CLD concentration
 532 in serum can be estimated from the CLD concentration in faeces following the Eq. (28):

$$533 C_{\text{CLD, serum}} = 0.36 C_{\text{CLD, faeces}} + 3.0 \quad (28)$$

534 where $C_{\text{CLD, serum}}$ is the CLD concentration in serum (ng mL⁻¹) and $C_{\text{CLD, faeces}}$ the CLD concentration in
 535 faeces (ng g⁻¹ dry matter, DM).

536 **Conclusion**

537 This study provided important results on CLD elimination in sheep and identified the main CLD
538 elimination pathways. We confirmed that the faecal route is the major route of excretion of CLD: 51.2%
539 of CLD in serum is excreted as parent form in faeces versus 0.2% in urine. In addition to studying the
540 parent molecule elimination, this study focused on CLDOH elimination, the main metabolite of CLD.
541 The faecal route is also the major route of CLDOH excretion: 64% of CLDOH-t in serum is excreted as
542 CLDOH in faeces versus 6% as CLDOH-C in urine. These important results could be used later to
543 discuss societal acceptance of depuration strategies by stakeholders.

544 **Acknowledgements**

545 The experimentation was funded by the CLD National Plan III, research program INSSICCA PITE and
546 the MESRI (Ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation, France). The
547 authors thank Claire Collas, Matthieu Delannoy, Frédéric Desor, Hervé Toussaint, Stefan Jurjanz,
548 Marion Huguet, Claire Soligot, Julie Peiffer, Damien Banas and Christine Grandclaudon (UR AFPA)
549 for their contribution. They warmly thank Pamela Hartmeyer (UR AFPA) for her support during the
550 experiments, Catherine Adam (LEAE-CART) for serum analysis and Fiona Lobo (ANSES) for faeces
551 analysis.

552 **Conflict of interest**

553 The authors have no conflicts of interest.

554 **References**

- 555 Bousquet-Mélou, A., Mercadier, S., Alvinerie, M., Toutain, P.-L., 2004. Endectocide exchanges
556 between grazing cattle after pour-on administration of doramectin, ivermectin and moxidectin.
557 *International Journal for Parasitology*. 34, 1299-1307.
- 558 Boylan, J.J., Cohn, W.J., Egle, J.L., Blanke, R.V., Guzelian, P.S., 1979. Excretion of chlordecone by the
559 gastrointestinal tract: Evidence for a nonbiliary mechanism. *Departments of Medicine and*
560 *Pharmacology*. 25, 579-585.
- 561 Chevallier, M.L., Della-Negra, O., Chaussonnerie, S., Barbance, A., Muselet, D., Lagarde, F., Darii, E.,
562 Ugarte, E., Lescop, E., Fonknechen, N., Weissenbach, J., Woignier, T., Gallard, J.-F., Vueilleumier, S.,
563 Imfeld, G., Le Paslier, D., Saaidi, P.-L., 2019. Natural chlordecone degradation revealed by numerous
564 transformation products characterize in key French West Indies environmental compartments.
565 *Environmental Science & Technology*. 53, 6133–6143.
- 566 Cohn, W.J., Boylan, J.J., Blanke, R.V., Fariss, M.W., Howell, J.R., Guzelian, P.S., 1978. Treatment of
567 chlordecone (Kepone) toxicity with cholestyramine – Results of a controlled clinical trial. *The New*
568 *England Journal of Medicine*. 298, 243–48.

569 Desaiyah, D., & Koch, R. B., 1975. Inhibition of ATPases activity in channel catfish brain by Kepone
570 and its reduction product. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 13(2), 153-158.

571 Egle, J.L., Fernandez, S.B., Guzelian, P.S., Borzelleca, J.F., 1978. Distribution and excretion of
572 chlordecone (Kepone) in the rat. *Drug Metabolism and Disposition*. 6, 91–95.

573 Fariss, M.W., Blanke, R.V., Saady, J.J., Guzelian, P.S., 1980. Demonstration of major metabolic
574 pathways for Chlordecone (Kepone) in Humans. *Drug Metabolism and Disposition*. 8, 434–438.

575 Fourcot, A., Feidt, C., Bousquet-Mélou, A., Ferran, A.A., Gourdine., J.L., Bructer, M., Joaquim-Justo,
576 C., Rychen, G., Fournier, A., 2020. Modeling chlordecone toxicokinetics data in growing pigs using a
577 nonlinear mixed-effects approach. *Chemosphere*. 250.

578 Fournier, A., Feidt, C., Lastel, M.-L., Archimede, H., Thomé, J.-P., Mahieu, M., Rychen, G., 2017.
579 Toxicokinetics of Chlordecone in goats: Implications for risk management in French West Indies.
580 *Chemosphere*. 171, 564–570.

581 Houston, T.E., Mutter, L.C., Blanke, R.V., Guzelian, P.S., 1981. Chlordecone alcohol formation in the
582 Mongolian gerbil (*Meriones Uniguiculatus*): a model for human metabolism of Chlordecone (Kepone).
583 *Fundamental and Applied Toxicology*. 1, 293–298.

584 IEDOM, 2015. Rapport annuel, Guadeloupe 2014.
585 https://www.iedom.fr/IMG/pdf/ra2014_guadeloupe.pdf

586 Le Déaut, J.Y. and Procaccia, C., 2009. Les impacts de l'utilisation de la chlordécone et des pesticides
587 aux Antilles : bilan et perspectives d'évolution. OPECST, June 24, 2009. 223 p.

588 Macarie, H., Bristeau, S., Woignier, T., Sovocool, G.W., Mouvet, C., 2016. Analyse par GC-MS des
589 formulations commerciales de chlordécone (Kepone® et Curlone®) épandues aux Antilles.GFP.
590 http://www.gfpesticides.org/bdd_fichiers/169475818d6ccfd5c1c6036f1dc8d3b3aeac43f8521.pdf

591 Mahieu, M., Fournier, A., Lastel, M.L., Feidt, C., Rychen, G., Archimède, H., 2014. Chlordecone and
592 animal breeding individual variability of the excretion capacity of ruminants and consequences on the
593 contamination. Presented at the 44ème congrès du Groupe Français des Pesticides, 26-29 mai 2014.

594 Molowa, D.T., Wrighton, S.A., Blanke, R.V., Guzelian, P.S., 1986. Characterization of a unique aldo-
595 keto reductase responsible for the reduction of chlordecone in the liver of the gerbil and man. *Journal of*
596 *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 17, 375–384.

597 Saint-Hilaire, M., Bertin, T., Inthavond, C., Lavison-Bompard, G. Guérin, T., Founier, A., Feidt, C.,
598 Rychen, G., Parinet, J., 2018a. Validation of analytical methods for chlordecone and its metabolites in
599 the urine and feces of ewes. *Journal of Chromatography B*. 1093-1094, 66-76.

600 Saint-Hilaire, M., Inthavond, C., Bertin, T., Lavison-Bompard, G., Guérin, T., Fournier, A., Rychen, G.,
601 Parinet, J., 2018b. Development and validation of an HPLC-MS/MS method with QuEChERS
602 extraction using isotopic dilution to simultaneously analyze chlordecone and chlordecol in animal livers.
603 *Food Chemistry*. 252, 147-153.

604 Saint-Hilaire, M., Rychen, G., Thomé, J. P., Joaquim-Justo, C., Le Roux, Y., Feidt, C., Fournier, A.,
605 2019. Linear toxicokinetic of chlordecone in ewe's serum. *Environmental Science and Pollution*
606 *Research*, 1-8.

607 Soileau, S. D., & Moreland, D. E., 1983. Effects of chlordecone and its alteration products on isolated
608 rat liver mitochondria. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 67(1), 89-99.

609 Soileau, S. D., & Moreland, D. E., 1988. Effects of chlordecone and chlordecone alcohol on isolated
610 ovine erythrocytes. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues*, 24(2), 237-
611 249.

612 Soine, P.J., Blanke, R.V. and Schwartz, C.C, 1983. Chlordecone metabolism in the pig. *Toxicology*
613 *Letters*. 17, 35-41.

614 Yehya, S., Delannoy, M., Fournier, A., Baroudi, M., Rychen, G., Feidt, C., 2017. Activated carbon, a
615 useful medium to bind chlordecone in soil and limit its transfer to growing goat kids. *PLoS ONE*. 12.

L'expérimentation B a permis d'apporter des connaissances sur la distribution tissulaire de la CLD chez la brebis. Elle a confirmé le comportement particulier de la CLD, une molécule lipophile qui a une forte affinité pour le foie. Les données obtenues ont permis de calculer des coefficients de partage entre les tissus et le sérum et de calculer des temps de demi-vies tissulaires. Ces derniers ne diffèrent pas significativement entre les tissus et sont compris entre 20 et 24 j. Des corrélations entre les tissus ont également été établies et ont permis d'identifier le TASC et le sérum comme matrices de biomonitoring potentielles pour estimer le niveau de contamination d'un animal. Par ailleurs, la distribution hétérogène entre les muscles et tissus semble expliquée en partie par les concentrations en lipides polaires.

Les résultats des expérimentations A1 et A2 menées dans le cadre de la thèse de Saint-Hilaire (2018) ont été valorisées dans cette thèse et complétés par les résultats de l'expérimentation B afin de caractériser l'élimination de la CLD chez la brebis. Ces données ont permis de décrire les formes d'élimination de la CLD. Dans le sang et les urines, les formes CLD et CLDOH-C ont été quantifiées alors que les formes quantifiées dans les fèces sont la CLD et le CLDOH libre. Les résultats de l'expérimentation A2 suggèrent que l'équilibre de la réaction de biotransformation de la CLD en CLDOH n'est pas ou peu réversible et que l'équilibre de cette réaction est déplacé fortement vers la formation de CLDOH-C. Les clairances globales d'élimination de la CLD et du CLDOH-t chez la brebis ont été estimées respectivement à 50 ± 6 et 660 ± 76 mL j⁻¹ kg⁻¹ PV. Les clairances fécales de la CLD et du CLDOH ont été estimées respectivement à 25 ± 3 et 422 ± 65 mL j⁻¹ kg⁻¹ PV. L'utilisation de ces clairances a permis de montrer que la voie fécale est la voie majoritaire d'excrétion : 82% de la CLD sérique est éliminée via les fèces (51% sous forme parent et 31% sous forme CLDOH) contre 3% dans les urines. A partir d'une prise de sang permettant de connaître le niveau de contamination initiale d'un animal, la quantité de CLD excrétée via les fèces lors d'une période de décontamination peut être estimée en utilisant les clairances fécales.

L'ensemble des données acquises sur la toxicocinétique de la CLD dans les travaux de Saint-Hilaire (2018) ou dans le cadre de cette thèse seront utilisés pour construire un modèle toxicocinétique de transfert de la CLD chez l'ovin.

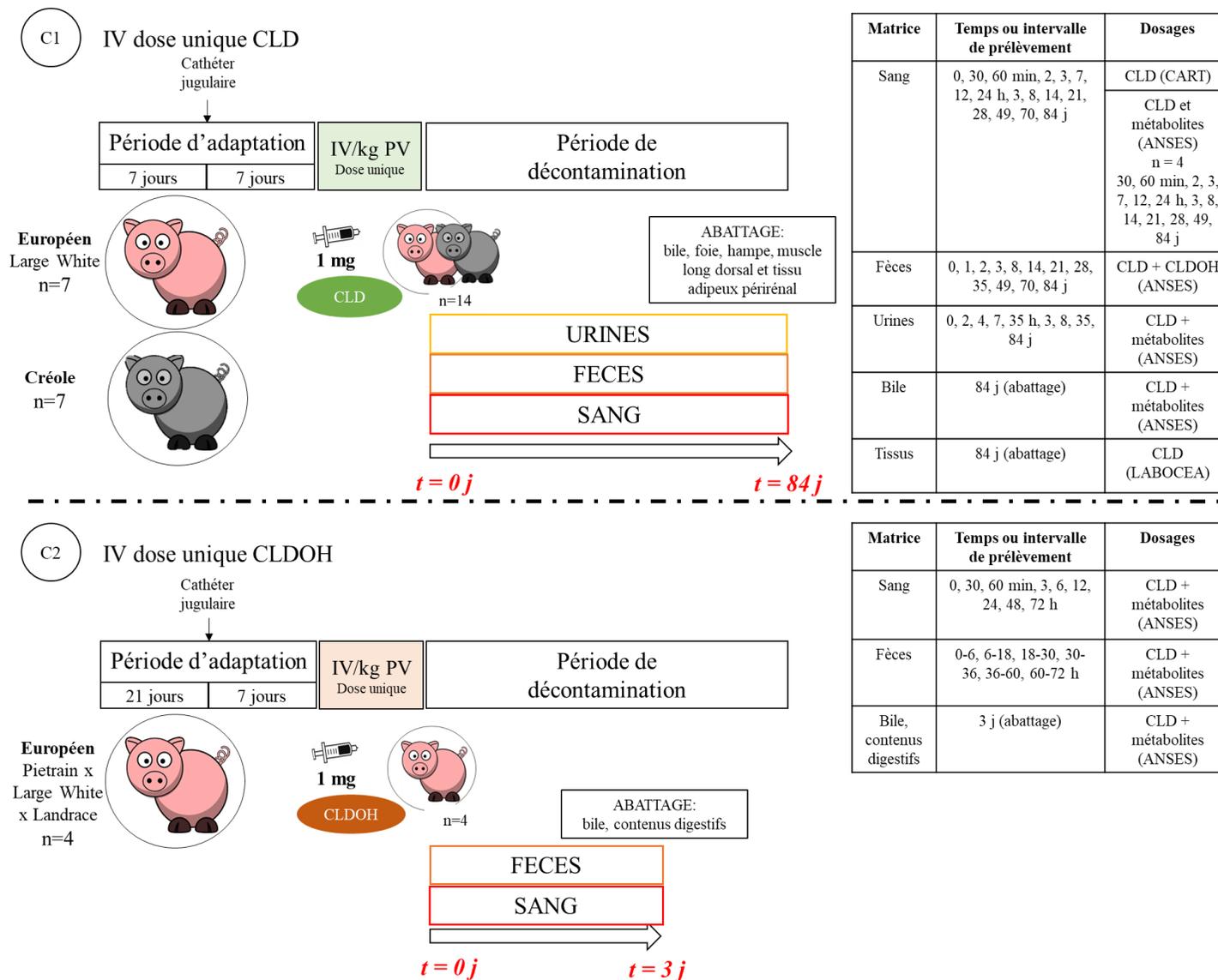


Figure 13: Schéma expérimental des protocoles toxicocinétiques menés chez le porc

PARTIE 2: Toxicocinétique de la chlordécone chez le porc en croissance

La synthèse bibliographique a mis en évidence des lacunes sur la toxicocinétique de la CLD chez le porc. Bien que la toxicocinétique de la CLD ait été étudiée chez les rongeurs comme le rat, les différences marquées de métabolisme de la CLD entre les différents rongeurs et le porc ne permettent pas d'extrapoler les résultats obtenus au porc. Une étude s'est intéressée spécifiquement à la toxicocinétique de la CLD chez le porcelet (Soine et al., 1983). Cependant, les doses administrées étaient très élevées (40 et 80 mg kg⁻¹ PV), très loin de la réalité de terrain et au-dessus des seuils toxicologiques compte-tenu de la réaction physiologique des porcs les premiers jours post-contamination. Par ailleurs, le temps de demi-vie a été calculé à partir d'un seul animal par dose. Ces résultats sont donc à compléter et confirmer.

Afin d'acquérir des connaissances sur la distribution et l'élimination de la CLD chez le porc, une étude composée de deux expérimentations *in vivo* complémentaires a été conduite. Les objectifs de cette étude ont été :

- (1) d'estimer les paramètres toxicocinétiques de la CLD et du CLDOH chez le porc ;
- (2) de caractériser les voies et formes d'élimination de la CLD chez le porc ;
- (3) de caractériser le métabolisme de la CLD chez le porc ;
- (4) de quantifier l'excrétion de la CLD chez le porc ;
- (5) de vérifier la non-réversibilité de la réaction de réduction de la CLD en CLDOH ;
- (6) d'apporter des résultats préliminaires sur la distribution de la CLD chez le porc.

La figure 13 présente le schéma expérimental de l'étude. Une hypothèse importante qui ne sera pas validée dans cette thèse est la linéarité de la toxicocinétique de la CLD chez le porc qui a été vérifiée chez la brebis (Saint-Hilaire et al., 2019).

1. Plan expérimental

1.1. Schéma expérimental

1.1.1. Expérimentation C1 : injection intraveineuse dose unique de chlordécone

L'expérimentation C1 a été menée sur la Plateforme Tropicale d'Expérimentation sur l'Animal (INRA PTEA, Petit-Bourg, Guadeloupe). Le design expérimental de l'expérimentation C1 est détaillé dans la partie 2.2. du Matériel et Méthodes de l'article 3 « Modeling chlordecone toxicokinetics data in growing pigs using a nonlinear mixed-effects approach » (Fourcot et al., 2020). Brièvement, 14 porcs mâles castrés de deux races différentes, Créole (n=7) et Large White (n=7) ont été placés dans des cages de digestibilité individuelles. La race Large White est l'une des races de porcs les plus utilisées dans le monde dont les porcs ont été sélectionnées pour leur performance de croissance dans des conditions d'élevage optimales. La race Créole est une race locale qui présente une meilleure résistance à la chaleur, une maturité précoce et un dépôt de gras supérieur à la race Large White. Ces deux génotypes ont été étudiés afin de comparer les paramètres toxicocinétiques de la CLD chez les deux races porcines principales aux Antilles et voir si les différences physiologiques entre ces deux races influent sur les paramètres toxicocinétiques de la CLD. Aux Antilles, les porcs sont abattus entre 70 et 80 kg. L'étude a donc porté sur des porcs proches de ce poids cible afin de pouvoir étudier la possibilité de stratégies de décontamination avant abattage. Au début de l'expérimentation, les porcs pesaient $68,3 \text{ kg} \pm 1,7 \text{ kg}$. Une semaine avant le début de l'expérimentation, un cathéter a été placé sur chaque porc au niveau de la veine jugulaire externe afin de faciliter l'administration de CLD et les prélèvements de sang. L'expérimentation a consisté à injecter une dose unique de CLD ($1 \text{ mg CLD kg}^{-1} \text{ PV}$; 99,9%, Sigma Aldrich) par voie *i.v.* via le cathéter jugulaire. La CLD a été dissoute dans du Crémophor (Kolliphor®, Sigma-Aldrich) à température par sonication (2 h). Des prélèvements de sang ($4 \times 10 \text{ mL}$) ont été réalisés à 0, 30, 60 min, 2, 3, 7, 12, 24 h, 3, 8, 14, 21, 28, 49, 70 et 84 j après administration de CLD via le cathéter jugulaire. Des prélèvements de fèces ont été réalisés sur 24 h à 0, 1, 2, 3, 8, 14, 21, 28, 35, 49, 70 et 84 j, de telle sorte que le prélèvement de sang soit prélevé au milieu de la période de récolte des fèces. Des urines ont également été prélevées sur les intervalles 0-2, 4-7, 7-35 h, puis sur 24 h à 3, 8, 35 et 84 j. Après 84 j de décontamination, les porcs ont été abattus par étourdissement puis saignée. Le foie, la bile, le gras périrénal, la hampe et le muscle long dorsal ont été collectés.

1.1.2. Expérimentation C2 : injection intraveineuse dose unique de chlordécol

L'expérimentation C2 a été menée sur la Plateforme Bio-DA (UR AFPA, Vandoeuvre-lès-Nancy) et à l'ACBS (Vandoeuvre-lès-Nancy). 4 porcs mâles castrés de type génétique Pietrain x Large White x Landrace ont été placés individuellement dans des cages. Au début de l'expérimentation, les porcs pesaient $59 \pm 2 \text{ kg}$. Une semaine avant le début de l'expérimentation, deux cathéters ont été placés sur

chaque porc au niveau de la veine jugulaire externe afin de faciliter l'administration de CLD et les prélèvements de sang. L'expérimentation a consisté à injecter une dose unique de CLDOH (1 mg CLDOH kg⁻¹ PV ; Azur Isotope, 99%) par voie *i.v.* via le cathéter jugulaire 1. Le CLDOH a été dissout dans du Crémophor (Kolliphor®, Sigma-Aldrich) à température ambiante par sonication (2 h). Après injection de CLD, le cathéter a été rincé avec 1 mL de Crémophor non contaminé. Des prélèvements de sang (4 x 10 mL) ont été réalisés à 0, 30, 60 min, 3, 6, 12, 24, 48 et 72 h via le cathéter 2. Des prélèvements de fèces ont été réalisés sur les intervalles 0-6, 6-18, 18-30, 30-36, 36-60 et 60-72 h. Après 72 h de décontamination, les porcs ont été abattus par étourdissement (tige perforante) puis saignée. La bile et les différents contenus digestifs (jéjunum, iléon, caecum et colon) ont été collectés.

Remarque : Dans chacune des expérimentations de toxicocinétiques présentées le $t = 0$ correspond au début de contamination.

1.2. Prélèvement, traitement et analyse des échantillons

1.2.1. Sang

Les échantillons de sang ont été collectés via le cathéter et transféré dans des tubes secs. Les échantillons de sang ont été laissés au repos pour coagulation 2 h à température ambiante puis 24 h à 4°C. Les échantillons de sang ont ensuite été centrifugés à 3000 rpm pendant 10 min pour obtenir des échantillons de sérum qui ont été congelés à -20°C avant analyse.

Le dosage des échantillons de l'expérimentation C1 a été réalisé au Centre de Recherche Analytique et Technologique (LAEA-CART, Liège, Belgique). Les concentrations de CLD dans le sérum ont été obtenues par GC-MS/MS. La méthode est décrite précisément dans le paragraphe 2.3.1. de l'article 3 « Modeling chlordecone toxicokinetics data in growing pigs using a nonlinear mixed-effects approach » (Fourcot et al., 2020).

Les échantillons de 4 porcs de l'expérimentation C1 ont été dosés au LSA (Anses, Maisons-Alfort) afin d'obtenir les concentrations de CLD, de CLDOH et de CLDOH-t dans le sérum. Pour l'expérimentation C2, l'ensemble des dosages de CLD et de ses métabolites dans le sérum a été réalisé à l'Anses. Pour doser les métabolites de la CLD dans le sérum, une méthode basée sur la méthode validée d'extraction simultanée de la CLD et de ses métabolites (M. Saint-Hilaire et al., 2018) a été développée dans le sérum (Saint-Hilaire, 2018) en adaptant le protocole d'extraction car le sérum contient plus de protéines que l'urine. 2 mL de sérum ont été placés dans un tube noté 1 utilisé pour l'extraction de CLD et de CLDOH. Une deuxième prise d'essai de 2 mL a été placée dans un tube noté 2, utilisé pour l'extraction du CLD total (CLD-t) et du CLDOH total (CLDOH-t, c'est-à-dire le CLDOH libre et le CLDOH conjugué). L'étape de déconjugaison a été réalisée comme indiqué par Saint-Hilaire et al. (2018). 50 µL de ¹³C-CLD et 50 µL de ¹³C-CLDOH ont été ajoutés à chaque prise d'essai. Pour l'étape d'extraction, 10 mL

d'acétonitrile (ACN) ont été ajoutés dans chacun des tubes puis agité pendant 1 min au vortex afin de permettre la précipitation des protéines. Chaque tube a ensuite été centrifugé à 4000 tours / min pendant 5 min. Le surnageant des tubes 1 et 2 a été évaporé sous un flux d'azote à 37°C. Après évaporation, 1 mL d'ACN a été ajouté aux résidus de chaque tube et analysé par LC-MS/MS. La concentration des métabolites conjugués (CLDOH-G et CLDOH-S) dans le sérum a été calculée en soustrayant l'analyse sans prétraitement (CLDOH) de l'analyse avec prétraitement enzymatique (CLDOH-t).

1.2.2. Urine, fèces et contenus digestifs

Les échantillons d'urine ont uniquement été récoltés dans l'expérimentation C1. Les cages de digestibilité individuelles ont facilité la collecte des urines car elles permettent de séparer les fèces et l'urine lors d'étude sur des porcs mâles. Les urines ont été recueillies dans un seau. Elles ont ensuite été pesées, filtrées et aliquotées dans des flacons ambrés. Les aliquots ont ensuite été congelés et conservés à -20°C avant analyse.

Dans l'expérimentation C1, les fèces étaient récoltées dans le bac à fèces de la cage de digestibilité. Dans l'expérimentation C2, les fèces étaient collectées directement au sol. Les fèces ont ensuite été pesées, lyophilisées puis broyées. Dans l'expérimentation C2, les contenus digestifs du jéjunum, de l'iléon, du caecum et du colon ont été prélevés dans leur intégralité. Les échantillons ont été pesés, lyophilisés puis broyés. A l'issue du broyage, chaque échantillon de fèces et de contenu digestif a été aliquoté dans des flacons ambrés à température ambiante avant analyse.

Le dosage de la CLD et de ses métabolites dans les urines et les fèces a été réalisé en suivant la méthode présentée par Saint-Hilaire et al. (2018) et résumée dans la partie 1.2.2. du chapitre 2 / partie 1. Seuls la CLD libre et le CLDOH ont été quantifiés dans les fèces. La même méthode de dosage que pour les fèces a été utilisée pour doser la CLD et ses métabolites dans les contenus digestifs. Dans les urines, la CLD et ses métabolites ont été extraits avec et sans prétraitement enzymatique en utilisant une méthode QuECHERS. Les extraits ont ensuite été analysés par LC-MS/MS. La concentration des métabolites conjugués (CLDOH-G et CLDOH-S) dans les urines a été calculée en soustrayant l'analyse sans prétraitement (CLDOH) de l'analyse avec prétraitement enzymatique (CLDOH-t). Les limites de quantification (LQ) de la CLD, du CLDOH et du CLDOH-t dans les urines sont respectivement de 0,1 $\mu\text{g CLD L}^{-1}$; 1,3 $\mu\text{g CLDOH L}^{-1}$ et 2,4 $\mu\text{g CLDOH-t L}^{-1}$.

1.2.3. Organes et tissus

Après prélèvement, les organes (foie, tissus adipeux et muscles) ont été pesés. Les échantillons ont ensuite été nettoyés des vaisseaux et tissus conjonctifs puis découpés finement pour obtenir des échantillons homogènes. Ils ont été congelés à -20°C avant analyse.

Les concentrations de CLD dans les différents tissus (foie, hampe, muscle long dorsal, tissu adipeux périrénal) ont été dosé par le laboratoire LABOCEA (Quimper, France ; accrédité COFRAC) en se basant sur la méthode officielle de l'Anses (méthode ANSES PBM Pest LSA-INS-0163 v4, Maisons-Alfort, France ; ANSES, 2015) résumée dans la partie 1.2.3. du chapitre 2 / partie 1.

1.2.4. Bile

La bile a été prélevée dans la vésicule biliaire à l'aide d'une seringue et d'une aiguille puis transférée dans un tube à essai et congelée à -20°C avant analyse.

Pour doser les métabolites de la CLD dans la bile, la méthode développée dans la thèse de Saint-Hilaire (2018) a été utilisée. 2 mL de bile ont été placés dans un tube noté 1 utilisé pour l'extraction de CLD et de CLDOH. Une deuxième prise d'essai de 2 mL a été placée dans un tube noté 2 utilisé pour l'extraction de la CLD totale (CLD-t) et du CLDOH total (CLDOH-t). 50 µL de ¹³C-CLD et 50 µL de ¹³C-CLDOH ont été ajoutés à chaque prise d'essai. 4 mL de tampon acétate (0,2 M ; pH = 4,75) ont été ajoutés à la première prise d'essai (tube 1). Cette prise d'essai a permis d'obtenir les concentrations libres de CLD et de CLDOH. Pour la deuxième prise d'essai (tube 2), entre 10 et 20 µL d'acide acétique 4 M ont été additionnés aux biles afin que le pH des matrices se situent entre 4,5 et 5,0. Puis 4 mL de tampon acétate (0,2 M ; pH = 4,75) ont été ajoutés au tube 2. Enfin, 100 µL de sulfatase type H-2 (≥ 100 unités µL⁻¹ pour l'activité β -glucuronidase et ≥ 2 unités µL⁻¹ pour l'activité sulfatase) ont été ajoutés dans le tube 2. Cette deuxième prise d'essai a permis d'obtenir les concentrations totales de CLD et de CLDOH après l'étape de déconjugaison (CLD-t et CLDOH-t). La soustraction entre les concentrations de CLD-t et de CLD et entre les concentrations de CLDOH-t et de CLDOH a permis de déterminer les concentrations de CLD et de CLDOH conjugués (CLD-C et CLDOH-C). A l'issue de ces traitements, les échantillons ont été mis à l'étuve à 37°C pendant 16 h.

Pour l'étape d'extraction, 10 mL d'acétonitrile (ACN) ont été ajoutés dans chacun des tubes puis agités pendant 1 min au vortex afin de permettre la précipitation des protéines. 4,0 g de sulfate de magnésium (MgSO₄) et 1,0 g de chlorure de sodium (NaCl) ont ensuite été ajoutés. Chaque tube a ensuite été agité au vortex pendant 1 min puis centrifugé à 4000 tours / min pendant 5 min. Après centrifugation, 1 mL du surnageant de chaque tube a été déposé sur la phase dispersive PSA/C18/Envi-Carb (50 mg de PSA, 50 mg de C18 et 50 mg d'Envi-Carb). Le mélange a été agité au vortex pendant 1 min puis centrifugé à 4000 tours / min pendant 5 min. Le surnageant issu de la centrifugation a ensuite été analysé par LC-MS/MS pour doser simultanément la CLD et le CLDOH.

1.3. Analyse des données

1.3.1. Analyse des données sanguines

(i) Analyses de la cinétique sanguine de la CLD de l'expérimentation C1

L'analyse des concentrations sériques de CLD de l'expérimentation C1 est détaillée dans les parties 2.5. et 2.6. de l'article 3 « Modeling chlordecone toxicokinetics data in growing pigs using a nonlinear mixed-effects approach » (Fourcot et al., 2020). Ces données ont été modélisées avec deux approches : une approche non-compartimentale et une approche de population avec un modèle non linéaire à effet mixte (NLME).

L'analyse non-compartimentale a été réalisée avec le logiciel PKanalix (Lixoft, version 2019R1). Cette analyse a permis d'obtenir les paramètres toxicocinétiques fondamentaux : la clairance d'élimination globale (CL_{CLD}), le volume de distribution à l'équilibre ($V_{ss,CLD}$), le temps moyen de résidence (MRT_{CLD}) et l'aire sous la courbe ($AUC_{0 \rightarrow \infty, CLD}$). Afin de comparer les paramètres toxicocinétiques de la CLD entre différentes espèces, l'analyse non-compartimentale de données sériques d'expérimentations toxicocinétiques similaires menées chez la chèvre et la brebis (Fournier et al., 2017 ; Saint-Hilaire et al., 2019) a été réalisée. Les paramètres toxicocinétiques obtenus chez les trois espèces ont été comparés par une analyse de variance (ANOVA) suivie d'un test de Tukey sur le logiciel R (version 3.5.0.).

L'analyse de population a été réalisée en utilisant une approche NLME avec le logiciel Monolix (Lixoft, version 2019R1). Cette approche permet d'estimer la distribution statistique des paramètres toxicocinétiques sur la population, d'évaluer la variabilité interindividuelle et l'influence de facteurs physiologiques sur les paramètres toxicocinétiques. La première étape a été de construire un modèle structurel permettant de modéliser individuellement les données sériques. Les paramètres toxicocinétiques ont été calculés individuellement avec un modèle bicompartimental. Les paramètres choisis dans le modèle structurel individuel étaient la clairance globale d'élimination (CL), le volume de distribution du compartiment central (V1), la clairance inter-compartimentale (Q) et le volume du compartiment périphérique (V2). Sur cette base, le modèle de population a été construit afin d'estimer les paramètres moyens de la population et la variabilité interindividuelle des paramètres toxicocinétiques. L'erreur résiduelle a été modélisée par un modèle d'erreur proportionnel. La variabilité interindividuelle a été modélisée par un modèle d'erreur exponentiel. Après la construction des modèles structurels et statistiques, des covariables ont été ajoutées et testées une à une sur les estimations individuelles des paramètres CL et V2. Le facteur race (Large White ou Créole) et deux variables continues (le poids initial et le gain moyen quotidien (GMQ)) ont été testées comme des potentielles covariables ayant un impact sur l'estimation des paramètres toxicocinétiques. Le choix du modèle le plus simple et le plus adapté pour décrire les données s'est basé sur deux critères statistiques. Les covariables choisies sont celles qui ont permis de maximiser la vraisemblance (soit de diminuer le log-

Likelihood). Une fois les covariables potentielles identifiées, le modèle final a été choisi de telle sorte que le BIC (Bayesian Information Criteria) soit minimisé. Avec une approche étape par étape, seule la variable GMQ, ayant un effet significatif sur les paramètres CL et V2, a été ajoutée comme covariable au modèle final. L'évaluation du modèle s'est basée sur la construction de plusieurs graphiques permettant d'apprécier la qualité du modèle.

(ii) Analyse de la cinétique sanguine du CLDOH de l'expérimentation C2

Cinétique du CLDOH. Le profil de concentrations de CLDOH libre (CLDOH) dans le sérum en fonction du temps a été analysé sur R (version 3.6.2.). Un modèle bicompartimental a permis de modéliser au mieux les données expérimentales, selon l'équation (1) :

$$C(t) = A e^{-\alpha t} + B e^{-\beta t} \quad (1)$$

Avec : $C(t)$ (ng mL⁻¹) la concentration de CLD dans le sérum au temps t ; A (ng mL⁻¹) l'ordonnée de la phase de distribution ; α (j⁻¹) la constante de premier ordre de distribution ; B (ng mL⁻¹) l'ordonnée de la phase d'élimination et β (j⁻¹) la constante de premier ordre d'élimination.

Les aires sous la courbe individuelles de la cinétique de concentrations du CLDOH en fonction du temps ($AUC_{0 \rightarrow \infty, CLDOH}$), la clairance globale d'élimination du CLDOH (Cl_{CLDOH}), le temps moyen de résidence du CLDOH (MRT_{CLDOH}), le volume de distribution du CLDOH ($V_{SS, CLDOH}$) et le temps de demi-vie du CLDOH ($t_{1/2, CLDOH}$) ont été calculés à partir des équations classiques de l'approche non-compartimentale.

Cinétique du CLDOH-t. Le profil de concentrations de CLDOH total (CLDOH-t) dans le sérum en fonction du temps a été analysé sur R (version 3.6.2.). Un modèle monocompartimental a permis de modéliser au mieux les données expérimentales, selon l'équation (2) :

$$C(t) = C_0 e^{-kt} \quad (2)$$

Avec : $C(t)$ (ng mL⁻¹) la concentration de CLD dans le sérum au temps t ; C_0 (ng mL⁻¹) la concentration extrapolée au temps $t = 0$ et k (j⁻¹) la constante d'élimination.

En utilisant la même méthode, les aires sous la courbe individuelles de la cinétique de concentrations du CLDOH-t en fonction du temps ($AUC_{0 \rightarrow \infty, CLDOH-t}$) et la clairance globale d'élimination du CLDOH-t ($Cl_{CLDOH-t}$) ont été calculées. Ce calcul a nécessité l'hypothèse que le CLDOH est entièrement et rapidement transformé en CLDOH-C.

1.3.2. Analyse des données tissulaires

Pour rappel, les tissus (foie, bile, gras périrénal, hampe, muscle long dorsal) ont uniquement été prélevés les porcs de l'expérimentation C1 après 84 j de décontamination. Les analyses statistiques ont été réalisées sur le logiciel R (version 3.6.2.). Le niveau de signification statistique a été fixé à 0,05.

(i) Comparaison des concentrations de chlordécone dans les tissus en fonction du génotype

Pour comparer les concentrations de CLD dans chaque tissu entre les deux races, un test de Student a été réalisé. Avant d'appliquer ce test paramétrique, la normalité des données et l'égalité des variances ont été testés avec respectivement un test de Shapiro et un test de Fisher.

(ii) Comparaison des concentrations de chlordécone en fonction des tissus

Un modèle non linéaire à effet mixte (package nlme, logiciel R) avec mesures répétées sur les porcs a été utilisé pour étudier l'effet du tissu sur les concentrations de CLD. Comme différents tissus ont été prélevés sur chaque animal, le fait de considérer les mesures répétées permet de limiter les biais statistiques. Un test post-hoc de Tukey a ensuite été appliqué.

(iii) Estimation des quantités totales de chlordécone dans les différents tissus

Les concentrations de CLD obtenues dans les tissus (exprimées en base de matière fraîche) ont été utilisées pour estimer les quantités de CLD dans le foie, le muscle et le tissu adipeux. Le poids de la masse totale de muscle et de tissu adipeux a été estimée en considérant les données présentées par Renaudeau et al. (2005). Les pourcentages de muscle du PV chez les porcs Créole et Large White sont respectivement de 43,3% et 54,8%. Les pourcentages de tissu adipeux du PV chez les porcs Créole et Large White sont respectivement de 34,7% et 22,4%. Les quantités de CLD dans les tissus ont été obtenues en multipliant le poids total de chaque matrice par les concentrations des tissus correspondant à l'abattage. Le calcul des quantités de CLD dans le muscle a été calculé de trois façons : soit en considérant uniquement la concentration de la hampe, soit en considérant une concentration moyenne entre la hampe et le long dorsal (LD) ou soit en considérant une concentration moyenne pondérée en considérant 30% de la concentration de la hampe et 70% de la concentration du LD.

La quantité totale de CLD dans l'organisme (aussi appelée body burden) a été estimée en multipliant le volume de distribution individuel obtenue suite à l'analyse individuelle et la concentration sérique de CLD à l'abattage.

(iv) Ratios de concentrations entre les différents tissus

Des ratios de concentrations entre les tissus ont été calculés individuellement puis la moyenne et l'écart-type à la moyenne de ces ratios ont été calculés.

1.3.3. Analyse des données urinaires

D'après la littérature, la CLD semble très faiblement excrétée via les urines par rapport à la voie fécale. Afin de vérifier la faible concentration dans les urines, des pools entre le temps $t = 0$ et $t = 72$ h ont été réalisés pour 6 animaux de l'expérimentation C1. Ce pool a été réalisé en se basant sur les volumes

d'urine excrétés sur chaque intervalle de prélèvement. L'intervalle 0-72 h a été choisi car il correspond certainement au pic d'excrétion suite à l'administration de CLD (Saint-Hilaire, 2018).

Afin de vérifier que la voie urinaire est minoritaire par rapport à la voie fécale, une comparaison des concentrations urinaires de l'intervalle 0-72 h et des concentrations fécales de l'intervalle 24-48 h des mêmes animaux (n=6) a été réalisée. Les concentrations de CLD-t et de CLDOH-t obtenues dans les urines et les fèces ont été comparées par un test de Student sur le logiciel R (version 3.6.2.). Les concentrations inférieures à la LQ ont été considérées égales à la moitié de la LQ pour les analyses statistiques.

1.3.4. Analyse des données fécales

L'analyse des données fécales s'est basée sur la méthode présentée dans l'article 2.

(i) Analyse des données fécales de l'expérimentation C1

Estimation des quantités de fèces excrétées. La quantité moyenne de fèces excrétée par heure ($R_{f,moyenC1}$) a été calculée pour chaque porc individuellement (exprimée par g de MS).

Calcul des taux d'excrétion de CLD dans les fèces. Le taux d'excrétion de CLD par voie fécale pendant la période de collection ΔT a été calculée pour chaque échantillon i suivant l'équation (3) :

$$\text{Taux d'excrétion fécale}_{CLD, i} = [CLD]_{f, \Delta T_i} \times R_{f,moyenC1} \quad (3)$$

Avec : $[CLD]_{f, \Delta T_i}$ la concentration individuelle de la CLD dans les fèces pendant la période de collecte ΔT de l'échantillon i .

Calcul de la clairance fécale de la CLD. Les taux d'excrétion de CLD dans les fèces présentés ci-dessus ont été utilisés pour calculer la clairance fécale de la CLD ($Cl_{f,CLD}$). La clairance étant le facteur de proportionnalité entre le taux d'excrétion et les concentrations circulant dans le sérum et comme plusieurs collectes ont été réalisées sur chaque individu, les données ont été analysées à partir d'un modèle linéaire, suivant l'équation (4) :

$$\text{Taux d'excrétion fécale}_{CLD, i} = Cl_{f,CLD} \times [CLD]_{serum, \Delta T_i} \quad (4)$$

Avec : $[CLD]_{serum, \Delta T_i}$ la concentration de CLD dans le sérum pendant la période de collecte ΔT .

Estimation du pourcentage de CLD excrété via les fèces. Pour chaque porc, le pourcentage de CLD excrété dans les fèces sous forme parent ($\%excrété_{f,CLDC1}$) a été calculé par le ratio entre la clairance fécale de la CLD et la clairance globale d'élimination de la CLD suivant l'équation (5) :

$$\%excrété_{f,CLDC1} = \frac{Cl_{f,CLD}}{CL} \quad (5)$$

Avec : $Cl_{f,CLD}$ la clairance fécale de la CLD et CL la clairance globale d'élimination de la CLD individuelle (partie 1.3.1.(i)).

(ii) Analyse des données fécales de l'expérimentation C2

Estimation des quantités de fèces excrétées. La quantité moyenne de fèces excrétée par heure ($R_{f,moyenC2}$) a été calculée pour chaque porc individuellement (exprimée en base de MS).

Calcul des taux d'excrétion de CLDOH dans les fèces. De la même façon que pour l'expérimentation C1, le taux d'excrétion de CLDOH par voie fécale pendant la période de collection ΔT a été calculée pour chaque échantillon suivant l'équation (6) :

$$\text{Taux d'excrétion fécale}_{CLDOH,i} = [CLDOH]_{f,\Delta Ti} \times R_{f,moyenC2} \quad (6)$$

Avec : $[CLDOH]_{f,\Delta Ti}$ la concentration individuelle de la CLDOH dans les fèces pendant la période de collecte ΔT de l'échantillon i .

Calcul de la clairance fécale du CLDOH. La clairance fécale du CLDOH ($Cl_{f,CLDOH}$) a été calculée individuellement suivant l'équation (7) :

$$\text{Taux d'excrétion fécale}_{CLDOH,i} = Cl_{f,CLDOH} \times [CLDOH-t]_{serum,\Delta Ti} \quad (7)$$

Avec : $[CLDOH-t]_{serum,\Delta Ti}$ la concentration de CLDOH-t dans le sérum pendant la période de collecte ΔT .

Estimation du pourcentage de CLDOH-t excrété via les fèces. Pour chaque porc, le pourcentage de CLDOH excrété dans les fèces sous forme libre ($\%excrété_{f,CLDOHC2}$) a été calculé par le ratio entre la clairance fécale du CLDOH et la clairance globale d'élimination du CLDOH-t suivant l'équation (8) :

$$\%excrété_{f,CLDOHC2} = \frac{Cl_{f,CLDOH}}{Cl_{CLDOH-t}} \quad (8)$$

Avec : $Cl_{f,CLDOH}$ la clairance fécale du CLDOH et $Cl_{CLDOH-t}$ la clairance globale d'élimination individuelle du CLDOH-t (partie 1.3.1.(ii)).

1.3.5. Données de bile et de contenus digestifs

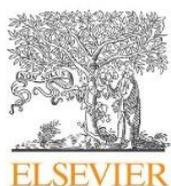
Les analyses statistiques ont porté sur les résultats de concentrations dans la bile et les contenus digestifs obtenus suite à l'expérimentation C2. L'effet de la matrice (bile, jéjunum, iléon, caecum, colon) a été testé sur les concentrations de CLD, de CLDOH et de CLDOH-C à l'aide de modèles non linéaires à effet mixtes (package nlme, logiciel R) avec mesures répétées sur les porcs. Un test post-hoc de Tukey a ensuite été appliqué.

2. Résultats et discussion

2.1. Toxicocinétique sanguine globale de la chlordécone et de ses métabolites chez le porc en croissance

Un des objectifs de l'expérimentation C1 était d'estimer les paramètres toxicocinétiques de la CLD chez le porc. Les données de l'expérimentation A ont été valorisées dans l'article 3 intitulé « Modeling chlordecone toxicokinetics data in growing pigs using a nonlinear mixed-effects approach » publié dans Chemosphere et présenté ci-dessous. Cet article a pour objectif de modéliser la toxicocinétique de la CLD chez les porcs en croissance en utilisant deux approches : l'approche non compartimentale et l'approche de population.

ARTICLE 3 MODELING CHLORDECONE TOXICOKINETICS DATA IN
GROWING PIGS USING A NONLINEAR MIXED-EFFECTS APPROACH



Modeling chlordecone toxicokinetics data in growing pigs using a nonlinear mixed-effects approach



A. Fourcot^a, C. Feidt^a, A. Bousquet-Mélou^b, A.A. Ferran^b, J.L. Gourdine^c, M. Bructer^d, C. Joaquim-Justo^e, G. Rychen^a, A. Fournier^{a,*}

^a Université de Lorraine, INRAE, USC 340, UR AFPA, 2 Avenue de la Forêt de Haye, TSA 40602, 54518, Vandœuvre-lès-Nancy, France

^b INTHERES, Université de Toulouse, INRAE, ENVT, 31000, Toulouse, France

^c Unité de Recherches Zootechniques, INRAE, URZ UR143, Domaine Duclos, 97170, Petit-Bourg, France

^d Plateforme Tropicale d'Expérimentation sur l'Animal, INRAE, PTEA UE1294, 97170, Petit-Bourg, France

^e Université de Liège, LEAE-CART, Freshwater and Oceanic Sciences Unit of Research (FOCUS), B6C, Allée du 6 Août, 11, 4000, Liège, Belgium

HIGHLIGHTS

- Non-linear mixed effects model to study chlordecone toxicokinetics in pigs.
- Body clearance in growing pigs is 76.7 ± 3.2 mL kg⁻¹ d⁻¹.
- Distribution volume in growing pigs is 6.0 ± 0.3 L kg⁻¹.
- Inter-individual variability can be explained by average daily gain.

ARTICLE INFO

Article history:

Received 19 November 2019

Received in revised form

4 February 2020

Accepted 6 February 2020

Available online 11 February 2020

Handling Editor: A. Gies

Keywords:

Chlordecone
Toxicokinetics
Pigs
Modeling
Monolix

ABSTRACT

The use of chlordecone (CLD), a chlorinated polycyclic pesticide used in the French West Indies banana fields between 1972 and 1993, resulted in a long-term pollution of agricultural areas. It has been observed that this persistent organic pollutant (POP) can transfer from contaminated soils to food chain. Indeed, CLD is considered almost fully absorbed after involuntary ingestion of contaminated soil by outdoor reared animals. The aim of this study was to model toxicokinetics (TKs) of CLD in growing pigs using both non-compartmental and nonlinear mixed-effects approaches (NLME). In this study, CLD dissolved in cremophor was intravenously administered to 7 Creole growing pigs and 7 Large White growing pigs (1 mg kg⁻¹ body weight). Blood samples were collected from time $t = 0$ to time $t = 84$ days. CLD concentrations in serum were measured by GCMS/MS. Data obtained were modeled using Monolix (2019R). Results demonstrated that a bicompartmental model best described CLD kinetics in serum. The influence of covariates (breed, initial weight and average daily gain) was simultaneously evaluated and showed that average daily gain is the main covariate explaining inter-individual TKs parameters variability. Body clearance was of 76.7 mL kg⁻¹ d⁻¹ and steady-state volume of distribution was of 6 L kg⁻¹. This modeling approach constitutes the first application of NLME to study CLD TKs in farm animals and will be further used for rearing management practices in contaminated areas.

© 2020 Published by Elsevier Ltd.

1. Introduction

Chlordecone (CLD) is a chlorinated polycyclic ketone pesticide which was extensively used in the French West Indies (FWI) from 1972 until 1993 to control the banana black weevil (*Cosmopolites*

sordidus) population (Cabidoche et al., 2009). The use of this insecticide has resulted in long-term soils pollution, this compound transfers from soil to food chain and local population is thus exposed to CLD through food (Dubuisson et al., 2007). Human exposure to CLD is therefore a public health concern since CLD is known for its neurotoxic and carcinogenic properties (Multigner et al., 2010; Costet et al., 2015). To limit human exposure to CLD related to self-produced or informal sector products (ANSES, 2017), risk of food contamination has to be reduced. Meat from local

* Corresponding author.

E-mail address: agnes.fournier@univ-lorraine.fr (A. Fournier).

outdoor reared pigs can contribute to CLD human exposure. Thus, CLD distribution and elimination processes need to be characterized in pigs to further propose rearing strategies aiming at removing CLD from contaminated animals. Furthermore, a study was conducted in 2013–2014 on 742 FWI inhabitants to assess CLD levels in serum (KANNARI study). Although CLD was detected in serum of 90% of the participants, impregnation value could not be used to assess health risk due to lack of an internal health-based guidance value (Dereumeaux et al., 2019). The currently existing chronic toxicological reference value (TRV) is an external exposure value fixed at $0.5 \mu\text{g kg}^{-1}$ body weight (BW) d^{-1} (AFSSA, 2007). CLD toxicokinetics (TKs) in pigs could also be used to build a PBPK model in human because pig is an animal model close to the human model. This model would then allow to convert the external TRV in an internal reference dose and then to discuss the impregnation level of population.

The main route of animal exposure to CLD is related to soil ingestion. Level of soil ingestion is known in ruminants (Jurjanz et al., 2017; Collas et al., 2019). In pigs reared outdoor, level of soil ingestion has been studied in temperate conditions (Jurjanz and Roinsard, 2014) but not yet in tropical conditions. However, because of their exploratory behavior, risk of pig meat contamination must be even higher than for ruminant meat. It has been demonstrated that soil bound CLD is not retained in soil matrices during digestive processes (Bouveret et al., 2013; Jurjanz et al., 2014) and CLD is considered almost fully absorbed after oral administration (Fournier et al., 2017). Unlike other persistent organic pollutants (POPs), CLD has a peculiar distribution with a preferential accumulation in liver and a lower one in fat tissues (Soine et al., 1983; Jondreville et al., 2014; Lastel et al., 2016). Thus, because of different distribution profiles within the organism (Soine et al., 1982, 1983; Lerch et al., 2016), TK extrapolations from other POPs to CLD are not appropriate. Limited information is currently available concerning TKs of CLD in human or in animals. Some data are available in rodents (Egle et al., 1978; Houston et al., 1981), piglets (Soine et al., 1983), ruminants (Fournier et al., 2017; Saint-Hilaire et al., 2019) and humans (Adir et al., 1978; Cohn et al., 1978; Fariss et al., 1980). Extrapolations from rodents or piglets to growing pigs are not appropriate because of metabolic differences between animals of different species or different physiological status (Houston et al., 1981). Therefore, it appears as a major priority to characterize CLD behavior in growing pigs. In this study, the two main breeds of pigs reared in the FWI will be compared.

Until now, TKs of CLD in animals have been studied by compartmental approaches that did not consider parameters like breed or body weight (Fournier et al., 2017; Saint-Hilaire et al., 2019). The population approach, initially developed for pharmacokinetics applications, was used to evaluate pharmacokinetics variability between individuals. Nonlinear mixed-effects (NLME) have not been used yet for modeling of TKs CLD data. Advantages of such an approach are that parameters are estimated in the population of individuals, variability within the population is evaluated and factors that control that variability may be identified.

The aim of this study was to model TKs of CLD in growing pigs using both a non-compartmental approach and a NLME approach. Such data are essential to better characterize elimination mechanisms of CLD in pigs.

2. Material and methods

2.1. Animals and management

This study was performed at the experimental facilities of INRAE-PTEA in Guadeloupe (FWI; 16°N , 61°W). The experimental protocol was approved by the Ethics Committee of Guyana and

West Indies (CEMEA-AG) under the project number APAFIS#6070–2016070721289156.

A total of 14 growing pigs born in the herd of the INRAE experimental station of Duclos (Petit-Bourg, Guadeloupe) were placed in individual barns. To compare TK parameters between the two main pig breeds reared in the FWI, two different breeds were studied: Large White ($n = 7$) and Creole ($n = 7$). Large White breed is one of the mainstream pig breed used worldwide that has been selected for high growth performance in optimal conditions (ie specialist type of breed). On the other hand, Creole breed is a generalist type of breed that has not been genetically selected and this local tropical Caribbean breed is mainly characterized by early maturity, a higher fat deposition than Large White breed and a better ability to cope with harsh tropical conditions (heat, nutritional stress; Gouridine et al., 2018). Physiological and growth performance differences between the two groups may affect TKs of CLD.

Table 1 gives average values of initial body weight (IBW), final body weight (FBW) and average daily gain (ADG) for each breed. At the beginning of the experiment, pigs were 26 and 23 weeks old for Creole and Large White, respectively, to obtain comparable animals in term of IBW. In order to limit ADG of growing pigs and to limit dilution effect, a daily feed ration composed by a commercial feed was established to obtain an ADG of 250 g d^{-1} . Water was delivered *ad libitum*. All pigs were individually weighted every 7 days during the 84-days depuration period. ADG was calculated by equation (1):

$$\text{ADG} = (\text{FBW} - \text{IBW}) / \text{number of days} \quad (1)$$

To compare IBW, FBW and ADG between the two breeds, a Student *t*-test was used. Before apply this parametric test, normality of data and equality of variances has been checked with a Shapiro-test and a F-test, respectively. Statistical analysis were performed using R version 3.5.0. software. The α level for statistical significance was set at 0.05.

2.2. Experimental design

One week before the experiment, a catheter was inserted in the jugular vein of each pig to allow CLD administration and blood sampling. After this surgical intervention, pigs were allowed a 7-days adaptation period in individual barns (metal-slatted pen of $0.85 \times 1.50 \text{ m}$). The experiment consisted in a single administration of CLD by intravenous (*i.v.*) route (1 mg kg^{-1} BW, Kepone 99.9%, Sigma Aldrich). This high dose was chosen to be able to follow the decrease of CLD concentrations in serum and easily compare to other species. Indeed, this dose has already been used in goats and ewes (Fournier et al., 2017; Saint-Hilaire et al., 2019). For these studies, no side effects were observed.

CLD was dissolved in cremophor (polyethoxylated castor oil, Kolliphor®, Sigma-Aldrich) at room temperature by sonication

Table 1
Average values of IBW, FBW and ADG for each breed.

Parameters	Creole pigs (n = 7) mean \pm SE	Large White pigs (n = 7) mean \pm SE	All pigs (n = 14) mean \pm SE
IBW kg	68.8 \pm 1.8 ^a	67.9 \pm 3.1 ^a	68.3 \pm 1.7
FBW kg	91.2 \pm 2.8 ^a	95.6 \pm 2.4 ^a	92.8 \pm 1.9
ADG g d^{-1}	248 \pm 25 ^a	327 \pm 13 ^a	288 \pm 17

IBW: Initial Body Weight; FBW: Final Body Weight; ADG: Average Daily Gain; SE: Standard Error. Values not followed by the same superscript letter significantly differ ($P < 0.05$; Student test)

(2 h). Pigs received 0.04 g kg⁻¹ BW of contaminated oil concentrated at 24.8 mg CLD g⁻¹ oil. The catheter was flushed several times after CLD administration to avoid contamination of following blood samples.

At 0, 30, 60 min, 2, 3, 7, 12, 24 h, 3, 8, 14, 21, 28, 49, 70 and 84 days after administration, blood samples (4 × 10 mL) were taken using the *i.v.* catheter for the first weeks (in dry tubes) and then, by a direct venipuncture on the jugular vein (BD vacutainer®, ref 368815), when the sampling was less intensive. Collected blood samples were allowed clotting for 2 h at room temperature and at 4 °C during 24 h before centrifugation at 3000 rpm for 10 min to get serum samples which were stored at -20 °C until analysis. After 84-depuration days, pigs were slaughtered (stunning followed by bleeding). Liver, peri-renal fat and shaft (diaphragm muscle) were collected. Tissues were stored at -20 °C until analysis.

2.3. Analytical methods

2.3.1. Analysis of CLD in serum

CLD analysis was performed by the Center for Analytical Research and Technology (LEAE-CART, University of Liège, Belgium) according to Fournier et al. (2017) with slight modifications. Briefly, 10-monohydrochlordecone kindly synthesized by Dr. P.L. Saaidi (Génomique Métabolique, Evry, France) according to Chevallier et al. (2019) was used as internal standard (recovery surrogate). This compound was never detected in previous studies for CLD analysis in goat, lamb and ewe serum (Jurjanz et al., 2014; Lastel et al., 2016; Lerch et al., 2016; Fournier et al., 2017). This internal standard was added to 2 mL of pig serum samples. After proteins denaturation with trimethylamine and formic acid, CLD was extracted with *n*-hexane/diethylether/acetonitrile/ethanol (80/15/4/1, v/v) using a solid-phase extraction (SPE) on Supelclean Envi-C₁₈ microcartridges (Supelco, Bellefonte, PA, USA) and subjected to acidic purification using concentrated sulfuric acid 98% w/v. The final extract (100 µL of hexanic solution) was spiked with PCB-209 (100 pg µL⁻¹ in hexane) used as a volume internal standard. As described in Fournier et al. (2017), all PCBs and organochlorine pesticides were eluted in the first hexanic solution from C₁₈ microcartridge. CLD and related compounds (5 b monohydroCLD and 10-monohydroCLD) were recovered in the second elution (hexane/diethylether; 85/15; v/v). Then, there was no PCBs in the CLD elution. Furthermore, PCB-209 was not present in commercial PCB mixtures such as Aroclor used in the past. However, this congener was reported in organic paint pigment (Hu and Hornbuckle, 2010; Anezaki and Nakano, 2014). Moreover, Koh et al. (2015) reported traces of PCB-209 in human serum in some areas in USA but at trace levels and concentrations measured (0.00–0.01 ng mL⁻¹) were far below the LOQ of the present study (0.06 ng mL⁻¹). As a consequence, when considering all these elements and as PCB-209 was added as internal volume standard just prior the injection in HRGC MS/MS, this compound cannot come from environmental contamination. For each series of 21 experimental samples there was a procedural blank, a matrix blank (porcine serum from Sigma Aldrich chemie GmbH, Steinheim, Germany) and a quality control (QC) sample composed of porcine serum (Sigma Aldrich chemie GmbH, Steinheim, Germany) spiked with 0.1 or 5 or 10 ng CLD mL⁻¹. These different QC were distributed among the series in a random manner. The CLD limit of detection was 0.02 ng mL⁻¹ in the serum with a limit of quantification (LOQ) at 0.06 ng mL⁻¹. The mean ± standard deviation CLD recoveries in the spiked porcine serum used as QCs were 87.0% ± 2.3%, 99.0% ± 4.2% and 97.4% ± 4.3% for 0.1 ng mL⁻¹, 5 ng mL⁻¹ and 10 ng mL⁻¹ QCs respectively. Recovery rates were always between 60 and 140% according to the requirement of SANCO (2014). The measurement uncertainty has

been assessed from spiked CLD human serum according to Eppe et al. (2017). The uncertainty was 4.66% for 0.05 ng mL⁻¹ CLD human spiked serum, 5.82% for 2.5 ng mL⁻¹ CLD human spiked serum and 6.34% for 10 ng mL⁻¹ CLD human spiked serum. The mean uncertainty was 5.61% ± 0.7%.

The extracts were analyzed by High Resolution Gas Chromatography coupled to an ion trap mass spectrometer to confirm the identity and concentrations of CLD (Trace GC Ultra and ITQ 1100 from ThermoQuest, ThermoScientific, Waltham, MA, USA). GC-MS was equipped with a J&W Scientific DB-XLB capillary column (30 m × 0.25 mm i.d., 0.25 µm film) purchased from Agilent (Santa Clara, CA, USA), using helium as a carrier gas. Chromatographic conditions were described elsewhere (Fournier et al., 2017). The extracts were injected into the column using a split/splitless injector. The transfer line temperature was kept at 290 °C and the ion trap temperature was set at 250 °C. The electron ionisation was performed at 70 eV and the ion trap was operating in MS/MS mode. Compounds identification was performed with MS/MS transitions of 272 > 237, 238 > 203 and 498 > 428 for CLD, 10-monohydrochlordecone and PCB-209 respectively. The collision energy was 2.5 eV, for all the compounds. Concentrations were measured by quantifying *m/z* 238 ion for 10-monohydrochlordecone, *m/z* 272 ion for chlordecone and *m/z* 498 ion for PCB-209.

2.3.2. Analysis of CLD in tissues

CLD concentrations in liver, shaft and peri-renal fat were determined by Liquid Chromatography coupled with a tandem Mass Spectrometry (LC-MS/MS) as described in Dromard et al. (2017), using the official method of the French National Reference Laboratory (ANSES), in LABOCEA laboratory (Quimper, France), labeled by the French Accreditation Committee (COFRAC). Briefly, CLD C13 was used as internal standard and add to all samples. CLD was extracted from tissues with a solution of solvents: acetonitrile/dichloromethane 75/25 (v/v) and hexane/acetone 75/25 (v/v) for adipose tissue and hexane/acetone 85/15 (v/v) for liver and muscle. CLD was transformed into chlordecone hydrate with soda and the aqueous phase was rinsed with hexane. CLD was then subjected to acidic purification using concentrated sulfuric acid 60% and extracted with a solution of hexane/acetone 85/15 (v/v). Concentrations of CLD in tissues were expressed in µg CLD kg⁻¹ fresh weight (FW). The LOQ was 1.0 µg CLD kg⁻¹ in muscle and liver tissues and 3.0 µg CLD kg⁻¹ in adipose tissues.

2.4. Estimations of CLD amounts in tissues

CLD concentrations at slaughtering obtained in tissues were used to estimate CLD amounts in liver, muscle and fat tissues. The liver was weighed after slaughtering. Weight of the total muscle mass was estimated considering that muscle percentages of BW in Creole and Large White pigs are 43.3% and 54.8%, respectively (Renaudeau et al., 2005). These percentages were multiplied by the BW at slaughter to obtain weight of total muscle mass in the organism. Weight of total fat mass was estimated in the same way considering that fat percentages of BW in Creole and Large White pigs are 34.7% and 22.4%, respectively (Renaudeau et al., 2005). Total amounts of CLD in matrices were obtained multiplying the total weight of each matrix by corresponding concentrations at slaughter.

2.5. Non-compartmental analysis

Non-compartmental analysis describes the evolution of CLD concentrations with minimal assumptions. This analysis is mainly used to obtain basic TK parameters. The non-compartmental

analysis was performed using PKanalix software (Lixoft, version 2019R1).

To compare TK parameters between different species, a non-compartmental analysis was performed on CLD kinetic data in pigs and with data previously obtained in goats and ewes (Fournier et al., 2017; Saint-Hilaire et al., 2019). Non-lactating and non-pregnant adult ewes ($n = 5$) and goats ($n = 4$) of 65.8 ± 2.2 and 33.0 ± 3.5 kg (mean \pm standard error (SE)) BW respectively were used in these studies.

For each species, four TK parameters were calculated with the non-compartmental analysis: total body clearance (CL), steady-state distribution volume (Vss), mean residence time (MRT) and area under the serum curve (AUC). Area under the serum curve from zero to infinity was calculated by the linear log up log down method.

To compare TK parameters obtained in the three species, an analysis of variance (ANOVA) test was performed and followed by a Tukey test (R version 3.5.0. software). The α level for statistical significance was set at 0.05.

2.6. Population toxicokinetic model development

Population TK analysis aims to provide TK parameters on a set of individuals and to assess the variability between individuals.

2.6.1. Methods and software

The population TK analysis was performed using a NLME approach with Monolix software (Lixoft, version 2019R1). Monolix estimates TK parameters using the stochastic approximation expectation maximization (SAEM) algorithm.

2.6.2. Model building

2.6.2.1. Individual modelisation. Experimental data were best described by a linear two-compartmental model with a proportional residual error. The two-compartmental model is represented in Fig. 1. In this model, the body is divided into central and peripheral compartments. The central compartment consists mainly of plasma and well perfused organs where the distribution of the molecule is almost instantaneous. The peripheral compartment consists of less perfused organs, where the molecule is distributed slower.

TK parameters were calculated for each pig individually with the two-compartmental model. Parameters chosen in the structural model were body clearance (CL), distribution volume of the central compartment (V1), intercompartmental clearance (Q) and distribution volume of the peripheral compartment (V2). Clearances and volumes of distribution were normalized to BW with the IBW. TK parameters (CL, V1, Q and V2) were assumed to follow a lognormal

distribution in the population of pigs.

Mean residence time (MRT) and elimination half-time life ($t_{1/2elim}$) were calculated with individual parameters estimates by Eqs. (2) and (3):

$$MRT = V_{ss}/CL \quad (2)$$

with $V_{ss} = V1 + V2$

$$t_{1/2elim} = \ln(2)/\beta \quad (3)$$

$$\text{With } \beta = \frac{1}{2} \left((k_{12} + k_{21} + k_{10}) - \sqrt{(k_{12} + k_{21} + k_{10})^2 - 4 \cdot k_{21} \cdot k_{10}} \right).$$

2.6.2.2. Population modelisation: full model and covariate analysis. CLD concentration C_{ij} in an individual i at time t_{ij} can be expressed as a function of the dose, the time t_{ij} and the model individual parameters (CL_i , $V1_i$, Q_i and $V2_i$). The full model can be written in the general form:

$$C_{ij} = F(\Phi_i, t_{ij}) \times (1 + \epsilon_{ij}), j = 1, \dots, n_i$$

$$\Phi_i = \begin{pmatrix} CL_i \\ V1_i \\ Q_i \\ V2_i \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \mu_{CL} \cdot e^{\eta_{CL,i}} \\ \mu_{V1} \cdot e^{\eta_{V1,i}} \\ \mu_Q \cdot e^{\eta_{Q,i}} \\ \mu_{V2} \cdot e^{\eta_{V2,i}} \end{pmatrix}$$

Where C_{ij} is the observed CLD serum concentration measured on the individual i at time t_{ij} , F is the function describing a two compartment model (bi-exponential), Φ_i is the vector of individual parameters, $F(\Phi_i, t_{ij})$ is the value of the predicted CLD serum concentration at time t_{ij} for an individual with parameters Φ_i , and ϵ_{ij} is independent random variable normally distributed around zero with a variance of one. $F(\Phi_i, t_{ij})$ is the structural model and ϵ_{ij} is describing the residual error model. ϵ_{ij} measures the difference between the predicted value and the observed value of C_{ij} and was assumed to describe a proportional residual error model. μ is the population median of a model parameter. The variability sources (e^{η}) between the individual parameters Φ_i can be explained by covariates. Each parameter of Φ_i is assumed to be log-normally distributed.

Once the structural model was built, covariates were added. One factor (genotype with two categories: Large White vs. Creole) and two continuous variables (IBW and ADG) were tested as potential covariates on TK parameters. First, variables were added one by one on individual CL and V2 estimations and were selected if their addition was able to cause a drop of the log-likelihood estimate (LL). Bayesian Information Criteria (BIC) was calculated and models with lower values of BIC were considered as better fitted to the

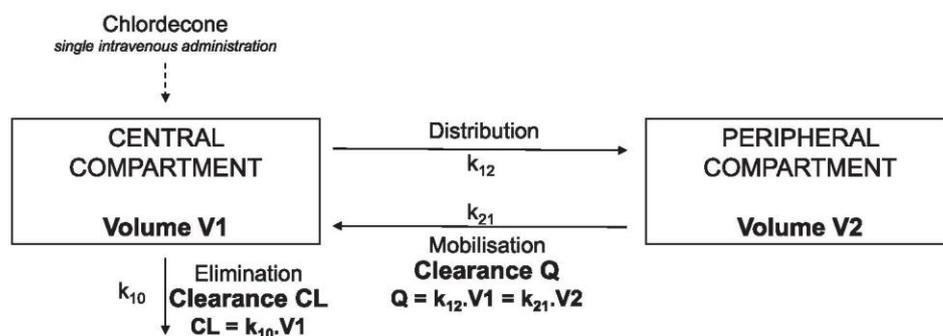


Fig. 1. Two-compartmental modelisation of the equilibrium between the central compartment and the peripheral compartment after a single intravenous administration of chlordecone (adapted from Toutain and Bousquet-Melou, 2004).

observed data. P-value < 0.05 after a Wald test implemented in Monolix was considered statistically significant to include the covariate in the final model. Two covariates were eliminated from the model in a step-by-step manner, only ADG was statistically significant and added as covariable to obtain the final full model.

2.6.3. Model evaluation

Evaluation of goodness-of-fit was based on the following plots: (i) individual (IPRED) and population predicted (PRED) concentrations versus observed concentrations (DV), (ii) individual plots (PRED and OBS vs. time), (iii) population weighted (PWRES) and individual weighted (IWRES) residuals versus time and (iv) normalized prediction distribution errors (NPDE) versus time, IPRED and PRED (NPDE has to be normally distributed with a mean of 0 and a standard deviation of 1). Normality of residuals were evaluated using density plots of weighted residuals.

2.6.4. Comparison of toxicokinetic parameters between the two breeds

To compare TK parameters obtained with the NLME model between the two breeds, a Student *t*-test was used (R version 3.5.0 software). The α level for statistical significance was set at 0.05.

3. Results and discussion

3.1. Global kinetic analysis

Fig. 2 shows CLD TKs in pig's serum over the 84-depuration days following the single *i.v.* administration of 1 mg CLD kg⁻¹ BW. The first part of the curve (until 24 h) corresponds mainly to a distribution phase. During the first day following *i.v.* administration of CLD, serum concentrations declined rapidly compared to the remaining kinetics, because of the partitioning of the molecule in the body (Toutain and Bousquet-Melou, 2004). The second part of the curve corresponds mainly to an elimination phase.

3.2. Non-compartmental analysis

TK parameters obtained with the non-compartmental analysis

for CLD in pigs, ewes and goats are presented in Table 2. The dose of 1 mg CLD kg⁻¹ BW was already used in goats and ewes (Fournier et al., 2017; Saint-Hilaire et al., 2019) and was chosen in this study to allow comparisons of TK parameters between the three species. Body clearance is the total clearance, it depends on the elimination of the parent compound and on CLD metabolism. In pigs, the body clearance was 79.6 ± 4.4 mL kg⁻¹ d⁻¹ (mean ± SE). The body clearance in pigs is comparable with the clearance determined in goats but 1.6 higher than in ewes (P < 0.05). Higher CLD elimination capacities in pigs than ewes could be explained either by higher capabilities for CLD elimination in the parent form (via biliary excretion for example), or higher metabolic capabilities, or both. Indeed, the enzyme *chlrodecone reductase* involved in the biotransformation of CLD is known to be present in pigs as in humans, gerbils, ewes, goats (Fariss et al., 1980; Houston et al., 1981; Soine et al., 1983; Molowa et al., 1986a, 1986b; Saint-Hilaire, 2018). Further studies could be performed to compare enzymatic activity of *chlrodecone reductase* between species.

Despite higher body clearance values showing higher elimination capacities, the mean residence time (MRT) in pigs is 2.1 and 3.2 times higher than those obtained in ewes and goats (P < 0.05), respectively. The MRT represents the average time the molecule stays in the body. This parameter is a function of Vss and CL. Because of the high distribution volume, the MRT is higher in pigs (MRT = 78 ± 3 days) compared to both other species (MRT = 36 and 24 days in ewes and goats, respectively; P < 0.05). CLD elimination in pigs is slower than in ewes and goats because the Vss is 3.3 and 3.7 times larger in pigs than in ewes and goats, respectively. This assumes that pigs may store more CLD into deeper peripheral compartments than ewes and goats. Deeper peripheral compartments represent tissues from which the molecule depletes slower than other tissues because of CLD bindings to lipid or protein components.

This non-compartmental analysis allowed comparing the main TK parameters between pigs, ewes and goats. Coefficients of variation of estimated mean parameters are ranged from 5.1 to 6.6. TK parameters estimation would probably be improved by considering inter-individual variability. Thus, a NLME approach in pigs was applied to estimate more precisely TK parameters.

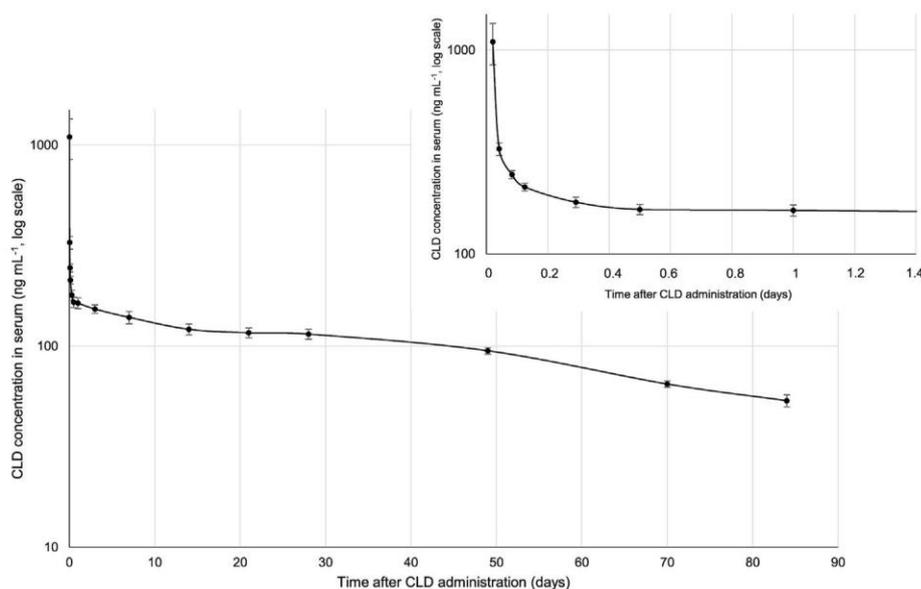


Fig. 2. Serum CLD concentration (ng.mL⁻¹) vs. time in growing pigs (n = 14) after a single intravenous administration of CLD at 1 mg kg⁻¹ BW: observed kinetics from t = 0 to t = 84 days. Top graph on the right corresponds to an enlargement of the main graph from t = 0 to t = 1.4 days.

Table 2
Comparison of CLD toxicokinetic parameters obtained with non-compartmental analysis between pigs, ewes and goats following a single intravenous administration of 1 mg CLD kg⁻¹.

Parameters	Pigs (n = 14)		Ewes (n = 5)		Goats (n = 4)	
	Mean ± SE	CV (%)	Mean ± SE	CV (%)	Mean ± SE	CV (%)
CL mL kg ⁻¹ d ⁻¹	79.6 ± 4.4 ^a	5.5	51.0 ± 6.1 ^b	12.0	66.6 ± 16.2 ^{ab}	24.4
Vss mL kg ⁻¹	5982 ± 354 ^a	5.9	1807 ± 157 ^b	8.7	1615 ± 446 ^b	27.6
MRT d	77 ± 5 ^a	6.6	36 ± 2 ^b	4.5	24 ± 1 ^b	3.9
AUC ng d mL ⁻¹	12,505 ± 636 ^a	5.1	21,202 ± 3373 ^b	15.9	18,911 ± 5687 ^{ab}	30.1

CL: Body clearance; Vss: Steady-state volume of distribution; MRT: Mean Residence Time; AUC: Area Under the Curve; CV: coefficient of variation; SE: Standard Error. Values not followed by the same superscript letter significantly differ ($P < 0.05$; Tukey test).

Toxicokinetic parameters calculated from data obtained in [Saint-Hilaire et al. \(2019\)](#) and [Fournier et al. \(2017\)](#) for ewes and goats, respectively.

3.3. Population toxicokinetic analysis

3.3.1. Model evaluation

The two-compartmental model best described the observed data, as indicated by a relative standard error < 20% for most of all the model parameters. Good correlations were found between observed concentrations vs. population predicted (PRED) and individual predicted (IPRED) concentrations. Plots of population weighted (PWRES) and individual weighted residuals (IWRES) vs. time and IPRED show that for both types of residuals, points are randomly distributed around the zero line and most points fall within ± 3 standard deviations. Simulation plots of NPDE vs. time and IPRED do not reveal biases because points are scattered randomly around the zero line. Thus, these data support the model stability.

TK parameters obtained with the NLME approach are comparable with results obtained with the non-compartmental approach. However, TK parameters seem to be better estimated with the NLME approach because coefficients of variation are lower (Tables 2 and 3).

3.3.2. CLD elimination

Estimated parameters derived from the population TK model are summarized in Table 3. Body clearance (CL) is the most

Table 3
Population toxicokinetic model estimates for CLD following a single intravenous administration of 1 mg CLD kg⁻¹ to 14 pigs.

Parameters	Model estimate median ± SE	P ¹	CV (%)
CL mL kg ⁻¹ d ⁻¹	76.7 ± 3.2	0.0009	4.1
V1 mL kg ⁻¹	604 ± 195	–	32.4
Q mL kg ⁻¹ d ⁻¹	16,680 ± 2870	–	17.1
V2 mL kg ⁻¹	4840 ± 262	0.0142	5.4
Vss mL kg ⁻¹	6002 ± 280	–	4.6
MRT d	78 ± 3	–	4.3
t_{1/2elim} d	54.7 ± 2.3	–	4.2

CL: Body clearance; V1: Central compartment volume of distribution; Q: Inter-compartmental clearance; V2: Peripheral compartment volume of distribution; Vss: Steady-state volume of distribution; MRT: Mean residence time; t_{1/2elim}: Elimination half-life; CV: Coefficient of variation; SE: Standard Error.

¹ P-value obtained after a Wald test, testing significant effect of Average Daily Gain (ADG) on CL and V2 parameters.

important TK parameter; it expresses the overall ability of the blood compartment to eliminate the molecule. For all pigs, the body clearance is 76.7 ± 3.2 mL kg⁻¹ d⁻¹. Average daily gain (ADG) has a very significant effect on CL ($P < 0.05$): the higher the ADG is, the lower the CL is. Despite higher CL, mean residence time and elimination half-life in pigs are quite long (MRT = 78 ± 3 d and t_{1/2elim} = 54.7 ± 2.3 d) when compared to other species due to the molecule distribution in organism.

3.3.3. CLD distribution in organism

Intercompartmental clearance (Q) expresses ability of the peripheral compartment to mobilize the molecule. The high inter-compartmental clearance (16.7 ± 2.9 mL kg⁻¹ d⁻¹) suggests that equilibrium between central compartment and peripheral compartment is quickly reached. These results are consistent with the distribution half-life obtained in ewes: in less than 1 h and a half, the equilibrium between the two compartments is reached ([Saint-Hilaire et al., 2019](#)).

Peripheral volume of distribution (V2) is not a physiologic value but a proportionality factor between amount of CLD in the organism at a given time and blood concentration at that time ([Toutain and Bousquet-Melou, 2004](#)). The peripheral distribution volume V2 largely exceeds the central distribution volume V1. The steady-state volume of distribution (Vss) is calculated by adding up volumes of central compartment (V1) and peripheral compartment (V2). In this study, the Vss ($Vss = 6002 \pm 280$ mL kg⁻¹) largely exceeds the total volume of body water (around 0.6 L kg⁻¹). The ratio between Vss and the total volume of body water expresses the overall partition coefficient (Kp). Kp expresses the overall affinity of the body for the molecule ([Toutain and Bousquet-Melou, 2004](#)). Kp can also be defined as the ratio between the unbound fraction in plasma and the unbound fraction outside plasma. In this study, the high Kp (10.0 ± 1.7) supposes that most of CLD is stored in the peripheral compartment and extensively bound to proteins in tissues or to adipocytes ([Toutain and Bousquet-Melou, 2004](#)).

ADG has a very significant effect on peripheral distribution volume V2 ($P < 0.05$): the higher the ADG, the lower the Vss. This may be explained by carcass composition, when the animal gain weight, lean and fat composition of carcass may change over time.

3.3.4. Breed, average daily gain, composition of carcass: which factor may really affect TKs variability in growing pigs?

Covariate analysis showed that ADG is an important cofactor and that inter-individual differences in parameters are rather related to the ADG than to breed. However, these results must be put into perspective because breed and growth performance factors are inextricably interlinked. Moreover, comparing a covariate (ADG) and a factor (breed) induce statistical biases. These results

Table 4

Comparison of toxicokinetic parameters obtained with the nonlinear mixed-effects approach between Creole and Large White pigs.

Parameters	Creole (n = 7) median ± SE	Large White (n = 7) median ± SE	P
CL mL kg ⁻¹ d ⁻¹	82.1 ± 4.6 ^a	68.8 ± 1.6 ^b	0.0081
V1 mL kg ⁻¹	686 ± 420 ^a	1061 ± 329 ^a	0.5236
Q mL kg ⁻¹ d ⁻¹	15,896 ± 2435 ^a	22,841 ± 2940 ^a	0.9604
V2 mL kg ⁻¹	5792 ± 405 ^a	4433 ± 232 ^b	0.0128
Vss mL kg ⁻¹	6714 ± 270 ^a	5316 ± 392 ^b	0.0158
MRT d	79 ± 3 ^a	71 ± 6 ^a	0.4240
t_{1/2elim} d	55 ± 2 ^a	49 ± 4 ^a	0.4112

CL: Body clearance; V1: Central compartment volume of distribution; Q: Inter-compartmental clearance; V2: Peripheral compartment volume of distribution; Vss: Steady-state volume of distribution; MRT: Mean residence time; t_{1/2elim}: Elimination half-life; SE: Standard Error.

Values not followed by the same superscript letter significantly differ (Student test).

must be discussed to explore which factor may impact inter-individual variability.

TK parameters obtained with the NLME approach were used to compare the two breeds. Estimated parameters obtained for Creole and Large White pigs with the NLME approach are summarized in Table 4. Significant differences between Creole and Large White pigs were observed for CL, V2 and Vss. Differences in CLD distribution (V2 and Vss) and elimination (CL) may be explained by percentage of lean meat in carcass or by carcass fatness. Indeed, Large White pigs have a better growth potential, higher ADG, feed efficiency and lean carcass content than Creole pigs and Creole pigs have higher carcass fatness and bigger adipocytes than Large White pigs (Renaudeau et al., 2005). Recently, Pouillet et al. (2019) have confirmed the difference in pig metabolism between Creole and Large white pigs, by observing a lower N utilization efficiency in Creole breed with a higher level of blood urea nitrogen and a lower level of globulin compared to Large White pigs. Moreover, age differential between the two breeds may have amplified growth performance and fatness of carcass differences (Renaudeau et al., 2006).

CLD has a different behavior from other POPs such as PCB because CLD is known to be more concentrated in liver and muscle than in fat tissues (Lastel et al., 2016, 2018). High concentrations of CLD in liver and muscles may be explained by its affinity for plasma proteins (Soine et al., 1982). CLD linked to plasma proteins would arrive faster and in greater quantities in organs and tissues heavily irrigated (liver and muscles) than in those weakly perfused (fat tissues). Slaughtering data were analyzed to characterize molecule distribution in the three matrices analyzed (liver, muscle and fat) and to highlight possible differences in CLD distribution between the two breeds. Estimated amounts of CLD into tissues after 84 depuration-days in Creole and Large White pigs are presented in Table 5. No significant difference was observed for CLD amounts in liver and muscle between the two breeds. However, repartition of CLD in fat is significantly different between the two breeds and Creole pigs have higher carcass adiposity. Although CLD concentrations in fat tissue are lower than in muscle or liver, fat tissues store an important portion of CLD body burden, as shown in Table 5. Thus, carcass fatness may impact volume of distribution. To explain inter-individual variability between pigs, animal-specific features (age, breed, sex), growth performance and carcass fatness seem to be interesting. Breed effects we found suggest that

Table 5

Estimated amounts of CLD into tissues after 84 depuration-days.

	Creole (n = 7) mean ± SE	Large White (n = 7) mean ± SE	P
Liver (mg)	2.2 ± 0.1 ^a	2.2 ± 0.2 ^a	0.5619
Muscle ^a (mg)	8.9 ± 1.2 ^a	12.5 ± 1.8 ^a	0.9352
Fat ^b (mg)	13.2 ± 0.5 ^a	10.0 ± 0.8 ^b	0.0039

Values not followed by the same superscript letter significantly differ (Student test).

^a Considering CLD concentrations in shaft muscle and that muscle percentages of body weight in Creole and Large White pigs are 43.3% and 54.8%, respectively (Renaudeau et al., 2005).

^b Considering CLD concentrations in peri-renal fat tissue and that fat percentages of body weight in Creole and Large White pigs are 34.7% and 22.4%, respectively (Renaudeau et al., 2005).

variability between breeds (especially between specialist and generalist breeds) should be taken into account in decision support for a healthy farming practice. Further studies are needed to better understand CLD storage, depuration capacities between tissues and characterize physiological factors that drive TK parameters.

4. Conclusion

This study permitted to establish for the first time a NLME model of CLD in growing pigs. Major TK parameters like body clearance (76.7 mL kg⁻¹ d⁻¹) and distribution volume (6 L kg⁻¹) were determined. ADG is an important covariate explaining inter-individual TK parameters variability. This study provided relevant and original data to describe distribution and elimination of CLD in pigs. In the near future, these results may be used by the risk manager to assess adequate rearing management practices in CLD contaminated areas. Moreover, since the pig is a valuable model for humans, these results may also be used to build a TK model of CLD in humans.

CRediT authorship contribution statement

A. Fourcot: Conceptualization, Methodology, Software, Formal analysis, Investigation, Resources, Data curation, Writing - original draft, Visualization, Project administration. **C. Feidt:** Conceptualization, Methodology, Formal analysis, Resources, Data curation, Writing - review & editing, Supervision, Project administration, Funding acquisition. **A. Bousquet-Mélou:** Methodology, Software, Formal analysis, Writing - review & editing. **A.A. Ferran:** Software, Formal analysis, Writing - review & editing. **J.L. Gourdine:** Conceptualization, Methodology, Formal analysis, Investigation, Resources, Writing - review & editing, Supervision, Project administration. **M. Bructer:** Investigation, Resources. **C. Joaquim-Justo:** Resources. **G. Rychen:** Conceptualization, Methodology, Formal analysis, Investigation, Resources, Writing - review & editing, Supervision, Project administration, Funding acquisition. **A. Fournier:** Conceptualization, Methodology, Software, Formal analysis, Investigation, Resources, Data curation, Writing - review & editing, Supervision, Project administration.

Acknowledgements

The experiment was funded by ANR (Agence Nationale de la Recherche, Paris, France) through research program INSSICCA (ANR-16-CE21-0008-01). The authors thank Harry Archimède (URZ), David Beramice, Bruno Bocage, Katia Benony, Laurent Dan-tec, Mario Giorgi, Felix Silou (PTEA), Valerius Calif, Yoann Félicité, Dalila Feuillet, Lucien Philibert (URZ) and Pamela Hartmeyer (URAFPA) for their technical support. They are grateful to Alain Chauvin and Francis Le Gouevic (UEPR, Rennes) for surgeries. They

warmly thank Catherine Adam (LEAE-CART) for analysis and Pierre-Loïc Saaidi (Génomique Métabolique, CEA, CNRS, Univ Evry, Université Paris-Saclay, Evry, France) for the 10-monohydrochlordecone synthesis. They thank Jean-Pierre Thomé (LEAE-CART) for his advices.

References

- Adir, J., Caplan, Y.H., Thompson, B.C., 1978. Kepone® serum half-life in humans. *Life Sci.* 22, 699–702. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(78\)90494-0](https://doi.org/10.1016/0024-3205(78)90494-0).
- AFSSA, 2007. Avis de l'agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'actualisation des données scientifiques sur la toxicité du chlordécone en vue d'une éventuelle révision des limites tolérables d'exposition proposées par l'AFSSA en 2003. <https://www.anses.fr/fr/system/files/RCCP2007sa0305.pdf>.
- Anezaki, K., Nakano, T., 2014. Concentration levels and congener profiles of polychlorinated biphenyls, pentachlorobenzene, and hexachlorobenzene in commercial pigments. *Environ. Sci. Pollut. Control Ser.* 21, 998–1009. <https://doi.org/10.1007/s11356-013-1977-2>.
- ANSES, 2017. Exposition des consommateurs des Antilles au chlordécone, résultats de l'étude Kannari. <https://www.anses.fr/fr/system/files/ERCA2014SA0029Ra.pdf>.
- Bouveret, C., Rychen, G., Lerch, S., Jondreville, C., Feidt, C., 2013. Relative bioavailability of tropical volcanic soil-bound chlordecone in piglets. *J. Agric. Food Chem.* 61, 9269–9274. <https://doi.org/10.1021/jf400697r>.
- Cabidoche, Y.-M., Achard, R., Cattani, P., Clermont-Dauphin, C., Massat, F., Sansoulet, J., 2009. Long-term pollution by chlordecone of tropical volcanic soils in the French West Indies: a simple leaching model accounts for current residue. *Environ. Pollut.* 157, 1697–1705. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.12.015>.
- Chevallier, M.L., Dela-Negra, O., Chaussonnerie, S., Barbance, A., Muselet, D., Lagarde, F., Darii, E., Ugarte, E., Lescaop, E., Fonknechten, N., Weissenbach, J., Woignier, T., Gallard, J.-F., Vuilleumier, S., Imfeld, G., Le Paslier, D., Saaidi, P.-L., 2019. Natural chlordecone degradation revealed by numerous transformation products characterized in key French West Indies environmental compartments. *Environ. Sci. Technol.* 53, 6133–6143. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b06305>.
- Cohn, W.J., Boylan, J.J., Blanke, R.V., Fariss, M.W., Howell, J.R., Guzelian, P.S., 1978. Treatment of chlordecone (Kepone) toxicity with cholestyramine – results of a controlled clinical trial. *N. Engl. J. Med.* 298, 243–248. <https://doi.org/10.1056/NEJM19780222980504>.
- Collas, C., Mahieu, M., Tricheur, A., Crini, N., Badot, P.-M., Archimède, H., Rychen, G., Feidt, C., Jurjanz, S., 2019. Cattle exposure to chlordecone through soil intake. The case-study of tropical grazing practices in the French West Indies. *Sci. Total Environ.* 668, 161–170. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.384>.
- Costet, N., Pelé, F., Comets, E., Rouget, F., Monfort, C., Bodeau-Livinec, F., Linganiza, E.M., Bataille, H., Kadhel, P., Multigner, L., Cordier, S., 2015. Perinatal exposure to chlordecone and infant growth. *Environ. Res.* 142, 123–134. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.06.023>.
- Dereumeaux, C., Saoudi, A., Guldner, L., Pecheux, M., Chesneau, J., Thomé, J.-P., Ledrans, M., Le Tertre, A., Denys, S., Fillol, C., 2019. Chlordecone and organochlorine compound levels in the French West Indies population in 2013–2014. *Environ. Pollut. Res.* <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07181-9>.
- Dromard, C.R., Guéné, M., Bouchon-Navaro, Y., Lemoine, S., Cordonnier, S., Bouchon, C., 2017. Contamination of marine fauna by chlordecone in Guadeloupe: evidence of a seaward decreasing gradient. *Environ. Sci. Pollut. Control Ser.* 25, 14294–14301. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8924-6>.
- Dubuisson, C., Héraud, F., Leblanc, J.-C., Gallotti, S., Flamand, C., Blateau, A., Quenel, P., Volatier, J.-L., 2007. Impact of subsistence production on the management options to reduce the food exposure of the Martinican population to chlordecone. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 49, 5–16. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2007.04.008>.
- Egle, J.L., Fernandez, S.B., Guzelian, P.S., Borzelleca, J.F., 1978. Distribution and excretion of chlordecone (Kepone) in the rat. *Drug Metabol. Dispos.* 6, 91–95.
- Eppe, G., Schaechtele, A., Haedrich, J., Fernandes, A., 2017. Guidance document on measurement uncertainty for laboratories performing PCDD/F and PCB analysis using isotope dilution mass spectrometry. In: Working Group for Measurement Uncertainty in PCDD/F and PCB Analysis. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.35446.09285>. https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/animal-feed-guidance_document_pcdd-f_pcb_en.pdf.
- Fariss, M.W., Blanke, R.V., Saady, J.J., Guzelian, P.S., 1980. Demonstration of major metabolic pathways for chlordecone (Kepone) in humans. *Drug Metabol. Dispos.* 8, 434–438.
- Fournier, A., Feidt, C., Lastel, M.-L., Archimède, H., Thomé, J.-P., Mahieu, M., Rychen, G., 2017. Toxicokinetics of chlordecone in goats: implications for risk management in French West Indies. *Chemosphere* 171, 564–570. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.054>.
- Gourdine, J.-L., Bambou, J.-C., Giorgi, M., Loranger-Merciris, G., Archimède, H., 2018. Performance of growing pigs reared indoors or outdoors in sweet-potato fields. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux.* 71, 41–46. <https://doi.org/10.19182/remvt.31347>.
- Houston, T.E., Mutter, L.C., Blanke, R.V., Guzelian, P.S., 1981. Chlordecone alcohol formation in the Mongolian gerbil (*Meriones Uniguiculatus*): a model for human metabolism of Chlordecone (Kepone). *Fund. Appl. Toxicol.* 1, 293–298.
- Hu, D., Hornbuckle, K.C., 2010. Inadvertent polychlorinated biphenyls in commercial paint pigments. *Environ. Sci. Technol.* 44 (8), 2822–2827. <https://doi.org/10.1021/es902413k>.
- Jondreville, C., Fournier, A., Mahieu, M., Feidt, C., Archimède, H., Rychen, G., 2014. Kinetic study of chlordecone orally given to laying hens (*Gallus Domesticus*). *Chemosphere* 114, 275–281. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.05.008>.
- Jurjanz, S., Roinsard, A., 2014. Valorisation de l'herbe par des truies plein-air. *ALTERAGRI* 125, 25–28. May 2014.
- Jurjanz, S., Jondreville, C., Mahieu, M., Fournier, A., Archimède, H., Rychen, G., Feidt, C., 2014. Relative bioavailability of soil-bound chlordecone in growing lambs. *Environ. Geochem. Health* 36, 911–917. <https://doi.org/10.1007/s10653-014-9608-5>.
- Jurjanz, S., Collas, C., Lastel, M.-L., Godard, X., Archimède, H., Rychen, G., Mahieu, M., Feidt, C., 2017. Evaluation of soil intake by growing Creole young bulls in common grazing systems in humid tropical conditions. *Animal* 11. <https://doi.org/10.1017/S1751731116002755>.
- Koh, W.X., Hornbuckle, K.C., Thorne, P.S., 2015. Human serum from urban and rural adolescents and their mothers shows exposure to polychlorinated biphenyls not found in commercial mixtures. *Environ. Sci. Technol.* 49, 8105–8112. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b01854>.
- Lastel, M.-L., Lerch, S., Fournier, A., Jurjanz, S., Mahieu, M., Archimède, H., Feidt, C., Rychen, G., 2016. Chlordecone disappearance in tissues of growing goats after a one month decontamination period – effect of body fatness on Chlordecone retention. *Environ. Sci. Pollut. Control Ser.* 23, 3176–3183. <https://doi.org/10.1007/s11356-015-5833-4>.
- Lastel, M.-L., Fournier, A., Jurjanz, S., Thomé, J.-P., Joaquim-Justo, C., Archimède, H., Mahieu, M., Feidt, C., Rychen, G., 2018. Comparison of chlordecone and NDL-PCB decontamination dynamics in growing male kids after cessation of oral exposure: is there a potential to decrease the body levels of these pollutants by dietary supplementation of activated carbon or paraffin oil? *Chemosphere* 193, 100–107. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.10.120>.
- Lerch, S., Guidou, C., Thomé, J.-P., Jurjanz, S., 2016. Non-dioxin-like Polychlorinated Biphenyls (PCBs) and chlordecone release from adipose tissue to blood in response to body fat mobilization in Ewe (*Ovis aries*). *J. Agric. Food Chem.* 64, 1212–1220. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b05817>.
- Molowa, D.T., Shayne, A.G., Guzelian, P.S., 1986a. Purification and characterization of chlordecone reductase from Human liver. *J. Biol. Chem.* 261, 12624–12627.
- Molowa, D.T., Wrighton, S.A., Blanke, R.V., Guzelian, P.S., 1986b. Characterization of a unique Aldo-keto reductase responsible for the reduction of chlordecone in the liver of the gerbil and man. *J. Vet. Pharmacol. Therapeut.* 17, 375–384. <https://doi.org/10.1080/15287398609530832>.
- Multigner, L., Ndong, J.-R., Giusti, A., Romana, M., Delacroix-Maillard, H., Cordier, S., Jégou, B., Thomé, J.-P., Blanchet, P., 2010. Chlordecone exposure and risk of prostate cancer. *J. Clin. Oncol.* 28, 3457–3462. <https://doi.org/10.1200/JCO.2009.27.2153>.
- Pouillet, N., Bambou, J.-C., Loyau, T., Trefeu, C., Feuillet, D., Beramice, D., Bocage, B., Renaudeau, D., Gourdière, J.-L., 2019. Effect of feed restriction and refeeding on performance and metabolism of European and Caribbean growing pigs in a tropical climate. *Sci. Rep.* 9, 4878. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41145-w>.
- Renaudeau, D., Hilaire, M., Mouro, J., 2005. A comparison of carcass and meat quality characteristics of Creole and Large White pigs slaughtered at 150 days of age. *Anim. Res.* 54, 43–54. <https://doi.org/10.1051/animres:2004042>.
- Renaudeau, D., Giorgi, M., Silou, F., Weisbecker, J.-L., 2006. Effect of breed (lean or fat pigs) and sex on performance and feeding behavior of group housed growing pigs in a tropical climate. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 19, 593–600. <https://doi.org/10.5713/ajas.2006.593>.
- Saint-Hilaire, M., 2018. Toxicocinétique de la chlordécone chez la brebis. Université de Lorraine, p. 250.
- Saint-Hilaire, M., Rychen, G., Thomé, J.-P., Joaquim-Justo, C., Le Roux, Y., Feidt, C., Fournier, A., 2019. Linear toxicokinetic of chlordecone in Ewe's serum. *Environmental Science and Pollution Research.* <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05800-z>.
- SANCO, 2014. Guidance Document on Analytical Quality Control and Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed, p. 48. SANCO/12571/2013 Supersedes SANCO/12495/2011. http://www.eurl-pesticides.eu/library/docs/allcrl/AqcGuidance_Sanco_2013_12571.pdf.
- Soine, P.J., Blanke, R.V., Guzelian, P.S., Schwartz, C.C., 1982. Preferential binding of chlordecone to the protein and high density lipoprotein fractions of plasma from humans and other species. *J. Toxicol. Environ. Health* 9, 107–118. <https://doi.org/10.1080/15287398209530146>.
- Soine, P.J., Blanke, R.V., Schwartz, C.C., 1983. Chlordecone metabolism in the pig. *Toxicol. Lett.* 17, 35–41. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(83\)90032-2](https://doi.org/10.1016/0378-4274(83)90032-2).
- Toutain, P.L., Bousquet-Melou, A., 2004. Volumes of distribution. *J. Vet. Pharmacol. Therapeut.* 27, 441–453. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2004.00602.x>.

2.2. Données préliminaires de la caractérisation de la distribution de la chlordécone chez le porc en croissance

2.2.1. Effet du génotype sur les concentrations de chlordécone dans les tissus

Le tableau 12 présente les concentrations obtenues dans les différents tissus après abattage à 84 j pour les porcs Créole, Large White et l'ensemble des porcs. Ce tableau montre qu'aucun effet de la race sur les concentrations tissulaires n'est observé.

Tableau 12: Comparaison des concentrations de chlordécone dans les tissus après abattage à 84 j

Concentrations de CLD ($\mu\text{g CLD kg}^{-1}$ PF)	Créole (n=7)	Large White (n=7)	P	Ensemble des porcs (n=14)
sérum	50 ± 5^a	60 ± 5^a	0,91	55 ± 4
TAPR	425 ± 9^a	466 ± 27^a	0,91	446 ± 15
foie	1785 ± 154^a	1682 ± 183^a	0,34	1733 ± 115
hampe	232 ± 31^a	237 ± 29^a	0,54	235 ± 20
LD	91 ± 12^a	61 ± 13^a	0,06	76 ± 9

CLD : chlordécone ; PF : poids frais ; TAPR : tissu adipeux périrénal ; LD : long dorsal. Les valeurs correspondent à la moyenne \pm SE. Les valeurs sur une même ligne diffèrent significativement si elles ne sont pas suivies par la même lettre en exposant (Test de Student ; $P < 0,05$).

2.2.2. Concentrations de chlordécone selon le tissu considéré

La figure 14 présente les concentrations de CLD obtenues dans les tissus après abattage à 84 j. Le tissu a un effet significatif sur les concentrations de CLD ($P < 0,01$).

La CLD est significativement plus concentrée dans le foie (sur la base du PF) que dans les autres tissus. Il est suivi par le tissu adipeux périrénal, la hampe, le long dorsal et le sérum. Ces résultats sont cohérents avec les données de la littérature. En effet, la CLD est connue pour s'accumuler préférentiellement dans le foie. Cette observation a été rapportée chez l'homme (Guzelian, 1982), la souris (Hewitt et al., 1986), le rat (Boylan et al., 1979 ; Egle et al., 1978), la poule pondeuse (Jondreville et al., 2014a) et le bovin (ANSES, 2018).

En considérant l'ensemble des tissus, aucune différence significative entre les muscles n'a pu être mise en évidence car les concentrations très élevées du foie écrasent les différences entre les muscles. En ne considérant que les deux muscles, une différence significative est observée ($P < 0,01$). Cette différence est certainement expliquée par leur teneur en lipides polaires comme chez la brebis (partie 2.1.2. du chapitre 2 / partie 1). Des études supplémentaires seront nécessaires pour étudier plus finement l'hétérogénéité de la distribution de la CLD entre les muscles chez le porc.

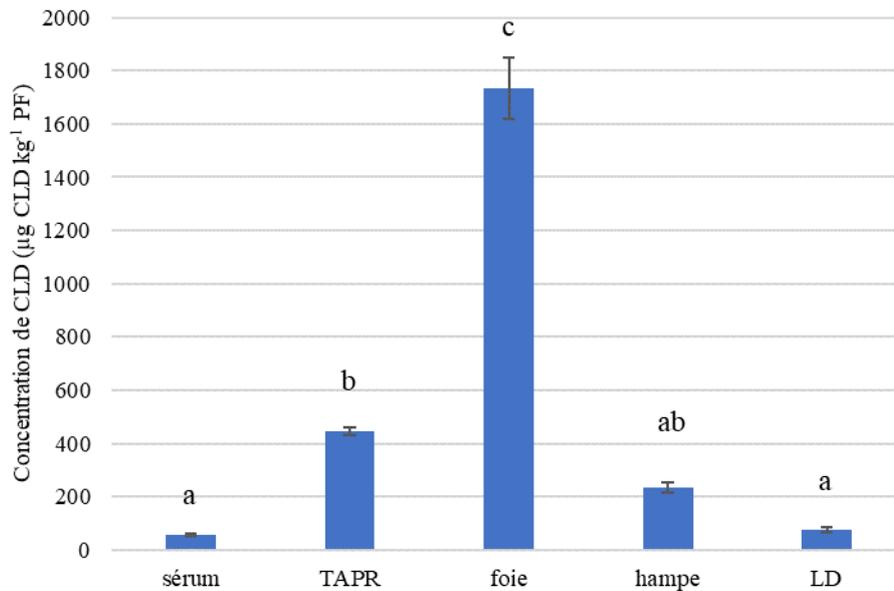


Figure 14: Effet du tissu sur les concentrations de chlordécone tissulaires

Les valeurs correspondent à la moyenne \pm SE (n=14). Les valeurs diffèrent significativement si elles n'ont pas la même lettre ($P < 0,05$). PF : poids frais ; TAPR : tissu adipeux périrénal ; LD : long dorsal. Le TAPR est ici considéré comme étant composé à 100% de matière grasse.

Aucune corrélation n'a pu être mise en évidence entre les tissus car la fourchette de concentrations entre individus n'était pas assez large, ce qui a créé un amas de points. Cependant, des ratios de concentrations entre les différents tissus ont été calculés entre les différents tissus et sont présentés dans le tableau 13.

Afin de discuter les ratios de concentrations obtenus dans l'expérimentation C1, ces données ont été comparées avec un autre jeu de données. En mars 2019 un avis de l'Anses relatif à la fixation d'une limite maximale de résidus de CLD dans les muscles et dans la graisse pour les denrées carnées (saisine n°2018-SA-0265 ; ANSES, 2019) a analysé des données tissulaires de porcs provenant d'un élevage professionnel situé en Guadeloupe. Ces données proviennent d'une étude réalisée par la DAAF de Guadeloupe et par l'UR AFPA (Vandœuvre-lès-Nancy). Une première phase d'analyse a consisté à réaliser des triplets d'échantillons (TAPR – hampe – TASC) sur 66 animaux et des prélèvements de TAPR et de hampe sur 11 animaux supplémentaires. La deuxième phase d'analyse a consisté à analyser trois muscles supplémentaires (long dorsal, semi-membraneux et au niveau du flanchet) en plus de la hampe et du TAPR sur 15 animaux. Les ratios de concentrations entre les différents tissus obtenus à partir des données DAAF sont présentés dans le tableau 13.

Tableau 13: Ratios de concentrations de chlordécone entre les tissus après abattage

Données	Foie / Hampe	Foie / TAPR	TAPR / Hampe	Hampe / LD	Foie / Sérum
experimentation C1	8,3 ± 1,1 ^a (n=14)	3,9 ± 0,3 ^a (n=14)	2,1 ± 0,2 ^a (n=14)	3,5 ± 0,5 ^a (n=14)	33,7 ± 3,9 (n=14)
données DAAF	9,6 ± 0,4 ^a (n=33)	6,8 ± 0,2 ^b (n=33)	1,5 ± 0,1 ^b (n=77)	1,5 ± 0,1 ^b (n=15)	-

CLD : chlordécone ; TAPR : tissu adipeux périrénal ; LD : long dorsal. Les valeurs correspondent à la moyenne ± SE. Les valeurs non suivies par la même lettre sur la même colonne sont significativement différentes (Test de Student ; P < 0,05).

Les données DAAF ont permis de mettre en évidence des corrélations entre les concentrations tissulaires de CLD. Les figures 15, 16 et 17 présentent respectivement les corrélations entre :

- la hampe et le TAPR : $[\text{CLD}]_{\text{hampe}} = 0,64 [\text{CLD}]_{\text{TAPR}} + 1,5$;
- le foie et le TAPR : $[\text{CLD}]_{\text{foie}} = 6,26 [\text{CLD}]_{\text{TAPR}} + 13,7$;
- le cœur et le TAPR : $[\text{CLD}]_{\text{cœur}} = 0,96 [\text{CLD}]_{\text{TAPR}} + 2,7$.

Ces résultats confirment que la CLD est significativement plus concentrée dans le foie que dans les autres tissus. Ils montrent également que le cœur est plus concentré que la hampe et confirment l'hétérogénéité de concentrations entre les muscles comme cela a été observé chez la brebis (Article 1). Les ratios obtenus entre la hampe et le long dorsal sont différents entre les jeux de données. Cependant, ils montrent tous les deux que la hampe est plus concentrée que le long dorsal.

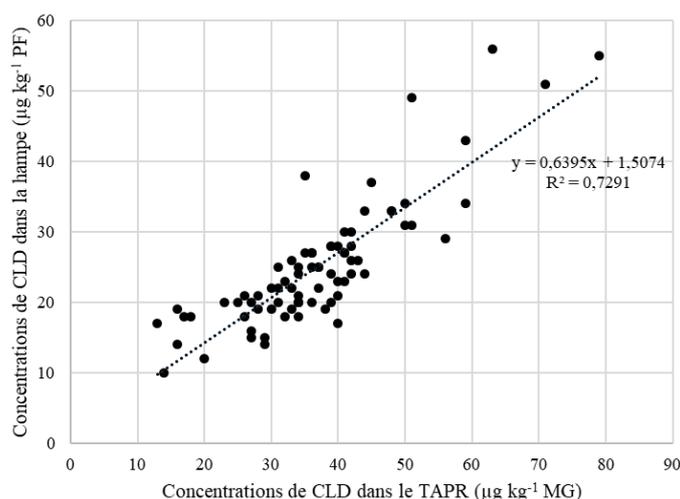


Figure 15: Corrélations entre les concentrations de chlordécone dans la hampe et dans le tissu adipeux périrénal (données DAAF)

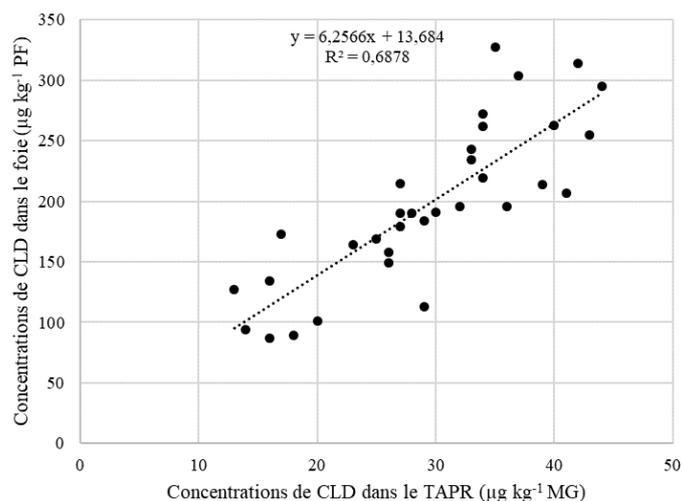


Figure 16: Corrélations entre les concentrations de chlordécone dans le foie et dans le tissu adipeux périrénal (données DAAF)

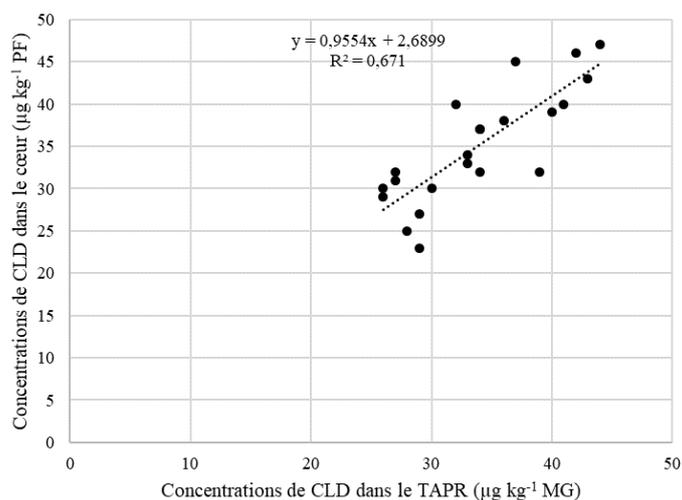


Figure 17: Corrélations entre les concentrations de chlordécone dans le cœur et dans le tissu adipeux périrénal (données DAAF)

2.2.3. Estimation des quantités totales de chlordécone dans l'organisme

Le temps de demi-vie de la CLD chez le porc a été estimé à 55 ± 2 j. Au bout de 84 j de décontamination (soit 1,5 demi-vies), la concentration initiale est censée être diminuée de 60%. La quantité totale restante dans l'organisme a été estimée à $46,7 \pm 2,6$ % de la dose administrée. Cette quantité est cohérente avec le temps de demi-vie obtenu.

Le tableau 14 présente les estimations des quantités de CLD dans le foie, le tissu adipeux et le muscle. Bien que les concentrations de CLD dans le foie soient très élevées par rapport au tissu adipeux ou aux muscles, les tissus adipeux stockent la plus grande part de la quantité totale de CLD dans l'organisme (environ 40 %). Les quantités de CLD dans le muscle ont été estimées de trois façons en considérant

soit que le muscle moyen a une concentration égale à celui de la hampe (méthode A), soit que le muscle moyen est composé à 50% de muscle de type hampe et 50% de type long dorsal (méthode B), soit que le muscle moyen est composé à 30% de muscle de type hampe et 70% de type long dorsal (méthode C). Les résultats obtenus montrent qu'en fonction des méthodes de calculs et des concentrations considérées pour estimer les quantités de CLD dans le muscle, les résultats peuvent varier du simple au double. Pour la construction d'un futur modèle chez le porc, le choix d'un muscle de référence ou d'un muscle pondéré représentatif du compartiment muscle sera important pour ne pas sous-estimer ou surestimer la quantité de CLD dans ce compartiment.

Tableau 14: Quantités de chlordécone dans les tissus (en mg) et parts du body burden correspondantes (en %)

	Créole (n =7)	Large White (n=7)	Ensemble des porcs (n=14)
BB à 84 j (mg)	28,9 ± 3,2 ^a	31,7 ± 2,0 ^a	30,3 ± 1,8
% dose restant à 84 j	43,8 ± 4,4 ^a	49,5 ± 2,5 ^a	46,7 ± 2,6
Foie (mg)	2,2 ± 0,1 ^a	2,2 ± 0,3 ^a	2,2 ± 0,1
%BB dans le foie	8,3 ± 1,4 ^a	7,2 ± 0,9 ^a	7,7 ± 0,8
TA (mg)	13,2 ± 0,5 ^a	10,0 ± 0,8 ^b	11,6 ± 0,7
%BB dans le TA	48,6 ± 5,3 ^a	31,7 ± 2,4 ^b	40,2 ± 3,8
Muscle Méthode A (100% hampe)	9,0 ± 1,2 ^a	12,5 ± 1,8 ^a	10,7 ± 1,2
%BB dans le muscle	34,4 ± 7,3 ^a	39,1 ± 5,1 ^a	36,7 ± 4,3
Muscle Méthode B (50% hampe, 50% LD)	6,2 ± 0,8 ^a	7,8 ± 1,0 ^a	7,0 ± 0,6
%BB dans le muscle	23,7 ± 4,7 ^a	24,5 ± 2,6 ^a	24,1 ± 2,5
Muscle Méthode C (30% hampe, 70% LD)	5,1 ± 0,6 ^a	6,0 ± 0,8 ^a	5,5 ± 0,5
%BB dans le muscle	19,4 ± 3,7 ^a	18,6 ± 1,8 ^a	19,0 ± 1,9

BB : body burden ; TA : tissu adipeux ; LD: long dorsal. Les valeurs correspondent à la moyenne ± SE. Les valeurs sur une même ligne diffèrent significativement si elles ne sont pas suivies par la même lettre en exposant (Test de Student ; P < 0,05).

2.2.4. Bilan sur la distribution tissulaire de la chlordécone chez le porc

Ces résultats préliminaires ont confirmé le comportement particulier de la CLD par rapport à d'autres polluants. Ils ont également mis en évidence des différences de distribution entre les muscles. Des données supplémentaires sont nécessaires pour caractériser la distribution de la CLD en dynamique chez le porc afin (1) d'établir des corrélations entre les concentrations de CLD dans les tissus et (2) de déterminer les temps de demi-vies de la CLD dans les différents tissus.

2.3. Caractérisation de l'élimination de la chlordécone chez le porc en croissance

2.3.1. Caractérisation de l'élimination globale de la chlordécone et du chlordécol

Caractérisation des formes d'élimination de la CLD. L'analyse de la CLD et de ses métabolites dans le sérum, les urines et les fèces après administration de CLD et de CLDOH a permis de caractériser les formes d'élimination de la CLD chez le porc. La figure 18 présente les cinétiques sériques et fécales de la CLD et de ses métabolites suite aux administrations *i.v.* de 1 mg CLD kg⁻¹ PV (expérimentation C1, n=14) et de 1 mg CLDOH kg⁻¹ PV (expérimentation C2, n=4).

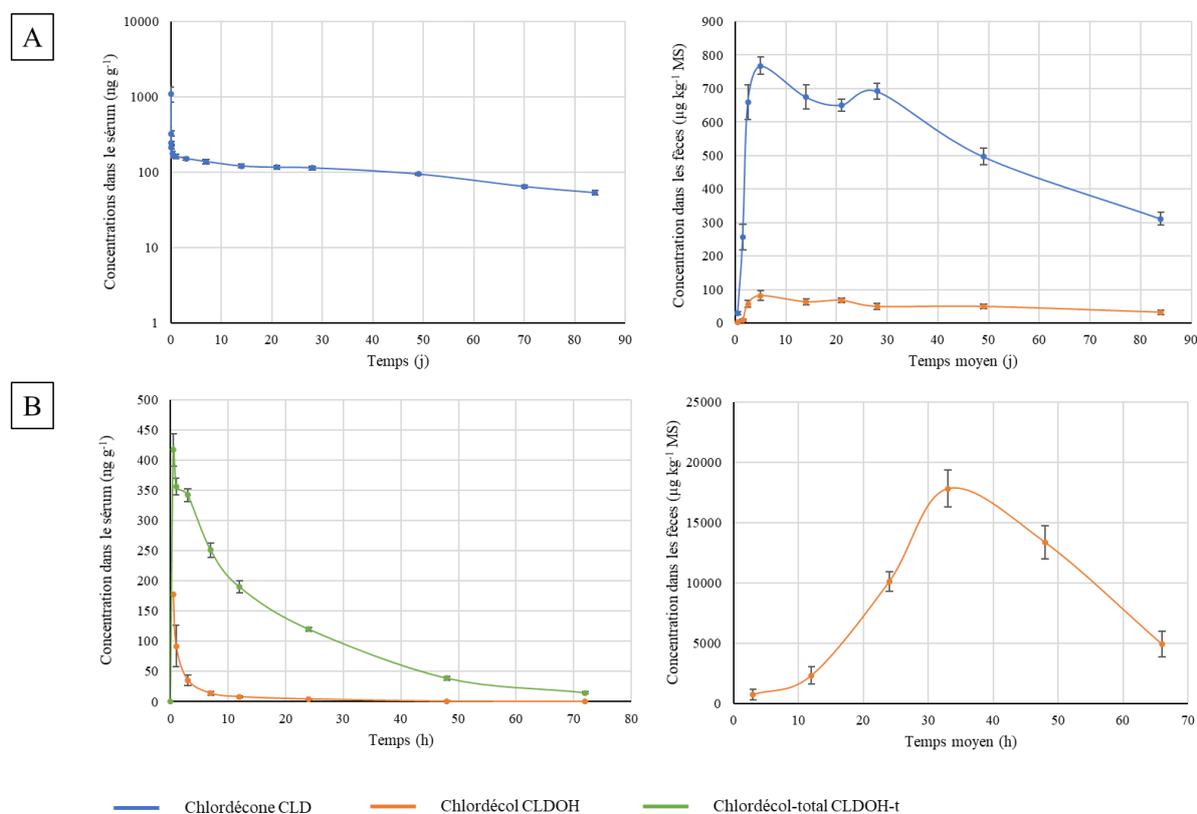


Figure 18: Evolution des concentrations de chlordécone (CLD), chlordécol (CLDOH) et chlordécol-total (CLDOH-t) dans le sérum et les fèces après (A) une administration intraveineuse de 1 mg CLD kg⁻¹ PV (expérimentation C1, n=14) et (B) une administration intraveineuse de 1 mg CLDOH kg⁻¹ PV (expérimentation C2, n=4)

Les valeurs correspondent à la moyenne ± SE.

Suite à l'administration d'une *i.v.* de CLD, seule la forme CLD a été quantifiée dans le sérum. Dans les échantillons d'urine et de fèces, la CLD et le CLDOH ont été quantifiés. L'analyse des métabolites sur la cinétique sérique de 4 porcs a montré qu'après l'administration de la CLD par voie *i.v.*, le CLDOH et le CLDOH-C ne sont pas quantifiés dans le sérum. La quantification de CLDOH dans les urines et les fèces suite à l'administration de CLD montre que le porc métabolise quand même la CLD. La non-quantification du CLDOH-t dans le sang est certainement liée à une élimination très rapide de cette molécule en dehors du compartiment sanguin.

La figure 19 présente les concentrations de CLD et de métabolites obtenues dans les urines et les fèces au temps moyen $t = 36$ h. La CLD quantifiée à faibles concentrations dans les urines est cohérente avec les résultats obtenus chez le rat et l'homme (Cohn et al., 1978 ; Egle et al., 1978). Contrairement à la brebis, le CLDOH-C n'a pas été quantifié dans les urines (Saint-Hilaire, 2018 ; Article 2). La forme prédominante dans les urines de porc est le CLDOH libre : le ratio moyen de concentrations CLD/CLDOH-t obtenu est de 0.05 ± 0.01 (moyenne \pm SE). Dans les échantillons de fèces, la CLD et le CLDOH ont été quantifiés. Ces résultats sont cohérents avec d'autres études menées chez l'homme, la gerbille, le porc et la brebis (Cohn et al., 1978 ; Fariss et al., 1980 ; Houston et al., 1981 ; Saint-Hilaire, 2018 ; Soine et al., 1983). Les métabolites conjugués n'ont pas été quantifiés dans les fèces comme chez l'homme et la brebis (Saint-Hilaire, 2018; Article 2). La forme principale dans les fèces est la CLD, le ratio moyen des concentrations de CLD sur celles de CLDOH dans les échantillons de fèces étaient de 10.7 ± 0.6 (moyenne \pm SE). Ce ratio est cohérent avec celui obtenu chez le porcelet compris entre 8 et 10 (Soine et al., 1983) mais supérieur à ceux de 2,4 ; 0,25 et 1,9 obtenus respectivement chez la gerbille, l'homme et la brebis (Boylan et al., 1979; Houston et al., 1981; Saint-Hilaire, 2018; Soine et al., 1983). Ces différences de ratios peuvent provenir de différences d'activité métabolique de la *chlordecone reductase* ou de différences de réabsorption de CLD ou de CLDOH entre les espèces.

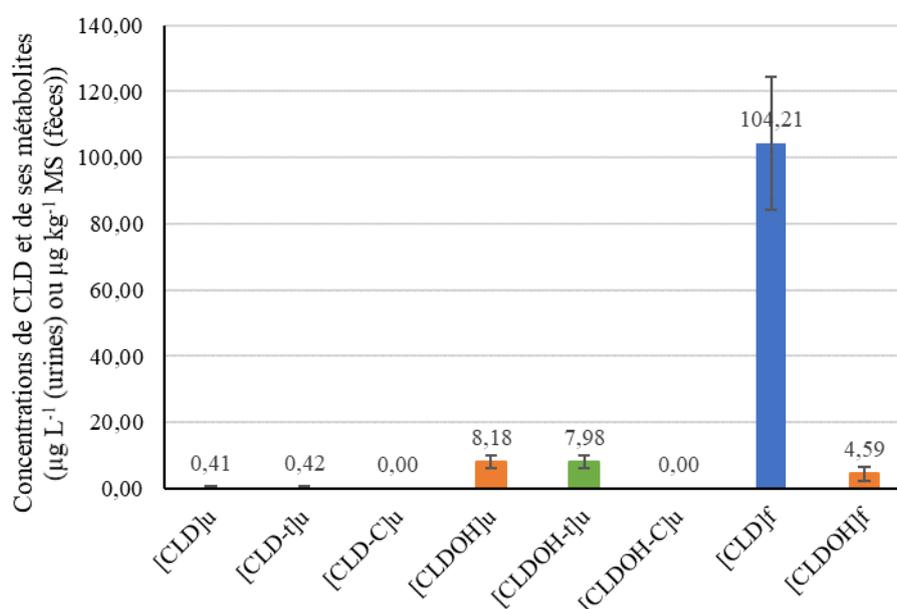


Figure 19: Concentrations de chlordécone (CLD), chlordécone-total (CLD-t), chlordécone-conjugué (CLD-C), chlordécol (CLDOH), chlordécol total (CLDOH-t) et chlordécol conjugué (CLDOH-C) dans les urines et les fèces au temps moyen $t = 36$ h après une administration intraveineuse de $1 \text{ mg CLD kg}^{-1} \text{ PV}$

Les valeurs correspondent à la moyenne \pm SE (n=6).

Suite à l'administration d'une *i.v.* de CLDOH, les formes CLDOH libre et CLDOH-C ont été quantifiées dans le sérum (figure 18). Les concentrations sériques de CLDOH ont diminué très rapidement, certainement car le CLDOH est rapidement conjugué en CLDOH-C et/ou distribué très rapidement. En

effet, la forme principale dans le sérum est la forme CLDOH-C. Ces résultats montrent que le porc est capable de conjuguer le CLDOH, bien que cette forme n'ait pas été retrouvée dans le sérum ou les matrices d'excrétion suite à l'administration de CLD.

Calcul des paramètres d'élimination de la CLD et du CLDOH. La cinétique sérique de CLD de l'expérimentation C1 a permis de calculer les paramètres d'élimination de la CLD et la cinétique sérique de CLDOH et de CLDOH-t de l'expérimentation C2 a permis de calculer les paramètres d'élimination du CLDOH et du CLDOH-t. Ces paramètres sont présentés dans le tableau 15. Les temps de demi-vie respectifs du CLDOH et du CLDOH-C ont été estimés à 7 ± 2 h et à 15 ± 1 h. Le CLDOH est donc rapidement excrété sous forme parent ou métabolisé en CLDOH-C ou d'autres métabolites non identifiés. Les clairances globales d'élimination de la CLD et du CLDOH-t ont été estimées respectivement à $76,7 \pm 3,2$ et 3037 ± 108 mL j⁻¹ kg⁻¹ PV. La clairance globale d'élimination du CLDOH-t est 39 fois plus élevée que celle de la CLD ce qui traduit une élimination très rapide du CLDOH-t et explique que cette forme ne soit pas quantifiée dans le sérum.

Tableau 15: Paramètres toxicocinétiques d'élimination de la chlordécone et du chlordécol

Paramètre	expérimentation C1	expérimentation C2
	<i>i.v. dose unique</i> (n=14) 1 mg CLD kg ⁻¹ moyenne ± SE	<i>i.v. dose unique</i> (n=4) 1 mg CLDOH kg ⁻¹ moyenne ± SE
CL_{CLD} mL kg ⁻¹ j ⁻¹	76,7 ± 3,2	-
t_{1/2,CLD} j	54,7 ± 2,3	-
MRT_{CLD} j	78 ± 3	-
CL_{CLDOH} mL kg ⁻¹ j ⁻¹	-	48563 ± 3666
t_{1/2,CLDOH} j	-	0,29 ± 0,10
MRT_{CLDOH} j	-	0,36 ± 0,02
CL_{CLDOH-t} mL kg ⁻¹ j ⁻¹	-	3037 ± 108
t_{1/2,CLDOH-t} j	-	0,62 ± 0,02
MRT_{CLDOH-t} j	-	0,90 ± 0,03

CLD : chlordécone ; CLDOH : chlordécol ; CLDOH-t : chlordécol-total ; CL_{CLD} : clairance globale d'élimination de la CLD ; t_{1/2,CLD} : temps de demi-vie de la CLD ; MRT_{CLD} : temps moyen de résidence de la CLD ; CL_{CLDOH} : clairance globale d'élimination du CLDOH ; t_{1/2,CLDOH} : temps de demi-vie du CLDOH ; MRT_{CLDOH} : temps moyen de résidence du CLDOH ; CL_{CLDOH-t} : clairance globale d'élimination du CLDOH-t ; t_{1/2,CLDOH-t} : temps de demi-vie du CLDOH-t ; MRT_{CLDOH-t} : temps moyen de résidence du CLDOH-t ; SE : écart-type de la moyenne. *i.v.* : administration intraveineuse.

2.3.2. Caractérisation des voies d'excrétion de la chlordécone

Après administration de CLD, les concentrations de CLD-t dans les fèces au temps de prélèvement moyen $t = 36$ h sont significativement supérieures à celles dans les urines ($P < 0.01$, test de Wilcoxon). Bien que cela ne soit pas un bilan d'excrétion, ces résultats supposent que la voie urinaire est minoritaire. La voie urinaire a été considérée comme négligeable chez le porc et seules les voies d'élimination via le métabolisme et l'excrétion fécale ont été étudiées plus finement.

2.3.3. Caractérisation du métabolisme de la chlordécone : étude du transfert de la chlordécone et du chlordécol de la bile vers les fèces

Afin d'évaluer les transferts de la CLD et de ses métabolites du foie vers les fèces, des prélèvements de bile ont été réalisés lors de l'abattage des porcs 84 j après administration *i.v.* de CLD (expérimentation C1) et 72 h après administration *i.v.* de CLDOH (expérimentation C2).

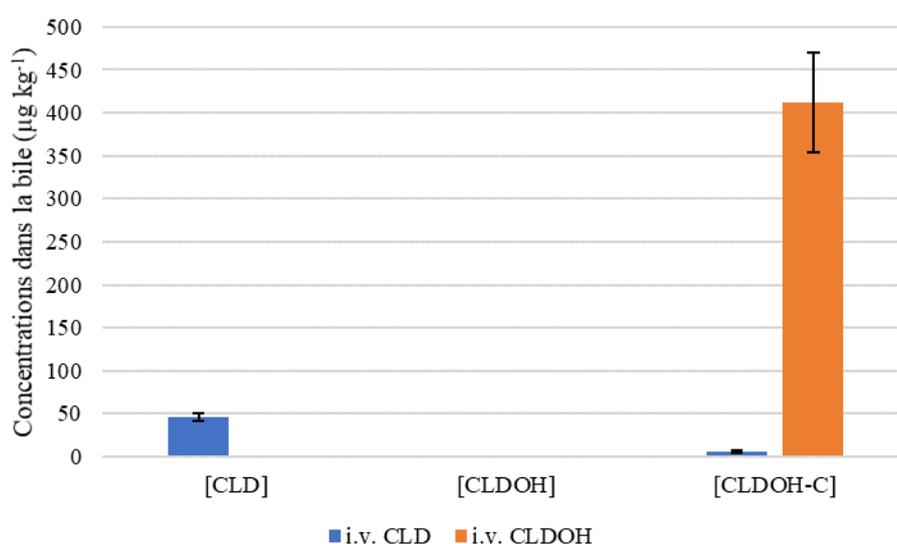


Figure 20: Concentrations de chlordécone (CLD), chlordécol (CLDOH) et chlordécol-conjugué (CLDOH-C) dans la bile 84 j après administration *i.v.* de CLD (n=14) ou 3 j après administration *i.v.* de CLDOH (n=4)

CLD : chlordécone ; CLDOH : chlordécol ; CLDOH ; CLDOH-C : chlordécol conjugué. Les valeurs correspondent à la moyenne \pm SE.

La figure 20 présente les concentrations de CLD et de ses métabolites obtenues dans ces prélèvements. Après administration *i.v.* de CLD, les formes CLD et CLDOH-C ont été quantifiées. Le ratio de concentrations CLD/CLDOH-C obtenu dans la bile est de 11 ± 2 . Ce ratio est très différent des ratios CLD/CLDOH-t de 0,25 à 0,7 obtenus chez le porcelet (Soine et al., 1983) et du ratio CLD/CLDOH-t de 0,25 obtenu chez l'homme (Fariss, 1980). Après administration *i.v.* de CLDOH, seul le CLDOH-C a été quantifié dans la bile. Ces résultats confirment que la réaction de CLD en CLDOH n'est pas ou peu réversible. Par ailleurs, cela confirme que le CLDOH-C produit au niveau du foie est transféré dans la

bile (Fariss et al., 1980; Houston et al., 1981; Saint-Hilaire, 2018; Soine et al., 1983). Que ce soit après *i.v.* de CLD ou *i.v.* de CLDOH, le CLDOH n'est pas quantifié dans la bile. Cela confirme que l'équilibre de la réaction de biotransformation de la CLD est déplacé vers la formation du CLDOH-C.

Des analyses de contenus intestinaux ont également été réalisées suite à l'administration *i.v.* de CLDOH (expérimentation C2). La figure 21 présente les formes retrouvées du CLDOH et de CLDOH-C 72h après *i.v.* de CLDOH. Etant donné que le CLDOH n'a pas été quantifié dans la bile, le CLDOH libre présent dans les fèces proviendrait de la déconjugaison intestinale du CLDOH-C. Chez la brebis, le CLDOH-C n'a pas été quantifié dans le colon suite à l'administration de CLDOH (expérimentation A1), ce qui a supposé que la déconjugaison du CLDOH-C s'effectue entre la fin de l'intestin et le colon (Saint-Hilaire, 2018). Chez le porc, le CLDOH-C a été quantifié dans le colon, la déconjugaison du CLDOH-C semble donc légèrement plus tardive chez le porc que chez la brebis.

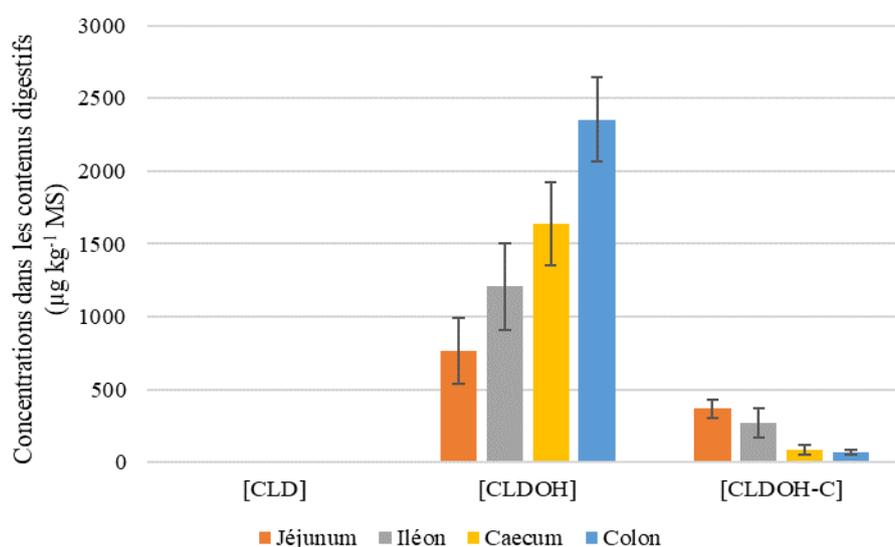


Figure 21: Transfert intestinal du chlrodécol (CLDOH) et de chlrodécol conjugué (CLDOH-C) 72 h après *i.v.* dose unique de CLDOH (1 mg CLDOH kg⁻¹ PV)

CLD : chlrodécone ; CLDOH : chlrodécol ; CLDOH ; CLDOH-C : chlrodécol conjugué. Les valeurs correspondent à la moyenne \pm SE (n=4).

2.3.4. Analyse quantitative des quantités de chlrodécone et de chlrodécol excrétées en fonction de la dose administrée

(i) Calcul des clairances fécales

La figure 22 présente les relations individuelles entre le taux d'excrétion fécale de la CLD ($dQ(\text{CLD})/dT$) et la concentration de CLD respective dans le sérum. Cette figure a permis d'estimer les clairances fécales individuelles de CLD correspondant à la pente des régressions linéaires individuelles. Comme le CLDOH-t n'a pas été quantifié dans le sérum suite à l'administration *i.v.* de CLD, la clairance

fécale du CLDOH a été calculée à partir des résultats de l'expérimentation C2 de la même façon. Les estimations des clairances fécales du CLD et du CLDOH sont présentées dans le tableau 16. Les clairances fécales du CLD et du CLDOH ont été estimées à $15,1 \pm 0,9$ et 537 ± 25 mL j⁻¹ kg⁻¹ PV.

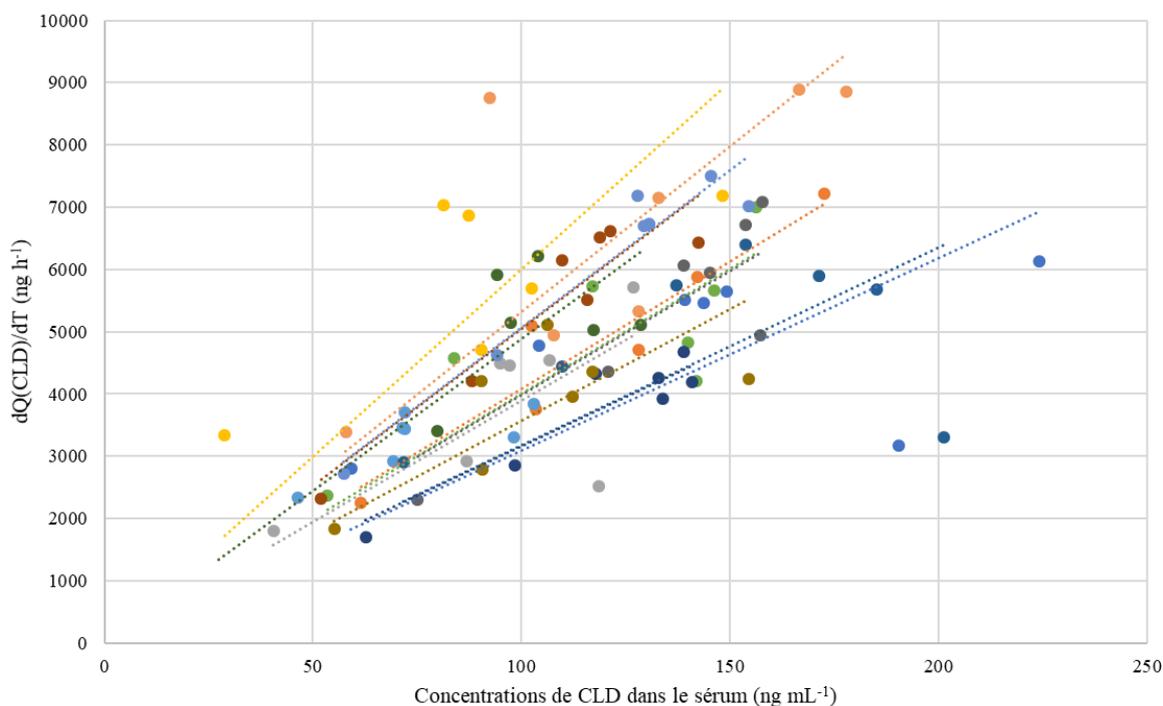


Figure 22: Relations individuelles entre le taux d'excrétion fécale de la CLD et la concentration respective dans le sérum

Chaque couleur représente un animal et chaque point un moment de collecte.

Tableau 16: Paramètres toxicocinétiques d'élimination fécale de la chlordécone et du chlordécol

Paramètre	expérimentation C1	expérimentation C2
	<i>i.v. dose unique</i> (n=14) 1 mg CLD kg ⁻¹ moyenne ± SE	<i>i.v. dose unique</i> (n=4) 1 mg CLD kg ⁻¹ moyenne ± SE
Cl_{f,CLD}	15,1 ± 0,9	-
mL kg ⁻¹ j ⁻¹		
Cl_{f,CLDOH}	-	537 ± 25
mL kg ⁻¹ j ⁻¹		
CLD/CLDOH_f	10,7 ± 0,6	-

Cl_{f,CLD}: clairance fécale de la CLD ; Cl_{f,CLDOH}: clairance fécale du CLDOH ; SE: écart-type de la moyenne ; *i.v.* : administration intraveineuse. CLD/CLDOH_f : ratio de concentrations CLD / CLDOH dans les fèces.

(ii) Calcul des pourcentages de CLD et de métabolites excrétés en fonction de la dose administrée

Les clairances sériques et fécales de la CLD obtenues suite à l'administration *i.v.* d'une dose unique de CLD ont permis de calculer le pourcentage excrété de la CLD sérique éliminée sous forme parent via les fèces ($19,8 \pm 1,3$ %, soit environ 20%).

La clairance sérique du CLDOH-t et la clairance fécale du CLDOH obtenues suite à l'administration *i.v.* dose unique de CLDOH ont permis de calculer le pourcentage du CLDOH-t sérique éliminé sous forme CLDOH via les fèces ($17,7 \pm 0,7$ %, soit environ 18%).

Pour la brebis, l'hypothèse formulée était que toute la CLD non excrétée sous forme parent était transformée en CLDOH (Article 2). Dans le cas du porc, si cette hypothèse est appliquée, 80% de la CLD serait métabolisée en CLDOH soit 14% ($80\% \times 18\%$) de la CLD sérique serait excrétée sous forme de CLDOH via les fèces. Or, le ratio de concentrations CLD/CLDOH obtenus dans les fèces suite à l'administration de CLD est de $10,7 \pm 0,6$, si 20% de la CLD est éliminée via les fèces sous forme parent, elle ne peut pas être éliminée à hauteur de 14% sous forme CLDOH car ce ne serait pas cohérent avec les ratios de concentrations CLD/CLDOH observés dans les fèces. En se basant sur ces ratios, environ 2% de la CLD sérique serait excrétée via les fèces sous forme CLDOH. L'hypothèse qui pourrait expliquer ce bilan incomplet de CLD est l'existence de voies métaboliques non identifiées chez le porc.

L'élimination de la CLD sérique chez le porc est résumée sur la figure 23.

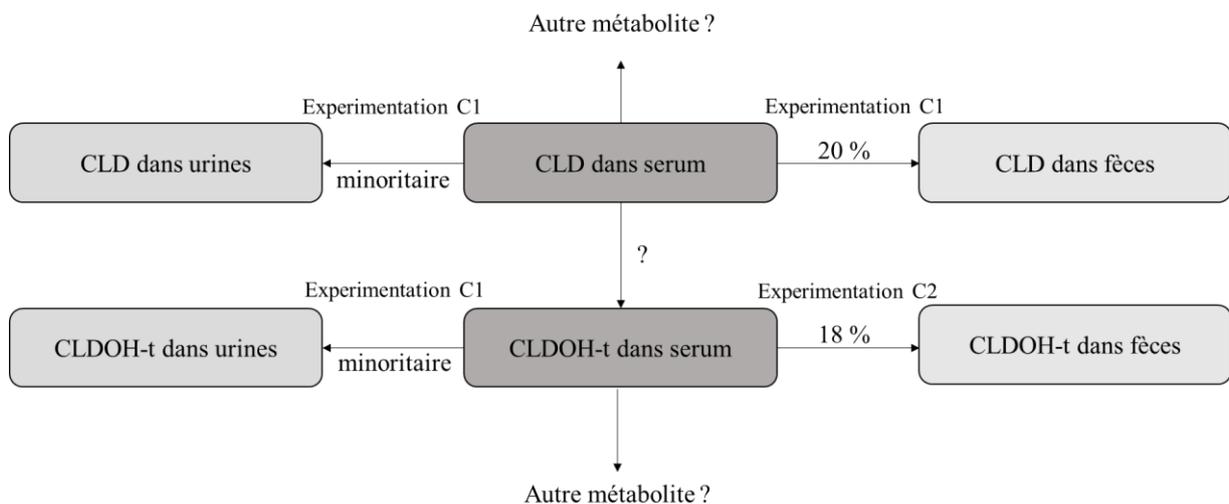


Figure 23: Schéma du devenir de la chlordécone chez le porc

2.3.5. Applications pour les stratégies de décontamination

(i) Utilisation des fèces comme matrice de biomonitoring ?

Pour pouvoir mettre en place des stratégies de décontamination, le niveau initial de contamination de l'animal doit être connu. Des échantillons de sang peuvent permettre de connaître ce niveau de

contamination initiale. Cependant, les prélèvements de sang sur porc ne sont pas faciles à réaliser sur animal vigile. Les fèces pourraient donc être une matrice plus simple à prélever pour estimer la contamination de l'animal. Cependant, la figure 24 montre qu'aucune corrélation n'a pu être mise en évidence entre les concentrations de CLD dans les fèces et dans le sérum.

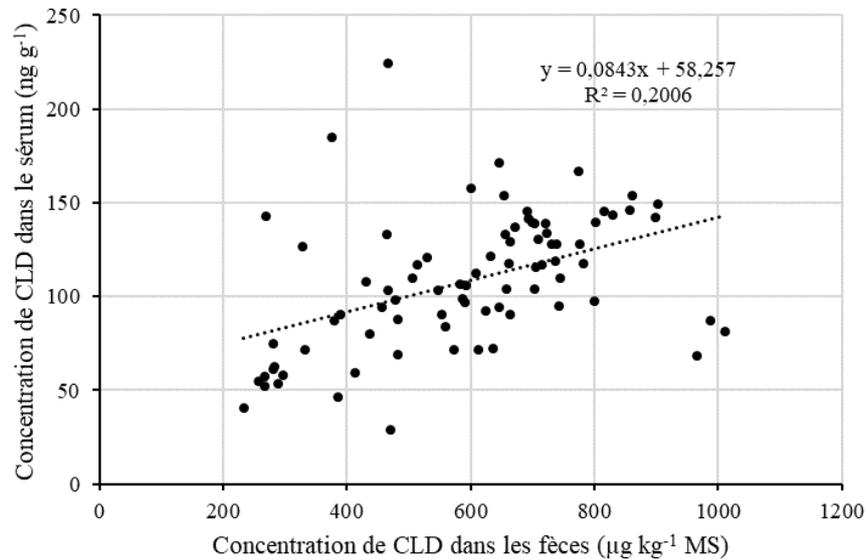


Figure 24: Corrélations entre les concentrations de chlordécone (CLD) dans le sérum et les fèces collectés simultanément après une administration intraveineuse unique de 1 mg CLD kg⁻¹ PV

(ii) Evaluation du transfert de CLD et de CLDOH de l'animal au sol pendant les processus de décontamination

Cette étude a permis d'estimer les paramètres d'élimination de la CLD nécessaire pour évaluer le transfert de CLD de l'animal à l'environnement. La méthode présentée dans la partie 3.4. de l'article 2 peut être utilisée pour estimer à partir d'une prise de sang la quantité de CLD éliminée dans l'environnement. Brièvement, à partir d'un prélèvement de sang, la concentration initiale de CLD dans le sérum peut être quantifiée. Ensuite, la cinétique sanguine d'élimination pendant la période de décontamination peut être modélisée en considérant un temps de demi-vie de 55 j (Article 3 ; Fourcot et al., 2020) et l'AUC sous cette courbe ($AUC_{d,CLD}$) peut être estimée à l'aide d'une méthode des trapèzes. Enfin, la quantité de CLD ($Q_{CLD,décontamination}$) éliminée pendant la période de décontamination peut être estimée selon l'équation (1) :

$$Q_{CLD,décontamination} = AUC_{d,CLD} \times Cl_{f,CLD} \times PV \quad (1)$$

Avec : $AUC_{d,CLD}$ l'aire sous la courbe individuelle d'évolution des concentrations sériques de CLD au cours du temps, $Cl_{f,CLD}$ la clairance fécale moyenne de la CLD (15,1 mL kg⁻¹ j⁻¹) et PV le poids vif (kg).

Des questions subsistent sur le pourcentage de CLD sérique métabolisé en CLDOH chez le porc. La clairance fécale du CLDOH ne peut donc pas être utilisée directement. Cependant, le ratio de concentrations CLD/CLDOH dans les fèces étant égal à $10,7 \pm 0,6$, les quantités de CLDOH excrétées via les fèces peuvent être estimées en divisant les quantités de CLD excrétées par 10,7.

Actuellement, seule l'excrétion de CLD et de CLDOH via les fèces peut être quantifiée. Cependant, d'autres métabolites non identifiés semblent exister chez le porc et sont certainement éliminés via les fèces et les urines. Ces premiers résultats pourront être utilisés par les autorités et les acteurs locaux pour discuter l'acceptabilité des stratégies de décontamination.

Les expérimentations *in vivo* menées chez le porc ont permis de déterminer les paramètres toxicocinétiques de la CLD et du CLDOH-t. La clairance globale d'élimination de la CLD et du CLDOH-t chez le porc en croissance (avec un GMQ de $228 \pm 17 \text{ g j}^{-1}$) ont été estimés respectivement à 77 ± 3 et $3037 \pm 108 \text{ mL j}^{-1} \text{ kg}^{-1} \text{ PV}$. Ce volume de distribution important de la CLD ($6,0 \pm 0,2 \text{ L kg}^{-1} \text{ PV}$) explique le temps de demi-vie long obtenu chez le porc ($55 \pm 2 \text{ j}$). Par ailleurs, la variabilité interindividuelle est en partie expliquée par le GMQ.

Des résultats préliminaires ont été apportés sur la distribution de la CLD chez le porc en croissance. Les calculs de ratios de concentrations entre tissus ont permis de confirmer le comportement particulier de la CLD avec le foie et des différences significatives de distribution ont été observées entre la hampe et le muscle long dorsal.

Enfin, l'élimination de la CLD a été caractérisée chez le porc en croissance. Ces données ont permis de décrire les formes d'élimination de la CLD chez le porc. Suite à l'administration de CLD, seule la forme CLD a été quantifiée alors que dans les fèces et les urines, les formes CLD et CLDOH libre ont été quantifiées. La clairance globale d'élimination du CLDOH-t très élevée suppose que le CLDOH-t est très rapidement éliminé du compartiment sanguin. Les clairances fécales de la CLD et du CLDOH ont été estimées respectivement à $15,1 \pm 0,9$ et $537 \pm 25 \text{ mL j}^{-1} \text{ kg}^{-1} \text{ PV}$. L'utilisation de ces clairances a permis de montrer que 20 % de la CLD sérique est éliminée via les fèces sous forme parent et environ 2% serait éliminé sous forme CLDOH. L'existence d'autres voies de métabolisme est donc fortement soupçonnée chez le porc.

4

Chapitre 3 : Intégration des données toxicocinétiques pour la conception d'outils d'aide à la décision

Pour protéger les populations en réduisant l'exposition via l'alimentation et soutenir les acteurs impactés par la crise CLD, le gouvernement français a mis en place trois plans d'action chlordécone successifs (2008-2010 ; 2011-2013 ; 2014-2020). Le 4^{ème} plan (2021-2026) est en cours d'élaboration. Un des axes du plan chlordécone III était de favoriser une approche de prévention du risque sanitaire et de protection des populations dans une stratégie de réduction de l'exposition. Dans ce cadre, le bureau de la Coordination en matière de Contaminants Chimiques et Physiques de la DGAL a rédigé un plan d'expérimentation pour réaliser des analyses triplets (foie - TAPR - hampe) sur bovins en complément des plans de surveillance et de contrôle (PSPC) afin de mieux comprendre la distribution de la CLD dans l'organisme. En 2016, l'Anses a conduit l'étude sur 200 triplets bovins (120 triplets de Martinique et 80 de Guadeloupe ; Saisine n°2018-SA-0202 ; ANSES, 2018). Suite aux résultats de cette étude triplet, l'arrêté du 25 janvier 2019 a fixé la valeur de gestion limite à $27 \mu\text{g kg}^{-1}$ MG dans le TAPR de bovins afin de ne pas dépasser la LMR de $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ PF dans le muscle. Afin d'homogénéiser la valeur de gestion entre les espèces, cet arrêté a été modifié par l'arrêté du 23 mai 2019 qui a défini la concentration maximale dans le TAPR pour ne pas dépasser la LMR de $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ PF dans le muscle à $27 \mu\text{g kg}^{-1}$ MG pour les bovins, $21 \mu\text{g kg}^{-1}$ MG pour les porcins et $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ MG pour les ovins et caprins. La LMR a été fixée chez l'ovine alors qu'aucune donnée triplet n'était encore disponible chez cette espèce. Depuis 2008, les valeurs de gestion ont donc été fortement abaissées car divisées par 4 ou 5 suivant les espèces. Le tableau 17 résume l'ensemble des dates et chiffres clés concernant les LMR. Une des conséquences probables de la baisse des LMR est une augmentation du risque de non-conformité.

Des PSPC sont mis en place chaque année afin de maîtriser la sécurité sanitaire des aliments. Le tableau 18 résume les résultats principaux des PSPC réalisés entre le 1^{er} janvier et le 31 décembre 2019. Bien que le taux de non-conformité soit assez faible, la CLD est quantifiée dans un nombre important d'animaux. Or depuis 2018, la nouvelle ambition sociétale et gouvernementale est de tendre vers le « zéro chlordécone » dans l'alimentation. La valeur cible n'est donc plus forcément la LMR mais la LQ. Pour pouvoir produire des animaux qui présentent des concentrations de CLD inférieures à la LMR ou à la LQ, des outils d'aide à la décision doivent rapidement être créés pour accompagner les filières.

Ce chapitre a pour objectifs de :

- (1) Créer un outil d'aide à la décision permettant à partir de matrices de biomonitoring de prédire la conformité d'une carcasse de brebis avant abattage et de calculer des temps de décontamination ;
- (2) Créer un modèle PBPK de la CLD chez la brebis pouvant être utilisé comme outil de recherche et d'outil d'aide à la décision.

Tableau 17: Evolution de la réglementation entre 2005 et 2019

Date	Objectif	Valeur LMR		
		Bovin	Ovin / caprin	Porcin
2005 Règlement CE n°396/2005	Définition des LMR par la Commission Européenne	20 $\mu\text{g kg}^{-1}$ PF		
Arrêté du 30 juin 2008	Définition des LMR de CLD dans les produits animaux lors d'un prélèvement de TAPR	20 $\mu\text{g kg}^{-1}$ PF valeur de gestion : 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MG dans le TAPR		
Arrêté du 25 janvier 2019	Modification des LMR chez les bovins suite à l'étude triplet	20 $\mu\text{g kg}^{-1}$ PF		
		valeur de gestion : 27 μg kg^{-1} MG dans le TAPR	valeur de gestion : 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MG dans le TAPR	
Arrêté du 23 mai 2019	Homogénéisation de la révision des LMR aux autres espèces	20 $\mu\text{g kg}^{-1}$ PF		
		valeur de gestion : 27 μg kg^{-1} MG dans le TAPR	valeur de gestion : 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MG dans le TAPR	valeur de gestion : 21 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MG dans le TAPR

LMR : Limite Maximale de Résidus ; PF : poids frais ; MG : matière grasse ; TAPR : tissu adipeux périrénal

Tableau 18: Résultats des plans de surveillance et plans de contrôle mis en place en 2019
(DGAL, communication personnelle)

		Guadeloupe			Martinique		
		n	% quantification	% NC	n	% quantification	% NC
Plan de surveillance	bovins	5	0	0	400	27	5
	ovins/caprins	32	0	0	90	10	0
	porcins	32	6	0	40	13	0
Plan de contrôle	bovins	1488	12	1	471	39	8
	ovins/caprins	1	0	0	-	-	-
	porcins	194	9	0	-	-	-

NC : non-conformité ; PS : plans de surveillance ; PC : plans de contrôle
Limite de quantification (LQ) = 3 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MG

PARTIE 1: Création d'un outil de gestion pour prédire la conformité des carcasses et calculer des temps de décontamination à partir de matrices de biomonitoring

Pour pouvoir mettre en place des stratégies de décontamination ou prédire la conformité d'une carcasse avant abattage, les concentrations de CLD dans le tissu adipeux périrénal (matrice de gestion) doivent être estimées à partir d'une matrice de biomonitoring. Les données tissulaires obtenues dans l'expérimentation B menée chez la brebis peuvent permettre de créer un outil d'aide à la décision pour produire de la viande ovine saine. Dans l'article 1 « Characterization of chlordecone distribution and elimination in ewes during daily exposure and depuration », des relations entre les concentrations de CLD dans les différents tissus ont été calculées à l'aide de modèles linéaires. Pour chaque corrélation, les intervalles de confiance à 95% ont également été calculés. Cependant, pour prédire des concentrations de CLD dans les tissus sur des animaux de terrain, l'intervalle de prédiction doit être calculé car l'utilisation de l'intervalle de confiance ne suffit pas. En effet, l'intervalle de confiance permet d'estimer l'incertitude liée à l'estimation des paramètres du modèle alors que l'intervalle de prédiction correspond à l'intervalle dans lequel une nouvelle observation individuelle pourrait se trouver avec une probabilité donnée. L'intervalle de prédiction est donc plus large que l'intervalle de confiance car l'incertitude liée à la prédiction d'une valeur individuelle est ajoutée.

L'objectif de cette partie est d'utiliser les données de l'expérimentation B et les intervalles de prédiction associés pour :

- (1) déterminer la concentration dans la matrice de gestion permettant d'obtenir une carcasse et/ou des abats conformes ;
- (2) identifier les matrices de biomonitoring pertinentes pour évaluer le niveau de contamination *ante-mortem* et prédire la conformité de la carcasse ;
- (3) estimer des temps d'attente pour obtenir une carcasse conforme en fonction d'un niveau de contamination initial associé à une probabilité donnée.

1. Détermination de la concentration de chlordécone dans la matrice de gestion permettant d'obtenir une carcasse et/ou des abats conformes

1.1. Méthode de traitement des données

1.1.1. Sélection des données expérimentales

Dans l'étude triplet menée chez le bovin en 2016, 97% des 200 animaux analysés ont présenté des concentrations dans le TAPR inférieures à $70 \mu\text{g kg}^{-1}$ MG (ANSES, 2018). L'animal le plus contaminé présente une concentration dans le TAPR de $125 \mu\text{g kg}^{-1}$ MG. Parmi les bovins non conformes des plans de contrôles réalisés en 2019, la concentration maximale observée est de $182 \mu\text{g kg}^{-1}$ MG en Guadeloupe et $252 \mu\text{g kg}^{-1}$ en Martinique (DGAL, communication personnelle). Sur le terrain, les concentrations au-dessus de $70 \mu\text{g kg}^{-1}$ MG existent mais sont donc peu communes.

L'expérimentation toxicocinétique de la CLD menée chez la brebis (expérimentation B) présentée dans la partie précédente a permis d'obtenir des cinétiques de concentrations tissulaires de CLD en contamination et en décontamination. Parmi les 6 lots d'abattage, les lots A, B et C présentent des concentrations tissulaires largement supérieures aux données observées sur le terrain avec des concentrations dans le TAPR supérieures à $271 \mu\text{g kg}^{-1}$ MG. Le tableau 19 décrit les concentrations tissulaires obtenues dans les lots D, E et F. La concentration maximale de CLD dans le TAPR obtenue est de $68 \mu\text{g kg}^{-1}$ MG. Les concentrations tissulaires des lots D, E et F sont donc très proches des concentrations obtenues chez le bovin suite à des contaminations environnementales car elles recouvrent environ 90% de l'amplitude des données obtenues sur le terrain. Seules les données des lots D, E et F ont donc été utilisées pour la construction de cet outil d'aide à la décision.

Tableau 19: Description des données obtenues sur les lots D, E et F dans l'expérimentation toxicocinétique menée chez la brebis

	Concentrations de CLD en $\mu\text{g kg}^{-1}$ PF ou en $\mu\text{g kg}^{-1}$ MG pour les tissus adipeux ; n=12						
	Foie	TAPR	TASC	Hampe	Long dorsal	Cœur	Sérum
Min	7	3	3	3	3	2	1,2
Max	255	68	60	33	24	69	10,7
Moyenne	124	35	34	15	13	31	5,8
Médiane	121	38	35	16	15	32	6,9
Ecart-type	94	26	21	10	8	22	3,4

MG : matière grasse ; PF : poids frais ; TAPR : tissu adipeux périrénal ; TASC : tissu adipeux sous-cutané

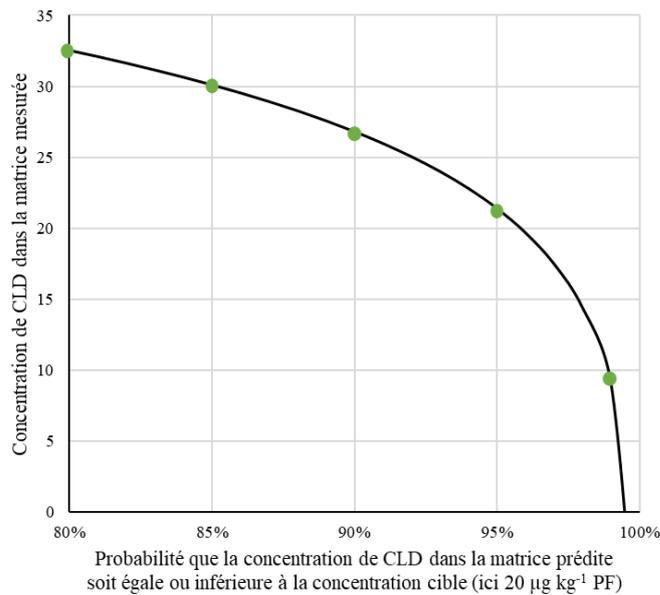
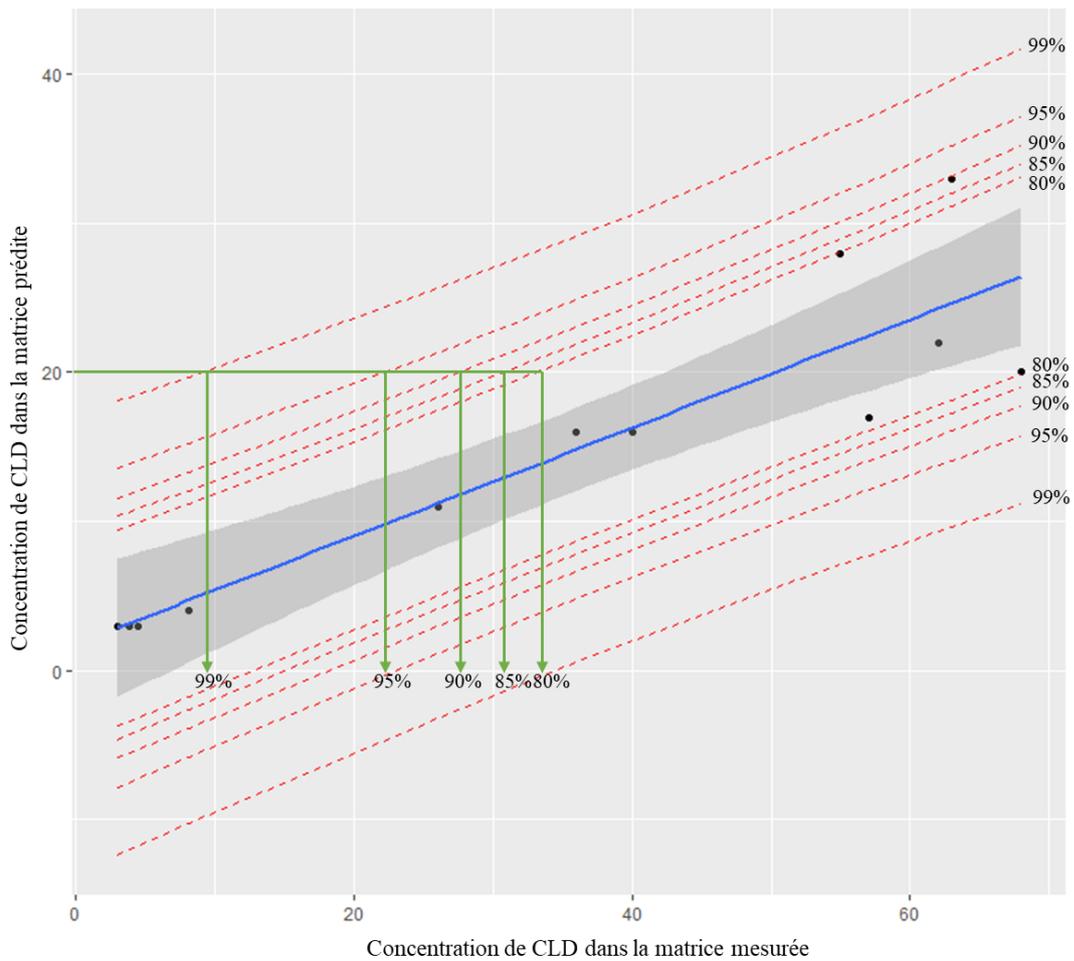


Figure 25: Illustration de la méthodologie mise en place pour estimer la concentration dans la matrice prédite en fonction de la probabilité d'obtenir une concentration inférieure ou égale à la concentration cible

1.1.2. Etablissement des relations entre les concentrations de chlordécone dans les différentes matrices et construction des intervalles de prédiction

Afin d'étudier les corrélations entre les concentrations de CLD dans les tissus, un modèle linéaire a été construit sur le logiciel R afin d'estimer les paramètres reliant les concentrations tissulaires 2 à 2 sur les lots D, E et F (n=12) et l'intervalle de confiance à 95% de ces paramètres. La construction du modèle linéaire (M2) est décrite précisément dans la partie 2.3.2. de l'article 1.

En utilisant la fonction predict() du logiciel R, des intervalles de prédiction ont été construits avec une fourchette de probabilité variant de 80% à 99,9 % sur la base du modèle linéaire M2. Le traitement des données s'est basé sur la méthode d'analyse présentée dans l'avis de l'Anses n°2018-SA-0265 relatif à la fixation d'une limite maximale de résidus de CLD dans les muscles et dans la graisse pour les denrées alimentaires (ANSES, 2019). La figure 25 illustre la méthodologie mise en place pour construire les graphiques de probabilité entre une matrice observée et une matrice prédite. Pour chaque corrélation 2 à 2, les équations de la borne supérieure des intervalles de prédictions ont été extraites pour chaque probabilité allant de 80% à 99,9% avec un pas de 1%. Ces équations ont permis de tracer l'évolution de la concentration de CLD dans le TAPR en fonction de la probabilité d'obtenir une concentration inférieure ou égale à 20 µg kg⁻¹ PF (concentration correspondant à la LMR) dans la hampe, le cœur et le foie. Ici la valeur de 20 µg kg⁻¹ PF dans la hampe, le cœur ou le foie correspond à la valeur de la matrice observée et la matrice prédite correspond au TAPR. Dans ces calculs, la hampe est considérée comme muscle de référence (muscle utilisé dans l'étude triplets bovins) afin de comparer plus facilement les résultats avec ceux obtenus chez le bovin et d'obtenir des résultats protecteurs car la hampe fait partie des muscles les plus contaminés (partie 2.2.2. du chapitre 2 / partie 1).

1.2. Résultats et discussion

1.2.1. Corrélations entre les concentrations de chlordécone dans le tissu adipeux périrénal et la hampe

La figure 26 présente la relation entre les concentrations de CLD dans le TAPR et la hampe. La relation établie est : $[\text{CLD}]_{\text{hampe}} = 0,363 [\text{CLD}]_{\text{TAPR}} + 1,786$.

Pour étudier l'effet de la probabilité choisie sur l'intervalle de prédiction, ce dernier a été construit pour des probabilités variant de 80% à 99,9%. La figure 27 présente la concentration de CLD dans le TAPR en fonction de la probabilité d'obtenir une concentration de CLD dans le muscle inférieure ou égale à 20 µg kg⁻¹ PF. La figure 27 montre que la LMR actuelle fixée dans le TAPR (20 µg kg⁻¹ MG) est associée à une probabilité de 96% d'obtenir une concentration de CLD dans le muscle inférieure ou égale à 20 µg kg⁻¹ PF. La LMR choisie chez l'espèce ovine est donc plutôt protectrice d'autant plus que l'Anses

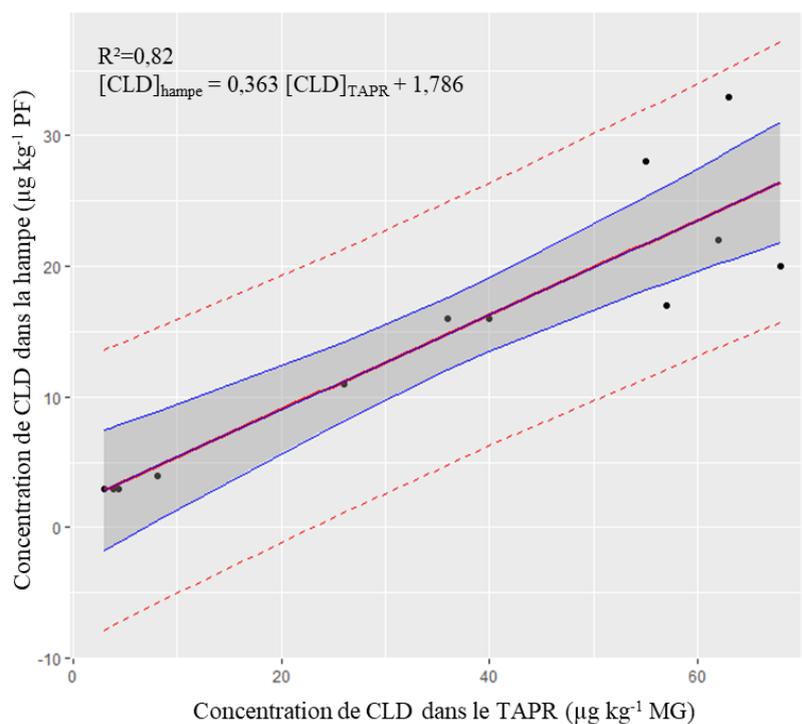


Figure 26: Relation entre les concentrations de chlordécone dans la hampe et dans le tissu adipeux périrénal

CLD : chlordécone ; TAPR : tissu adipeux périrénal ; PF : poids frais ; MG : matière grasse. La ligne bleue continue correspond à l'intervalle de confiance à 95% de la moyenne. La ligne pointillée rouge correspond à l'intervalle de prédiction à 95%.

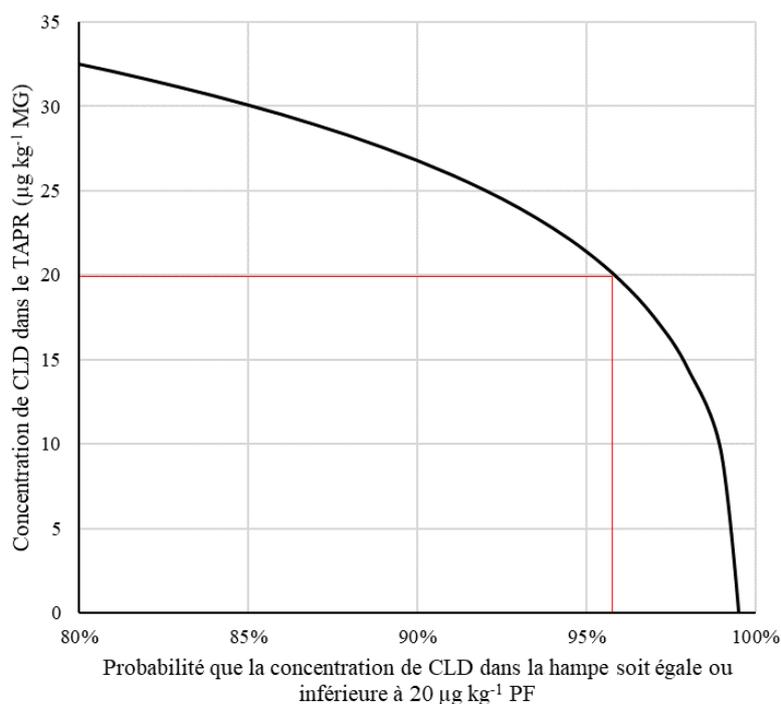


Figure 27: Relation entre la concentration de chlordécone dans le tissu adipeux périrénal et la probabilité d'obtenir une concentration de chlordécone dans la hampe inférieure ou égale à 20 µg kg⁻¹ PF

CLD : chlordécone ; TAPR : tissu adipeux périrénal ; PF : poids frais ; MG : matière grasse.

rappelle que les denrées qui contribuent majoritairement à l'exposition humaine sont issues des circuits informels non contrôlés.

1.2.2. Corrélations entre les concentrations de chlordécone dans le tissu adipeux périrénal et le foie

La figure 28 présente la relation entre les concentrations de CLD dans le TAPR et le foie. La relation établie est : $[\text{CLD}]_{\text{foie}} = 3,515 [\text{CLD}]_{\text{TAPR}} - 1,275$.

Le foie étant beaucoup plus contaminé que les muscles, la figure présentant l'évolution de la concentration de CLD dans le TAPR en fonction de la probabilité d'obtenir une concentration de CLD dans le foie inférieure ou égale à $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ PF n'a pas pu être construite. En effet, dès lors que la CLD est quantifiée dans le TAPR, le foie est déjà contaminé à plus de $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ PF. Dans la réglementation, dès que la CLD est quantifiée dans le TAPR, le foie est écarté de la carcasse. Ces résultats confirment que cette mesure est également pertinente chez l'ovine.

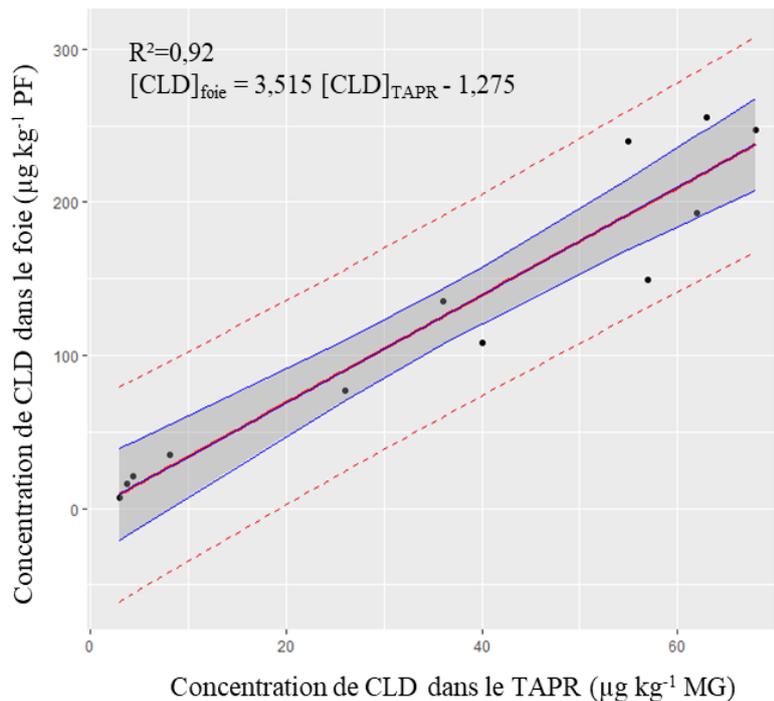


Figure 28: Relation entre les concentrations de chlordécone dans le foie et dans le tissu adipeux périrénal

CLD : chlordécone ; TAPR : tissu adipeux périrénal ; PF : poids frais ; MG : matière grasse. La ligne bleue continue correspond à l'intervalle de confiance à 95% de la moyenne. La ligne pointillée rouge correspond à l'intervalle de prédiction à 95%.

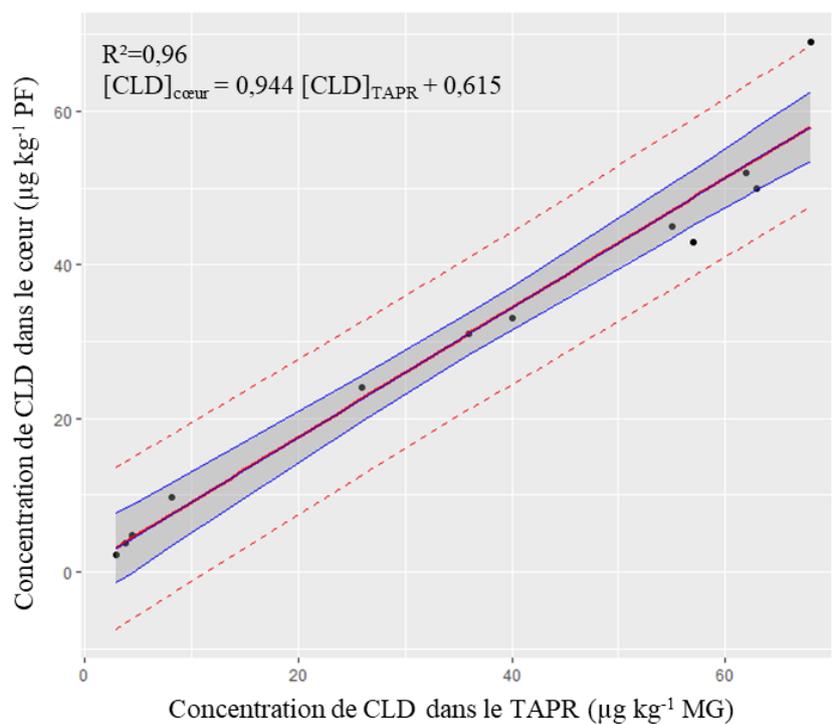


Figure 29: Relation entre les concentrations de chlordécone dans le cœur et dans le tissu adipeux périrénal

CLD : chlordécone ; TAPR : tissu adipeux périrénal ; PF : poids frais ; MG : matière grasse. La ligne bleue continue correspond à l'intervalle de confiance à 95% de la moyenne. La ligne pointillée rouge correspond à l'intervalle de prédiction à 95%.

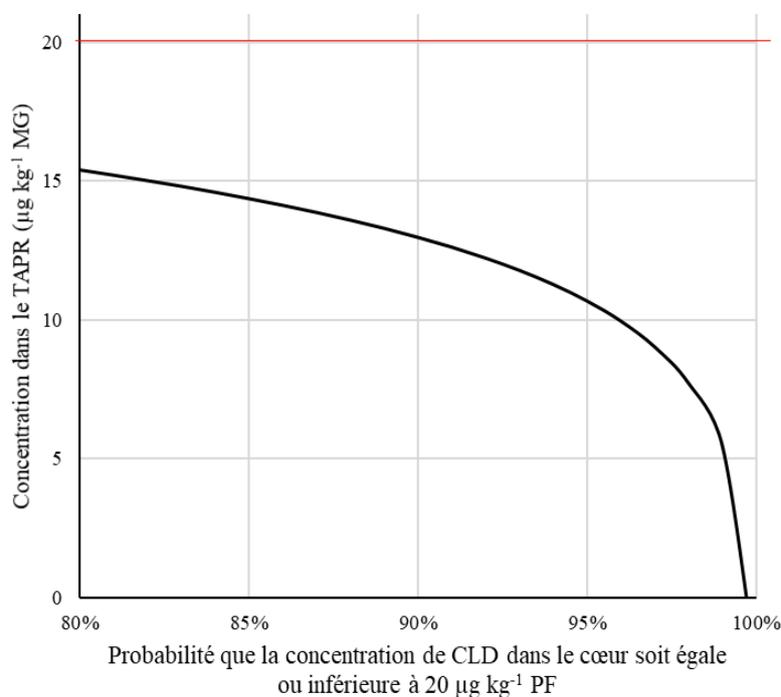


Figure 30: Relation entre la concentration de chlordécone dans le tissu adipeux périrénal et la probabilité d'obtenir une concentration de chlordécone dans le cœur inférieure ou égale à 20 µg kg⁻¹ PF

CLD : chlordécone ; TAPR : tissu adipeux périrénal ; PF : poids frais ; MG : matière grasse.

1.2.3. Corrélations entre les concentrations de chlordécone dans le tissu adipeux périrénal et le cœur

La figure 29 présente la relation entre les concentrations de CLD dans le TAPR et le cœur. La relation établie est : $[CLD]_{\text{cœur}} = 0,844 [CLD]_{\text{TAPR}} + 0,615$.

La figure 30 montre que la LMR actuelle fixée dans le TAPR ($20 \mu\text{g kg}^{-1}$ MG) ne permet pas d'obtenir une concentration de CLD dans le cœur inférieure ou égale à $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ PF en considérant une probabilité comprise entre 80% et 99,9%. Cela suggère que le cœur devrait être géré de la même façon que le foie. Dès lors que la CLD est quantifiée dans le TAPR d'une carcasse, le cœur devrait être écarté du circuit de commercialisation.

2. Identification des matrices de biomonitoring pertinentes

2.1. Méthode de traitement des données

Trois matrices de biomonitoring ont été explorées pour pouvoir prédire la concentration dans le TAPR : le sérum par prise de sang, le TASC par biopsie et les fèces par prélèvement rectal. De la même façon que dans la méthode présentée en 1.1.2., l'intervalle de prédiction a permis d'estimer les concentrations de CLD dans le sérum et le TASC en fonction de la probabilité d'obtenir une concentration de $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ PF dans le TAPR (concentration correspondant à la LMR).

Une corrélation directe entre les concentrations de CLD dans les fèces et le TAPR n'a pas pu être établie faute de données. Cependant, la corrélation entre les concentrations de CLD dans les fèces et le sérum est robuste et stable. Dans l'article 2 « Use of toxicokinetic parameters to quantify pollutant transfer from animals to the environment during depuration process – application to chlordecone in ewes », la relation établie entre les concentrations de CLD sérique et fécale en considérant la borne supérieure de l'intervalle de confiance à 95% est : $[CLD]_{\text{sérum}} = 0,36 [CLD]_{\text{fèces}}$. L'évolution de la concentration de CLD dans les fèces en fonction de la probabilité d'obtenir une concentration de CLD dans le TAPR inférieure à la LMR a ainsi pu être estimée à partir des intervalles de prédiction établis entre les concentrations de CLD dans le TAPR et le sérum en appliquant un ratio de 0,36.

2.2. Résultats et discussion

2.2.1. Le sang comme matrice de biomonitoring

La figure 31 présente la relation entre les concentrations de CLD dans le sérum et le TAPR. La relation établie est : $[CLD]_{\text{TAPR}} = 7,090 [CLD]_{\text{sérum}} - 5,622$.

La figure 32 présente l'évolution de la concentration de CLD dans le sérum en fonction de la probabilité d'obtenir une concentration de CLD dans le TAPR inférieure à la LMR. **En se plaçant à une probabilité de 95%, la valeur critique dans le sérum ($C_{\text{critique, sérum}}$) correspondant à la LMR dans le TAPR est de $0,66 \text{ ng g}^{-1}$.**

A partir d'une prise de sang sur un animal, le risque de non-conformité peut donc être calculé en utilisant les résultats de la figure 32. Si l'animal est considéré non conforme, l'éleveur pourra choisir s'il souhaite le décontaminer ou non.

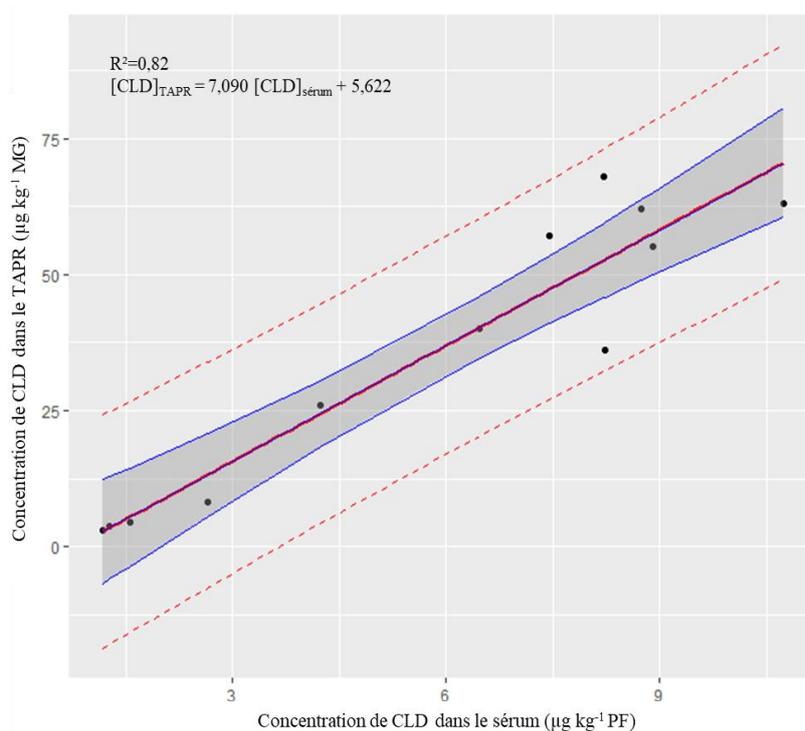


Figure 31: Relation entre les concentrations de chlordécone dans le tissu adipeux périrénal et dans le sérum

CLD : chlordécone ; TAPR : tissu adipeux périrénal ; PF : poids frais ; MG : matière grasse. La ligne bleue continue correspond à l'intervalle de confiance à 95% de la moyenne. La ligne pointillée rouge correspond à l'intervalle de prédiction à 95%.

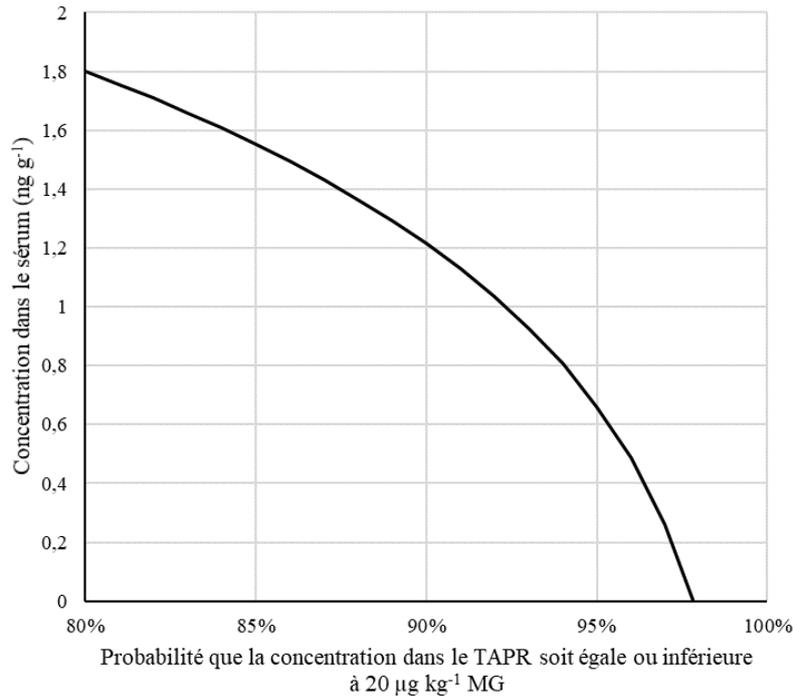


Figure 32: Relation entre la concentration de chlordécone dans le sérum et la probabilité d'obtenir une concentration de chlordécone dans le tissu adipeux périrénal inférieure ou égale à 20 µg kg⁻¹ MG

CLD : chlordécone ; TAPR : tissu adipeux périrénal ; PF : poids frais ; MG : matière grasse.

2.2.2. Le tissu adipeux sous-cutané comme matrice de biomonitoring

La figure 33 présente la relation entre les concentrations de CLD dans le TASC et le TAPR. La relation établie est : $[CLD]_{TAPR} = 1,174 [CLD]_{TASC} - 4,123$.

La figure 34 présente l'évolution de la concentration de CLD dans le TASC en fonction de la probabilité d'obtenir une concentration de CLD dans le TAPR inférieure à la LMR. **En se plaçant à une probabilité de 95%, la valeur critique dans le TASC ($C_{critique, TASC}$) correspondant à la LMR dans le TAPR est de 6,1 µg kg⁻¹ MG.**

Bien que le prélèvement du TASC soit plus invasif qu'un prélèvement de sang, le TASC prélevé par biopsie sur l'animal pourrait être utilisé pour prédire sa conformité avant abattage. En effet, la qualité de la modélisation entre les concentrations de CLD dans le TASC et le TAPR ($R^2=0,93$) est supérieure à celle reliant les concentrations de CLD dans le sérum et le TAPR ($R^2=0,82$).

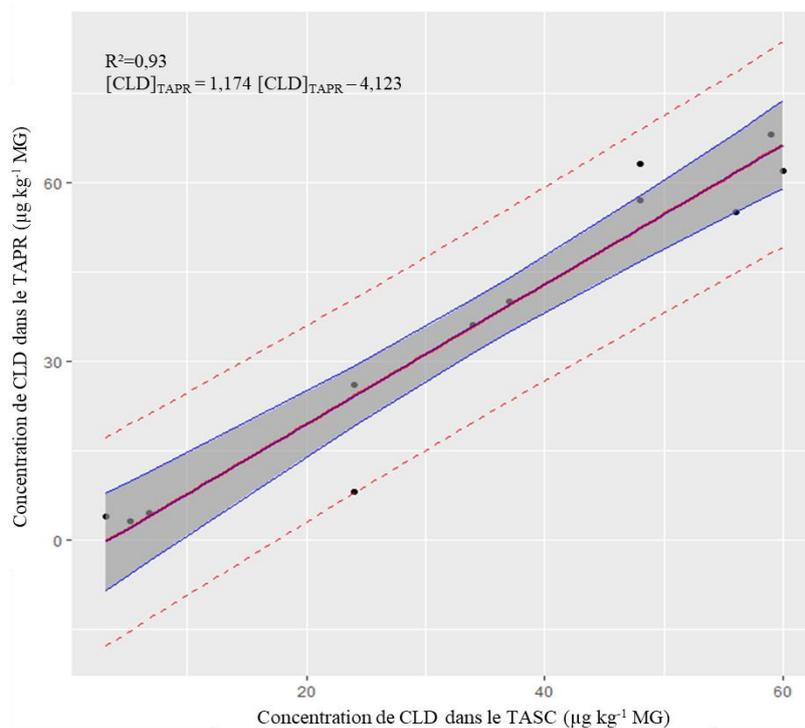


Figure 33: Relation entre les concentrations de chlordécone dans le tissu adipeux périrénal et dans le tissu adipeux sous-cutané

CLD : chlordécone ; TAPR : tissu adipeux périrénal ; PF : poids frais ; MG : matière grasse. La ligne bleue continue correspond à l'intervalle de confiance à 95% de la moyenne. La ligne pointillée rouge correspond à l'intervalle de prédiction à 95%.

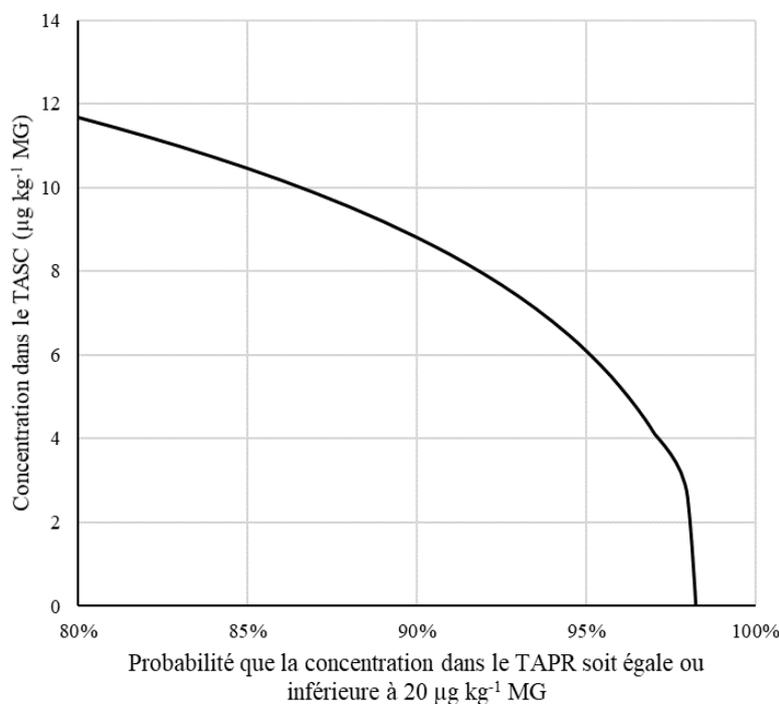


Figure 34: Relation entre la concentration de chlordécone dans le tissu adipeux sous-cutané et la probabilité d'obtenir une concentration de chlordécone dans le tissu adipeux périrénal inférieure ou égale à $20 \mu\text{g kg}^{-1} \text{MG}$

CLD : chlordécone ; TAPR : tissu adipeux périrénal ; TASC : tissu adipeux sous-cutané ; PF : poids frais ; MG : matière grasse.

2.2.3. Les fèces comme matrice de biomonitoring

La figure 35 présente l'évolution de la concentration de CLD dans les fèces (exprimées par MS) en fonction de la probabilité d'obtenir une concentration de CLD dans le TAPR inférieure à la LMR. **En se plaçant à une probabilité de 95%, la valeur critique dans les fèces ($C_{\text{critique, fèces}}$) correspondant à la LMR dans le TAPR est de $1,8 \mu\text{g kg}^{-1} \text{MS}$.**

Cette méthode est moins fiable que celle présentée pour les matrices sérum et TASC car ce graphique a été obtenu à partir des intervalles de prédiction établis entre les concentrations de CLD dans le TAPR et le sérum en appliquant un ratio de 0,36. Cependant, elle permet d'obtenir un ordre de grandeur des concentrations de CLD dans les fèces correspondant à une concentration inférieure ou égale à la LMR dans le TAPR pour une probabilité donnée.

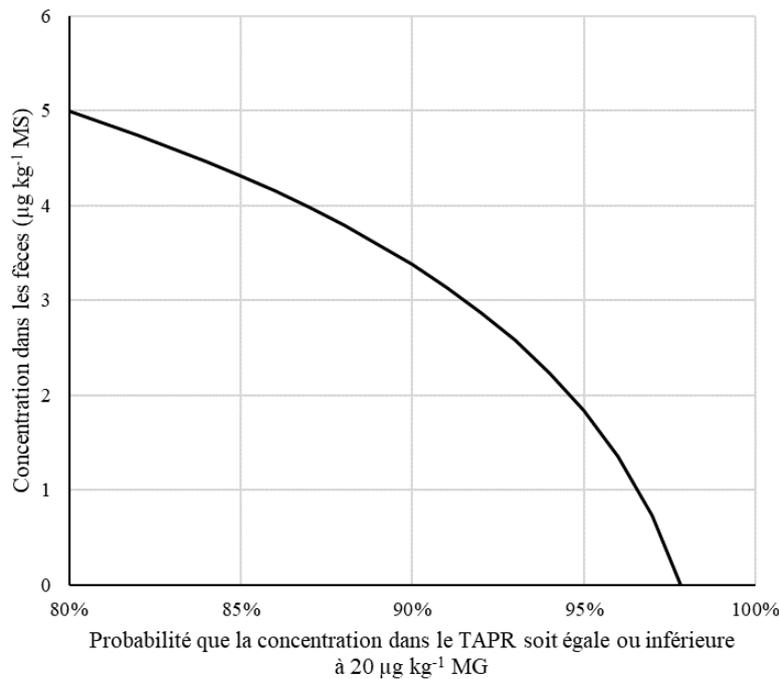


Figure 35: Relation entre la concentration de chlordécone dans les fèces et la probabilité d'obtenir une concentration de chlordécone dans le tissu adipeux périrénal inférieure ou égale à $20 \mu\text{g kg}^{-1} \text{MG}$

CLD : chlordécone ; TAPR : tissu adipeux périrénal ; MG : matière grasse ; MS : matière sèche.

2.2.4. Bilan : quelle matrice semble le meilleur compromis pour réaliser du biomonitoring ?

Les intervalles de prédiction permettent de prédire l'intervalle de concentrations de CLD dans les tissus d'un animal avec une probabilité donnée en connaissant la concentration de CLD dans une des matrices.

Tableau 20: Utilisation des intervalles de prédiction pour la création d'un outil de gestion pour prédire la conformité des carcasses

Objectif	Concentration de CLD dans :	80%	85%	90%	95%	99%	Concentration cible	Relation moyenne entre les deux matrices
DISCUSSION DE LA REGLEMENTATION	TAPR $\mu\text{g kg}^{-1}$ MG	32,5	30,1	26,8	21,4	9,07	Hampe $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ PF = LMR	$[\text{CLD}]_{\text{hampe}} = 0,363 [\text{CLD}]_{\text{TAPR}} + 1,786$
	TAPR $\mu\text{g kg}^{-1}$ MG	0*	0*	0*	0*	0*	Foie $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ PF = LMR	$[\text{CLD}]_{\text{foie}} = 3,515 [\text{CLD}]_{\text{TAPR}} - 1,275$
	TAPR $\mu\text{g kg}^{-1}$ MG	15,4	14,4	13,0	10,7	5,50	Coeur $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ PF = LMR	$[\text{CLD}]_{\text{coeur}} = 0,944 [\text{CLD}]_{\text{TAPR}} + 0,615$
BIOMONITORING	sérum $\mu\text{g kg}^{-1}$ PF	1,80	1,55	1,21	0,66	0*	TAPR $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ MG = LMR	$[\text{CLD}]_{\text{TAPR}} = 0,363 [\text{CLD}]_{\text{sérum}} + 1,786$
	TASC $\mu\text{g kg}^{-1}$ MG	11,7	10,4	8,80	6,09	0*	TAPR $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ MG = LMR	$[\text{CLD}]_{\text{TAPR}} = 1,174 [\text{CLD}]_{\text{TASC}} - 4,123$
	fèces $\mu\text{g kg}^{-1}$ MS	5,00	4,31	3,38	1,84	0*	TAPR $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ MG = LMR	

TAPR : tissu adipeux périrénal ; TASC : tissu adipeux sous-cutané ; MG : matière grasse ; PF : poids frais ; MS : matière sèche ; LMR : limite maximale de résidus

*valeur négative obtenue par le calcul

Le tableau 20 présente de façon synthétique les données principales présentées dans cette partie. Ce travail a permis d'identifier trois matrices potentielles de biomonitoring pour prédire la conformité d'une carcasse en fonction d'une probabilité associée : le sérum, le TASC ou les fèces. Cependant, pour sélectionner la matrice de biomonitoring la plus pertinente, plusieurs critères doivent être considérés : la qualité de la corrélation entre la matrice et le TAPR, la facilité et le coût du prélèvement, l'éthique, le coût et la précision analytique.

Le TASC est la matrice la mieux corrélée avec le TAPR ($R^2 = 0,93$). Cependant, elle nécessite un prélèvement plus invasif qu'une prise de sang ou un prélèvement de fèces car une biopsie est nécessaire. La facilité du prélèvement est également à prendre en compte. Les prélèvements de sang ou de TASC nécessitent du matériel spécifique, une contention de l'animal et un savoir-faire. Un prélèvement de fèces pourrait être moins invasif qu'un prélèvement de sang ou une biopsie de gras sous-cutané. Cependant, les fèces tombées au sol pourraient être souillées par le sol potentiellement contaminé. Pour obtenir un échantillon individuel et éviter des contaminations croisées, l'échantillon de fèces doit être prélevé directement au niveau du rectum. Ce prélèvement pourrait être réalisé simplement par l'éleveur équipé de gants et d'un contenant propre, mais il nécessiterait un minimum de contention.

Dans cette approche se basant sur les intervalles de prédiction, la précision et les critères de performances analytiques spécifiques à chaque matrice sont des critères de sélection importants pour sélectionner la meilleure matrice de biomonitoring. Le tableau 21 rappelle les limites de détection et de quantification (LD et LQ) de la CLD dans les différentes matrices de biomonitoring considérées et le tableau 22 présente les critères de performance analytique dans chacune des matrices étudiées.

Une concentration de $0,66 \text{ ng g}^{-1}$ dans le sérum ($C_{\text{critique, sérum}}$) permet d'obtenir une concentration de CLD dans le TAPR inférieure à la LMR avec une probabilité de 95% (tableau 20). Cette concentration dans le sérum est 11 fois supérieure à la LQ. Par ailleurs, l'incertitude moyenne du dosage de CLD dans le sérum est de $5,6\% \pm 0,7\%$ (Fourcot et al., 2020 ; Article 3). La précision analytique actuelle dans le sérum lui permet donc d'être une bonne matrice de biomonitoring.

Dans le TASC, une concentration de $6,1 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1} \text{ MG}$ ($C_{\text{critique, TASC}}$) permet d'obtenir une concentration de CLD dans le TAPR inférieure à la LMR avec une probabilité de 95% (tableau 20). Cette concentration est 2 fois supérieure à la LQ. Actuellement, la LQ dans le tissu adipeux n'est donc pas assez basse pour pouvoir réaliser du biomonitoring finement à partir du TASC. Par ailleurs, l'incertitude moyenne considérée est de 20% (ANSES, 2015).

Dans les fèces, une concentration de $1,8 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1} \text{ MS}$ ($C_{\text{critique, fèces}}$) permet d'obtenir une concentration de CLD dans le TAPR inférieure à la LMR avec une probabilité de 95% (tableau 20). Cette concentration est largement inférieure à la LQ qui est de $8,6 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1} \text{ MS}$. Les limites analytiques dans les fèces ne permettent donc actuellement pas d'utiliser les fèces comme matrice de biomonitoring.

Tableau 21: Limites de détection et de quantification de la chlordécone dans le sérum, le tissu adipeux et les fèces

Matrice	LD	LQ
sérum (méthode LEAE-CART ; Fourcot et al., 2020)	0,02 ng g ⁻¹	0,06 ng g ⁻¹
sérum (méthode ANSES PBM Pest LSA-INS-1233)	0,017 ng g ⁻¹	0,050 ng g ⁻¹
tissu adipeux (méthode ANSES PBM Pest LSA-INS-0164 v5)	2,0 µg kg ⁻¹	3,0 µg kg ⁻¹
fèces (méthode ANSES ; Saint-Hilaire et al., 2018)	-	3,2 µg kg ⁻¹ MF soit 8,6 µg kg ⁻¹ MS*

*en considérant que le pourcentage de matière sèche dans les fèces est de 37 % ; MF : matière fraîche ; MS : matière sèche

Tableau 22: Critères de performance analytique dans le sérum, le tissu adipeux et les fèces

Matrice	Critères de performances					Incertitude
	concentration	0,1 ng g ⁻¹	5 ng g ⁻¹	10 ng g ⁻¹		
sérum (méthode LEAE-CART ; Fourcot et al., 2020)	concentration	0,1 ng g ⁻¹	5 ng g ⁻¹	10 ng g ⁻¹		5,61 ± 0,7 %
	profil d'exactitude	87,0 ± 2,3 %	99,0 ± 4,2 %	97,4 ± 4,3 %		
sérum (méthode ANSES PBM Pest LSA-INS-1233)	concentration	0,050 ng g ⁻¹	0,51 ng g ⁻¹	5,2 ng g ⁻¹	10,2 ng g ⁻¹	15 %
	%Cvr répétabilité	4,2 %	4,5 %	1,6 %	0,65 %	
	%Cvfi fidélité	6,3 %	4,7 %	2,5 %	3,0 %	
	incertitude élargie relative	14 %	10 %	5,6 %	6,8 %	
tissu adipeux (méthode ANSES PBM Pest LSA-INS-0164 v5)	concentration	3,3 µg kg ⁻¹ MG	10,8 µg kg ⁻¹ MG	104,1 µg kg ⁻¹ MG	499,3 µg kg ⁻¹ MG	20 %
	%Cvr répétabilité	2,1 %	1,2 %	2,6 %	2,5 %	
	%Cvfi fidélité	2,5 %	2,8 %	5,8 %	8,1 %	
	incertitude élargie relative	5,0 %	5,5 %	11,7 %	16,2 %	
fèces (méthode ANSES ; Saint- Hilaire et al., 2018)	concentration	3,2 µg kg ⁻¹ MF soit 8,6 µg kg ⁻¹ MS*	9,5 µg kg ⁻¹ MF soit 25,7 µg kg ⁻¹ MS*	317 µg kg ⁻¹ MF soit 856,7 µg kg ⁻¹ MS*	1272 µg kg ⁻¹ MF soit 3437,8 µg kg ⁻¹ MS*	8 %
	%Cvr répétabilité	0,5 %	0,8 %	1,5 %	1,4 %	
	%Cvfi fidélité	3,6 %	3,2 %	2,8 %	2,8 %	

*en considérant que le pourcentage de matière sèche dans les fèces est de 37% ; MF : matière fraîche ; MS : matière sèche %Cvr : coefficient de variation de la répétabilité ; %Cvfi : coefficient de variation de la fidélité ; MF : matière fraîche ; MS : matière sèche

Bien que le TASC présente une corrélation très robuste avec le TAPR et que les fèces soient une matrice facile à prélever, les LQ dans ces matrices doivent être diminuées pour pouvoir réaliser du biomonitoring. Actuellement, seule la matrice sérique peut donc permettre un biomonitoring fin pour prédire la conformité d'une carcasse. Si un animal est considéré non conforme, le temps de décontamination nécessaire pour obtenir une carcasse conforme peut être estimé. Les calculs des temps d'attente sont présentés dans la partie suivante en utilisant le sérum comme matrice de biomonitoring.

2.3. Application de la méthode de prédiction chez le bovin

Actuellement, la filière bovine est la filière animale qui a le plus besoin d'outils d'aide à la décision pour produire de la viande saine. Les plans de surveillance et de contrôle de 2019 reflètent d'ailleurs la priorité donnée à la filière bovine (communication personnelle, DGAL). Dans le cadre des plans de surveillance, 405 analyses ont été réalisées sur des bovins dans le cadre des plans de surveillance contre 122 sur des petits ruminants. Dans les plans de contrôle, 1959 analyses ont été réalisées sur des bovins contre 1 sur des petits ruminants. Cette priorité attribuée à la filière bovine est liée au nombre de quantification ou de non-conformités observés. Parmi les 405 bovins contrôlés dans les plans de surveillance, la CLD a été quantifiée sur 107 animaux (soit 26%) et 19 animaux ont été classés non conformes (soit 5%) alors que pour les petits ruminants, la CLD a été quantifiée chez 7% des animaux analysés et aucun n'a été classé non conforme. Dans les plans de contrôle, parmi les 1959 contrôles réalisés sur bovins, la CLD a été quantifiée chez 18% des animaux et 3% des animaux ont été classés non conformes. La CLD n'a pas été détectée chez le petit ruminant analysé.

L'outil d'aide à la décision pour prédire la conformité d'une carcasse peut d'ores et déjà être appliqué au bovin adulte. En effet, sur les 200 triplets bovins prélevés en 2016 (Saisine n°2018-SA-0202 ; ANSES, 2018), 121 ont été complétés par des prélèvements de sérum provenant des mêmes animaux. La méthode présentée dans cette partie utilisant les intervalles de prédiction pour prédire la concentration dans le TAPR à partir du sérum, a été appliquée sur ces données. Parmi les 121 quadruplets, seuls les animaux considérés adultes (soit plus de 24 mois) ont été sélectionnés pour l'analyse. Les animaux dont l'âge était inconnu ou inférieur à 24 mois ou dont les concentrations tissulaires étaient inférieures à la LQ ont été écartés de l'étude. Un bovin atypique présentant des concentrations très élevées ($172 \mu\text{g kg}^{-1}$ MG dans le TAPR) a également été écarté. Au total, 31 animaux ont été conservés.

La relation établie entre les concentrations de CLD dans le sérum et le TAPR est : $[\text{CLD}]_{\text{TAPR}} = 4,9846 [\text{CLD}]_{\text{sérum}} + 2,8431$.

Depuis le 25 janvier 2019, la LMR dans la graisse périrénale est fixée à $27 \mu\text{g kg}^{-1}$ MG pour les bovins. La figure 36 présente l'évolution de la concentration de CLD dans le sérum en fonction de la probabilité

d'obtenir une concentration de CLD dans le TAPR inférieure à la LMR. **En se plaçant à une probabilité de 95%, la valeur critique dans le sérum correspondant à la LMR dans le TAPR est de 2,6 ng g⁻¹.**

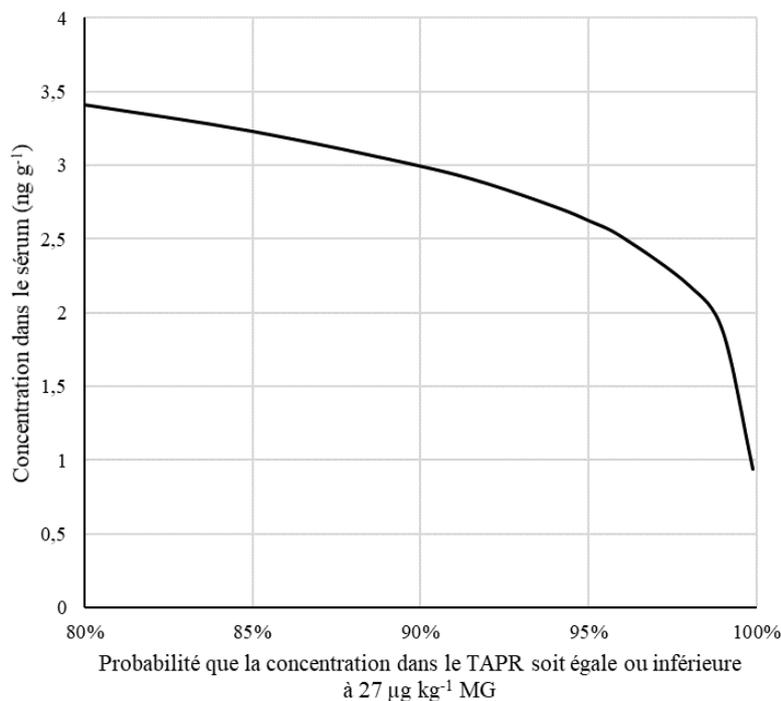


Figure 36: Relation entre la concentration de chlordécone dans le sérum et la probabilité d'obtenir une concentration de chlordécone dans le tissu adipeux périrénal inférieure ou égale à 27 µg kg⁻¹ MG

CLD : chlordécone ; TAPR : tissu adipeux périrénal ; MG : matière grasse.

3. Utilisation des intervalles de prédiction pour estimer des temps de décontamination associés à une probabilité pour obtenir une carcasse conforme

3.1. Méthode de traitement des données

3.1.1. Estimation de la concentration initiale dans le tissu adipeux périrénal à partir d'un échantillon de sérum

Les concentrations de CLD initiales dans le TAPR correspondant à des concentrations sériques initiales ont été calculées en utilisant l'intervalle de prédiction associé à une probabilité. Les calculs ont été réalisés pour plusieurs concentrations sériques initiales comprises entre 2 et 16 ng g⁻¹ avec un pas de 2 ng g⁻¹ et pour des probabilités variant entre 80 et 99%. Ces concentrations sériques correspondent à des niveaux de contamination observés sur le terrain (ANSES, 2018). Des calculs de temps d'attente pour obtenir une carcasse conforme ont ensuite été réalisés pour chaque concentration initiale.

3.1.2. Calcul du temps d'attente pour obtenir une carcasse conforme

Le temps d'attente (T) pour obtenir des concentrations tissulaires inférieures à la LMR a été calculé en utilisant la constante d'élimination de la CLD dans le sérum suivant l'équation (1) :

$$T = - (1/k_{elim}) \times \ln(LMR / C_{init, TAPR}) \quad (1)$$

Avec : k_{elim} la constante d'élimination de la CLD sérique obtenue chez la brebis ($k_{elim} = 0,029$; Saint-Hilaire et al., 2019) ; LMR : limite maximale de résidus ($LMR = 20 \mu\text{g kg}^{-1} \text{MG}$) ; $C_{init, TAPR}$: concentration initiale de CLD dans le TAPR.

La constante d'élimination de la CLD dans le sérum est utilisée dans ce calcul car elle a été estimée plus finement dans le sérum que dans le TAPR suite à une *i.v.* de CLD menée chez la brebis (Saint-Hilaire et al., 2019) et que le temps de demi-vie de la CLD n'est pas significativement différent entre le TAPR et le sérum (Article 1). Cette équation a été appliquée à chaque concentration initiale dans le TAPR correspondant aux concentrations sériques associées à une probabilité donnée.

3.2. Résultats

L'outil présenté dans la partie précédente permet à partir d'une prise de sang et d'un dosage de CLD dans le sérum d'estimer la concentration correspondante dans le TAPR en fonction d'une probabilité. Cet outil peut permettre de valider la conformité d'une carcasse si la concentration dans le TAPR est inférieure à la LMR, sinon, des temps d'attente peuvent être estimés à partir de la concentration initiale dans le TAPR et la constante d'élimination de la CLD dans le sérum. Le tableau 23 présente (1) les concentrations dans le TAPR correspondant à des concentrations de CLD dans le sérum comprises entre 2 et 16 ng g^{-1} en fonction de la probabilité considérée et (2) les temps d'attente (T, en j) correspondants pour obtenir une concentration dans le TAPR inférieur à la LMR (soit 20 $\mu\text{g kg}^{-1} \text{MG}$). Ce tableau pourra donner des éléments de décision pour les éleveurs et acteurs locaux. Par exemple, s'ils estiment que pour des raisons économiques ou de viabilité, le temps de décontamination ne doit pas être supérieur à 30 j, l'animal ne doit pas présenter une concentration sérique supérieure à 4 ng g^{-1} correspondant à une concentration de 43,5 $\mu\text{g kg}^{-1} \text{MG}$ dans le TAPR. Ou bien, s'ils estiment que le temps de décontamination ne doit pas être supérieur à 60 j, l'animal ne doit pas présenter une concentration dans le sérum supérieure à 14 ng g^{-1} correspondant à une concentration de 114 $\mu\text{g kg}^{-1} \text{MG}$ dans le TAPR.

Ces simulations de temps d'attente pourront être utiles pour assurer la conformité des carcasses à l'abattage et ainsi produire de la viande saine. Le domaine de prédiction du modèle étant valable jusqu'à 10 ng g^{-1} dans le sérum, les prédictions ne sont peut-être pas très fiables pour des concentrations supérieures. Cependant, comme l'a montré l'analyse des données triplets bovins, la majorité des cas de contamination environnementale devraient être dans le domaine de validité de prédiction. Par ailleurs,

dans les PSPC 2019, parmi les 15 bovins non-conformes, uniquement 3 bovins (soit moins de 2% des bovins où la CLD a été quantifiée) ont présenté des concentrations dans le TAPR supérieures à 70 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MG (80 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MG ; 95 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MG et 182 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MG ; DGAL, communication personnelle). Le domaine de validité du modèle devrait donc permettre de réaliser du biomonitoring sur la majorité des animaux contaminés. L'ensemble de ces résultats devront être validés sur un lot d'animaux contaminés environnementalement.

Dans une démarche « zéro CLD », les mêmes calculs ont été réalisés en utilisant comme valeur cible la LQ à 3,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MG dans le TAPR (tableau 24). Pour pouvoir atteindre la LQ même à des teneurs initiales faibles, les temps d'attente sont très longs et pas forcément compatibles avec la durée d'élevage des ovins. Dans le cadre d'une filière « zéro CLD », l'exposition des animaux doit donc être maîtrisée et limitée au maximum pour ne pas avoir à les décontaminer car cela prendrait trop de temps.

Tableau 23: Estimation des concentrations initiales dans le tissu adipeux périrénal et des temps d'attente nécessaires pour obtenir une carcasse conforme à partir d'une prise de sang

$C_{init, \text{sérum}}$	2		4		6		8		10		12		14		16	
probabilité	$C_{init, TAPR}$	T														
80%	21,4	2	35,5	20	49,6	31	63,8	40	77,9	47	92,0	53	106,1	58	120,2	62
85%	23,2	5	37,3	21	51,4	33	65,5	41	79,6	48	93,7	53	107,8	58	121,9	62
90%	25,5	8	39,6	24	53,7	34	67,8	42	81,9	49	96,0	54	110,1	59	124,2	63
95%	29,4	13	43,5	27	57,6	36	71,7	44	85,8	50	99,8	55	113,9	60	128,0	64
99%	38,2	22	52,3	33	66,3	41	80,4	48	94,4	54	108,4	58	122,5	62	136,5	66

$C_{init, \text{sérum}}$: concentration de CLD initiale dans le sérum (en ng g^{-1}) ; $C_{init, TAPR}$: concentration de CLD initiale dans le tissu adipeux périrénal (en $\mu\text{g kg}^{-1} \text{MG}$) ;
T : temps d'attente (en j)

Tableau 24: Estimation des concentrations initiales dans le tissu adipeux périrénal et des temps d'attente nécessaires pour obtenir une carcasse présentant des teneurs de chlordécone dans le tissu adipeux périrénal inférieures à la limite de quantification (soit $3,0 \mu\text{g kg}^{-1} \text{MG}$)

$C_{init, \text{sérum}}$	2		4		6		8		10		12		14		16	
probabilité	$C_{init, TAPR}$	T	$C_{init, TAPR}$	T	$C_{init, TAPR}$	T	$C_{init, TAPR}$	T	$C_{init, TAPR}$	T	$C_{init, TAPR}$	T	$C_{init, TAPR}$	T	$C_{init, TAPR}$	T
80%	21,4	68	35,5	85	49,6	97	63,8	105	77,9	112	92,0	118	106,1	123	120,2	127
85%	23,2	70	37,3	87	51,4	98	65,5	106	79,6	113	93,7	119	107,8	124	121,9	128
90%	25,5	74	39,6	89	53,7	99	67,8	108	81,9	114	96,0	120	110,1	124	124,2	128
95%	29,4	79	43,5	92	57,6	102	71,7	109	85,8	116	99,8	121	113,9	125	128,0	129
99%	38,2	88	52,3	99	66,3	107	80,4	113	94,4	119	108,4	124	122,5	128	136,5	132

$C_{init, \text{sérum}}$: concentration de CLD initiale dans le sérum (en ng g^{-1}) ; $C_{init, TAPR}$: concentration de CLD initiale dans le tissu adipeux périrénal (en $\mu\text{g kg}^{-1} \text{MG}$) ;
T : temps d'attente (en j)

L'utilisation des intervalles de prédiction a permis de :

(1) déterminer la concentration dans la matrice de gestion permettant d'obtenir une carcasse et/ou des abats conformes. Cette étude a montré que la LMR actuelle fixée dans le TAPR est associée à une probabilité de 96% d'obtenir une concentration de CLD dans le muscle inférieure ou égale à $20 \mu\text{g kg}^{-1}$ PF. Ces résultats ont confirmé que la pertinence de la mesure réglementaire d'écartement du foie dès que la CLD est quantifiée dans le TAPR. Les résultats ont également montré que le cœur devrait être géré de la même façon que le foie.

(2) identifier les matrices de biomonitoring pertinentes pour évaluer le niveau de contamination ante-mortem et prédire la conformité de la carcasse. Actuellement, le sérum est la seule matrice de biomonitoring utilisable sur le terrain. D'autres matrices de biomonitoring comme le TASC et les fèces ont été étudiées mais les limites analytiques actuelles dans ces matrices ne permettent pas de les utiliser sur le terrain. Le tableau 25 résume les avantages et inconvénients de chaque matrice de biomonitoring étudiée.

Tableau 25: Avantages et inconvénients de chaque matrice de biomonitoring

	sérum	TASC	fèces
Qualité corrélation	+	++	+
Facilité de prélèvement	+	-	++
Ethique	+	-	+
Précision analytique	++	-	--
	$C_{\text{critique, sérum}} = 10 \times \text{LQ}$	$C_{\text{critique, TASC}} = 2 \times \text{LQ}$	$C_{\text{critique, fèces}} < \text{LQ}$

TASC : tissu adipeux sous-cutané ; LMR : limite maximale de résidus ; LQ : limite de quantification

$C_{\text{critique, sérum}}$, $C_{\text{critique, TAPR}}$, $C_{\text{critique, fèces}}$: concentrations critiques dans le sérum, le TASC et les fèces correspondant à la LMR dans la matrice de gestion en se plaçant à une probabilité de 95%.

(3) estimer des temps d'attente pour obtenir une carcasse conforme en fonction d'un niveau de contamination initial associé à une probabilité donnée. Un outil d'aide à la décision a été créé afin d'estimer la concentration initiale dans le TAPR à partir d'une prise de sang puis de calculer des temps d'attente pour obtenir une carcasse conforme. Les temps d'attente obtenus semblent compatibles avec les durées d'élevage des ovins aux Antilles. Ces résultats devront être validés avec des données extérieures provenant d'animaux contaminés environnementalement. L'outil d'aide à la décision proposé apportera des éléments nécessaires aux acteurs locaux pour décider de l'acceptabilité sociale et économique des stratégies de décontamination en fonction du risque de non-conformité choisi.

PARTIE 2: Modélisation pharmacocinétique à base physiologique de la chlordécone chez la brebis

Un modèle compartimental de la CLD a récemment été développé chez la brebis (Saint-Hilaire et al., 2019), cependant il n'intègre pas d'approche mécanistique basée sur la physiologie. L'objectif de cette partie de thèse est de présenter un modèle PBPK de la CLD chez la brebis pour simuler l'absorption, la distribution, le métabolisme et l'élimination de la CLD dans l'organisme. La brebis adulte non lactante et non gestante a été choisie comme espèce cible de la modélisation PBPK en raison de sa facilité d'expérimentation et de la richesse des données expérimentales disponibles.

1. Animaux et expérimentations *in vivo* réalisées

Les résultats de l'expérimentation B menée chez la brebis (chapitre 2 / partie 1 ; Article 1) ont été utilisés pour construire le modèle. Pour rappel, 24 brebis (*Ovis aries*) adultes non lactantes et non gestantes ont été utilisées. L'expérimentation a consisté en une période d'exposition de 90 j via un aliment contaminé à 0,01 mg CLD kg⁻¹ PV j⁻¹ suivie d'une période de 127 j de décontamination. Les brebis ont été réparties en 6 lots de 4 animaux abattus successivement après 21, 50, 90 j d'exposition et après 40, 80 et 127 j de décontamination. Les cinétiques sérique et fécale de la CLD ont été suivies sur le lot F abattu après 127 j de décontamination (n=4). Les concentrations sériques et fécales obtenues sur le lot F ainsi que les concentrations tissulaires obtenues dans le sérum, le foie, la hampe, le muscle long dorsal et le TAPR lors des abattages ont été utilisées pour l'ajustement du modèle.

2. Développement du modèle PBPK

2.1. Structure du modèle

La figure 37 fournit une représentation schématique du modèle développé. Ce modèle est composé de 3 compartiments de distribution (foie, muscle, tissu adipeux), deux compartiments sanguins (veineux et artériel) et deux compartiments d'élimination (métabolisme et fèces). Le reste de l'organisme est agrégé sous un seul et même compartiment nommé « rest of the body ». Les tissus principaux consommés (foie, muscle et tissu adipeux) ont été inclus pour des applications liées à la sécurité alimentaire. Le muscle est le principal élément consommé sur la carcasse et doit respecter la LMR de 20 µg kg⁻¹ PF. Le foie est le site majeur de métabolisme de la CLD et de son excrétion vers la bile. Il est aussi le tissu présentant

les concentrations les plus élevées en CLD. Le TAPR correspond au tissu prélevé en abattoir dans le cadre des PSPC pour évaluer la conformité des carcasses. Les compartiments sanguins permettent de décrire la circulation générale de la CLD dans l'organisme et le compartiment « rest of the body » permet de réaliser le bilan de masse. Chaque compartiment est défini par un volume physiologique et une irrigation sanguine. Dans ce modèle, la distribution est limitée par la perfusion car le poids moléculaire de la CLD est relativement faible et qu'elle est transportée rapidement à travers les membranes par diffusion passive.

Le logiciel Berkeley Madonna (version 10.1.3.) a été utilisé pour développer le modèle et réaliser l'ensemble des simulations.

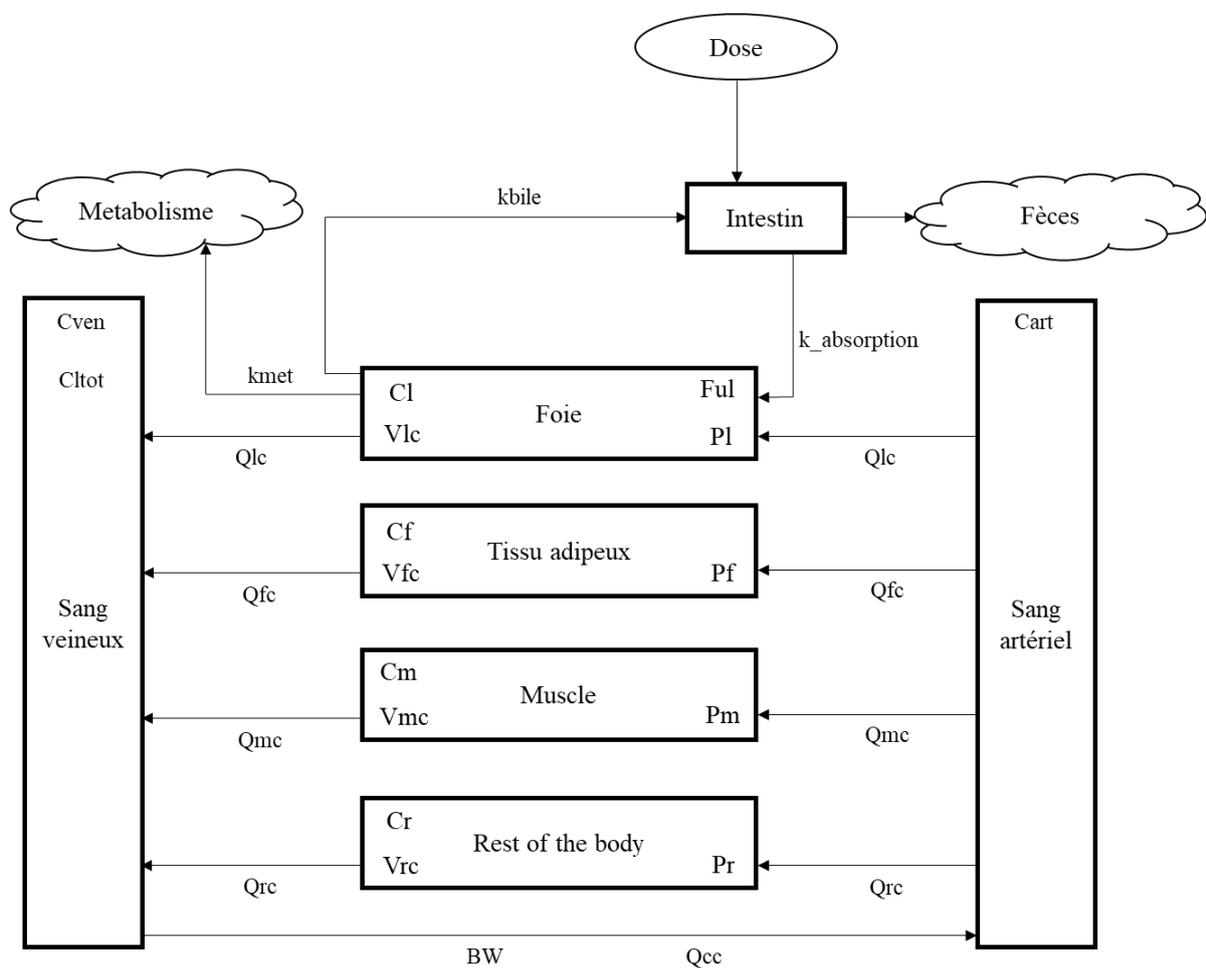


Figure 37: Représentation schématique du modèle PBPK de la chlordécone chez la brebis après une administration orale via un aliment contaminé
(se référer aux tableaux 26, 27 et 29 pour les abréviations des paramètres)

2.2. Paramétrisation et mise en équation des mécanismes de transfert

2.2.1. Paramètres physiologiques

Lautz et al. (2020) ont réalisé une synthèse bibliographique et des méta-analyses sur les paramètres physiologiques (poids des tissus et organes et les flux sanguins) provenant de 48 publications sur ovins. Les paramètres physiologiques comme les volumes des compartiments et les débits sanguins sont définis comme des fractions du poids total et du débit cardiaque. Les valeurs des paramètres et la variabilité associée présentées fournissent des valeurs de référence qui ont été utilisées pour construire le modèle PBPK.

La CLD étant dosée dans le sérum, le modèle construit s'est basé sur un flux de sérum dans l'organisme. Le sérum représentant environ 55% du volume du sang total (Gay et al., 2000), 55% du débit sanguin total et du volume sanguin présentés par Lautz et al. (2020) ont été considérés dans le modèle.

Tableau 26: Paramètres physiologiques fixés dans le modèle PBPK

Paramètre	Unité	Valeur	Abréviation
Poids vif ^a	kg	61,8	BW
Débit cardiaque ^b (base sérum)	mL j ⁻¹ kg ⁻¹	5069*	Qc
Volume du compartiment (fraction du BW)			
foie ^b	sans unité	0,015	Vlc
tissu adipeux ^b	sans unité	0,192	Vfc
muscle ^b	sans unité	0,353	Vmc
rest of the body ^c	sans unité	0,44	Vrc
Débit sanguin (fraction du Qc)			
foie ^b	sans unité	0,411	Qlc
tissu adipeux ^b	sans unité	0,023	Qfc
muscle ^b	sans unité	0,332	Qmc
rest of the body ^c	sans unité	0,234	Qrc

^a déterminé expérimentalement ; ^b d'après Lautz et al. (2020) ; ^c calculé en soustrayant les fractions des autres compartiments; * 55% du débit sanguin total présenté par Lautz et al., (2020)

2.2.2. Exposition et absorption

Ingestion. Dans le modèle actuel, 6 matrices peuvent être définies pour décrire la ration de l'animal et les différentes sources de contamination. Chaque matrice x ingérée (sol, fourrage, concentré, co-produits de culture...) est définie par une quantité ingérée par jour (matrix_amount_ingestedx, en kg j⁻¹), une matière sèche (matrix_DMx, en %), une digestibilité (matrix_digestibilityx, sans unité), un temps initial d'exposition (ti_expo_x, en j), une durée d'exposition (d_expo_x, en j), une concentration de CLD (matrix_concentrationx, en µg kg⁻¹ MS) et une bioaccessibilité (k_matrix_bioaccessx, sans unité). Le fait d'intégrer un temps initial et une durée d'exposition pour chaque matrice permet de modéliser des expositions simultanées ou décalées dans le temps. Une exposition simultanée peut correspondre par exemple à une contamination par le sol et par un aliment contaminé. Une exposition décalée dans le

temps peut correspondre par exemple à une première exposition sur une parcelle fortement contaminée puis à une exposition plus faible suite à un déplacement de l'animal sur une parcelle plus faiblement contaminée. L'intérêt d'intégrer une quantité, un pourcentage de matière sèche et une digestibilité pour chacune des matrices ingérées est de calculer une quantité de fèces excrétée par jour et ainsi de pouvoir calculer une concentration de CLD dans les fèces au cours du temps.

Bioaccessibilité dans l'intestin. La définition de la concentration de CLD et sa bioaccessibilité dans chaque matrice x ingérée ($k_{\text{matrix_bioaccessx}}$) permet à partir de la quantité de matrice ingérée de calculer la quantité bioaccessible de CLD qui arrive dans l'intestin. Ce module d'exposition détaillé a été intégré en amont du modèle PBPK pour anticiper l'intégration de données d'exposition comme l'ingestion de sol et le piégeage de CLD qui modifierait sa biodisponibilité. Les études de biodisponibilité relative de la CLD ont montré que cette dernière est presque intégralement libérée des constituants du sol dans la lumière intestinale (Bouveret et al., 2013 ; Jondreville et al., 2013 ; Jurjanz et al., 2014). La bioaccessibilité de la CLD a été fixée à 0,90 pour l'aliment contaminé.

Un compartiment « intestin » a été intégré au modèle car le cycle entéro-hépatique est reconnu pour la CLD (Boylan et al., 1979 ; Cohn et al., 1978). Il permet de différencier la CLD ingérée, la CLD absorbée après son ingestion, la CLD qui retourne dans l'intestin suite à l'excrétion biliaire, la CLD réabsorbée et la CLD excrétée dans les fèces. Ce compartiment n'est pas défini par des paramètres physiologiques (débit sanguin ou volume).

Absorption. Une fois dans l'intestin, la CLD entre dans l'organisme au niveau du foie. L'absorption est caractérisée par la constante d'absorption ($k_{\text{absorption}}$). Ce paramètre de proportionnalité module la quantité de CLD disponible dans l'intestin qui atteint le foie et ne dépend pas de la matrice ingérée. Les études de biodisponibilité absolue menées chez le rat et la chèvre ont montré que la CLD est absorbée à plus de 90% (Egle et al., 1978 ; Fournier et al., 2017). Le coefficient d'absorption a été fixé à 0,925 par ajustement aux données expérimentales.

Délai dans le rumen. Pour prendre en compte les délais de transit au niveau du rumen, un délai de 2 j pour que la CLD ingérée arrive dans l'intestin a été choisi.

2.2.3. Distribution de la chlordécone

Le poids moléculaire de la CLD assez faible et sa lipophilie permettent le passage à travers les parois endothéliales. La distribution a été modélisée comme étant **limitée par la diffusion** dans l'ensemble des tissus et organes (foie, muscle et tissu adipeux). La distribution de la CLD dans ces compartiments dépend des coefficients de partage (K_p) de la CLD spécifiques à chaque compartiment. Classiquement, pour estimer les K_p *in vivo*, les animaux doivent être perfusés jusqu'à obtenir un état d'équilibre puis les ratios entre les concentrations tissulaires et sanguines sont calculés. Dans l'expérimentation *in vivo*

menée chez la brebis, des K_p apparents ont été calculés pour chaque tissu en calculant le ratio des concentrations de CLD dans le tissu et dans le sérum sur le lot de brebis abattu à $t=90$ j, considéré comme étant à l'équilibre. Les K_p utilisés dans ce modèle sont les K_p présentés dans l'article 1 « Characterization of chlordecone distribution and elimination in ewes during daily exposure and depuration », ils sont rappelés dans le tableau 27. Par ailleurs, la CLD est connue pour avoir une forte affinité avec les protéines du foie. La fraction libre (Ful) de la CLD dans le foie n'a jamais été déterminée dans la littérature et n'a pas été déterminée expérimentalement. Sa valeur a donc été ajustée sur les données expérimentales. Ce paramètre permet d'estimer la concentration libre de la CLD dans le foie sur laquelle les processus d'élimination peuvent être appliqués. Les équations de distribution figurent dans le tableau 28.

Tableau 27: Paramètres fixés dans le modèle PBPK liés à la distribution

Paramètre	Unité	Valeur	Abréviation
Coefficient de partition apparent			
foie ^a	sans unité	12,4	Pl
tissu adipeux ^a	sans unité	3,1	Pf
muscle ^a	sans unité	1,3	Pm
rest of the body ^b	sans unité	0,2	Pr
Fraction libre dans le foie ^b	sans unité	0,0935	Ful

^a déterminé expérimentalement ; ^b ajusté sur le modèle

Tableau 28: Equations différentielles décrivant le taux de variation de la chlordécone dans chaque compartiment

Compartiment	Equation différentielle
Foie	$Ai' = Ql * (Cart - Ci/Pl) + (k_{absorption} * Ai) - met - bile$
Tissu adipeux	$Af' = Qf * (Cart - Cf/Pf)$
Muscle	$Am' = Qm * (Cart - Cm/Pm)$
Rest of the body	$Ar' = Qr * (Cart - Cr/Pr)$
Sang veineux	$Cven = (Ql * Ci/Pl + Qf * Cf/Pf + Qm * Cm/Pm + Qr * Cr/Pr) / Qc$
Sang artériel	$Cart = Cven$

A_x (μg) et C_x ($\mu\text{g kg}^{-1}$) sont respectivement les quantités et les concentrations de CLD dans chaque compartiment x.

Se référer aux tableaux 26, 27 et 29 pour les abréviations des paramètres.

2.2.4. Elimination de la chlordécone

La voie urinaire étant une voie minoritaire d'excrétion par rapport à la voie fécale (Article 2), l'excrétion urinaire n'est pas intégrée dans le modèle. Deux voies d'élimination sont considérées : la biotransformation de la CLD en métabolites et l'excrétion de la CLD par voie fécale. L'hypothèse

considérée est donc que toute la CLD qui n'est pas éliminée sous forme parent dans les fèces est métabolisée sous forme de CLDOH et de CLDOH-C.

Les paramètres d'élimination (tableau 29) dans le modèle ont été déterminés par les résultats expérimentaux de l'ensemble des expérimentations toxicocinétiques de la CLD menées chez la brebis. Les valeurs de la clairance globale d'élimination de la CLD (Cl_{tot}) et de la part de CLD sérique métabolisée (PourcMet) sont issues de l'article 2. Le pourcentage de transformation de CLD en CLDOH a été calculé en considérant que la CLD non excrétée sous forme parent dans les fèces et les urines est biotransformée en CLDOH. Ceci est un postulat car il existe peut-être d'autres métabolites minoritaires qui n'ont pas été dosés.

Tableau 29: Paramètres fixés dans le modèle PBPK liés à l'élimination

Paramètre	Unité	Valeur	Abréviation
Fraction libre dans le foie ^a	sans unité	0,0935	Ful
Clairance globale d'élimination ^b	L j ⁻¹ kg ⁻¹	0,0508	Cl _{tot}
Fraction métabolisée ^b	sans unité	0,49	PourcMet
Constante d'excrétion biliaire ^a	L j ⁻¹	13,8	kbile

^a ajusté sur le modèle ; ^b déterminé expérimentalement

Métabolisme. L'élimination de la CLD via le métabolisme est régie par une constante de biotransformation (k_{met}) exprimée selon l'équation (1) :

$$k_{met} = \text{PourcMet} \times \text{Cl}_{tot} \quad (1)$$

Avec : PourcMet la part de CLD totale dans le sérum métabolisée ; Cl_{tot} la clairance globale d'élimination, caractérisant l'élimination de CLD totale.

Le métabolisme ayant lieu au niveau du foie, la CLD éliminée par jour via le métabolisme (met) est calculée selon l'équation (2) :

$$\text{met} = k_{met} \times \text{Clu} \quad (2)$$

Avec : k_{met} la constante de biotransformation et Clu la concentration libre dans le foie obtenue en multipliant la concentration dans le foie et la fraction libre hépatique (Ful).

Excrétion biliaire. L'élimination de la CLD via l'excrétion biliaire (bile) est régie par une constante d'excrétion biliaire (kbile). La CLD éliminée par jour via la bile est calculée selon l'équation (3) :

$$\text{bile} = \text{kbile} \times \text{Clu} \quad (3)$$

Avec : kbile la constante d'excrétion biliaire et Clu la concentration libre dans le foie.

La CLD éliminée du foie dans la bile retourne au niveau de l'intestin, une partie est réabsorbée (suivant le paramètre k_{absorption}), l'autre partie est éliminée via les fèces.

Excrétion fécale. L'excrétion fécale est la résultante de la CLD non absorbée, de l'excrétion biliaire et de la réabsorption. Après ingestion de la CLD, la CLD non bioaccessible est directement éliminée dans les fèces. La CLD dans l'intestin qui vient d'être ingérée ou qui arrive dans l'intestin par la bile est absorbée selon la constante d'absorption ($k_{\text{absorption}}$). Le reste de la CLD est excrété dans les fèces. La CLD excrétée dans les fèces provient donc de la CLD non bioaccessible lors du premier passage dans l'intestin et de la partie non absorbée des retours biliaires successifs. Chaque jour, la CLD dans les fèces est transférée dans une « boîte fécale » qui cumule toute la CLD excrétée pendant la durée de la simulation. La concentration de CLD dans les fèces peut être calculée en divisant la quantité de CLD excrétée par jour par la quantité de fèces excrétée par jour obtenue via le module d'exposition, schématiquement déterminée par la quantité ingérée multipliée par $(1 - \text{digestibilité})$.

2.3. Définition du modèle de référence

La structure du modèle de référence a été développée afin que les prédictions s'ajustent aux données expérimentales de l'expérimentation B. Le tableau 30 présente les paramètres d'exposition et de la ration utilisés pour le modèle de référence correspondant à la même exposition que celle réalisée pour obtenir les données expérimentales, soit une contamination par voie orale pendant 90 j à $0,01 \text{ mg kg}^{-1} \text{ j}^{-1}$ puis une décontamination de 127 j.

2.4. Analyse de sensibilité

Une analyse de sensibilité a été réalisée afin d'identifier les paramètres qui influent le plus sur les sorties du modèle. Les sorties du modèle considérées sont la concentration de CLD à $t = 92 \text{ j}$ dans les compartiments comme indicateur de la concentration à l'équilibre (C_{ss}) et la constante d'élimination (k_d) dans les compartiments pendant la phase de décontamination. L'analyse de sensibilité a été réalisée sur l'ensemble des paramètres sauf ceux qui modifient directement la dose absorbée (bioaccessibilité pour chaque matrice contaminée ingérée, $k_{\text{absorption}}$) car faire varier ces paramètres revient à faire varier directement la dose d'entrée dans le modèle PBPK. En tout, 17 paramètres ont subi l'analyse de sensibilité. L'influence de chaque paramètre sur la concentration à $t = 92 \text{ j}$ et la constante d'élimination dans chaque compartiment (sérum, foie, muscle, gras, « rest of the body » et fèces) a été étudiée. L'analyse de sensibilité a été réalisée en faisant varier les paramètres de $\pm 1\%$, $\pm 5\%$ et $\pm 10\%$.

La constante d'élimination k_d a été calculée sur la période comprise entre $t = 92 \text{ j}$ et $t = 217 \text{ j}$ suivant l'équation (4) :

$$\ln(C_i(t)) = \ln(C_{i,92}) - k_d \times t \quad (4)$$

Tableau 30: Paramètres d'exposition et de la ration utilisés pour le modèle de référence

Matrice x	quantité de matrice ingérée (kg)	matière sèche	digestibilité	temps initial d'exposition	durée d'exposition (j)	concentration de CLD ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	bioaccessibilité
	matrix_amount_ingestedx	matrix_DMx	matrix_digestibilityx	ti_expoz	d_expoz	matrix_concentrationx	k_matrix_bioaccessx
Matrice 1 = aliment contaminé	0,042	0,864*	0,89*	0	90	14316	0,9
Matrice 2 = Foin	1,100	0,85*	0,40*	0	217	0	0
Matrice 3 = paille	0,200	0,88*	0,40*	0	217	0	0
Matrice 4 = maïs grain	0,050	0,864*	0,89*	0	217	0	0
Matrice 5 = Luzerne deshydratée	0,100	0,92*	0,62*	0	217	0	0
Matrice 6	0	0	0	0	0	0	0

*INRA, 2018

Avec : $C_i(t)$ la concentration dans le compartiment i au temps t ; $C_{i, 92}$ la concentration de CLD dans le compartiment i à $t = 92$ j et k_d la constante d'élimination dans le compartiment i .

Le coefficient de sensibilité normalisé (CSN) a été calculé suivant l'équation (5) (Li et al., 2017 ; Lin et al., 2016) :

$$\text{CSN} = \frac{\Delta r}{r} \times \frac{p}{\Delta p} \quad (5)$$

Avec : r la sortie initiale du modèle ; p la valeur initiale du paramètre ; Δr la variation dans les sorties du modèle ; Δp la variation du paramètre.

La variation relative du CSN a été catégorisée comme faible si $|\text{CSN}| < 0,2$; moyenne si $0,2 \leq |\text{CSN}| < 0,5$ et élevée si $|\text{CSN}| \geq 0,5$ (Li et al., 2017; Zeng et al., 2017).

2.5. Evaluation du modèle de référence

La qualité de l'ajustement du modèle a été évaluée par la construction du graphique des valeurs observées (OBS) en fonction de la prédiction moyenne du modèle (PRED). Une validation externe n'a pour l'instant pas pu être réalisée car aucun jeu de données externe n'est disponible.

2.6. Analyse de Monte Carlo

Afin d'appréhender la variabilité interindividuelle dans ce modèle, une analyse de Monte Carlo a été réalisée. Cette analyse a pour objectif de considérer une distribution probabiliste des paramètres du modèle sélectionné. Cette analyse de Monte Carlo a été réalisée sur Berkeley Madonna selon Li et al. (2017).

Tous les paramètres considérés sensibles ($\text{CSN} > 0.2$) dans l'analyse de sensibilité précédente (sur la concentration à l'équilibre ou sur la constante d'élimination dans les compartiments) ont été retenus pour l'analyse de Monte Carlo. Ce sont : le poids vif (BW), les volumes des compartiments muscle et gras exprimés en fonction du poids vif (V_{fc} , V_{mc}), les coefficients de partition du foie, du gras et du muscle (P_l , P_f et P_m), la fraction libre dans le foie (F_{ul}), le pourcentage de CLD métabolisée ($P_{ourcMet}$), la clairance totale (Cl_{tot}) et la constante d'excrétion vers la bile (k_{bile}). L'objectif de réaliser l'analyse de Monte Carlo sur une période de contamination longue (180 j) et une période de décontamination longue (180 j) était de pouvoir discuter de la variabilité des concentrations à l'équilibre et des temps de demi-vies dans les compartiments.

L'analyse de Monte Carlo a été appliquée sur un scénario d'exposition similaire aux conditions expérimentales ($0,01 \text{ mg CLD kg}^{-1} \text{ j}^{-1}$ via un aliment contaminé). La durée d'exposition à la CLD a été fixée à 180 j pour assurer un état d'équilibre dans tous les compartiments. Le tableau 31 résume les

Tableau 31: Paramètres d'exposition et de la ration considérés pour l'analyse de Monte Carlo

Matrice x	quantité de matrice ingérée (kg)	matière sèche	digestibilité	temps initial d'exposition	durée d'exposition (j)	concentration de CLD ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	bioaccessibilité
	matrix_amount_ingestedx	matrix_DMx	matrix_digestibilityx	ti_expox	d_expox	matrix_concentrationx	k_matrix_bioaccessx
Matrice 1 = aliment contaminé	0,042	0,864*	0,89*	0	180	14316	0,9
Matrice 2 = Foin	1,100	0,85	0,40	0	360	0	0
Matrice 3 = paille	0,200	0,88	0,40	0	360	0	0
Matrice 4 = maïs grain	0,050	0,864	0,89	0	360	0	0
Matrice 5 = Luzerne deshydratée	0,100	0,92	0,62	0	360	0	0
Matrice 6	0	0	0	0	0	0	0

*INRA, 2018

Tableau 32: Valeurs et distribution des paramètres utilisés pour l'analyse de Monte Carlo

Paramètre	Unité	Abréviation	Distribution	Moyenne	SD	CV	Minimum	Maximum	Référence
Poids animal	kg	BW	normale	58,4	12,3	21%	33,9	82,9	Lautz et al., 2020
Volume des tissus (fraction du poids)	sans unité								
Gras		Vfc	normale	0,192	0,075	39%	0,0422	0,342	Lautz et al., 2020
Muscle		Vmc	normale	0,353	0,085	24%	0,184	0,522	Lautz et al., 2020
Coefficient de partage	sans unité								
Foie		Pl	lognormale	12,4	2,48	20%	7,44	17,4	Expérimentation
Gras		Pf	lognormale	3,1	0,76	20%	2,3	5,3	Expérimentation
Muscle		Pm	lognormale	1,3	0,26	20%	0,78	1,8	Expérimentation
Fraction libre dans le foie	sans unité	Ful	lognormale	0,0935	0,00935	10%	0,0748	0,112	Ajustement du modèle
Pourcentage de CLD métabolisée	sans unité	PourcMet	lognormale	0,49	0,092	20%	0,276	0,644	Expérimentation
Clairance globale d'élimination	$\text{L j}^{-1} \text{kg}^{-1}$	Cltot	lognormale	0,0508	0,0152	30%	0,0203	0,0812	Expérimentation
Constante d'excrétion vers la bile	$\text{j}^{-1} \text{kg}^{-1}$	kbile	lognormale	13,8	2,76	20%	8,28	19,3	Ajustement du modèle

conditions d'exposition considérées pour l'analyse de Monte Carlo. L'objectif de l'analyse de Monte Carlo sur ce scénario est d'évaluer la variabilité de la concentration à l'équilibre et de la constante d'élimination pour chaque compartiment considéré. Cette analyse a inclus 100 itérations afin de pouvoir calculer les 95^{èmes} percentiles.

La variabilité définie pour chacun des paramètres est présentée dans le tableau 32. Des distributions normales ont été supposées pour les paramètres physiologiques comme le poids vif (BW) et le volume des compartiments. Des distributions log-normales ont été supposées pour les paramètres liés à la molécule comme les coefficients de partage, la fraction libre dans le foie (Ful), la clairance globale d'élimination (Cl_{tot}), le pourcentage de transformation de la CLD en métabolites (Pourc_Met) et la constante d'excrétion biliaire (kbile) comme cela a été réalisé dans d'autres études (Clewell et Clewell, 2008 ; Li et al., 2017 ; Yang et al., 2015).

Pour pouvoir réaliser une transformation lognormale, les équations (6), (7) et (8) ont été appliquées :

$$\mu_{\ln x} = \ln \left(\frac{\mu x^2}{\sqrt{\sigma x^2 + \mu x^2}} \right) \quad (6)$$

$$\sigma_{\ln x} = \sqrt{\ln \left(1 + \frac{\sigma x^2}{\mu x^2} \right)} \quad (7)$$

$$\text{Lognormal}(\mu_x, \sigma_x) = \exp(\text{Normal}(\mu_{\ln x}, \sigma_{\ln x})) \quad (8)$$

Avec : μ_x la moyenne du paramètre x avec une distribution lognormale ; σ_x l'écart-type du paramètre x avec une distribution lognormale ; $\mu_{\ln x}$ la moyenne après la transformation log-normale avec une distribution normale ; $\sigma_{\ln x}$ l'écart-type du paramètre x transformé avec une transformation normale.

Avec la valeur moyenne de chaque paramètre et la variance, la fonction « Normal() » a permis de calculer des valeurs aléatoires. Les coefficients de variation du poids de l'animal et des fractions de volume des compartiments du foie, du tissu adipeux et du muscle se sont basés sur des données de la littérature (Lautz et al., 2020). Pour les autres paramètres, les coefficients de variation affectés sont de 10% pour la fraction libre de la CLD dans le foie (Ful), 20% pour la constante de CLD métabolisée (PourcMet) et la constante d'excrétion biliaire (kbile) et 30% pour la clairance globale d'élimination (Cl_{tot}). Le choix de ces pourcentages s'est basé sur les hypothèses par défaut utilisées dans d'autres modèles PBPK (Clewell et Clewell, 2008 ; Henri et al., 2017 ; Li et al., 2017 ; Yang et al., 2015). Pour ces paramètres les percentiles à 2,5 et 97,5% de chaque paramètre ont été calculés pour définir les valeurs minimales et maximales.

Les paramètres du modèle peuvent ainsi varier autour de la valeur moyenne du paramètre, déterminée expérimentalement ou ajustée. Pour assurer la conservation du bilan de masse et une cohérence biologique à partir des paramètres physiologiques déterminés aléatoirement, les fractions des volumes des tissus ont été ajustés afin d'obtenir une somme égale à 1.

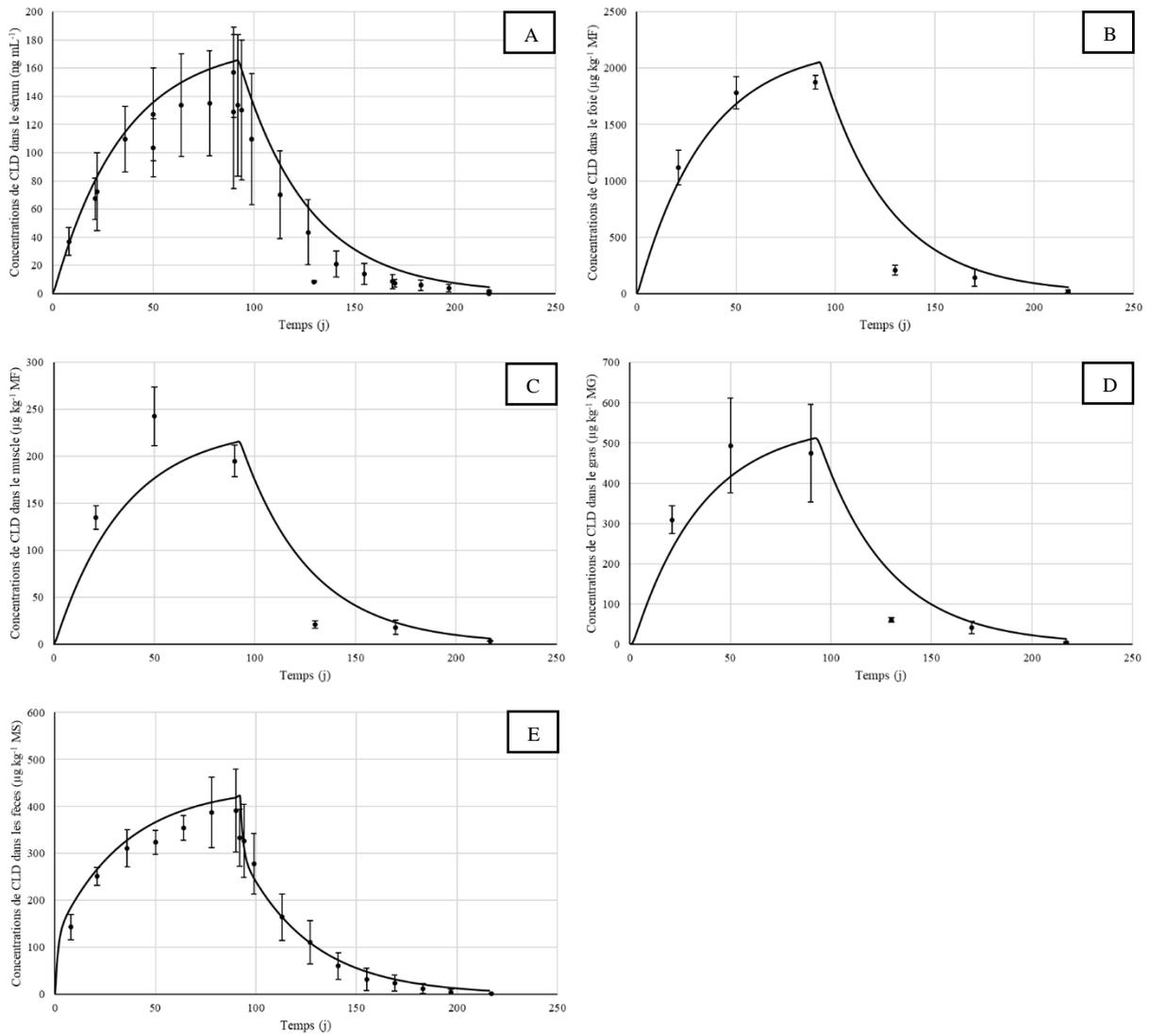


Figure 38: Sorties du modèle de référence établi sur le scénario expérimental et les concentrations de chlordécone observées expérimentalement (moyennes \pm SD) dans (A) le sérum, (B) le foie, (C) le muscle, (D) le gras et (E) les fèces

3. Résultats

3.1. Développement et évaluation du modèle de référence

La figure 38 présente les concentrations de CLD prédites par le modèle de référence et observées dans le sérum, le foie, le muscle, le gras et les fèces. Les lignes correspondent aux profils simulés et les points aux concentrations moyennes observées pendant l'expérimentation. Le modèle permet de décrire simultanément les concentrations de CLD dans le sérum et dans les tissus. L'estimation des paramètres moyens du modèle semble cohérente.

La figure 39 présente les concentrations de CLD observées en fonction des concentrations de CLD prédites dans les compartiments sérum, foie, muscle, gras et fèces. Cette figure permet de caractériser la qualité de la modélisation par compartiment. Les concentrations sériques sont légèrement surestimées surtout dans la phase de décontamination et la relation entre les concentrations simulées et observées est correcte ($R^2=0,80$). Les concentrations dans le foie et les fèces sont très légèrement surestimées mais la qualité de la modélisation est bonne ($R^2=0,91$ et $0,89$ respectivement). Les concentrations dans le muscle et le gras sont globalement bien estimées et la qualité de la modélisation est correcte ($R^2= 0,83$ et $0,82$ respectivement).

Le lot de brebis D abattues après 90 j de contamination et 40 j de décontamination présente des concentrations tissulaires faibles par rapport aux concentrations simulées dans l'ensemble des compartiments sans que des raisons puissent être identifiées. Les concentrations sériques observées lors de l'abattage de ce lot sont largement inférieures à celles observées à $t = 130$ j pour le lot d'animaux sur lequel une cinétique sérique complète a été réalisée. Ainsi, bien que les concentrations modélisées ne passent pas par les points correspondant à ce lot, la qualité de la modélisation n'est pas forcément remise en cause. En considérant la variabilité et le fait que les valeurs prédites par le modèle proviennent du modèle de référence avec des valeurs de paramètres moyennes, les prédictions du modèle sont cohérentes et assez proches des concentrations observées pour l'ensemble des tissus.

3.2. Analyse de sensibilité

Seuls les résultats de l'analyse de sensibilité avec une variation de +5% pour chaque paramètre sont présentés sur la figure 40. Les autres variations testées ne sont pas présentées ici car elles ont généré des résultats équivalents. Les paramètres sont considérés sensibles lorsque la valeur absolue du CSN (coefficient de sensibilité normalisé) est supérieure à 0,2. Une valeur de CSN négative indique une relation inverse entre le changement de la valeur du paramètre et les sorties du modèle considérées.

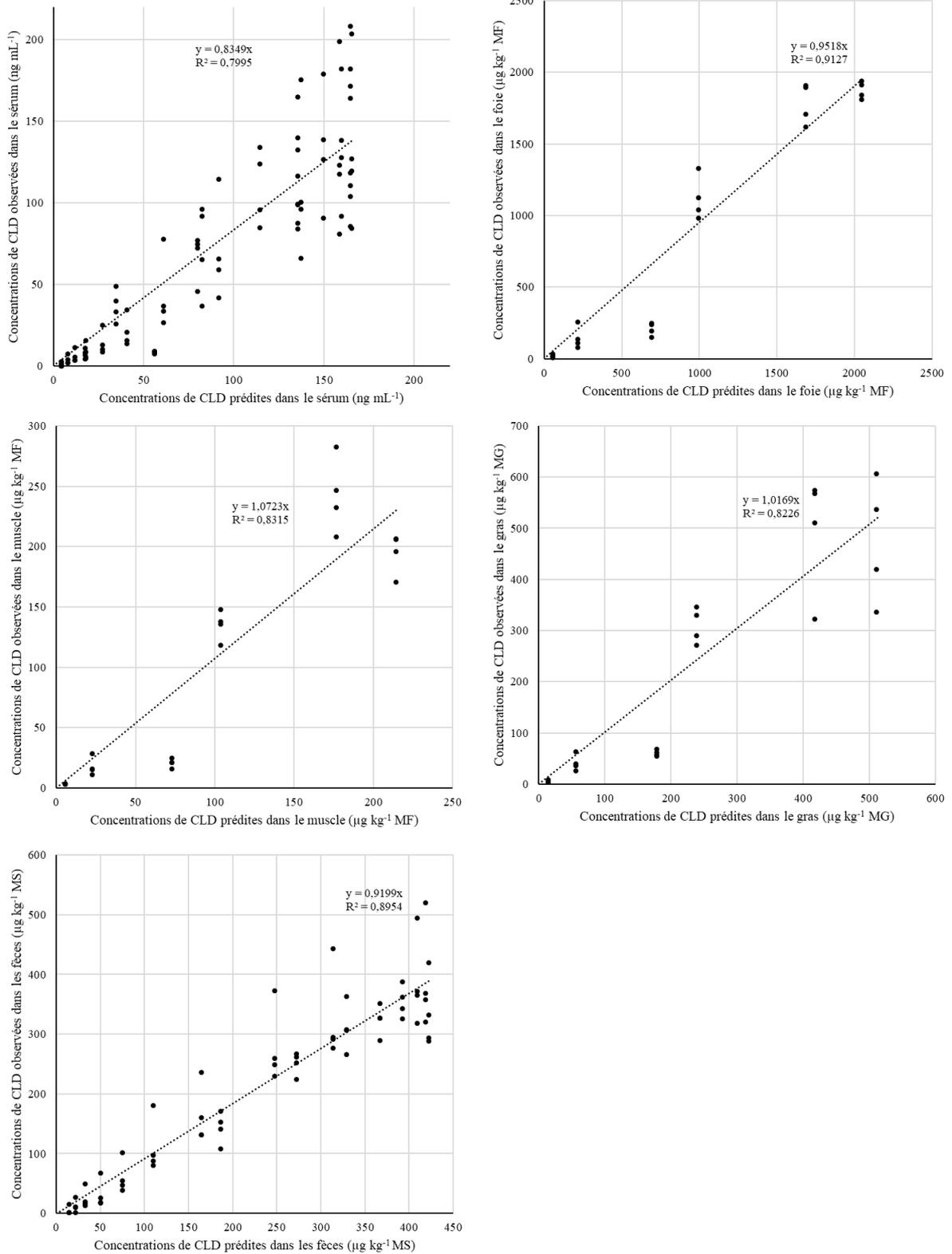


Figure 39: Concentrations de chlordécone observées en fonction des concentrations de chlordécone prédites par le modèle de référence dans les compartiments sérum, foie, muscle, gras et fèces

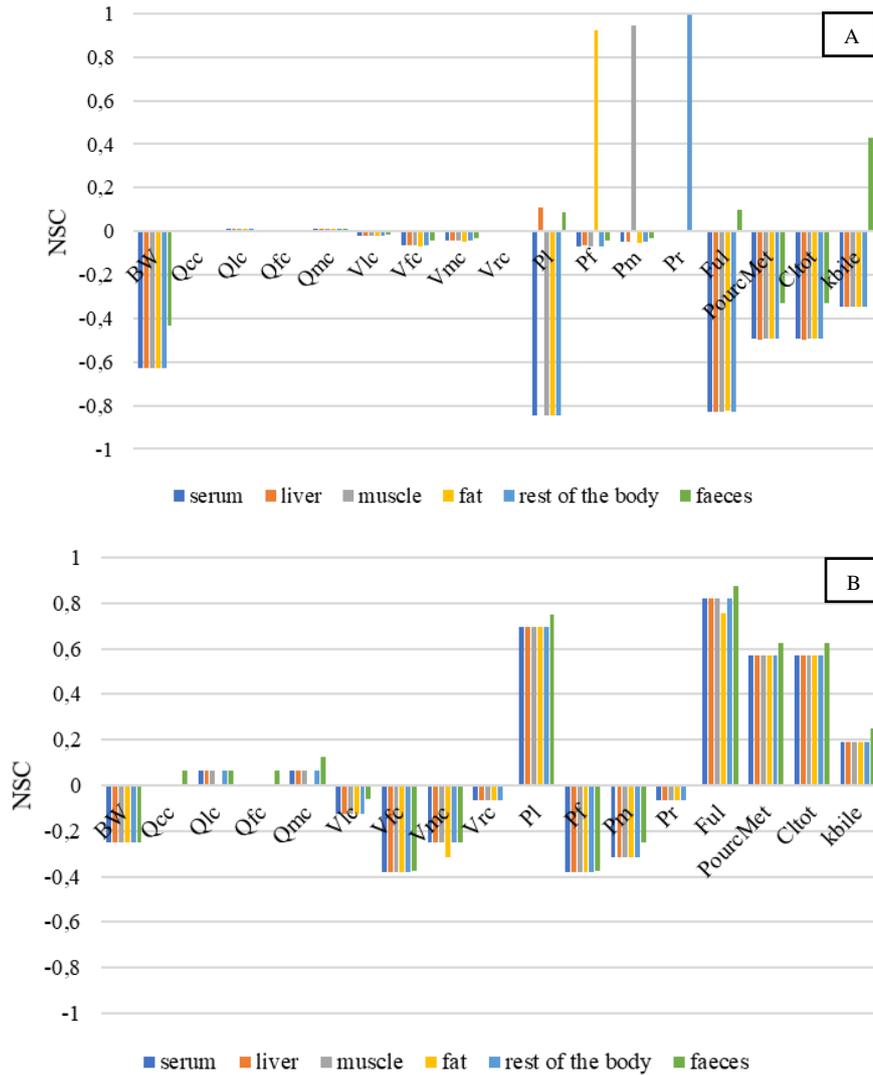


Figure 40: Graphiques représentant la sensibilité des paramètres du modèle sur (A) les concentrations à l'équilibre et sur (B) la constante d'élimination pendant la phase de décontamination dans le sérum, le foie, le muscle, le « rest of the body » et les fèces

NSC : Coefficient de sensibilité normalisé ; se référer aux tableaux 26, 27 et 29 pour les abréviations des paramètres.

Impact sur la concentration à l'équilibre. Le poids vif (BW) a une influence élevée (CSN négatif) sur les concentrations à l'équilibre de tous les compartiments, ce qui est logique car augmenter le poids vif revient à diminuer la dose par kg de poids vif. La variation des différents débits (débits des compartiments et débit cardiaque) et des volumes des compartiments n'a pas d'influence sur les concentrations à l'équilibre dans les compartiments. Le coefficient de partition du foie a un impact élevé (CSN négatif) sur les concentrations à l'équilibre du sérum, du muscle, du gras et du « rest of the body ». Les autres coefficients de partition ont une influence élevée uniquement sur la concentration à l'équilibre de leur propre compartiment (CSN positif). La fraction libre hépatique a une forte influence (CSN négatif) sur les concentrations à l'équilibre dans le sérum, le foie, le muscle, le gras et le « rest of the body » mais n'a pas d'influence sur la concentration à l'équilibre dans les fèces. Le pourcentage de CLD

métabolisée (PourcMet) et la clairance globale d'élimination (Cl_{tot}) ont une influence moyenne sur les concentrations à l'équilibre de tous les compartiments considérés (CSN négatif). La constante d'excrétion biliaire a une influence moyenne sur les concentrations à l'équilibre dans tous les compartiments (CSN positif pour la concentration dans les fèces et CSN négatif pour les autres compartiments). Au total, 9 paramètres ont été considérés sensibles sur les concentrations à l'équilibre dans les différents compartiments.

Impact sur la constante d'élimination. Le poids vif et les volumes des compartiments gras et muscle ont une influence moyenne sur la constante d'élimination dans tous les compartiments (CSN négatif). Les volumes des compartiments du foie et du « rest of the body » n'ont pas d'influence sur la constante d'élimination. Le coefficient de partition du foie (Pl), la fraction libre dans le foie (Ful), le pourcentage de CLD métabolisée (PourcMet) et la clairance globale d'élimination (Cl_{tot}) ont une influence élevée sur la constante d'élimination sur l'ensemble des compartiments (CSN positif). La constante d'excrétion biliaire a une influence moyenne uniquement sur la constante d'élimination dans les fèces (CSN positif). Au total, 10 paramètres ont été considérés sensibles sur la constante d'élimination dans les différents compartiments.

Les paramètres les plus sensibles sur l'ensemble des sorties du modèle sont le coefficient de partition du foie (Pl) et la fraction libre hépatique (Ful).

3.3. Premières approches de la variabilité interindividuelle

La figure 41 présente l'évolution des concentrations simulées de CLD dans les différents compartiments sur les 100 individus créés avec l'analyse de Monte Carlo. A partir de ces données, les concentrations à 180 j dans les compartiments ont été extraites et les temps de demi-vies dans les différents compartiments ont été calculés individuellement. Les figures 42 et 43 présentent respectivement la distribution des temps de demi-vies et des concentrations obtenues à 182 j dans chaque compartiment.

Les temps de demi-vies dans les différents compartiments ne présentent pas une distribution normale. Les temps de demi-vies sont similaires entre les tissus : la médiane est de 25 j, le 5^{ème} percentile est de 16 j et le 95^{ème} percentile est de 39 j. Les concentrations à 182 j dans les différents compartiments ne présentent pas une distribution normale. Les concentrations obtenues à 182 j diffèrent entre les tissus. La distribution des concentrations à 182 j obtenues dans les différents tissus est présentée en figure 43. Par ailleurs, la figure 41 montre que pour presque la moitié des individus, l'équilibre ne semble pas atteint après 180 j de contamination.

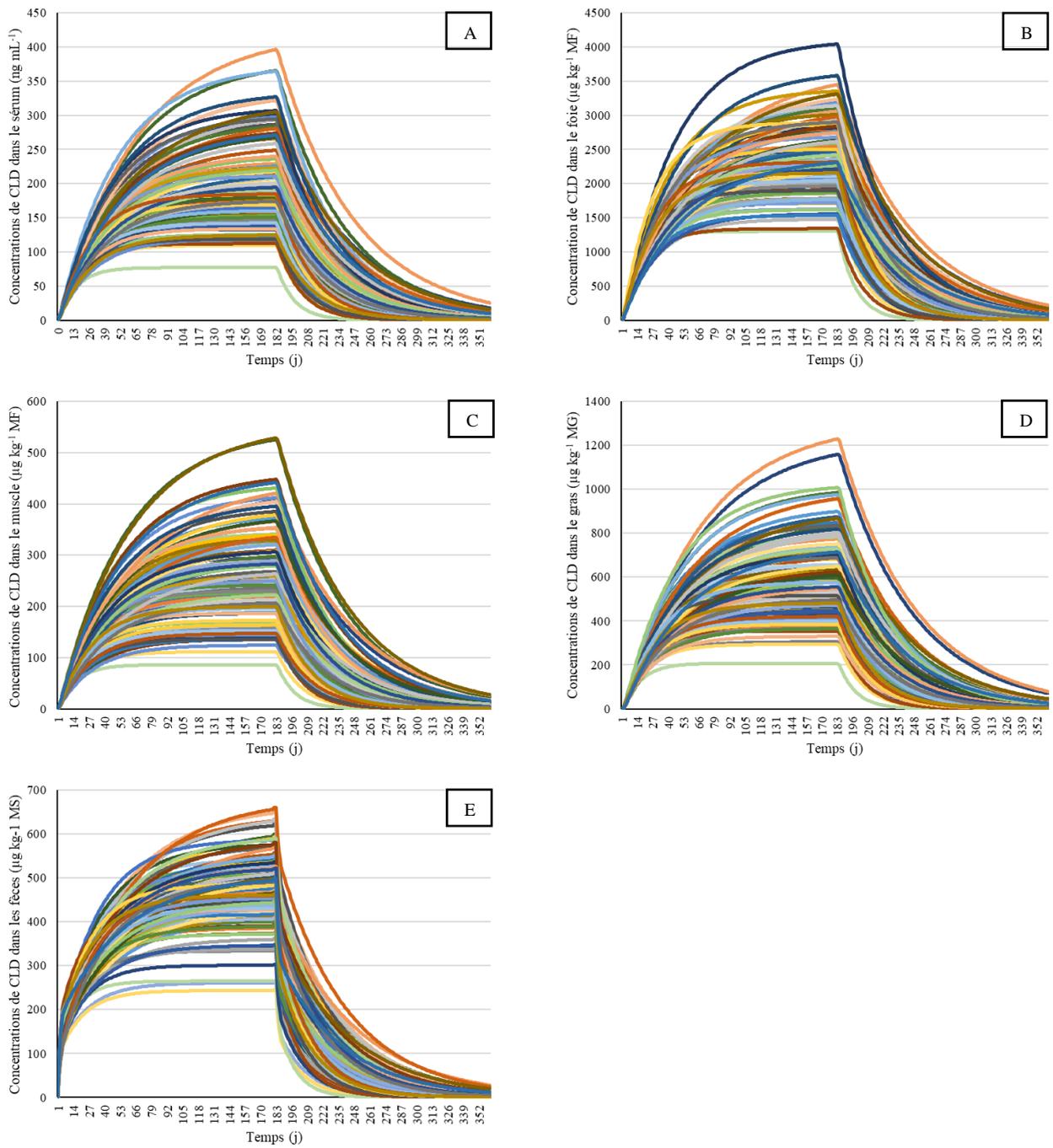
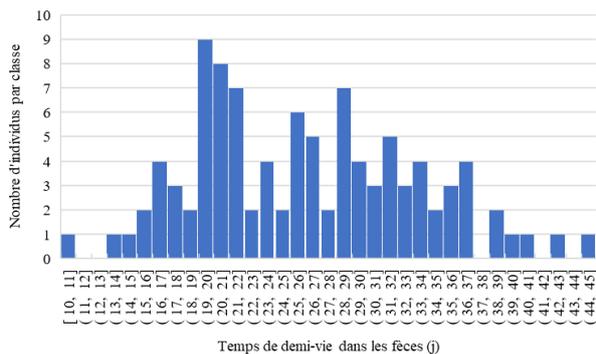
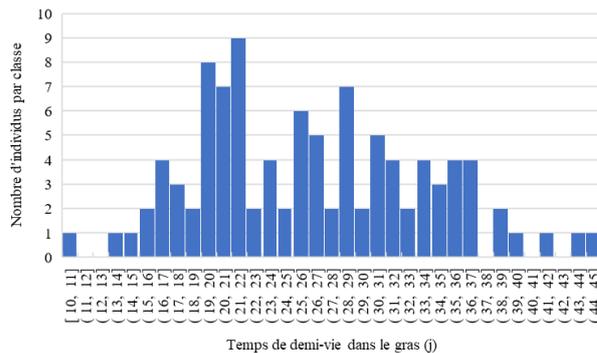
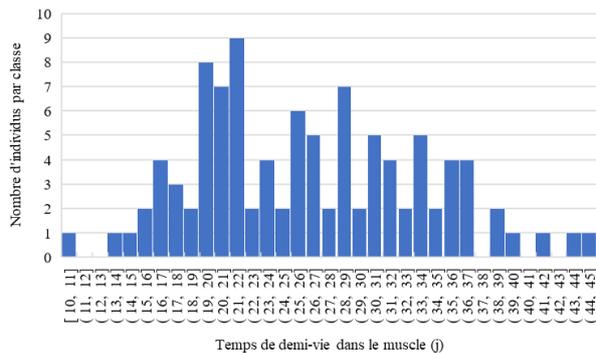
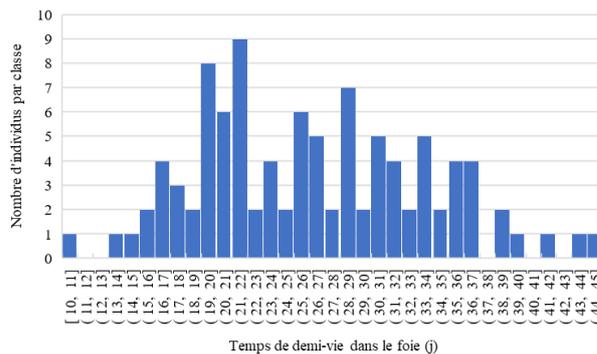
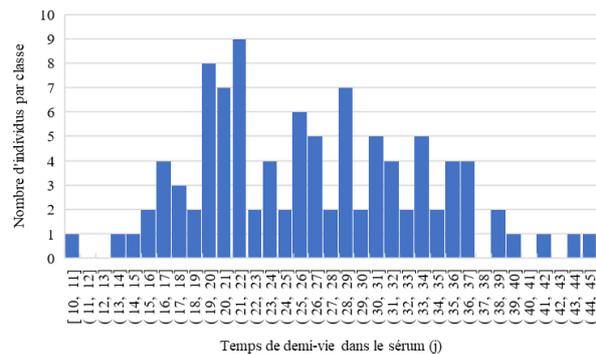


Figure 41: Simulations de Monte Carlo sur 100 individus, concentrations de chlordécone simulées dans (A) le sérum, (B) le foie, (C) le muscle, (D) le gras et (E) les fèces



Temps de demi-vie dans ... (en j)					
percentile	Sérum	Foie	Muscle	Gras	Fèces
5 ^{ème}	16	16	16	16	16
Médiane	26	26	26	26	26
95 ^{ème}	39	39	39	39	39

Figure 42: Distribution des temps de demi-vies obtenus dans les compartiments suite à l'analyse de Monte Carlo

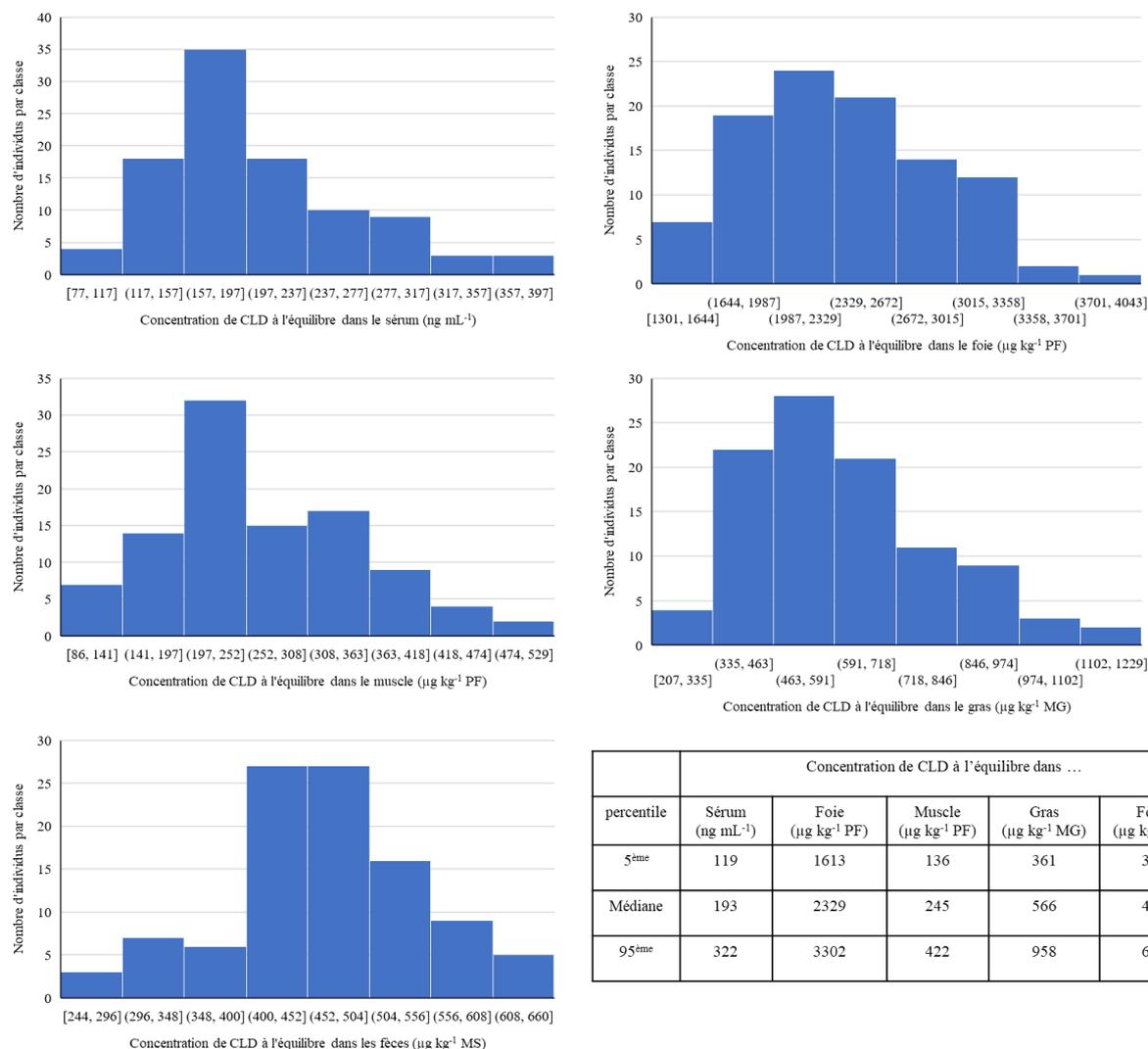


Figure 43: Distribution des concentrations à 182 j dans les compartiments suite à l'analyse de Monte Carlo

4. Discussion

4.1. Construction du modèle de référence : hypothèses, forces et faiblesses

Le modèle développé ici est le premier modèle PBPK permettant de modéliser le transfert de CLD chez les animaux d'élevage. C'est également le premier modèle qui intègre une voie d'élimination via le métabolisme car les seuls modèles PBPK de la CLD ont été développés chez le rat, animal connu pour ne pas métaboliser la CLD en CLDOH (Belfiore et al., 2007 ; Bungay et al., 1981 ; Heatherington et al., 1998). Ce modèle PBPK permet donc d'explorer la distribution tissulaire de la CLD et son élimination via le métabolisme et l'excrétion fécale chez la brebis adulte non lactante et non gestante.

Plusieurs hypothèses ont été considérées pour la construction du modèle.

Tout d'abord, les concentrations de CLD dans un compartiment donné sont supposées homogènes. Le modèle construit est à flux limitant ce qui suggère que la CLD diffuse rapidement à travers les tissus et que le débit sanguin est limitant. Le modèle n'a pas été construit avec le sang total dans les compartiments sanguins mais avec la part sérique. En effet, les débits sériques ont été intégrés au modèle en considérant que 55% du volume du sang total est occupé par le sérum chez l'ovine (Jackson et Cockcroft, 2002). La fraction liée au sang n'a pas été intégrée car ce modèle est basé sur le sérum. Comme peu de protéines sont présentes dans le sérum, la fraction libre dans le sang n'est pas forcément pertinente à intégrer sauf si ce modèle est adapté en base de sang total par la suite. Pour déterminer ce paramètre, des approches *in vitro* pourraient être réalisées pour caractériser la liaison aux protéines du sang total : soit par ultracentrifugation, soit par dialyse à l'équilibre (Dow, 2006).

Un des postulats du modèle est que toute la CLD non excrétée via les fèces sous forme parent est éliminée via le métabolisme. L'excrétion urinaire est négligée car c'est une voie largement minoritaire de l'élimination (3% de la dose de CLD administrée ; Article 2). Par ailleurs, la forme majoritaire de l'urine étant du CLDOH-C (le ratio de concentrations CLDOH-C/CLD dans les urines est de 14 ; Article 2), cette voie d'élimination est donc intégrée à la sortie métabolique.

Enfin, bien que le retour non biliaire ait été mis en évidence chez le rat (Bungay et al., 1981), ce mécanisme a été négligé dans le modèle car aucune donnée expérimentale n'aurait permis de le calibrer.

La structure du modèle assez simple avec un nombre de compartiments limité et une absence de détails sur le devenir des métabolites a permis de limiter le nombre de paramètres à ajuster sur les données expérimentales. Bien que la construction du modèle se soit basée sur un nombre limité d'animaux (n=24) et qu'aucune autre donnée de cinétique de la CLD chez l'ovine ne soit disponible dans la littérature, la richesse des données expérimentales a permis de construire un modèle qui semble robuste. Certains compartiments non intégrés faute de données expérimentales auraient pourtant pu être intéressants pour des applications de gestion du risque. La distribution de la CLD dans les muscles semble pilotée par les lipides polaires (Lerch et al., 2018 ; chapitre 2 / partie 1), si cet effet est vérifié pour d'autres tissus comme les reins, le cerveau ou l'os, la concentration de CLD dans ces tissus pourrait être estimée à partir de la concentration obtenue dans un des compartiments et de leur concentration en lipides polaires.

Les paramètres physiologiques de ce modèle ont été calibrés grâce à des données issues d'une synthèse bibliographique (Lautz et al., 2020) rassemblant 48 publications scientifiques. Les valeurs de ces paramètres physiologiques peuvent être considérées fiables d'autant plus que l'analyse de sensibilité a montré que les débits ont peu d'impact sur les sorties du modèle.

Ces dernières années, différentes expérimentations ont été menées chez la brebis afin de caractériser la toxicocinétique de la CLD et de ses métabolites et ont permis de calibrer plusieurs paramètres spécifiques de la CLD. L'expérimentation de distribution tissulaire utilisée pour calibrer le modèle a

permis de calculer des coefficients de partition entre les tissus et le sérum. En pharmacocinétique, les coefficients de partition sont souvent déterminés avec une perfusion à l'équilibre. Cependant, comme la CLD présente un temps de demi-vie beaucoup plus long que la plupart des molécules pharmaceutiques, ce type d'approche est impossible à mettre en œuvre car la perfusion serait trop difficile à maintenir. Le temps de demi-vie dans le sérum étant de 24 ± 1 j chez la brebis, 90 j correspondent donc à 3,75 demi-vies, soit un plateau considéré atteint à plus de 90%. Bien que 90 j soit une période un peu courte pour considérer un équilibre complet atteint dans l'ensemble des tissus, les coefficients de partition ont été estimés sur les 4 brebis abattues après 90 j de contamination en faisant l'hypothèse qu'un équilibre était atteint dans les tissus. Les temps de demi-vies étant considérés similaires entre le sérum et les tissus (Article 1), l'équilibre dans les tissus peut également être considéré atteint à plus de 90%. Les approches menées à partir du calcul des clairances sérique et fécale de la CLD et du CLDOH chez la brebis (Article 2) ont permis de calculer la part de la CLD éliminée du compartiment sanguin via le métabolisme (PourcMet) en s'affranchissant des expérimentations complexes de détermination de clairance hépatique avec une perfusion de CLD *in situ* ou *ex vivo* (Mets, 1991) et une mesure des métabolites en sortie du foie. Ces expérimentations sont difficiles, voire impossible à mettre en place pour des molécules ayant un temps de demi-vie supérieur à 7 j comme la CLD.

Les seuls paramètres spécifiques de la CLD qui ont dû être ajustés sont le coefficient de partition du reste de l'organisme (Pr), la fraction libre dans le foie (Ful) et la constante d'excrétion biliaire (kbile). Le paramètre kbile a été ajusté de façon à ce que les concentrations de CLD dans les fèces simulées soient proches des concentrations observées. Comme une cinétique a été réalisée sur un lot de 4 brebis pendant la phase de contamination (90 j) et de décontamination (127 j) tous les 14 j, les données observées étaient nombreuses et ont permis d'ajuster le paramètre kbile précisément. Finalement, les deux seuls paramètres réellement ajustés « à la main » sont la fraction libre du foie (Ful) et le coefficient de partition du reste de l'organisme (Pr).

4.2. Analyse de sensibilité

L'analyse de sensibilité permet d'identifier les paramètres qui contribuent le plus à la variabilité des simulations du modèle. Elles peuvent permettre d'identifier un manque de connaissance pour calibrer certains paramètres, surtout lorsqu'ils ont une grande influence sur les sorties du modèle. L'analyse de sensibilité a révélé que parmi les 10 paramètres qui influencent le plus les sorties du modèle, la moitié concerne des paramètres impliqués au niveau du compartiment foie. Le foie est un organe clé dans la toxicocinétique de la CLD car il est le lieu de biotransformation et d'élimination de la CLD et que cette dernière a une forte affinité pour cet organe. Les paramètres physiologiques du foie (débit et volume) n'influencent pas les sorties. Cependant, la constante d'excrétion biliaire, la clairance totale, le pourcentage de CLD métabolisée et la fraction libre dans le foie influent fortement sur les sorties du

modèle et doivent donc être déterminés ou ajustés avec exactitude. Or, la constante d'excrétion biliaire et la fraction libre dans le foie ont été ajustés aux données expérimentales. Seule la validation avec un jeu de données externe permettra de savoir si ces paramètres ont été bien ajustés.

Pour améliorer le modèle, les paramètres qui influent fortement sur les sorties du modèle et qui ont été ajustés sans données expérimentales ou bibliographiques disponibles, doivent être mieux estimés. Comme cela a été vu précédemment, la constante d'excrétion biliaire k_{bile} a été ajustée sur un jeu de données fécales riches. Ce paramètre semble difficile à estimer expérimentalement tel que le modèle est construit. En effet, la CLD excrétée par la bile retourne au niveau de l'intestin dans lequel elle subit un phénomène de réabsorption à hauteur de 92%. La constante d'excrétion biliaire ne correspond pas réellement à une constante physiologique car elle dépend indirectement de la constante d'absorption fixée. L'ajustement du paramètre aux données fécales expérimentales semble donc une méthode adaptée pour déterminer le paramètre k_{bile} . L'analyse de sensibilité réalisée sur le modèle a permis de mettre en évidence l'importance d'estimer la fraction libre hépatique de la CLD car celle dernière a une forte influence sur les sorties du modèle. A notre connaissance, aucune donnée n'existe dans la littérature sur ce paramètre. La distribution de la CLD entre le sang et les tissus semble se faire sur la base des lipides polaires et non sur les lipides neutres. Cependant, au niveau du foie d'autres mécanismes entrent en jeu comme la liaison aux protéines hépatiques. La fraction libre considérée dans ce modèle permet d'intégrer le mécanisme de séquestration hépatique. Les mécanismes d'élimination au niveau du foie ne s'appliquent que sur la CLD libre dans le tissu. Des expérimentations *in vitro* pourraient permettre d'estimer ce paramètre. Pfeifer et al. (2013) ont présenté une méthode *in vitro* permettant d'estimer la fraction libre d'une molécule dans un tissu. Des foies perfusés ou des cultures sandwichs d'hépatocytes peuvent être utilisés pour estimer la fraction libre d'une molécule (Pfeifer et al., 2013). Cette méthode consiste à homogénéiser les échantillons de foie de façon à rompre les membranes cellulaires puis à centrifuger en plusieurs étapes les lysats de façon à séparer les différents composants cellulaires. La liaison de la molécule est ensuite déterminée dans les lysats de foie entier et des fractions cytosoliques par dialyse d'équilibre. Ces analyses pourraient être réalisées sur des foies prélevés sur le lot abattu à 90 j dont des morceaux de foie ont été placés dans un tampon phosphate et congelés à -20°C .

4.3. Analyse de Monte Carlo et définition de la variabilité des paramètres

Intérêt et difficultés de l'analyse de Monte Carlo. L'analyse de Monte Carlo se base sur une approche probabiliste où chaque paramètre considéré se voit attribuer une variabilité. A chaque simulation, des valeurs aléatoires sont générées pour chacun des paramètres et intégrées dans le modèle pour calculer les sorties. L'intérêt de cette approche de population est de pouvoir estimer la variabilité interindividuelle et de la différencier de la variabilité résiduelle. L'utilisateur définit le nombre de simulations à réaliser pour créer sa population. La difficulté est d'attribuer des coefficients de variation

réalistes à chacun des paramètres afin de créer une population réaliste. Par ailleurs, comme des valeurs aléatoires sont générées pour chacun des paramètres, certaines combinaisons de paramètres peuvent être incompatibles au sens biologique du terme. Dans l'analyse de Monte Carlo réalisée, les distributions et variabilités des paramètres ont été extraites des expérimentations ou de la littérature. Pour les paramètres physiologiques les coefficients de variation provenant de la revue de Lautz et al. (2020) ont été utilisés. Pour les coefficients de partition, une valeur par défaut de 20% a été utilisée (Clewell et Clewell, 2008 ; Henri et al., 2017 ; Li et al., 2017 ; Yang et al., 2015). Pour les paramètres liés à l'élimination de la CLD un coefficient de variation entre 20 et 30% a été considéré. Enfin, pour la fraction libre de la CLD dans le foie, un coefficient de variation de 10% a été appliqué arbitrairement.

Scénario proposé. L'analyse de Monte Carlo a été réalisée sur un scénario de 180 j de contamination pour discuter de la distribution des concentrations à l'équilibre dans les compartiments. Le temps de demi-vie de la CLD chez la brebis étant de 24 ± 1 j dans le sérum (Saint-Hilaire et al., 2019) et n'étant pas significativement différent de ceux obtenus dans les tissus (Article 2), l'équilibre est censé être atteint dans l'ensemble des compartiments dans le scénario proposé (180 j, soit 7,5 demi-vies).

Un modèle protecteur. Les temps de demi-vies obtenus sont similaires entre les différentes matrices. Ces résultats sont dus à la construction du modèle mais sont cohérents avec les temps de demi-vies obtenus dans les tissus basés sur les mêmes données expérimentales (compris entre 20 et 24 j et non-significativement différents entre tissus ; Article 2). Les temps de demi-vies entre les tissus et le sérum ne sont pas significativement différents et de l'ordre de 21 j. Dans le modèle, la médiane des temps de demi-vies est de 25 j pour l'ensemble des compartiments. Le modèle ainsi construit semble donc légèrement protecteur.

Aberrance de certains résultats. Au bout de 180 j, si l'équilibre n'est pas atteint dans les tissus, la calibration du modèle de population et de la variabilité associée aux paramètres doivent être améliorée. Or, le modèle de population construit actuellement ne permet pas de prédire des individus non aberrants biologiquement car pour la moitié des individus simulés les concentrations dans les compartiments continuent à augmenter significativement après 180 j de contamination. Ces résultats interrogent sur la validité de la distribution des paramètres considérés.

Ful et Pl, des paramètres à explorer ? Globalement les valeurs moyennes des paramètres utilisées et leur variabilité associée semblent cohérentes et justifiées au vu de la variabilité expérimentale observée. Cependant, la fraction libre de la CLD dans le foie est un paramètre qui a été ajusté et dont la variabilité associée a été choisie arbitrairement. Or, l'analyse de sensibilité a montré que les deux paramètres qui influent le plus sur les sorties du modèle sont la fraction libre hépatique (Ful) et le coefficient de partition du foie (Pl).

Perspectives. Ces résultats renforcent la nécessité de mieux caractériser ce paramètre avec des expérimentations *in vitro* qui permettront d'estimer sa valeur moyenne et d'explorer sa variabilité interindividuelle. En effet, le souci de calibration du modèle produisant des simulations d'individus aberrants biologiquement peut provenir soit d'un problème d'estimation de la variabilité des paramètres soit de combinaisons de paramètres aléatoires impossibles biologiquement. Pour pallier ce problème, la réalisation d'une analyse de sensibilité globale pourrait être intéressante. Actuellement, seule une analyse de sensibilité locale a été réalisée pour chaque paramètre. Des méthodes d'analyse de sensibilité globale existent et permettent de faire varier l'ensemble des paramètres simultanément et de caractériser l'influence directe sur les sorties du modèle et les interactions avec l'ensemble des autres paramètres (Loizou et al., 2008 ; McNally et al., 2011). Par ailleurs, à partir des simulations réalisées sur ce scénario d'exposition, les combinaisons de paramètres impossibles pourraient être explorées en se basant sur le critère d'équilibre après 180 j de contamination.

4.4. Validation et applications du modèle

Pour l'instant, le modèle n'a pas été validé sur un jeu de données externes mais cette validation sera nécessaire sur le modèle de référence pour valider la structure du modèle et les paramètres moyens. Une validation à partir de données issues d'ovins contaminés *in situ* pourrait donc être envisagée. Par exemple, des échantillons de sang pourraient être prélevés sur des animaux élevés dans des conditions non contrôlées avant abattage et des prélèvements de tissus adipeux, muscles et foie pourraient être réalisés à l'abattage.

Une fois le modèle de référence validé, un modèle de population pourra être construit à partir de la méthode de Monte Carlo présentée ici. Cependant, la distribution des paramètres intégrés pour l'analyse de population devra être réajustée pour que la population créée soit réaliste en réadaptant les coefficients de variation attribués aux paramètres (notamment Ful et Pl) mais aussi en appliquant des conditions de combinaison de paramètres.

Ce modèle pourra être utilisé comme **outil de recherche** et permettra de réaliser des simulations de scénarios d'exposition, de décontamination mais également de séquestration de la CLD. Ces simulations pourront être utiles pour aider à concevoir de nouveaux protocoles expérimentaux permettant d'identifier des stratégies d'élevage qui limitent la contamination des produits animaux. L'intérêt d'intégrer des approches de population est également de pouvoir limiter le nombre d'animaux nécessaires aux expérimentations voire même de s'affranchir de l'expérimentation animale si les simulations du modèle suffisent. Cet outil pourra ensuite être adapté afin de fournir un **outil d'aide à la décision** aux acteurs locaux. Dans ce contexte de baisse des LMR et de discussion autour d'une filière « zéro CLD », la création d'outils d'aide à la décision pour la gestion du risque CLD en élevage est nécessaire pour augmenter la sécurité sanitaire dans les filières animales formelles et informelles. La

construction d'un modèle PBPK de population est pertinente pour pouvoir estimer des temps d'attente permettant d'atteindre une valeur cible dans les tissus (LMR ou LQ). En effet, cette approche a été utilisée dans plusieurs études d'évaluation du risque pour calculer des temps d'attente chez des animaux d'élevage après traitement pharmaceutiques (Buur et al., 2006 ; Henri et al., 2017 ; Yang et al., 2014, 2012, 2015 ; Zeng et al., 2017). Ce modèle de population une fois validé pourrait donc permettre de simuler des scénarios de décontamination et pouvoir réaliser des préconisations individuelles en étant protecteur.

4.5. Extrapolations du modèle à d'autres stades physiologiques

L'intérêt du modèle PBPK est de prédire l'évolution des concentrations d'une molécule dans l'ensemble des compartiments et pour un scénario d'exposition donné. La structure du modèle PBPK permet de réaliser facilement des extrapolations inter-espèces en tenant compte des différences physiologiques et biochimiques des espèces considérées (Lin et al., 2016 ; Thiel et al., 2015). Actuellement, le modèle est construit chez la brebis adulte non lactante et non gestante. Une fois validé, il ne sera utilisable que chez cette espèce et à ce stade physiologique. Cependant, il pourra servir de base pour la construction d'un modèle PBPK de la CLD chez l'ovin en croissance.

Peu de modèles PBPK sont réalisés sur des animaux en croissance, souvent ils sont développés sur une espèce donnée et un stade physiologique donné (adulte ou juvénile). Quelques modèles ont cependant été réalisés sur la vie de l'animal. Le modèle de van Eijkeren et al. (1998) développé pour modéliser le transfert de contaminants lipophiles chez la vache intègre la croissance de l'animal. Chez la volaille, 4 modèles ont intégré la croissance de l'animal (Henri et al., 2017 ; MacLachlan, 2010 ; Méda et al., 2020 ; Zeng et al., 2019). Un modèle a été développé sur les porcs en croissance pour modéliser le transfert de la tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD ; Savvateeva et al., 2020). Dans ces modèles, les paramètres physiologiques sont dépendants du temps. Dans la littérature, des études décrivent la croissance chez le mouton à l'aide d'équations (Blaxter et al., 1982 ; Gbangdoche et al., 2008 ; Goliomytis et al., 2006 ; Lewis et al., 2002 ; Teleken et al., 2017). Ces équations pourront être utilisées pour pouvoir modéliser l'évolution du poids vif et du volume des compartiments au cours du temps. Dans ces approches d'extrapolation, le modèle n'est valide qu'à partir du moment où l'animal est assez âgé pour que les organes soient considérés matures. L'ensemble des paramètres spécifiques de la molécule (coefficients de partition dans les tissus, fraction libre dans le foie et paramètres d'élimination) pourront être supposés identiques à ceux fixés chez la brebis adulte. Ce modèle devra être validé en le confrontant à des données *in vivo* sériques et tissulaires obtenus chez des animaux en croissance.

Le modèle PBPK développé chez la brebis est le premier modèle de transfert de la CLD chez les animaux intégrant une voie d'élimination via le métabolisme. Ce modèle est une représentation simplifiée de la réalité et seuls les compartiments principaux ont été représentés. Cette structure simple a permis de créer un modèle robuste car peu de paramètres ont dû être ajustés. Un des points limitants de cette étude est le manque de connaissances sur la liaison de la CLD au niveau du foie. Des expérimentations mériteraient d'être réalisées pour calibrer le modèle avec des données expérimentales.

Une fois validé par un jeu de données externes, ce modèle pourra être utilisé comme outil de recherche et comme outil d'aide à la décision pour mettre en place des stratégies de décontamination sur le terrain. Pour des applications de terrain, une approche de population semble être pertinente pour pouvoir prédire des cinétiques tissulaires dans une population d'animaux. Actuellement les caractéristiques définies pour la population mènent à des simulations d'individus aberrants, ce modèle de population devra être amélioré pour pouvoir créer une population réaliste et représentative de la population de terrain.

Une perspective d'extrapolation de ce modèle à l'ovin en croissance est envisagée. La brebis a été choisie comme modèle ruminant pour des raisons de facilité d'expérimentation mais l'objectif est également de pouvoir extrapoler ce modèle à l'espèce bovine pour créer des outils d'aide à la décision chez le bovin.

5

Discussion générale

La discussion générale a pour objectif de resituer la thèse dans son contexte global et de proposer une réflexion sur les applications du modèle PBPK construit. La première partie de cette discussion générale permet une analyse rétrospective sur la construction globale de la thèse, son apport de connaissances sur la toxicocinétique de la CLD et sur les limites des expérimentations mises en place. La deuxième partie propose une réflexion sur l'utilisation du modèle PBPK pour la mise en place de scénarios de décontamination. La troisième partie a pour objectif de montrer comment le modèle pourrait servir d'outil de recherche pour mieux comprendre le transfert de la CLD chez les animaux, toutes espèces confondues.

DISTRIBUTION ET ELIMINATION DE LA CHLORDECONE CHEZ LES ANIMAUX D'ELEVAGE – MODELISATION DES PROCESSUS



CHAPITRE 2: TOXICOCINETIQUE DE LA CLD CHEZ LA BREBIS ADULTE ET LE PORC EN CROISSANCE

Expérimentations *in vivo*

ARTICLE 1

- Calcul des coefficients de partage : molécule lipophile à fort tropisme hépatique
- Temps de demi-vies similaires entre les tissus (entre 20 et 24 j)
- Corrélations entre les tissus
- Sérum et TASC : matrices de biomonitoring potentielles

PARTIE 1 / 2.2.2.

- Distribution hétérogène entre les muscles
- Distribution pilotée par les lipides polaires
- Distribution dans le foie pas uniquement expliquée par les lipides polaires: liaison aux protéines hépatiques ?

ARTICLE 2

- Caractérisation des formes retrouvées dans les matrices
- Calcul des clairances fécales et urinaires de la CLD et du CLDOH
- 82% de la CLD sérique éliminée dans les fèces (50% sous forme CLD et 32% sous forme CLDOH) ; voie urinaire minoritaire (<3%)
- Méthode de calcul de la CLD excrétée à partir d'une prise de sang

Expérimentations *in vivo*

ARTICLE 3

- Paramètres toxicocinétiques de la CLD chez le porc: clairance sérique, volume de distribution, temps de demi-vie
- Variabilité inter-individuelle expliquée en partie par le GMQ

PARTIE 2 / 2.2.

- Ratios de concentrations entre tissus
- Organotropisme au niveau du foie
- Distribution hétérogène entre la hampe et le long dorsal

PARTIE 2 / 2.3

- Caractérisation des formes retrouvées dans les matrices
- Calcul des clairances fécales de la CLD et du CLDOH
- CLD faiblement métabolisée chez le porc
- 22% de la CLD sérique éliminée dans les fèces (20% sous forme CLD et 2% sous forme CLDOH)



CHAPITRE 3: DEVELOPPEMENT D'OUTILS D'AIDE A LA DECISION

PARTIE 1

- Utilisation des intervalles de prédiction
- Sérum = seule matrice de biomonitoring pertinente ($C_{critique, \text{sérum}} = 0,06 \text{ ng g}^{-1}$)
- Outil préventif pour s'assurer de la conformité d'une carcasse et pour la mise en place de stratégies de décontamination simples

PARTIE 2

- Modèle PBPK développé chez la brebis
3 compartiments de distribution : foie, muscle, tissu adipeux
2 voies d'élimination : métabolisme et excrétion fécale
- Modèle de référence à valider
- Fraction libre hépatique à mieux estimer
- Variabilité des paramètres à mieux définir pour la construction d'un modèle de population

- Toxicocinétique globale
- Distribution
- Elimination
- Outils d'aide à la décision

CLD: chlordécone; CLDOH: chlordécol; TASC: tissu adipeux sous-cutané; GMQ: gain moyen quotidien

Figure 44: Principaux résultats obtenus dans la thèse

PARTIE 1: Apports de connaissances sur la toxicocinétique de la chlordécone chez la brebis adulte et le porc en croissance

Les objectifs de cette thèse étaient de : (1) décrire le comportement de la CLD chez deux modèles animaux, la brebis adulte et le porc en croissance et (2) développer des outils d'aide à la décision permettant d'évaluer des stratégies d'élevage afin de sécuriser les produits animaux.

Dans la thèse de Saint-Hilaire (2018), la toxicocinétique de la CLD chez la brebis avait en partie été caractérisée suite à des administrations *i.v.* de CLD et de CLDOH. Ces expérimentations ont permis d'obtenir les paramètres toxicocinétiques de la CLD et du CLDOH et de mieux comprendre l'élimination de la CLD via le métabolisme et l'excrétion. Chez le porc en croissance, aucune étude n'avait jusqu'alors caractérisé la toxicocinétique de la CLD.

Pour répondre au premier objectif de la thèse, des protocoles expérimentaux *in vivo* ont été mis en place afin de compléter les connaissances sur la toxicocinétique de la CLD chez la brebis adulte et de commencer sa caractérisation chez le porc en croissance. La figure 44 résume les principaux résultats obtenus dans cette thèse.

1. Apport de connaissances sur l'élimination de la chlordécone

1.1. Différents types de modélisation pour déterminer les paramètres toxicocinétiques de la chlordécone et du chlordécol

A notre connaissance, aucune étude n'avait pour l'instant caractérisé la toxicocinétique d'un polluant avec des approches de population. Cependant, cette approche est intéressante car elle permet d'estimer les paramètres toxicocinétiques dans une population d'individus, de modéliser la variabilité interindividuelle et éventuellement de l'expliquer par des facteurs physiologiques. L'approche de population utilisée chez le porc suite à l'administration d'une *i.v.* en dose unique de CLD (expérimentation C1) a permis pour la première fois d'obtenir les paramètres toxicocinétiques de la CLD chez le porc en croissance et d'expliquer une partie de la variabilité interindividuelle par le GMQ.

Des expérimentations *in vivo* similaires à celle menée chez le porc avaient déjà été réalisées chez la brebis et la chèvre (Saint-Hilaire et al., 2019 ; Fournier et al., 2017). La modélisation non-compartimentale a été utilisée pour calculer et comparer les paramètres toxicocinétiques principaux de la CLD chez le porc, la brebis et la chèvre avec une méthodologie homogène. La clairance obtenue chez le porc est significativement supérieure à celle obtenue chez la brebis ($79,6 \pm 4,4$ et $51,0 \pm 6,1$ mL kg⁻¹

j^{-1} respectivement) ce qui traduit une capacité d'élimination de la CLD chez le porc supérieure à celle de la brebis. Cependant, le temps de demi-vies d'élimination de la CLD obtenu chez le porc est largement supérieur à celui obtenu chez la brebis et la chèvre (55, 24 et 20 j respectivement ; Fourcot et al., 2020 ; Fournier et al., 2017 ; Saint-Hilaire et al., 2018). Cela s'explique par le volume de distribution de la CLD chez le porc qui est 3,7 et 3,3 fois supérieur à celui de la chèvre et de la brebis respectivement. Ces résultats sont intéressants pour mieux comprendre le devenir de la CLD chez ces espèces et potentiellement envisager la mise en place de stratégies de décontamination.

La modélisation compartimentale a également été utilisée afin de déterminer les paramètres d'élimination du CLDOH-t suite à l'administration *i.v.* de CLDOH réalisée chez le porc (expérimentation C2). Cela a permis de déterminer la clairance globale d'élimination du CLDOH-t ($3037 \pm 108 \text{ mL kg}^{-1} \text{ j}^{-1}$) et de la comparer à celle obtenue chez la brebis ($660 \pm 76 \text{ mL kg}^{-1} \text{ j}^{-1}$; Article 2). La clairance d'élimination du CLDOH-t est 4,6 fois plus élevée chez le porc que chez la brebis. Cette clairance très élevée chez le porc suppose que le CLDOH-t est très vite éliminé du compartiment sanguin et cela expliquerait que cette forme ne soit pas quantifiée dans le sérum suite à l'administration *i.v.* de CLD contrairement à la brebis. L'administration *i.v.* de CLDOH chez le porc a également confirmé que la réaction de transformation de la CLD en CLDOH peut être considérée non réversible car la CLD n'a pas été quantifiée dans le sang. Par ailleurs, les cinétiques sériques montrent que l'équilibre de la réaction de biotransformation de la CLD en CLDOH est fortement déplacé vers la formation de CLDOH-C.

Ces données toxicocinétiques riches portant à la fois sur la molécule parent et sur les métabolites principaux ont ainsi permis de caractériser l'élimination globale de la CLD chez ces deux espèces.

1.2. Etude des formes de chlordécone dans les matrices d'excrétion pour caractériser le métabolisme

Suite à l'administration *i.v.* de CLD et de CLDOH (expérimentations C1 et C2), la CLD et ses métabolites ont été analysés dans différentes matrices d'excrétion (urine, bile, fèces et contenus digestifs) afin de compléter la caractérisation de l'élimination de la CLD. Les expérimentations similaires mises en place chez la brebis (expérimentations A1 et A2) ont permis de mettre en évidence des différences entre ces deux espèces.

Dans les échantillons d'urine, la CLD parent et le CLDOH-C ont été quantifiés chez la brebis (ratio de concentrations CLDOH-C/CLD de 14 ± 3) alors que chez le porc la CLD parent et le CLDOH libre ont été quantifiés (ratio de concentrations CLDOH/CLD de 30 ± 7).

Dans les échantillons de bile, la CLD et le CLDOH-C ont été quantifiés chez la brebis et le porc avec des ratios CLD/CLDOH-C respectifs de $1,7 \pm 0,2$ et 11 ± 2 . Dans les échantillons de fèces, la CLD

parent et le CLDOH ont été quantifiés chez la brebis et le porc avec des ratios CLD/CLDOH respectifs de $1,9 \pm 0,1$ et $10,7 \pm 0,6$. Les ratios de concentrations CLD/CLDOH-t dans la bile et les fèces supposent que le porc métabolise moins la CLD en CLDOH-t que la brebis. Ces résultats supposent également qu'un processus de déconjugaison du CLDOH-C est mis en place chez le porc au niveau du gros intestin, comme celui mis en évidence chez la brebis (Saint-Hilaire, 2018).

1.3. Utilisation des clairances pour estimer l'excrétion fécale, une méthode générique

Les administrations *i.v.* de CLD et de CLDOH chez la brebis et le porc ont permis de calculer les clairances sériques et fécales de la CLD et du CLDOH-t. La clairance fécale de la CLD chez la brebis et le porc en croissance ont été estimées respectivement à $25,1 \pm 2,8$ et $15,1 \pm 0,9$ mL kg⁻¹ j⁻¹. La clairance fécale du CLDOH chez la brebis et le porc en croissance ont été estimées respectivement à 422 ± 65 et 537 ± 25 mL kg⁻¹ j⁻¹. L'utilisation de ces paramètres toxicocinétiques ont permis de quantifier l'élimination de la CLD chez la brebis et le porc et d'estimer les parts de CLD excrétées via les fèces sous forme parent ou métabolites. Chez la brebis, 82% de la CLD sérique est éliminée via les fèces (50% sous forme parent et 32% sous forme CLDOH). Ces calculs ont été réalisés en considérant que la CLD non éliminée sous forme parent dans les fèces et les urines est métabolisée sous forme CLDOH. Cependant, ce postulat important n'est pas juste s'il existe des voies métaboliques non identifiées. Chez le porc, 20 % de la CLD sérique est éliminée via les fèces sous forme parent et 18% du CLDOH-t sérique est éliminé via les fèces sous forme CLDOH. Si le postulat utilisé chez la brebis était appliqué chez le porc, l'excrétion de CLDOH serait largement surestimée et incohérente avec les ratios de concentrations CLD/CLDOH obtenus dans les fèces. Ces résultats supposent l'existence de voies métaboliques de la CLD non identifiées. Bien que la voie urinaire soit minoritaire pour l'excrétion de CLD et de CLDOH, d'autres métabolites pourraient être détectés dans cette matrice. En effet, divers produits de transformation de la CLD ont été détectés dans l'eau et les sols de Martinique (Chevallier et al., 2019). Certaines de ces molécules pourraient provenir de la biotransformation de la CLD chez l'animal.

L'article 2 a également présenté une méthode simple et robuste permettant de quantifier à partir d'une prise de sang la CLD rejetée dans l'environnement lors de la mise en place de stratégies de décontamination. A notre connaissance, un seul article a utilisé la clairance fécale pour estimer le transfert de doramectine, ivermectine et moxidectine de l'animal à l'environnement (Bousquet-Mélou et al., 2004). Notre étude a permis de valider cette méthode et de démontrer que les quantités de CLD excrétées peuvent être estimées de manière fiable à partir des clairances fécales et sériques. Cette méthode générique pourrait être appliquée en toxicologie environnementale pour estimer le transfert de polluants ou de molécules pharmaceutiques de l'animal à l'environnement.

2. Apport de connaissances sur la distribution de la chlordécone

Les concentrations tissulaires de CLD obtenues chez la brebis et le porc ont confirmé l'affinité particulière de la CLD pour le foie. Contrairement aux autres polluants lipophiles qui se répartissent selon les lipides totaux dans l'organisme, ces travaux de thèse ont montré que la distribution de la CLD semble pilotée en partie par les lipides polaires. Ces conclusions sont cohérentes avec les résultats d'une étude menée chez le chevreau (Lerch et al., 2018). Cependant, les lipides polaires n'expliquent pas la distribution particulière de la CLD au niveau du foie. Des phénomènes de liaisons de la CLD aux protéines hépatiques expliqueraient les concentrations élevées dans cet organe (Belfiore et al., 2007).

L'étude de distribution tissulaire menée chez la brebis (expérimentation B) a également permis d'établir des corrélations entre les tissus et de déterminer les temps de demi-vies tissulaires de la CLD chez cette espèce (entre 20 et 24 j). Aucune différence significative n'a été observée entre les temps de demi-vies tissulaires de la CLD obtenus chez la brebis. Jusqu'à maintenant, les temps de demi-vies tissulaires de la CLD avaient uniquement été calculés chez la volaille (Jondreville et al., 2014a, 2014b). La linéarité de la cinétique de la CLD (Saint-Hilaire et al., 2019) et la similitude entre les temps de demi-vies sérique et tissulaires peuvent permettre de réaliser plus facilement du biomonitoring. En effet, l'étude des corrélations entre les concentrations tissulaires a permis d'identifier le sérum comme une matrice de biomonitoring pertinente pour prédire les niveaux de contamination dans le TAPR (matrice de gestion).

3. Bilan et perspectives

L'ensemble des expérimentations *in vivo* mises en place ont permis des avancées significatives sur la compréhension de la toxicocinétique de la CLD chez la brebis et le porc en croissance. Chez la brebis, ces travaux ont complété les connaissances sur l'excrétion de la CLD et ont permis de caractériser la dynamique de distribution tissulaire. Chez le porc, ces travaux ont permis d'obtenir pour la première fois les paramètres toxicocinétiques de la CLD et du CLDOH et d'apporter des résultats préliminaires sur la distribution de la CLD. Cependant, la dynamique de distribution de la CLD n'a pas encore été caractérisée chez le porc. Pour pouvoir proposer des outils similaires à ceux développés chez la brebis et accompagner la filière porcine, une expérimentation *in vivo* permettant de caractériser la dynamique de distribution tissulaire chez le porc en croissance est nécessaire. Le temps de demi-vie de la CLD étant plus long chez le porc que chez la brebis, une dose de charge suivie d'une contamination chronique par voie orale pourrait être pertinente pour simplifier le protocole et garantir un état d'équilibre en fin de contamination.

En effet, il est important d'insister sur la lourdeur expérimentale pour obtenir ces données ainsi que les coûts associés sur les plans humain et financier. La CLD ayant un temps de demi-vie long par rapport à des molécules pharmaceutiques induit des durées d'expérimentation importantes et les modèles animaux choisis sont des animaux sur lesquels les procédures expérimentales ne sont pas aisées. Ces limites expérimentales montrent l'importance et la force des données acquises. En effet, les données obtenues chez la brebis seront utilisées pour aider la filière ovine mais également pour développer des outils permettant d'accompagner la filière bovine car le travail expérimental réalisé chez l'ovine ne pourra pas être réalisé chez le bovin.

PARTIE 2: Applications du modèle PBPK pour la mise en place de stratégies de décontamination *in situ*

Le modèle PBPK construit chez la brebis permet de prédire les concentrations de CLD dans le muscle, le gras, le foie et le sérum au cours du temps pour des scénarios d'exposition donnés. Pour répondre à la demande sociétale qui consiste à rechercher des produits animaux dépourvus de résidus de CLD, ce modèle a deux enjeux : (1) estimer des temps de décontamination pour se situer en dessous des LMR et (2) estimer le transfert de CLD de l'animal à des parcelles agricoles. L'objectif de cette partie est d'illustrer les applications possibles du modèle PBPK comme outil d'aide à la décision pour mettre en place des stratégies de décontamination *in situ*.

1. Applications du modèle PBPK : simulation de scénarios de décontamination

1.1. Estimation de la contamination initiale de l'animal

Le module d'exposition intégré au modèle permet de simuler des scénarios d'exposition des animaux et de prédire la dynamique de contamination dans les tissus. Pour prédire des concentrations tissulaires de manière fiable, les pratiques d'élevage, l'historique des animaux, la concentration de CLD des matrices ingérées (sol, fourrages, co-produits de cultures...), leur quantité et la durée de contamination des animaux doivent être connus. Cependant, le manque d'informations précises disponibles auprès des éleveurs et le déficit actuel manque de connaissances scientifiques (sur la concentration ou la bioaccessibilité de la CLD dans le fourrage) rendent le paramétrage des conditions d'exposition difficile. De ce fait, l'application du modèle *in situ* présente moins d'incertitude pour des applications de décontamination que pour des prédictions de contamination. Pour pouvoir accompagner les éleveurs à l'aide de cet outil et mettre en place des stratégies de décontamination, le niveau de contamination initiale de l'animal peut être estimé à partir d'une prise de sang. En utilisant les coefficients de partage (K_p), la concentration initiale dans les compartiments pourra être estimée à partir de la concentration initiale dans le sérum.

Parmi les scénarios proposés, deux niveaux de contamination initiale sont considérés : un niveau moyen (correspondant à $40 \mu\text{g kg}^{-1}$ MG dans le TAPR) et un niveau élevé (correspondant à $100 \mu\text{g kg}^{-1}$ MG dans le TAPR). Les niveaux de contamination ont été choisis afin qu'ils soient supérieurs à la LMR et représentatifs des données de terrain. Le niveau moyen correspond environ à la médiane des concentrations obtenues sur les bovins non conformes des PSPC 2019 (DGAL, communication personnelle) et le niveau élevé correspond environ au 95^{ème} percentile des concentrations obtenues sur

les bovins non conformes de l'étude triplet (ANSES, 2018). Les concentrations initiales dans les autres compartiments ont été obtenues à partir des Kp.

1.2. Définition des scénarios de décontamination

L'intérêt du modèle PBPK est de pouvoir simuler différents scénarios de décontamination sur des parcelles plus ou moins contaminées. Cet outil pourra ainsi permettre de proposer des stratégies de décontaminations adaptées aux contraintes spécifiques des élevages accompagnés.

Parmi les 3 770 ha de surfaces contaminées de manière avérée en Martinique, 2 091 ha présentent un taux de contamination supérieur à $1 \text{ mg kg}^{-1} \text{ MS}$ et 1 678 ha ont un taux de contamination compris entre 0,1 et $1 \text{ mg kg}^{-1} \text{ MS}$ (Desprats et al., 2016). Pour les deux niveaux de contamination initiale étudiés, trois scénarios de décontamination ont été considérés : (1) une décontamination sur une parcelle totalement indemne de CLD, (2) une décontamination sur une parcelle contaminée à $5 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1} \text{ MS}$ (concentration égale à la LQ de la CLD dans le sol ; Rochette et al., 2017) et (3) une décontamination sur une parcelle contaminée à $200 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1} \text{ MS}$. Les scénarios proposés permettront de discuter la faisabilité des stratégies de décontamination sur des parcelles faiblement contaminées. Dans les trois scénarios, les animaux sont nourris exclusivement à l'herbe pâturée et ingèrent du sol à hauteur de 7% de la matière sèche ingérée, hypothèse majorante quant à l'ingestion de sol (Collas et al., 2019 ; Jurjanz et al., 2017). Le tableau 33 résume les conditions de chaque scénario de décontamination considéré. Dans ces scénarios, la concentration du fourrage et de l'eau ont été considérées comme nulles. Cela est une hypothèse forte car des études récentes ont montré que la CLD pouvait être transférée aux plantes (Liber, 2019).

Les figures 45 A et B présentent l'évolution des concentrations de CLD dans le TAPR pendant la période de décontamination sur les 3 parcelles à partir d'un niveau de contamination initiale de $40 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1} \text{ MG}$ et de $100 \text{ } \mu\text{g kg}^{-1} \text{ MG}$ respectivement.

2. Estimation des temps d'attente pour atteindre une concentration cible

A partir des scénarios de décontamination proposés, des temps d'attente pour atteindre une concentration cible peuvent être calculés. Les simulations de scénario proposées ici permettent de présenter la méthodologie qui pourrait être mise en place sur le terrain pour accompagner les éleveurs et de discuter la faisabilité des stratégies de décontamination sur des parcelles plus ou moins contaminées. Le tableau 34 présente les temps d'attentes nécessaires pour atteindre la LMR ou la LQ en fonction du niveau de contamination initiale et du scénario de décontamination considéré.

Tableau 33: Conditions des exemples de scénarios de décontamination proposés

	Matrice x	quantité de matrice ingérée (kg) matrix_amount_ingestedx	matière sèche matrix_DMx	digestibilité matrix_digestibilityx	temps initial ti_expoz	durée (j) d_expoz	concentration de CLD ($\mu\text{g kg}^{-1}$ MS) matrix_concentrationx	bioaccessibilité k_matrix_bioaccesssx
1	Sol contaminé	0,04	1	0	0	250	0	0,9
	Herbe	6,6	0,2	0,6	0	250	0	0
2	Sol contaminé	0,04	1	0	0	250	5	0,9
	Herbe	6,6	0,2	0,6	0	250	0	0
3	Sol contaminé	0,04	1	0	0	250	200	0,9
	Herbe	6,6	0,2	0,6	0	250	0	0

1 : scénario de décontamination 1 ($[\text{CLD}]_{\text{sol}} = 0 \mu\text{g kg}^{-1}$ MS) ; 2 : scénario de décontamination 2 ($[\text{CLD}]_{\text{sol}} = 5 \mu\text{g kg}^{-1}$ MS) ; 3 : scénario de décontamination 3 ($[\text{CLD}]_{\text{sol}} = 200 \mu\text{g kg}^{-1}$ MS)

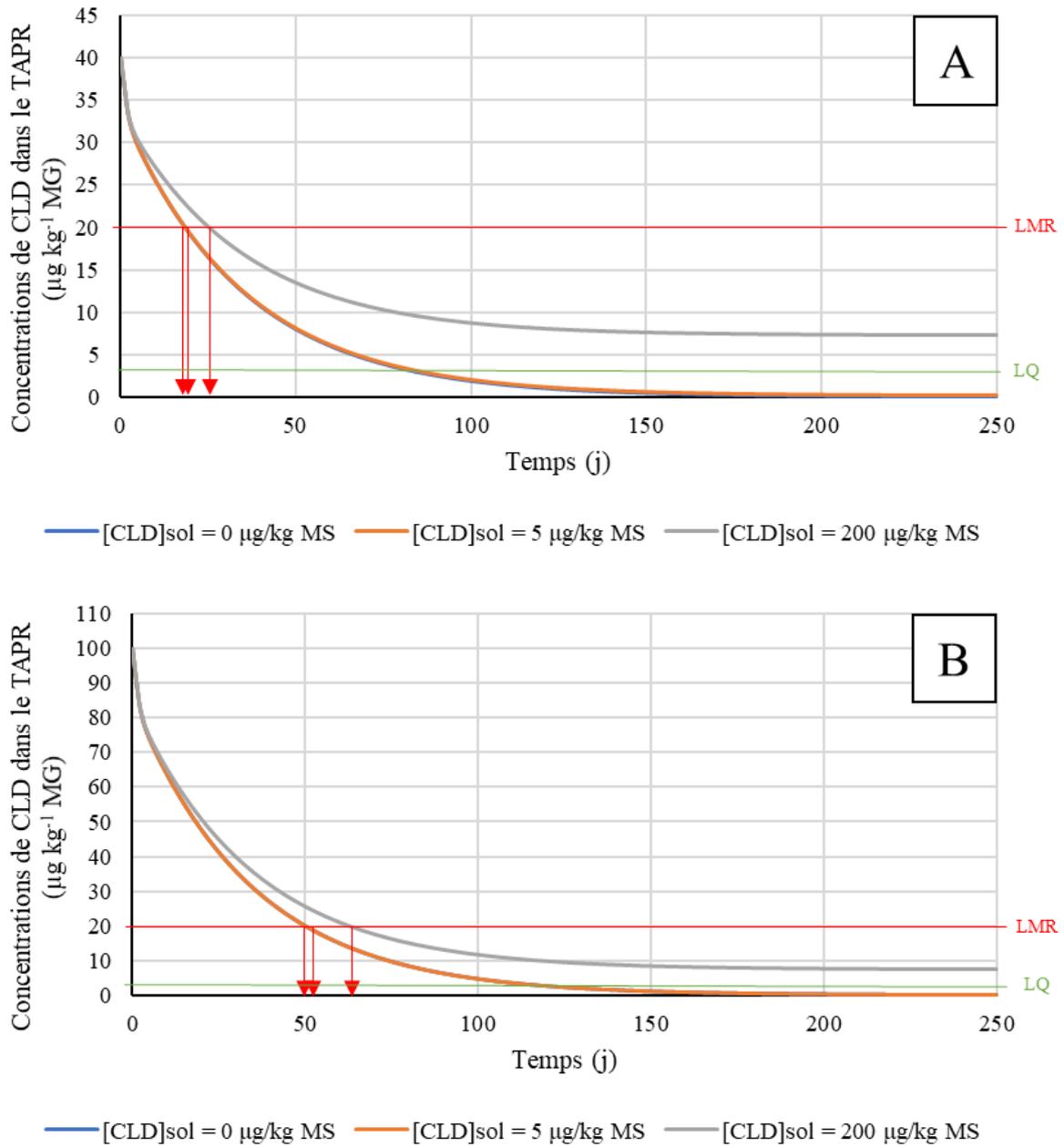


Figure 45: Evolution des concentrations de chlordécone dans le tissu adipeux périrénal pendant la période de décontamination sur des parcelles contaminées à 0, 5 et 200 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MS avec une concentration initiale de (A) 40 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MG et (B) 100 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MG dans le tissu adipeux périrénal

Pour les deux niveaux de contamination et les trois scénarios de décontamination considérés, les temps d'attente pour atteindre la LMR sont inférieurs à environ 2 mois (de 20 à 60 j). Cela confirme la compatibilité des stratégies de décontamination avec les pratiques d'élevage chez l'ovin. Pour rappel, 97% des bovins analysés dans l'étude triplet ont présenté des concentrations dans le TAPR inférieures à 70 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MG (ANSES, 2018). Pour la majorité des animaux, une période de décontamination pourrait donc permettre d'obtenir rapidement des carcasses conformes.

Tableau 34 : Temps d'attente pour atteindre la LMR ou la LQ en fonction d'un niveau de contamination initiale et du scénario de décontamination considéré

		Niveau de contamination initiale moyen (40 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MG dans TAPR)			Niveau de contamination initiale moyen (100 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MG dans TAPR)		
		1	2	3	1	2	3
Temps d'attente (en j)	concentration cible = LMR (20 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MG)	19	19	26	50	51	63
	concentration cible = LQ (3 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MG)	86	86	∞	116	118	∞

1 : scénario de décontamination 1 ($[\text{CLD}]_{\text{sol}} = 0 \mu\text{g kg}^{-1}$ MS) ; 2 : scénario de décontamination 2 ($[\text{CLD}]_{\text{sol}} = 5 \mu\text{g kg}^{-1}$ MS) ; 3 : scénario de décontamination 3 ($[\text{CLD}]_{\text{sol}} = 200 \mu\text{g kg}^{-1}$ MS) ; LMR : Limite Maximale de Résidus ; LQ : limite de quantification.

Le tableau 34 montre que peu importe le niveau de contamination initiale, la durée de la décontamination pour atteindre la LMR sur une parcelle indemne de CLD ne diffère que de quelques jours par rapport à celle sur une parcelle présentant une concentration de CLD dans le sol de l'ordre de la LQ (5 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MS). Cependant, si la décontamination est réalisée sur une parcelle faiblement contaminée (200 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MS), les temps de décontamination peuvent être rallongés de plusieurs jours, et ce d'autant plus que la contamination initiale de l'animal est élevée. L'ensemble de ces simulations montre que pour des éleveurs qui ne possèdent pas de parcelles totalement exemptes de CLD, des parcelles faiblement contaminées pourraient suffire pour décontaminer les animaux et obtenir des concentrations de CLD dans le TAPR inférieures à la LMR, sans rallonger considérablement les durées de décontamination. A partir de multiples scénarios, des seuils de contamination des parcelles permettant de décontaminer les animaux pourraient être définis.

Depuis 2018, la filière « zéro CLD » s'ancre de plus en plus dans les débats. L'objectif de cette filière est de garantir des niveaux de CLD inférieurs à la LQ dans les produits alimentaires. Les résultats présentés dans le tableau 34 montrent que pour obtenir des concentrations de CLD inférieures à la LQ dans le TAPR, les temps d'attente sont beaucoup plus longs même lorsque la contamination initiale de l'animal est faible. Par ailleurs, dès lors que la parcelle est très faiblement contaminée, la durée pour atteindre la LQ est très significativement augmentée. Si les animaux sont décontaminés sur une parcelle faiblement contaminée (200 $\mu\text{g kg}^{-1}$ MS), la LQ est inatteignable. Les stratégies de décontamination ne

semblent donc pas adaptées pour la filière « zéro CLD ». Pour produire de la viande sans trace de CLD, les pratiques d'élevage mises en place doivent permettre de ne pas du tout exposer les animaux à cette molécule. S'ils sont élevés en zone contaminée, l'éleveur doit donc veiller à ne pas leur donner des aliments ou de l'eau contaminée et à ne pas les exposer au sol.

3. Estimation du retour au sol et modification des concentrations de chlordécone dans le sol des aires de décontamination

3.1. Estimation du retour au sol

Les calculs de temps d'attente montrent que les stratégies de décontamination sont prometteuses pour produire de la viande saine et pourraient être appliquées sur le terrain à court terme grâce aux outils d'aide à la décision développés. Cependant, un des freins principaux est l'acceptabilité de ces stratégies par les acteurs locaux. En effet, le transfert d'un animal de sa zone d'origine à une parcelle de décontamination induira des transferts de pollution de l'animal à la parcelle agricole.

Tableau 35: Quantification du retour au sol (horizon 0-5 cm)

	Niveau de contamination initiale moyen (40 µg kg ⁻¹ MG dans TAPR)			Niveau de contamination initiale moyen (100 µg kg ⁻¹ MG dans TAPR)		
quantité de CLD par ha excrété via les fèces pour atteindre la LMR (mg ha ⁻¹)	4,24			18,5		
	1	2	3	1	2	3
Concentration du sol après décontamination (µg kg ⁻¹ MS)	0,01	5,01	200,01	0,05	5,05	200,05
Variation de concentration $\Delta C = \frac{Cf - Ci}{Ci}$	/	0,21%	0,01%	/	0,92%	0,02%
quantité de CLD par ha excrété via les fèces pour atteindre la LQ (mg ha ⁻¹)	8,74			23,1		
	1	2	3	1	2	3
Concentration du sol après décontamination (en µg kg ⁻¹ MS)	0,02	5,02	200,02	0,06	5,06	200,06
Variation de concentration $\Delta C = \frac{Cf - Ci}{Ci}$	/	0,44%	0,01%	/	1,15%	0,03%

1 : scénario de décontamination 1 ([CLD]_{sol} = 0 µg kg⁻¹ MS) ; 2 : scénario de décontamination 2 ([CLD]_{sol} = 5 µg kg⁻¹ MS) ; 3 : scénario de décontamination 3 ([CLD]_{sol} = 200 µg kg⁻¹ MS) ; Ci : concentration initiale de CLD dans le sol sur la parcelle de décontamination ; Cf : concentration finale de CLD dans le sol sur la parcelle de décontamination.

Le modèle PBPK construit permet de calculer les quantités de CLD rejetées dans l'environnement par les animaux pendant une période de temps. Cette quantification est nécessaire pour discuter de l'acceptabilité des stratégies de décontamination avec les acteurs locaux et de leur permettre de décider du devenir de ces effluents contaminés. Ils pourront décider de les laisser sur les parcelles de décontamination, de les restituer aux parcelles d'origine ou de les traiter.

A partir des scénarios de décontamination proposés précédemment, l'excrétion de CLD via les fèces a été quantifiée. Dans ces calculs, le lessivage de la CLD et l'excrétion urinaire sont négligés. Le tableau 35 présente les quantités de CLD excrétées via les fèces par ha pour atteindre la LMR ou la LQ. La quantité totale de CLD excrétée par brebis pour atteindre la LMR a été obtenue directement à partir des sorties du modèle. Le calcul du retour au sol en mg CLD ha⁻¹ a été réalisé en considérant un chargement de 3 Unités Gros Bétail (UGB) par ha (1 brebis = 0,15 UGB). Les chargements aux Antilles varient entre 2 et 3 UGB par ha (Galan et al., 2009 ; Mahieu et al., 1997), le chargement considéré pour les simulations permet donc de réaliser des calculs de retour au sol protecteurs.

3.2. Modification des teneurs en chlordécone sur les parcelles de décontamination

Les calculs de quantité de terre ont été réalisés en considérant que la CLD excrétée par les animaux se retrouve dans les 5 premiers cm de sol. Ainsi, pour une surface de 1 ha et une profondeur de 5 cm, le volume de terre est de 500 m³. Les sols des Antilles sont relativement légers, la densité apparente des sols antillais est comprise entre 0,78 et 1,09 g cm³ pour des profondeurs entre 0 et 10 cm (Albrecht et al., 1992). En considérant une densité de 0,8 g cm³, la terre contenue dans le volume de 500 m³ pèse environ 400 t. La concentration finale de CLD sur la parcelle et le pourcentage de variation de concentration par rapport à la concentration initiale ont ainsi pu être calculées (tableau 35).

Les résultats présentés dans le tableau 35 montrent que même pour un niveau de contamination initiale élevé, la CLD rejetée dans l'environnement modifie très peu les concentrations dans les sols. Pour des parcelles déjà contaminées, la variation de concentration pour un cycle de décontamination est largement inférieure à 1,5%. Plus la parcelle est contaminée initialement, plus la variation de concentration diminue. Bien que les temps d'attente soient allongés, décontaminer des animaux sur des parcelles déjà faiblement contaminées serait certainement plus « acceptable » socialement que de réaliser la décontamination sur des parcelles totalement indemnes de CLD même si le retour au sol est très faible. Ces résultats donnent donc des chiffres concrets permettant de discuter l'acceptabilité des stratégies de décontamination et de leurs conditions d'applications. En fonction du nombre de cycles de décontamination réalisés sur une parcelle, l'évolution des concentrations dans le sol pourrait être estimée de la même façon.

PARTIE 3: Réflexions sur la structure du modèle PBPK pour des extrapolations à d'autres espèces

Le devenir de la CLD diffère selon l'espèce et le stade physiologique considérés. Le travail de modélisation réalisé ne se limite pas uniquement à la brebis mais peut permettre d'apporter une réflexion plus large sur le transfert de CLD chez d'autres espèces animales. L'objectif de cette partie est de prendre du recul sur le modèle PBPK construit chez la brebis et d'identifier les éléments qui peuvent diverger entre les espèces et impacter la toxicocinétique de la CLD.

Les modèles PBPK offrent la possibilité de faire des extrapolations entre espèces avec peu de données expérimentales (Brochot et al., 2014 ; Thiel et al., 2015). Le modèle a été développé en premier lieu chez la brebis adulte pour des raisons de facilité d'expérimentation et de coûts expérimentaux. Une fois ce modèle validé à partir d'un jeu de données indépendantes, une des perspectives directes de ce travail est de l'extrapoler au bovin puis éventuellement à d'autres espèces. Cette partie permettra d'illustrer comment sa structure pourrait évoluer pour l'adapter à d'autres espèces, en se basant sur des données présentes dans la littérature.

1. Origine des différences de demi-vies entre espèces

Le tableau 36 montre que les temps de demi-vies de la CLD peuvent être très différents en fonction de l'espèce et du stade physiologique. Le temps de demi-vie est un paramètre qui caractérise la persistance d'une molécule dans un compartiment et qui dépend de deux paramètres indépendants : la clairance globale d'élimination et le volume de distribution. Les différences de temps de demi-vies entre espèces peuvent donc provenir des capacités d'élimination de la CLD par l'animal (de biotransformation ou d'excrétion) mais aussi de la distribution dans l'organisme.

Tableau 36: Temps de demi-vies sériques de la chlordécone chez différentes espèces

Espèce	stade physiologique	$t_{1/2}$ sérum (j)	Référence
Brebis	adulte non lactante	24	Saint-Hilaire et al., 2019
Rat	adulte	24-45	Egle et al., 1978
Vache	adulte non lactante	43	Mahieu et al., 2015
Chèvre	adulte non lactante	20	Fournier et al., 2017
Chevreau	en croissance	14	Lastel, 2016
Porc	en croissance	55	Fourcot et al., 2020
Porcelet	en croissance	12-22	Soine et al., 1983
Poule	en ponte	5,1	Jondreville et al., 2014a
Cane	en ponte	20	Jondreville et al., 2014b

Les travaux de Molowa et al. (1986a) et de Saint-Hilaire (2018) ont montré que les variabilités d'élimination inter-espèces pourraient être expliquées par des variations de métabolisme. L'enzyme chlordécone reductase impliquée dans la biotransformation de la CLD est présente chez de nombreuses espèces comme le porc, l'homme, la gerbille, la brebis, la chèvre, le canard et le ouassou (Fariss et al., 1980 ; Houston et al., 1981 ; Soine et al., 1983 ; Molowa et al., 1986a, 1986b ; Saint-Hilaire et al., 2018 ; Lafontaine et al., 2017). Cependant, le métabolisme n'explique pas à lui seul les différences inter-espèces. En effet, le rat est connu pour ne pas biotransformer la CLD en CLDOH mais il présente un temps de demi-vie relativement court (24-45 j ; Egle et al., 1978) par rapport au porc en croissance ou la brebis qui métabolisent la CLD (55 j et 24 j respectivement ; Fourcot et al., 2020 ; Saint-Hilaire et al., 2019). De la même façon, le poisson chat présente un temps de demi-vie court dans les tissus (8,3 j) alors que le ratio de concentration de CLD/CLDOH-t dans la bile d'environ 50 suppose que cet animal métabolise très peu la CLD (van Veld et al., 1984).

Les temps de demi-vies peuvent également varier en fonction des capacités d'excrétion de la CLD de l'animal. Pour certaines espèces et à certains stades physiologiques, d'autres voies d'excrétion sont des voies d'élimination importantes de la CLD. Chez la vache lactante, le lait constitue une matrice d'excrétion de la CLD (Smith et Arant, 1967). Chez la poule ou la cane en ponte, le jaune d'œuf est une voie qui contribue à l'élimination de la CLD de l'animal (Jondreville et al., 2014a, 2014b). Le taux de ponte relativement faible chez la cane limite l'élimination de la CLD par cette voie et explique en partie le temps de demi-vie plus long observé par rapport à la poule pondeuse (environ 20 j contre 5,5 j respectivement ; Jondreville et al., 2014a, 2014b). Chez le ouassou (*M. Rosenbergii*) et le crabe bleu (*C. sapidus*), les femelles ont tendance à être moins contaminées que les mâles (Lafontaine et al., 2017 ; Roberts et Leggett, 1980 ; Schimmel et al., 1979). Cette différence peut être expliquée par le taux de lipides souvent plus important chez les femelles pour assurer la reproduction (Gismondi et al., 2012) mais également par la ponte. En effet, les ouassous et les crabes femelles en ponte ont présenté des concentrations de CLD supérieures dans les œufs que dans les tissus (Lafontaine et al., 2017 ; Roberts et Leggett, 1980).

Par ailleurs, comme la majorité des crustacés, la croissance du ouassou se fait par mues successives. Lafontaine et al. (2017) ont montré que la CLD était accumulée dans la cuticule (cephalothorax et cuticules de l'abdomen). Ce renouvellement de la cuticule peut être considérée comme un mécanisme d'élimination car suite aux mues successives qui ont lieu tous les 9 à 22 j, le ouassou peut éliminer la CLD qui s'y est accumulée. Le ouassou comme probablement d'autres crustacés, présente donc deux voies d'élimination importante de la CLD : la ponte (uniquement chez la femelle) et la mue.

Enfin, la croissance des animaux provoque des effets de dilution de la molécule qui ont tendance à sous-estimer les temps de demi-vie « réels » du stade adulte physiologiquement « stable ». Chez la chèvre, le temps de demi-vie est de 20 j (Fournier et al., 2017) contre 15 j chez le chevreau en croissance (Lastel,

2016). La différence de temps de demi-vie observée entre la chèvre adulte et le chevreau peut être expliquée en partie par la dilution de la CLD pendant la croissance de ce dernier. Dans l'expérimentation menée chez le porc en croissance, les animaux présentaient un GMQ de 288 g j^{-1} et les porcs ont grossi en moyenne de +35% par rapport à leur poids initial sur la durée de l'expérimentation (Fourcot et al., 2020). Le temps de demi-vie de 55 j observé chez le porc en croissance est donc certainement inférieur à celui d'un animal adulte. Chez le porcelet en croissance, les temps de demi-vies faibles observés pourraient être expliqués en partie par un effet de dilution car les animaux ont grossi de +100% par rapport à leur poids initial sur la durée de l'expérimentation (Soine et al., 1983). Cet effet de dilution a également été abordé chez le crabe juvénile où la croissance des nouveaux tissus semblait assez rapide pour diluer la CLD (Fisher et al., 1983). Chez le poisson chat, le temps de demi-vie très court pourrait également être expliqué par un effet de dilution dans l'organisme car l'étude précise que les animaux ont gagné du poids pendant l'expérimentation (van Veld et al., 1984). Ainsi plus une espèce présente un taux de croissance relatif élevé plus cet effet dilution a une incidence sur le temps de résidence du contaminant.

L'étude de l'affinité de la CLD avec certains tissus, des capacités métaboliques et des voies d'élimination chez plusieurs espèces a permis de mettre en évidence différents processus qui influent sur l'élimination de la CLD. Le processus A est lié à des capacités métaboliques négligeables plus ou moins compensées par une excrétion fécale importante (via l'excrétion biliaire et/ou le retour non-biliaire); c'est l'exemple du rat. Le processus B implique une voie d'excrétion autre que la métabolisation et l'excrétion fécale comme la ponte, la lactation ou la mue. La vache lactante, la poule et la cane en ponte, le ouassou et le crabe illustrent ce processus. Enfin, le processus C correspond à un effet de dilution de la molécule lié à la croissance de l'animal.

Le tableau 37 résume les caractéristiques de distribution et d'élimination des différentes espèces considérées.

2. Conséquences pour la construction de modèles PBPK

Le modèle PBPK construit dans cette thèse est composé de trois compartiments de distribution (foie, muscle, tissu adipeux), deux compartiments sanguins (veineux et artériel), deux compartiments d'élimination (métabolisme et fèces) et un compartiment « rest of the body ». En fonction des processus d'élimination mis en place par l'espèce étudiée, la structure du modèle PBPK pourrait être adaptée.

Tableau 37: Caractéristiques principales de distribution et d'élimination chez différentes espèces

	Espèce	DISTRIBUTION	ELIMINATION				Référence	
		Ordre de concentration dans les tissus	métabolisme ?	Excrétion biliaire ?	Retour non biliaire ?	Croissance ?		Voie de sortie / excrétion ?
	Brebis	foie > gras > muscle > serum (en $\mu\text{g kg}^{-1}$ PF)	Oui	Oui	Oui	Non	Non	Chapitre 2 – partie 1
A	Rat	glande surrénale > foie > rein > gras > muscle (en concentration de C14)	Non	Oui	Oui	Non	Non	Egle et al., 1978
	Poisson chat	cerveau > foie > rein > sang > branchies > carcasse > gras (en $\mu\text{g kg}^{-1}$ PF)	Oui (faible)	Oui	Oui	Oui	Non	van Veld et al., 1984
B	Vache laitière	-	Oui	Oui	Oui	Non	Oui (lait)	Smith et Arant, 1967
	Poule en ponte	foie > œuf > gras > serum > muscle (en $\mu\text{g kg}^{-1}$ PF)	Oui (supposé)	Oui (supposé)	?	Non	Oui (œuf)	Jondreville et al., 2014a
	Cane en ponte	foie > œuf > gras > muscle (en $\mu\text{g kg}^{-1}$ PF)	Oui (supposé)	Oui (supposé)	?	Non	Oui (œuf)	Jondreville et al., 2014b
	Ouassous	Hépatopancréas > cuticule > muscle (en $\mu\text{g kg}^{-1}$ PF)	Oui	Non	Non	Non	Oui (mue et œuf)	Lafontaine et al., 2017
	Crabe	♀ : gonade > hépatopancréas > muscle ♂ : hépatopancréas > gonade > muscle (en $\mu\text{g kg}^{-1}$ PF)	Oui (supposé mais faible)	Non	Non	Non	Oui (œuf)	Roberts et Leggett, 1980
C	Porc en croissance	foie > gras > muscle (en $\mu\text{g kg}^{-1}$ PF)	Oui	Oui	Oui (supposé)	Oui	Non	Fourcot et al., 2020
	Chevreau	foie > carcasse > gras (en $\mu\text{g kg}^{-1}$ MS)	Oui	Oui	Oui (supposé)	Oui	Non	Lastel, 2016

PF : poids frais ; MS : matière sèche ; ♀ : femelle ; ♂ : mâle

2.1. Adaptation de la distribution

Pour extrapoler le modèle PBPK à d'autres espèces, les compartiments qui se chargent beaucoup en CLD doivent être identifiés et les K_p doivent être estimés. Ces compartiments peuvent être par exemple les ovaires, la cuticule, l'hépatopancréas ou le foie. Pour calibrer ou ajuster les K_p , un jeu de données de concentrations tissulaires et sériques serait nécessaire. De plus, la fraction libre hépatique de la CLD chez ces espèces cibles pourrait être déterminée à partir d'expérimentations *in vitro* sur des foies d'animaux supposés à l'équilibre (Dow, 2006).

Par ailleurs, le modèle construit a été développé pour un animal adulte. Dès lors que l'animal est en croissance (processus C), le modèle devrait être adapté en ajoutant un module permettant de faire évoluer les volumes des compartiments avec des approches allométriques de croissance.

2.2. Adaptation du métabolisme

Dans le modèle actuel, l'élimination de la CLD via le métabolisme est régie par une constante de biotransformation qui s'applique sur la concentration libre de CLD dans le foie. Pour les animaux qui ne métabolisent pas la CLD (processus A), cette voie d'élimination n'a pas lieu d'être représentée. Cependant, pour toutes les espèces qui métabolisent la CLD, la constante de biotransformation devrait être modifiée pour caractériser le métabolisme de la CLD plus ou moins intense d'une espèce à l'autre. Pour pouvoir calibrer la constante de biotransformation chez d'autres espèces que la brebis, le métabolisme doit être caractérisé en comparant les ratios de concentrations dans la bile et les matrices d'excrétion et/ou par des approches de dosages d'activité spécifique d'enzymes dans le foie (Molowa et al., 1986a).

2.3. Adaptation de l'excrétion

Dans le modèle développé, aucun retour non biliaire n'a été intégré dans le modèle alors que ce dernier a été mis en évidence chez le rat (Bungay et al., 1981). L'ensemble des espèces présentées, sauf le ouassou et le crabe, possèdent certainement un retour non-biliaire. L'ajout de cette voie d'excrétion pourrait être intéressant pour améliorer le modèle mais sa quantification est difficile.

Par ailleurs, le modèle construit n'intègre pas de voies d'élimination de la CLD autre que le métabolisme et l'excrétion fécale. Pour les espèces qui possèdent une voie d'élimination comme le lait, les œufs ou la mue (processus C), un module de sortie supplémentaire associé à une clairance devrait être intégré au modèle.

6

Conclusion générale et perspectives

Suite à l'abaissement des LMR en 2019, les filières animales locales ont besoin d'accompagnement pour garantir des carcasses saines à l'abattage. Pour créer des outils d'aide à la décision visant à prédire le niveau de contamination des produits animaux, le comportement de la CLD chez les animaux d'élevage doit être caractérisé. Ces travaux de thèse ont permis par une approche mêlant expérimentations *in vivo* et *in silico* de progresser dans la compréhension de la toxicocinétique de la CLD chez deux modèles animaux : le porc en croissance et la brebis pour le modèle ruminant.

Chez le porc en croissance, peu de données étaient disponibles dans la littérature. Ces travaux ont permis de déterminer les paramètres toxicocinétiques de la CLD chez le porc en croissance et d'apporter des connaissances sur la caractérisation du métabolisme et de l'excrétion de la CLD. Les résultats obtenus supposent l'existence de voies métaboliques non identifiées qui constituent des perspectives de recherche. Pour approfondir la compréhension du devenir de la CLD chez le porc, une expérimentation *in vivo* permettant d'étudier la dynamique de distribution de la CLD est à envisager. L'ensemble des résultats de ces études chez le porc présente à terme un double enjeu : (1) proposer des stratégies d'élevage afin d'accompagner les éleveurs porcins dans cette crise et (2) pouvoir extrapoler ces connaissances à l'homme.

Chez l'ovine, l'étude de la dynamique de distribution de la CLD dans l'organisme a permis de compléter la caractérisation de sa toxicocinétique. L'analyse de données toxicocinétiques sanguines, fécales et urinaires ont permis de caractériser et de quantifier l'élimination de la CLD chez la brebis. L'ensemble des données toxicocinétiques collectées chez la brebis ces dernières années ont permis de construire des outils d'aide à la décision permettant (1) de prédire la conformité d'une carcasse *ante-mortem* et (2) de prédire les concentrations dans les tissus en dynamique grâce à un modèle PBPK. Ces outils doivent être validés avant de pouvoir être appliqués sur le terrain. Cette étape de validation permettra d'adapter si nécessaire les outils afin qu'ils soient utilisés au plus vite pour proposer des stratégies aux éleveurs faisant face à la contrainte de la CLD. La construction du modèle PBPK a permis de formaliser et d'intégrer l'ensemble des connaissances acquises sur la toxicocinétique de la CLD chez la brebis. Pour pouvoir améliorer le modèle et envisager des extrapolations inter-espèces, notamment afin de permettre des applications terrains pour les bovins, des connaissances sur les liaisons hépatiques ou le retour non biliaire seraient nécessaires. Le modèle construit est destiné à intégrer l'ensemble des mécanismes explorés dans le cadre du programme INSSICCA à savoir l'exposition, la séquestration, la distribution et la décontamination. L'utilisation de cet outil pourra permettre de mieux comprendre le comportement de la CLD, de tester des scénarios et peut-être permettre de s'affranchir de certaines expérimentations animales pour répondre à de nouvelles questions.

7

Annexes

1 Assessment of ecosystem services provided by livestock agroecosystems in the
2 tropics: the case studies in tropical island environment of Guadeloupe

3
4 J-L. Gourdine*¹, A. Fourcot², C. Lefloch¹, M. Naves¹, G. Alexandre¹

5 1. Unité de Recherches Zootechniques, INRAE, URZ, 97170 Petit-Bourg, France.

6 2. Université de Lorraine, INRAE, USC 340, UR AFPA, 54518 Vandœuvre-lès-Nancy, France.

7 jean-luc.gourdine@inrae.fr*

8 **Abstract.** Livestock farming system (LFS) is a key player in the development of many tropical areas.
9 The present study aims to assess (1) the ecosystem services (ES) provided by LFS in the context of the
10 French Caribbean and (2) the differential ES between local (Creole breeds) and exotic breeds from pig,
11 cattle and goat species. The ES is defined as the benefits that human derive from LFS and they were
12 summarized in 12 ES indicators that cover services related to provisioning, ecological and socio-cultural
13 aspects and territorial vitality. A total of 106 LFS that covers the five agro-ecological zones of the
14 territory were analysed. Functional typologies of LFS per species were created with principal component
15 analysis and hierarchical clustering analysis based on data collected from surveys. The effect of breed
16 on the ES indicators was tested using MANOVA models by comparing Creole farms (i.e. more than 80
17 % of the herd is Creole) with exotic and crossbred farms. Results showed that pig LFS (n = 40) were
18 separated into 3 groups: large scale farms (more than 600 pigs), farms with only growing pigs, family
19 LFS with crossbred and Creole pigs. Small LFS were more oriented towards cultural use and sale to the
20 neighbourhood, whereas the more intensive pig farms were oriented towards sale to partners within the
21 formal sector of production. The typology of the farms with cattle (n = 57) distinguished four groups:
22 farms with few cattle reared mainly for self-consumption, LFS with mainly Creole cattle, small scale
23 LFS with mainly crossbred cattle and large LFS of Creole and crossbred cattle with low feed self-
24 sufficiency. Farms with goats (n = 66) were classified into 3 groups: a group with Creole and crossbred
25 goats mainly for self-consumption, a group of declared goat farmers involved in cultural aspects and a
26 group with Creole and crossbred goats with an intensive management. Except for Creole cattle for ES
27 related to cultural uses ($P < 0.05$), our study highlights that ES indicators are not specific to a particular
28 breed ($P > 0.10$), but rather to a particular livestock specie system.

29 **Keywords:** farm, typology, ecosystem services, local breeds

30 **Introduction**

31 Livestock farming system (LFS) is at the centre of the debate on its ability to meet global challenges of
32 food security, the limitation of greenhouse gases and fossil energy consumption and finally the
33 preservation of biodiversity (Poore and Nemecek, 2018). Meanwhile, it is a key player in the
34 development of many rural territories (Dedieu et al., 2011) as it could determine the use of agricultural
35 areas and landscapes, and it affects human cultures and economic (Duteurtre and Faye, 2009). In this
36 context and in our particular tropical conditions, it seems necessary to rethink the place, functioning and
37 roles of LFS. Elaborating typologies is a well-established way to describe heterogeneity among farmers
38 (Blazy et al., 2009; Alvarez et al., 2018) and to understand farmers' strategies. In the tropics, it is often
39 stated that LFS are multifunctional (Alexandre et al., 2014; Hernandez-Castellano et al., 2019), as the
40 objectives of livestock farmers and the ecosystem services (ES) provided, are varied and do not only
41 relate to productivity. However, few studies integrate ES in the development of typologies. The
42 conceptual framework of LFS, which states that practices reflect farmers' choices in relation with their
43 environment, and the methodological framework for studying ES (Ryschawy et al., 2015) are used in
44 this study in order to identify ES provided by LFS in the French Caribbean context of Guadeloupe
45 archipelago (N 16° and W 62°). The term ES is used in this paper to refer to the benefits that human
46 derives from LFS. In the tropics, some LFS rely upon local breeds adapted to their environment (FAO,
47 2015). This is the case of Guadeloupe with the Creole breeds (pig, cattle and goat) which are adapted to
48 tropical conditions (Naves et al., 2001). These Creole animals as other local breeds are known to provide
49 many products (marketable or not) or to ensure different ecological or social roles (Hoffmann, 2013;
50 Nozieres-Petit and Lauvie, 2018). Another objective of this study was to compare the ES provided by
51 LFS according to the breed (Creole, crossbred or exotic) and to investigate if specific ES were provided
52 by local breeds.

53

54 **Materials and Methods**

55 **Study locations**

56 The area covered by the study is the Guadeloupe archipelago. The farmer panel was chosen to cover all
57 types of ecosystem. The surveys took place from February to June 2018. The archipelago covers an area
58 of 1 628 km². Guadeloupe has a wide range of rainfall, particularly on its two largest islands, Basse-
59 Terre (848 km²) and Grande-Terre (586 km²). In Basse-Terre, clouds are blocked by the Soufrière
60 massif, an active volcano. The island of Basse-Terre is therefore mountainous, volcanic, and has many
61 rivers and therefore a high humidity. In Basse-Terre, soils are ferralistsols in the North, nitisols in the
62 South, vertisols in the East and andosols in the central part (Sierra et al., 2015). On the other hand,
63 Grande-Terre is flat and the island cannot retain rain clouds that come from the Atlantic Ocean. The
64 vertisols soils of Grande-Terre cannot retain water, which lodges at depth and does not form surface
65 rivers. The wet season runs from August to October, and the dry season from January to July. It rains

66 much more in Basse-Terre (mean rainfall of 2,300 mm/yr) than in Grande-Terre (1,100 mm/yr). Average
67 daily temperature in Guadeloupe ranges between 23 °C and 32 °C, with little amplitude between
68 minimum and maximum temperature during the day (6°C on average).

69 **Sampling procedure**

70 Information on some LFS in Guadeloupe, in particular livestock in mixed farming systems, is limited,
71 due to the poor administrative organisation of these systems and a strong organisation of livestock by
72 sectors (Stark et al., 2016). Consequently, sampling was carried out using a snowball method. It is a
73 non-probabilistic method where farmers were selected not from a sampling frame but from existing
74 networks between farmers. The farmers selected for the survey are either referenced in INRAE databases
75 obtained from previous surveys (Gourdine et al., 2010; Gunia et al., 2010; Boval et al., 2012), or in
76 databases from agricultural chamber, cooperatives. Another part of farmers were found by direct
77 canvassing in the field. Finally, a total of 106 farmers was selected to cover all LFS and the five agro-
78 ecological zones of the territory (Sierra et al., 2015) and to have an overview of ES provided by the three
79 different livestock species (pig, cattle and goat). We have undertaken not to disclose the personal data
80 of farmers or animal keepers –who have sometimes unidentified animals and belongs to the informal
81 sector (Zebus et al., 2004). The information, data and verbatim cited in this paper cannot be linked to a
82 specific individual.

83 **Data collection**

84 Information was collected using a structured questionnaire as a guideline. This questionnaire was pre-
85 tested with INRAE technical staffs who are also farmers. Surveys have been carried out by meeting
86 farmers directly in their farm. The face-to-face interviews were semi-directive: the farmers can follow
87 the questionnaire, or they can talk freely. However some information was crucial for the analysis of ES
88 and the interviewers had sometimes needed to redirect the discussion towards this topic. In parallel to
89 the discussion, farmers were recorded on a dictaphone, if they allowed it, for keeping the quality and
90 the richness of the interview. After analysing the recordings, if a piece of information was missing or
91 incomplete, the farmer was contacted again by phone or rendezvous, in order to fill the missing
92 information. We used the survey method detailed by Costanza et al. (2017) to describe the main practices
93 among LFS. Bernués and Martin-Collado (2019) have proposed methods to assess ES provided by LFS,
94 but their practical application is difficult in many contrasted situations as ours. Ryschawy et al. (2015)
95 have made a detailed study of ES provided by livestock production in France. They used territorial
96 agricultural statistics and they provided a methodological framework with the definition of ES indicators
97 that allow being more factual than the Millennium Ecosystem Assessment recommendations (Reid et
98 al., 2005). In the present study, these ES indicators were applied. Consequently, the questionnaire was
99 divided into two sections. The first section is dedicated to the general characterisation of the LFS by
100 collecting socio-economic data (land tenure, labour, household, equipment, sources of income), and

101 crop and livestock activities (surface area, cropping pattern, number of animals per species, management
102 practices). The animal husbandry practices that were recorded are: breeding patterns, management of
103 reproduction, animal feeding, health monitoring and use of building or equipment. The second section
104 dealt with 12 ES indicators adapted from Ryschawy et al. (2015) (Figure 1). These ES indicators are
105 grouped into provisioning services, territorial vitality supports (professional environment and
106 employment or stakeholders in the sector), ecological functions, and other roles concerning the socio-
107 cultural identity associated with the farms. For provisioning services, information was obtained on
108 animals (number, age, breed, and species) present in the LFS, the selling price, and the persons to whom
109 these animals or the corresponding meat products were sold. The reasons for the farmer's choice of
110 animals, species and breeds were also asked. The ES indicators for provisioning services were the
111 number of animals sold per year out of the total number of animals on the farm, the status of the farmers
112 (declared or not), the presence or absence of subsidies, the percentage of animals intended for self-
113 consumption. The ecological impact of a farm is difficult to assess from surveys. Simple and easily
114 accessible ES indicators were therefore selected: the area dedicated to grassland in relation to the total
115 utilized agricultural land of the farm (except for pigs), the level of feed self-sufficiency. For the socio-
116 cultural services, three simple indicators were used: a subjective rating of appreciation of the farm by
117 the neighbourhood, the relative number of live animals involved in cultural process and the relative
118 number of animals whose products (meat, skin, etc.) were involved in cultural uses. Territorial vitality
119 refers to the rural employment sector (Ryschawy et al., 2015). This part of the questionnaire helps to
120 understand how many people work directly or indirectly around the livestock rearing activities. The
121 three ES indicators used for territorial vitality were therefore the farm assets, the number of stakeholders
122 upstream and downstream of the farm, from the feed providers to the persons to whom the animals or
123 animal products were sold.

124

125 **Statistical analysis**

126 Data were analysed using the software R version 3.6 (Team, 2019). The data from the surveys were
127 firstly analysed with descriptive statistical analysis. Therefore, a Principal Component Analysis (PCA)
128 was conducted and it was followed by a Hierarchical Ascending Classification (HAC) on the outcomes
129 of the PCA in order to highlight different groups within specie. As input to the PCA, we used the 12
130 indicators defined to assess ES (Figure 1) and the three following variables as illustrative variables: the
131 number of Creole, cross-breed and exotic animals. The classification was made for the three species
132 independently of each other. The HAC was made using the Euclidean distance and the Ward's
133 minimum-variance method, which minimizes the decrease of inertia between groups when two groups
134 are gathered into one. The number of farm types within specie (i.e. clusters) was defined using the
135 dendrogram shape. We chose to cut the tree at the optimal cut level proposed by HCPC function of
136 FactoMineR (Le et al., 2008). Each group from the three typologies is then analysed individually to

137 draw out indicators of ES with a rose diagram. This highly visual representation allows for a quick
138 understanding of the functions ensured by LFS. To evaluate whether Creole breeds provide specific ES,
139 farms composed with Creole animals (more than 80 % of the animals presents in the farm) were
140 compared to other farms using a multivariate analysis of variance (MANOVA) with the package
141 MANOVA-RM (Friedrich et al., 2018). This procedure was chosen because it provides accurate p-
142 values even with small sample sizes using resampling techniques for approximating the sampling
143 distribution (we used 1,000 iterations for each model).

144

145 **Results**

146 **Characteristics of the livestock farms**

147 Quantitative and qualitative data were collected over a large part of the Guadeloupe archipelago (Figure
148 2). These data were collected from 106 farmers among traditional or conventional farms, or simple
149 animal keepers. The descriptive statistics are presented in Table 1. Farmers were either conventional or
150 traditional breeders, or simply keepers or fatteners of animals. Counting all the farms for each species,
151 there are 38 % of farms with pigs, 54 % of farms with cattle, and 62 % of farms with goats. In our
152 dataset, the total number of pigs was twice higher than the total number of cattle or goats. Monospecific
153 LFS represent more than half of the farms studied (54 % of the farms). With a total of 25 % of the farms
154 encountered, LFS with only goats were the most numerous farms found in our sample, before farms
155 with only cattle (21 %) and farms with only pigs (8 %). Mixed LFS (i.e. with almost two livestock
156 species) account for 46 % of the farms and only 19 % of these farms had the three studied species (pigs,
157 cattle and goats). There were more mixed LFS with cattle and goats compared to the other mixed farms.
158 The breeds found in the survey are grouped into three categories: Creole breed, crossbred animals and
159 exotic breeds (Figure 3). Animals crossed between Creole breed and exotic breeds are considered as
160 crossbred animals. In our sample the total number of Creole pigs is lower than the total number of Creole
161 goats or Creole cattle (88 pigs vs. 461 and 486 goats and cattle, respectively). There were 15 pig farms
162 with Creole breed, out of 40 farms with pigs in total. The majority of farms with goats or with cattle in
163 the sample had the Creole breed (58 % for Creole goat and cattle, respectively).

164

165 **Pig production systems**

166 The first two principal components (PC) explained 59 % of the variability of the pig sub-database
167 (Figure 4a). The PC1 was determined by the variables “Self-consumption”, “Feed self-sufficiency” and
168 “Cultural uses”, “Subsidies” and “Declared farmers” ($|r| > 0.65$, $p < 0.001$), while the variables
169 “Customers”, “Subsidies” and “Declared farmers” appeared more correlated to PC2 ($|r| > 0.63$; $p < 0.01$).
170 The illustrative variable “Number of exotic pigs” is correlated with these two PC ($r = -0.65$ and $r = 0.67$,
171 respectively; $p < 0.001$). The PC3 and PC4 are more explained by the variable “Neighbourhood” ($r =$
172 0.65 and $r = 0.50$, respectively; $p < 0.001$).

173 From the HCA, pig farms have been classified into 3 groups. The first group is composed of only three
174 conventional pig farmers (with synthetic line Duroc x Pietrain x Large White x Landrace or purebred
175 Large-White). These farms had between 631 and 835 pigs and they followed the same intensive
176 production rules of the EU (feeding with industrial concentrates, subsidies for production help, building,
177 batch management, etc.). Farmers aimed at producing 26 weaned piglets per sow per year. The indicators
178 of ES provided by the group 1 are summarised in Figure 4b. The provisioning pole (animals sold) was
179 strong while the values of feed self-sufficiency level, which summarises the pressure on the
180 environment, and the neighbourhood acceptance, were low.

181 In the second group (23 farmers), the number of pigs was between 1 to 19 exotic, or crossbred or Creole
182 pigs. These farmers were rather called “animal growers” or “animal keepers” than farmers because they
183 were more interested in fattening pigs after buying few animals to pig farmers from the other groups
184 than in logic of managing the reproductive cycle. Their main objectives were having pork for Christmas
185 and other events during the year to sell for friends and neighbourhood and for their own consumption.
186 The ES indicators described for the group 2 (Figure 4b) are therefore highly developed in animals sold.
187 In this group much more animals (alive or slaughtered) were sold by year than the number of pigs present
188 in the farming system. The pig farming practices were a part of cultural use for ham and pork meat sales
189 in the neighbourhood during the Christmas period. Furthermore, with the integration of customers in the
190 neighbourhood, these small scale pig farms impacted on the local circular economy.

191 The third group (14 farmers) has mainly Creole and/or crossbred pigs (79 % of farmers of the group).
192 The main objectives were having pork for their own consumption, and mainly for family events such as
193 Christmas. Only 14 % of these farmers sold pork (1 to 2 pigs per year). This group is characterised by
194 small scale undeclared pig farms with no public subsidies. Most of the farmers (79 %) reared other
195 species (cattle and/or goats, between 3 and 55 animals). The pig housing system was near to the family
196 house (generally in the backyard) either in small boxes or tethered to a tree (generally a mango tree).
197 Pigs were generally fed with leftovers, sugarcane, fruits (eg. breadfruit, mango), food crops residues and
198 concentrates as a complement (between 50 and 100 % of on-farm pig feed). The ES indicators described
199 for the group 4 (Figure 4b) are therefore highly developed in self-consumption, feed independency.

200

201 **Cattle production systems**

202 The first two PC of the PCA for cattle explained 59 % of the variability in the cattle sub-database. The
203 variables most correlated with the first two PC were the variables “Subsidies” ($r = 0.64$, $p < 0.001$),
204 “Declared farmers” ($r = 0.64$, $p < 0.001$) and “Upstream” ($r = 0.57$, $p < 0.001$) for PC1, and the variables
205 “Customers” ($r = 0.69$, $p < 0.001$), “Upstream” ($r = 0.58$, $p < 0.001$) and “Actives” ($r = 0.57$, $p < 0.001$)
206 for the PC2. The PC3 is more correlated with the variable “Animal sold” ($r = 0.62$; $p < 0.001$) and the
207 PC4 with the variable “Self-consumption” ($r = 0.76$; $p < 0.001$).

208 The following HCA resulted in 4 main groups (Figure 5a). The first group consists of only two farmers.
209 These two farmers were characterized by a level of self-consumption significantly greater than the level
210 of the other groups (100 vs. 2 %; $p < 0.001$). These two farmers reared on average one Creole cattle per
211 year. The ES indicators studied from this group, shown in Figure 5b in the rose diagram, were developed
212 into ecological issues (grassland uses, feed self-sufficiency). These farmers consumed their own cattle
213 after slaughtering them at the slaughterhouse. Their impact on the downstream sector was low, with few
214 customers as outlets.

215 The second cattle farm type (32 farms) was distinguished according to the presence of Creole cattle (62
216 % of the farms, with 2 to 83 animals). These farmers were mostly in the formal sector (i.e. declared as
217 farmers in the agricultural administration). The majority of farmers in the group 2 (59 %) were also crop
218 producers, mainly in sugarcane or bananas production (from 1 to 16 ha). These crops made it possible
219 to partially feed their animals with the sugarcane leaves or banana leaves and fruits. As shown in Figure
220 5b, livestock activities were seen by the farmers of group 2 as a tradition, a passion and a hobby. It was
221 a way to “relax after work”. Animals also provided a form of financial security, as in a savings bank,
222 and to decapitalize it when the family needs liquidity. Livestock farming was often an inheritance from
223 parents. In this group, 78 % of the feed for cattle came from the farm. These farmers had low
224 productivity, with very few animals sold out of the total number of animals owned. The cultural
225 acceptance of the farms was moderate as neighbours complained little but lower than the two last groups.
226 The third group of cattle farmers consists of 12 farmers. They reared mainly crossbred cattle, ranging
227 from 4 to 32 animals. All these farms were administratively declared. The grasslands ranged from 2 to
228 17 ha. Cattle were mainly tethered, and much of their feed came from the farm (73 %). The ES provided
229 by these LFS were summarized in Figure 4b. This group is characterized by a greater animal uses for
230 cattle racing and draught oxen than groups 1 and 2 and a strong economic dimension with more animal
231 sold than the other groups (55 vs. 28 %; $p < 0.001$).

232 The last group is composed of 11 farmers. These farmers were in the formal sector with large numbers
233 of Creole and crossbred cattle (on average 23 animals per herd). The group 4 was characterized by a
234 level of upstream and customers significantly greater than the other groups (75 vs. 24 % and 45 vs. 9 %;
235 $p < 0.001$) and a lower level of cattle feed self-sufficiency (58 vs. 80 %; $p < 0.05$) due to a lower level
236 of grassland use to feed their animals (51 vs. 84 %; $p < 0.001$). The cultural aspect is also important as
237 the group 3, with animal uses for cattle racing and draught oxen.

238

239 **Goat production systems**

240 The first four PC accounted for 61 % of the total variance. The first PC explained 26 % of the total
241 variation (Figure 6a). The variables that contributed most to the first PC were in descending order of
242 importance ($p < 0.001$): “Declared farmers” ($r = 0.75$), “Upstream” ($r = 0.74$), “Subsidies” ($r = 0.71$)
243 and “Feed self-sufficiency” ($r = -0.62$). The second PC explained 15 % of the total variance and it is
244 more correlated ($p < 0.001$) with the variables “Subsidies” ($r = 0.58$), “Declared farmers” ($r = 0.53$) and

245 “Neighbourhood” ($r = -0.55$). The variables “Cultural uses” ($r = -0.63$) and “Goat sold” ($r = 0.53$)
246 contributed most to PC3 ($p < 0.001$) and the variables “Goat sold” ($r = 0.71$) and “Active” ($r = -0.58$)
247 contributed most to PC4.

248 The HCA discriminated goat farmers into 3 different groups (Figure 6a). The first group is composed
249 of 41 farmers who mainly rear Creole and crossbred goats (5 % of farmers reared exotic goats) with
250 grassland areas of 2 ha on average. Goat self-consumption was more present in this group than the other
251 groups (12 vs. 6.5 %; $p < 0.001$). Only 7 % of these LFS was administratively declared for goat herd.
252 The majority of farmers in this group consumed the meat of their own goats (63 % of farmers), and 46
253 % of farmers of the group 1 slaughter their goats themselves. This group was more heterogeneous than
254 the others because breeders had several different objectives. For the smaller farmers, goat farming was
255 mainly a "hobby" in addition to their other activities. For larger farmers, goat farming was seen as
256 essential, a way to earn money. Consequently, the ES provided by this group (Figure 6b) are
257 characterized by a higher socio-cultural pole than the other groups, with more self-consumption and a
258 great acceptance of the farms by the neighbours. The ecological dimension was also well developed. On
259 the other hand, the stakeholder’s dimension of the sector remained low. It should be noted that for some
260 of the small farmers in this group who were unemployed (34 %), rearing goats also took on a
261 fundamental dimension as a means of survival, as “no other income goes into the household”.

262 The 15 farms in the group 2 were officially declared goat farms. They all received specific funds from
263 the European Union for rearing small ruminants. These farmers owned on average 30 goats, which was
264 a lucrative activity. The farmers reared mainly Creole or crossbred goat (86 %) and a few number of
265 farms reared exotic breeds (21 %). The production model was mainly intensive, and the farmers owned
266 grasslands of about 7.2 ha on average. Figure 6b describes the ES indicators provided by this second
267 group. Like the group 2, goats are culturally important and were often sacrificed for Catholic holidays
268 (Easter, Christmas, and Pentecost) or sold or sacrificed for Hindu ceremonies. For the majority of the
269 group, regardless of the size of the farm, goats were above all a source of "pleasure" that was often
270 rooted in a family tradition. The provisioning pole was very important with on average 38 % of the
271 livestock sold each year. On the other hand, most of the neighbours were unhappy to have this type of
272 farming near to their houses (43 vs. 67 % for the others groups; $p < 0.001$).

273 The last goat group is composed of 10 goat farmers mainly with Creole and crossbred goats (only one
274 farmer reared exotic goats). The stocking rate was important, which further emphasized the intensive
275 side. The goats were very little involved in cultural processes (6 vs 28 % for the other groups; $p < 0.001$).
276 This type of very intensive farming offered a great deal of space for upstream and downstream
277 stakeholders. As illustrated in Figure 6b, the ES from these farms show that the group 3 was well
278 involved in the goat industry, but their cultural value was reduced, even if the neighbourhood accepted
279 their presence. However these farms did not have a very positive impact on the environment as use of
280 grasslands and goat feed independency are limited.

281

282 **Breeds and ecosystem services**

283 To analyse the effect of breed on ES provided by LFS, livestock farms with more than 80% Creole
284 animals were compared to farms with more than 80% exotic animals and farms with more than 80 %
285 crossbred animals, using MANOVA models (Table 2).

286 In pigs, a total of 39 pig farms were compared (13 Creole pig farms, 11 exotic pig farms and 15 crossbred
287 pig farms). The *p-value* from the Wald-type statistic test (WTS) or from the modified ANOVA-type
288 statistic test (MATS) obtained by a parametric bootstrap procedure are greater than 0.10, suggesting that
289 there is no breed effect on the ES indicators obtained within pig farms.

290 In cattle, only Creole farms were compared with crossbred farms because there was only one farm with
291 a herd containing more than 80 % of exotic cattle. The WTS *p-value* is greater than 0.11 but the MATS
292 *p-value* is lower than 0.05, indicating that there are significant differences in the ES indicators obtained
293 by these two groups. The differences were explained by higher self-consumption and uses of cattle in
294 cultural process (11 vs 0.7 % and 14 vs. 8 %, respectively), and lower upstream and customers (25 vs.
295 44 % and 6 vs. 18 %, respectively) in Creole cattle farms than in crossbred cattle farms.

296 In goats, similarly to cattle farms comparison, only Creole farms were compared with crossbred farms
297 because there was only 3 farms with a herd containing more than 80 % of exotic goats. With WTS and
298 MATS *p-value* greater than 0.5, the MANOVA suggests that there is no breed effect on the different ES
299 provided by farms with Creole or crossbred goats.

300

301 **Discussion**

302 **Farmers and choice of species and breeds**

303 Livestock farming systems of our survey data are highly heterogeneous, with for instance variabilities
304 in the number of animals (from 1 to 869), in the number of animals within specie or in cropping (food
305 crops, export crops or mixed). We had chosen to consider every type of LFS, even if farmers had a few
306 number (1-5) reproducers and/or fattening animals. Indeed, small LFS (such as family farms) is a
307 traditional practice in the Caribbean since the time of slavery and these practices are still very much in
308 evidence in Guadeloupe (Xandé, 1999; Sainton et al., 2012). These LFS cannot therefore be ignored due
309 to their particular functions for the household sustainability, especially in some tropical regions
310 (Mbutia et al., 2015; Gourdine et al., 2018; Huyen et al., 2019). The pig or ruminant breeds found in
311 the survey are grouped into three categories, Creole, crossbred and exotic genotypes. The Creole pig is
312 the local pig breed whereas crossbred pigs are from the mixture of Creole breeds with strains of exotic
313 breeds, such as Large White, Piétrain, Duroc or synthetic lines available in Guadeloupe or by artificial
314 insemination with exported semen of boars reared in Europe (Gourdine et al., 2010). The Creole cattle
315 is the local breed, resulting from the various crossbreeds from the admixture of African, Indian and
316 European breeds through the history of the territory of Guadeloupe (Naves et al., 2001). Crossbred cattle
317 are mixtures between the Creole breed and different exotic breeds present in Guadeloupe or by artificial

318 insemination. Cattle breeds considered "exotic" are breeds from temperate countries, such as Limousine
319 or Charolais. The exotic goat breeds in Guadeloupe are mainly Anglo-Nubian goats and Boer goats, and
320 in some cases crossbreeding with European breeds, such as the Alpine goat, but this remains very rare
321 (Gunia et al., 2010). In the present study, the number of pigs is twice higher than the number of cattle
322 or goats. This is due to the presence of three conventional pig farms, with a total of 600 to 800 animals
323 per farm. However, compared to cattle or goat, the number of Creole pigs is lower (10 % of Creole pigs
324 vs. 41 and 35 % of Creole cattle and goats, respectively). Consistent with previous study (Gourdine et
325 al., 2010), it seems that Creole pigs are less and less present.

326 Our study shows a significant frequency of groups of poly-livestock systems (45 %). The hypothesis is
327 that farmers combine animal species because of their behavioural and physiological differences, in order
328 to optimise the use of the different feed resources on their farms or in their surroundings. According to
329 Gonzalez-Garcia et al. (2012) and Archimède et al. (2014), the resources must be considered in the
330 broad sense. Being natural biomasses or sub-, co-, by-products, they are not a waste but a potential
331 resource. The concept of mixed crop-livestock (Stark et al., 2016; Dourmad et al., 2019) is frequently
332 built upon these integrative considerations between crop and animal units. In our study 50 % of the
333 farms fall under these mixed crop-livestock systems.

334

335 **Livestock farming systems and ecosystem services provided**

336 Our results, on livestock farms in Guadeloupe, propose a first insight through the ES concept. Livestock
337 practices directly generate ES, defined as the benefits that humans derive from ecosystems (Leemans,
338 2009). Ecosystem services have been studied for livestock by different authors (Ryschawy et al., 2015;
339 Dumont et al., 2019). These authors proposed ES specific to livestock, and a classification of these
340 services in relation with ecological quality, territorial vitality, supply, and heritage and quality of life.
341 While some services may seem obvious, others are less so, such as maintaining rural employment
342 (Dourmad et al., 2019). Using territory-wide databases, Ryschawy et al. (2015) observed that ruminant
343 farms provide more ES than farms with other species. Our results obtained through farm-level survey
344 are in accordance with Ryschawy et al. (2015) study, as grasslands are important components of the
345 Guadeloupe landscape. These authors showed that cattle in some European regions are more linked to
346 cultural services than other species. In the present study, the cultural value associated to pig and goat
347 farms is greater than those linked to cattle. As observed in this study, the highest values in provisioning
348 services were associated with the largest farms (Dumont et al., 2019).

349 In our study, small-scale pig farms are very often linked to a main cultural activity. The consumption of
350 pork meat is very important during Christmas (stew, smoked ham with sugar cane ...). Pigs are also
351 present to ensure an income by the sale of meat or piglets. In direct sales systems, after the carcass has
352 been cut up, the meat is sold in 2.5 kg batches, with a mixture of parts of the carcass (Zebus et al., 2005).
353 The meat mass is often accompanied by a special recipe for black pudding (made with the pig blood).

354 As declared by the farmers, the practice of pig manure recycling is rarely used, in accordance with as
355 reported by Mbuthia et al. (2015) in Kenya and Fanchone et al. (2019) in Martinique, while manure
356 recycling is frequent in Vietnam (Huyen et al., 2019). Pig farms have a high cultural and social value
357 but they are potentially an environmental problem of pollution of small areas of land.

358 In our study, cattle farms were most often linked to ecological services, and for larger farms to important
359 economic services. Rearing tethered animals is very frequent for cattle farmers (Boval et al., 2012).
360 These animals are original tool for natural resources management as they maintain meadows and
361 roadsides and utilize undivided lands in the countryside. In the present study, the socio-cultural services
362 provided by cattle are mostly cart drawn by oxen and draught oxen. These activities are increasingly
363 carried out with crossbred or exotic animals, as their higher muscle development makes them more
364 interesting than Creole cattle. However, Creole cattle are still more used for draught of sugar cane carts
365 or ploughing than crossbred animals, because the endurance of the breed is more important than the
366 short-term effort (Versini, 1997).

367 In our study, goats were found in at least three different rearing systems: intensive, extensive and in
368 small numbers at stake or in boxes. They are present throughout Guadeloupe. They provide important
369 provisioning services (either via direct selling or self-consumption) compared with cattle or pig. They
370 also ensure a lot of cultural and even cultural roles. In accordance with the literature (Alexandre et al.,
371 2003), we observed that goats are associated with religious festivals and these practices impact on the
372 price of goat meat in the formal and informal sector.

373

374 **Breed and ecosystem services: is there breed specificity?**

375 In contrast to our expectations, Creole pig and Creole goat breeds did not provide specific ES than exotic
376 and crossbred livestock. This result confirms the low correlations found between the illustrative
377 variables (Creole, exotic and crossbred genotypes) and the principal components in the PCA analysis.
378 These results could be explained by the lack of additional or differential value given to Creole animals.
379 Consequently, the services or roles ensured by livestock mainly depend on the will of the pig or goat
380 farmers and on what they are looking for when practising animal husbandry (Landais, 1998). On the
381 contrary, we found that Creole cattle provided significant (for one of the two statistical tests) different
382 ES than crossbred cattle, mainly in the use of Creole cattle in cultural activities. This is probably due to
383 the traditional use of Creole cattle for draught, and the specific genetic traits they have developed in
384 relation with this activity (Gautier and Naves, 2011). The discrepancy of showing little breed effect (i.e.
385 only in cattle) upon ES could be mainly due to the lack of appreciation of local breeds by the majority
386 of the stakeholders, while scientific data shows that Creole breeds are more robust and have better meat
387 qualities than exotic ones.

388 **Conclusion**

389 In the conclusion, the present study demonstrates that the ecosystem services provided by the livestock
390 farming system in our tropical conditions are multiple. Our study, by assessing and comparing
391 ecosystem services provided by pig, cattle and goat systems, cover the larger part of the meat sectors.
392 We highlight that ES indicators are not specific to a particular breed but rather to a particular livestock
393 farming system. Legal, economic and social pressures are forcing farmers to choose animals with higher
394 growth performances (favouring only the provisioning function), and this framework forces the original
395 Creole genetic resources to gradually disappear in the meat market of Guadeloupe. Collective initiatives
396 involving political decision-makers should be taken on the basis of the establishment of a specific niche
397 market that promotes the recognized qualities of Creole breeds, and help there conservation.

398

399 **Acknowledgements**

400 The authors greatly express their deeply thanks to all farmers that answer the surveys and that accepted
401 us to visit their farms. They thank J. Perrette for her participation to the field works. The financial support
402 of the EU funds and the Region Guadeloupe (including the AGROECODIV project), the project CPER
403 CRB-PSA and the ANR (Agence Nationale de la Recherche, Paris, France) through research program
404 INSSICCA (ANR-16-CE21-0008-01).

405

406 **Conflict of interest**

407 The authors declare that there are no conflicts of interests.

408

409 **Authors' contributions**

410 G.A. adapted the concepts of LFS and ES specifically for the livestock of Guadeloupe. J-L.G. and G.A,
411 M.N designed the process for the surveys. C.L. and A.F. performed the study. A.F., C.L, and J-L.G.
412 carried out computation, analysis and writing of the manuscript.

413

414 **REFERENCES**

- 415 Alexandre, G., S. Asselin-de-Beauville, Y. Bienville, E. Shitalou, and M. F. Zebus. 2003. La chevre
416 multifonctionnelle dans la societe antillaise. *Ethnozootecnie* 70:35-51.
- 417 Alexandre, G., A. Fanchone, H. Ozier-Lafontaine, and J. L. Diman. 2014. Livestock Farming Systems
418 and Agroecology in the Tropics. In: H. OzierLafontaine and M. LesueurJannoyer, editors,
419 Sustainable Agriculture Reviews 14: Agroecology and Global Change. Sustainable Agriculture
420 Reviews No. 14. p. 83-115.
- 421 Alvarez, S., C. J. Timler, M. Michalscheck, W. Paas, K. Descheemaeker, P. Tiftonell, J. A. Andersson,
422 and J. C. J. Groot. 2018. Capturing farm diversity with hypothesis-based typologies: An

423 innovative methodological framework for farming system typology development. Plos One
424 13(5)doi: e0194757

425 Archimède, H., G. Alexandre, M. Mahieu, J. Fleury, D. Petro, G. Garcia, A. Fanchone, J.-C. Bambou,
426 C. Magdeleine, J.-L. Gourdine, E. Gonzalez, and N. Mandonnet. 2014. Agroecological
427 Resources for Sustainable Livestock Farming in the Humid Tropics. In: H. Ozier-Lafontaine
428 and M. Lesueur-Jannoyer, editors, Sustainable Agriculture Reviews 14. Sustainable Agriculture
429 Reviews No. 14. Springer International Publishing. p. 299-330.

430 Bernués, A., and D. Martin-Collado. 2019. Methods for identification and valuation of ecosystem
431 services provided by livestock breeds and their production systems, FAO, Rome.

432 Blazy, J.-M., H. Ozier-Lafontaine, T. Doré, A. Thomas, and J. Wery. 2009. A methodological
433 framework that accounts for farm diversity in the prototyping of crop management systems.
434 Application to banana-based systems in Guadeloupe. *Agric. Sys.* 101(1):30-41. doi:
435 <https://doi.org/10.1016/j.agry.2009.02.004>

436 Boval, M., O. Coppry, M. Naves, and G. Alexandre. 2012. L'élevage traditionnel, une source et un
437 support pour l'innovation agro-écologique : la pratique du piquet aux Antilles.

438 Costanza, R., R. de Groot, L. Braat, I. Kubiszewski, L. Fioramonti, P. Sutton, S. Farber, and M. Grasso.
439 2017. Twenty years of ecosystem services: How far have we come and how far do we still need
440 to go? *Ecosystem Services* 28:1-16. doi: 10.1016/j.ecoser.2017.09.008

441 Dedieu, B., J. Aubin, G. Duteurtre, G. Alexandre, J. Vayssieres, P. Bommel, and B. Faye. 2011.
442 Conception et évaluation de systèmes d'élevage durables en régions chaudes. *INRA Productions*
443 *Animales* 24(1):113-128.

444 Dourmad, J. Y., T. Guilbaud, M. Tichitt, and T. Bonaudo. 2019. Animal production in a circular
445 bioeconomy. *INRA Productions Animales* 32(2):205-219. (Article) doi: 10.20870/productions-
446 animales.2019.32.2.2485

447 Dumont, B., J. Ryschawy, M. Duru, M. Benoit, V. Chatellier, L. Delaby, C. Donnars, P. Dupraz, S.
448 Lemauiel-Lavenant, B. Méda, D. Vollet, and R. Sabatier. 2019. Review: Associations among
449 goods, impacts and ecosystem services provided by livestock farming. *Animal* 13(8):1773-
450 1784. doi: Doi: 10.1017/s1751731118002586

451 Duteurtre, G., and B. Faye. 2009. L'élevage, richesse des pauvres. *Stratégies d'éleveurs et organisations*
452 *sociales face aux risques dans les pays du Sud.* Editions Quæ, Versailles.

453 Fanchone, A., G. Alexandre, E. Chia, J.-L. Diman, H. Ozier-Lafontaine, and V. Angeon. 2019.
454 Caractérisation de la diversité des exploitations des Antilles Françaises via la mise en place de
455 pratiques agroécologiques. *Innovations Agronomiques* 72:181-192.

456 FAO. 2015. The Second Report on the State of the World's Animal Genetic Resources for Food and
457 Agriculture., FAO, Rome.

458 Friedrich, S., F. Konietzschke, and M. Pauly. 2018. Analysis of Multivariate Data and Repeated Measures
459 Designs with the R Package MANOVA.RM.

- 460 Gautier, M., and M. Naves. 2011. Footprints of selection in the ancestral admixture of a New World
461 Creole cattle breed. *Mol. Ecol.* 20(15):3128-3143. doi: 10.1111/j.1365-294X.2011.05163.x
- 462 Gonzalez-Garcia, E., J. Gourdine, G. Alexandre, H. Archimede, and M. Vaarst. 2012. The complex
463 nature of mixed farming systems requires multidimensional actions supported by integrative
464 research and development efforts. *Animal* 6(5):763-777.
- 465 Gourdine, J.-L., A. Lof, J. Louis-Sidney, W. Delyon, I. Semjen, K. Benony, M. Bructer, M. Cyril, V.
466 Gauthier, and G. Alexandre. 2018. Characterizing practices and the sanitary status of farms of
467 Creole and Creole-like pigs in Martinique. *Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop.* 71(1-2):33-39. doi:
468 doi:10.19182/remvt.31346
- 469 Gourdine, J. L., A. Lebrun, and F. Silou. 2010. Investigaciones para evaluar diversidad en cerdos criollos
470 de Guadeloupe. *Revista Computadorizada de Produccion Porcina* 17(2):129-132.
- 471 Gunia, M., N. Mandonnet, R. Arquet, C. Chevrotière, M. Naves, M. Mahieu, and G. Alexandre. 2010.
472 Production systems of Creole goat and their implications for a breeding programme. *Animal* :
473 an international journal of animal bioscience 4:2099-2105. doi: 10.1017/s1751731110001412
- 474 Hernandez-Castellano, L. E., J. E. Nally, J. Lindahl, M. Wanapat, I. A. Alhidary, D. Fangueiro, D.
475 Grace, M. Ratto, J. C. Bambou, and A. M. de Almeida. 2019. Dairy science and health in the
476 tropics: challenges and opportunities for the next decades. *Trop. Anim. Health Prod.*
477 51(5):1009-1017. doi: 10.1007/s11250-019-01866-6
- 478 Hoffmann, I. 2013. Adaptation to climate change – exploring the potential of locally adapted breeds.
479 *Animal* 7:346–362. doi: 10.1017/s1751731113000815
- 480 Huyen, L. T. T., G. Duteurtre, S. Cournut, S. Messad, and N. Hostiou. 2019. Diversity and sustainability
481 of pig farm types in the northern mountains of Vietnam. *Trop. Anim. Health Prod.* 51(8):2583-
482 2593. doi: 10.1007/s11250-019-01973-4
- 483 Landais, E. 1998. Modelling farm diversity: new approaches to typology building in France. *Agric. Sys.*
484 58(4):505-527.
- 485 Le, S., J. Josse, and F. Husson. 2008. FactoMineR: An R package for multivariate analysis. *Journal of*
486 *Statistical Software* 25(1):1-18.
- 487 Leemans, R. 2009. The Millennium Ecosystem Assessment: Securing Interactions between Ecosystems,
488 Ecosystem Services and Human Well-being.
- 489 Mbuthia, J., B. P. Thomas, and A. Kahi. 2015. Analysis of pig breeding management and trait
490 preferences in smallholder production systems in Kenya. *Animal Genetic Resources* 56:1-7.
491 doi: 10.1017/s207863361400054x
- 492 Naves, M., G. Alexandre, F. Leimbacher, N. Mandonnet, and A. Menendez-Buxadera. 2001. Les
493 ruminants domestiques de la Caraïbe : Le point sur les ressources génétiques et leur exploitation.
494 *Productions Animales* 14:181-192.

495 Nozieres-Petit, M.-O., and A. Lauvie. 2018. Diversité des contributions des systèmes d'élevage de races
496 locales. Les points de vue des éleveurs de trois races ovines méditerranéennes. *Cah. Agric.*
497 27(6):65003.

498 Poore, J., and T. Nemecek. 2018. Reducing food's environmental impacts through producers and
499 consumers. *Science* 360(6392):987-+. doi: 10.1126/science.aaq0216

500 Reid, W., H. Mooney, A. Cropper, D. Capistrano, S. Carpenter, and K. Chopra. 2005. Millennium
501 Ecosystem Assessment. *Ecosystems and human well-being: synthesis.*

502 Ryschawy, J., M. Tichit, S. Bertrand, G. Allaire, S. Plantureux, O. Aznar, C. Perrot, C. Guinot, E. Josien,
503 J. Lasseur, C. Aubert, E. Tchakerian, and C. Disenhaus. 2015. How to assess the multiple
504 services provided by livestock? A preliminary methodology applied on the French case-study.
505 *INRA Productions Animales* 28(1):23-37.

506 Sainton, J.-P., R. Boutin, R. Chateau-Degat, L. H. F. C. Choucoutou, and G. B. Mauvois, editors. 2012.
507 *Histoire et Civilisation de la Caraïbe (Guadeloupe, Martinique, Petites Antilles), 2.* Karthala,
508 France, Paris, 394 p. pp.

509 Sierra, J., F. Causeret, J. L. Diman, M. Publicol, L. Desfontaines, A. Cavalier, and P. Chopin. 2015.
510 Observed and predicted changes in soil carbon stocks under export and diversified agriculture
511 in the Caribbean. The case study of Guadeloupe. *Agric. Ecosyst. Environ.* 213:252-264. doi:
512 10.1016/j.agee.2015.08.015

513 Stark, F., A. Fanchone, I. Semjen, C. H. Moulin, and H. Archimede. 2016. Crop-livestock integration,
514 from single-practice to global functioning in the tropics: Case studies in Guadeloupe. *Eur. J.*
515 *Agron.* 80:9-20. doi: 10.1016/j.eja.2016.06.004

516 Team, R. C. 2019. *R: A language and environment for statistical computing.* R Foundation for Statistical
517 Computing, Vienna, Austria.

518 Versini, F. 1997. De la compétition des bœufs tirants et des charretiers en Guadeloupe. .
519 *Ethnozootechnie* 60:75-83.

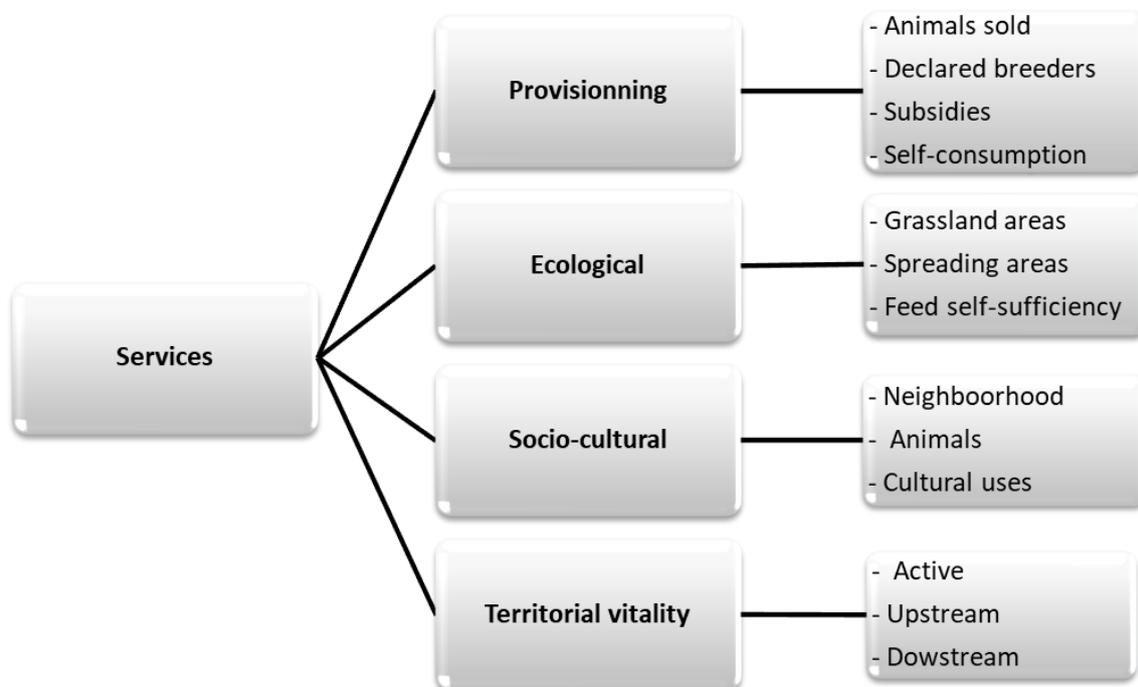
520 Xandé, A. 1999. Animal and quality of life in traditional society of the Caribbean islands. *Livest. Prod.*
521 *Sci.* 59(2-3):137-143. (A)

522 Zebus, M. F., G. Alexandre, J. L. Diman, E. Despois, and A. Xandé. 2004. Activités informelles,
523 normalisation et développement. L'élevage porcin en Guadeloupe. *Cahiers d'Etudes et de*
524 *Recherches Francophones/ Agricultures* 13(3):263-270.

525 Zebus, M. F., G. Alexandre, J. L. Diman, J. L. Paul, E. Despois, and E. Phaeton. 2005. Diversité des
526 élevages porcins en Guadeloupe: première évaluation technico-économique. *Journées de la*
527 *Recherche Porcine* 37:407-412.

528

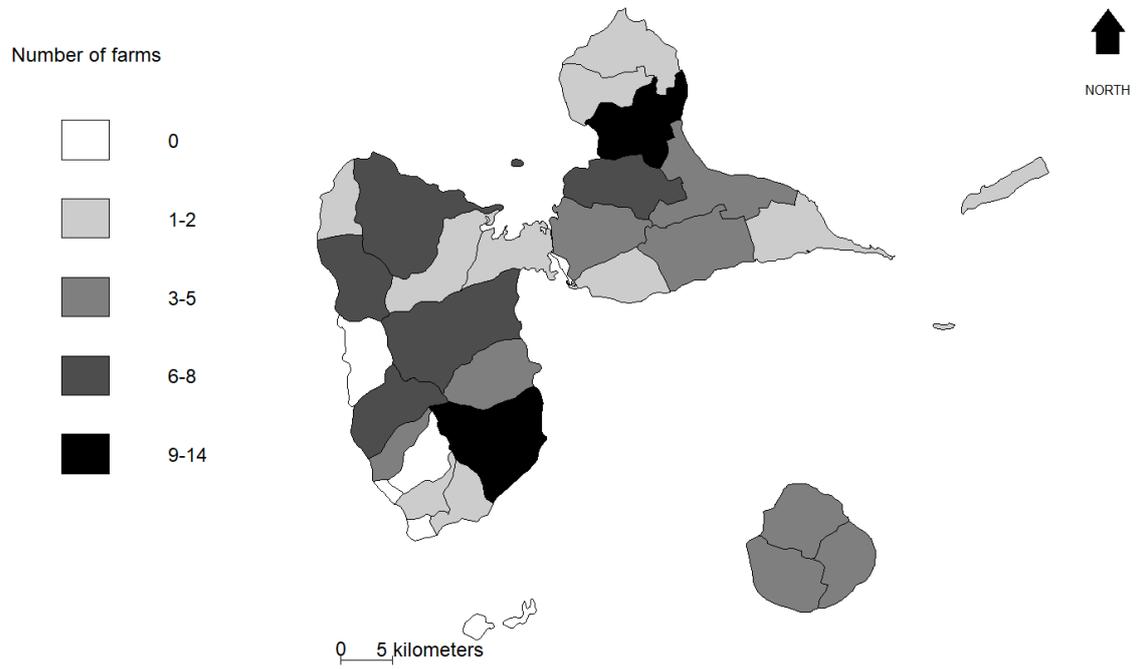
529 **Figure 1. Ecosystems services retained as indicators in the present study (adapted from Ryschawy**
530 **et al. (2015))**



531

532

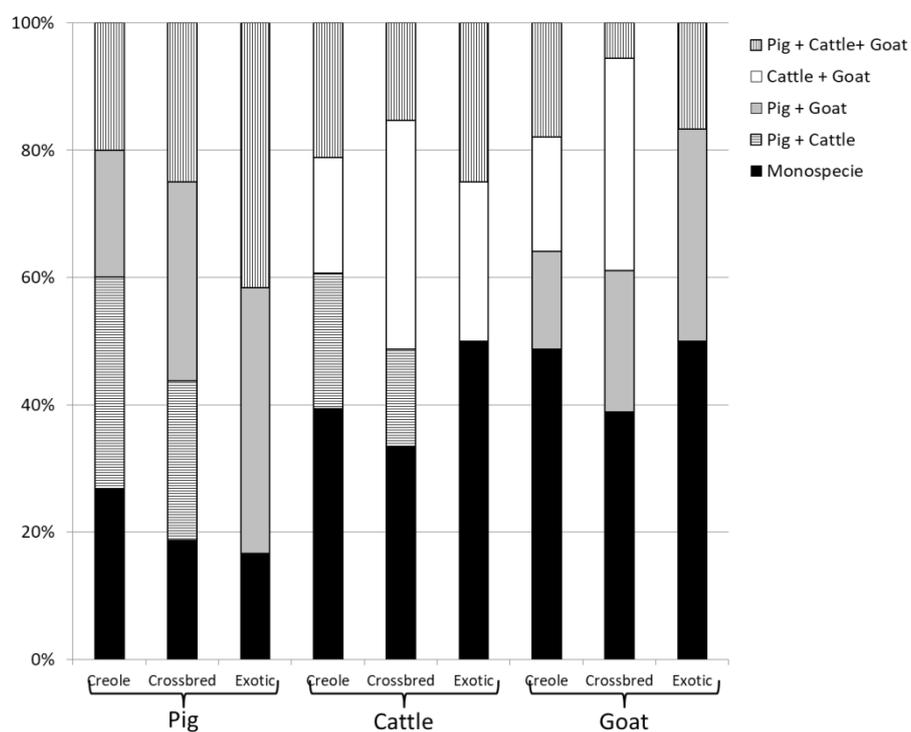
533 **Figure 2. Map of study area: number of farms that accepted to answer the survey**



534

535

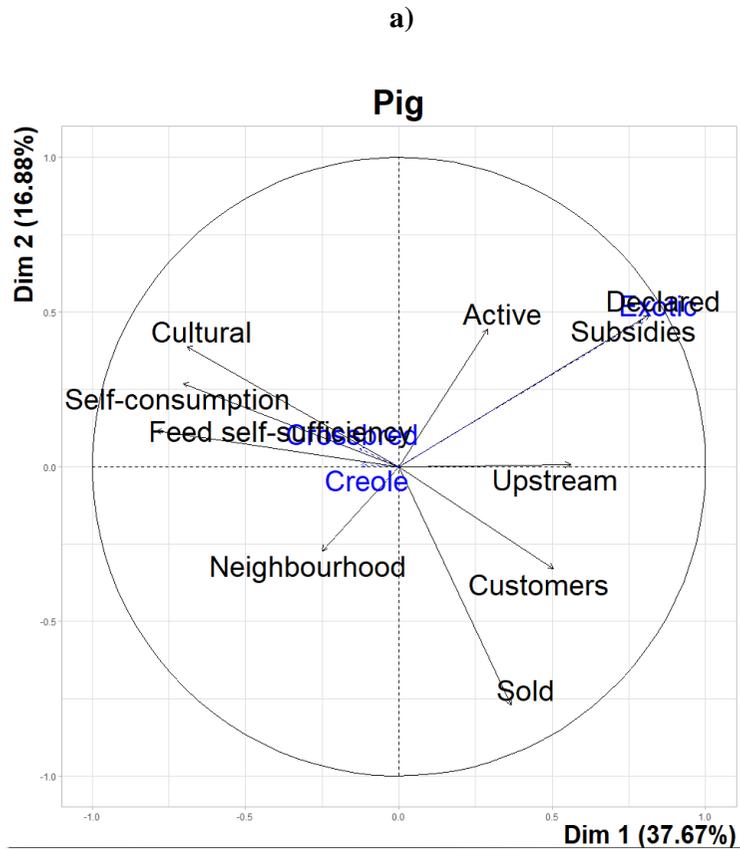
536 **Figure 3. Percentage of farms according to the monospecific or mixed livestock systems and the**
 537 **genotypes (Creole, crossbred or exotic).**



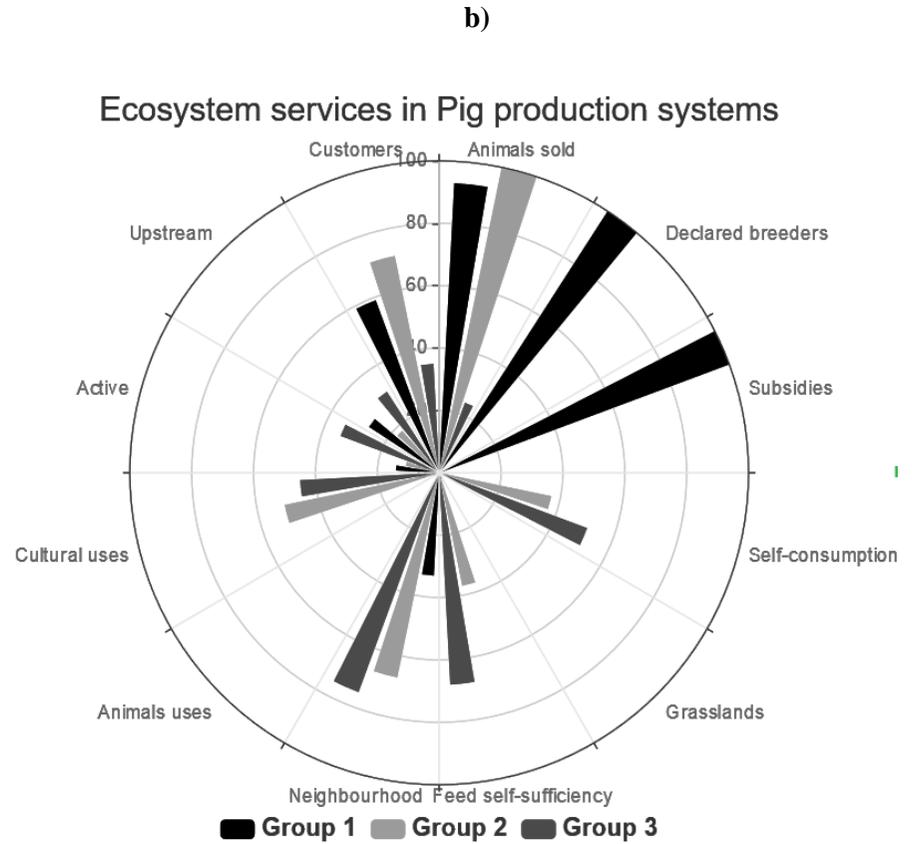
538

539 **Figure 4. Pig farming systems of Guadeloupe from surveys on a total of 40 farms: a) First two principal component axis b) Rose diagram of ecosystem**
 540 **services provided according to the 3 groups of pig farms identified by a principal component analysis followed by a hierarchical ascending**
 541 **classification.**

542

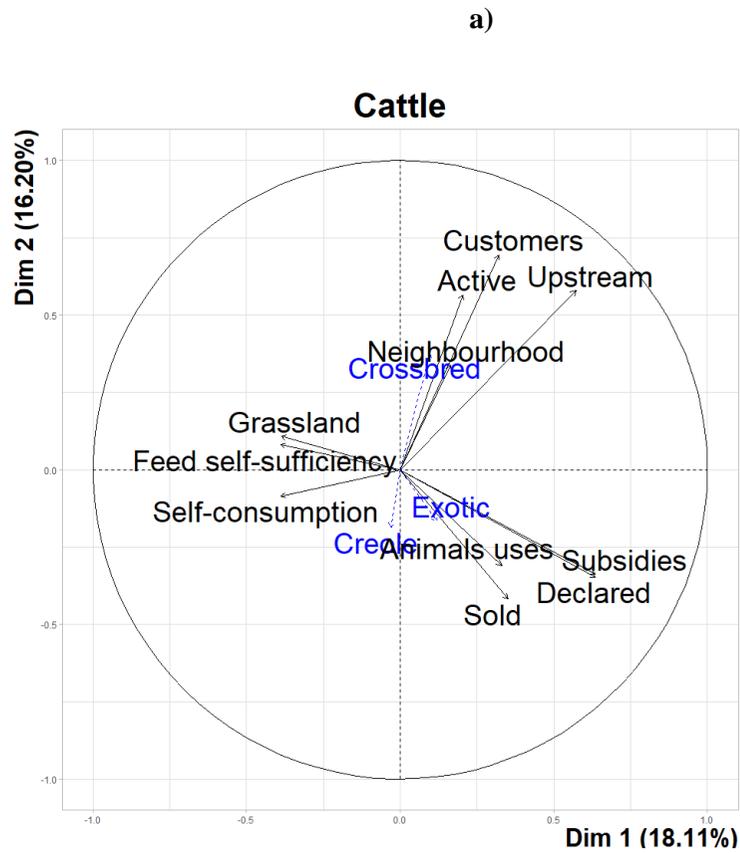


543

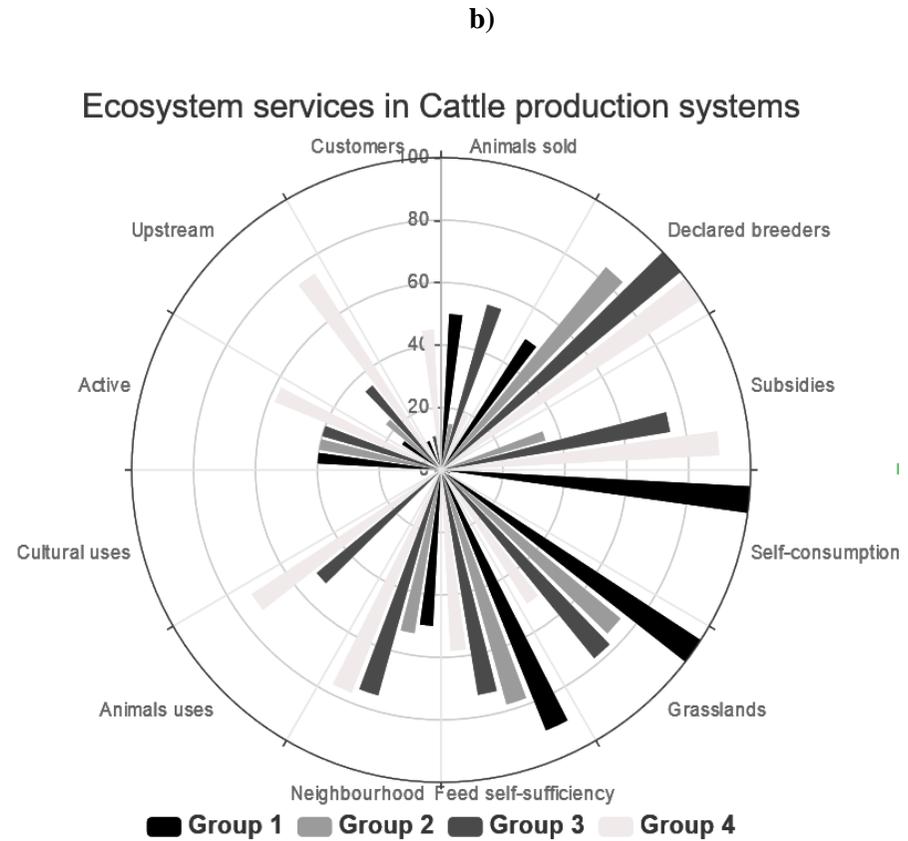


544 **Figure 5. Cattle farming systems of Guadeloupe from surveys on a total of 57 farms: a) First two principal component axis b) Rose diagram of**
 545 **ecosystem services provided according to the 4 groups of cattle farms identified by a principal component analysis followed by a hierarchical ascending**
 546 **classification.**

547



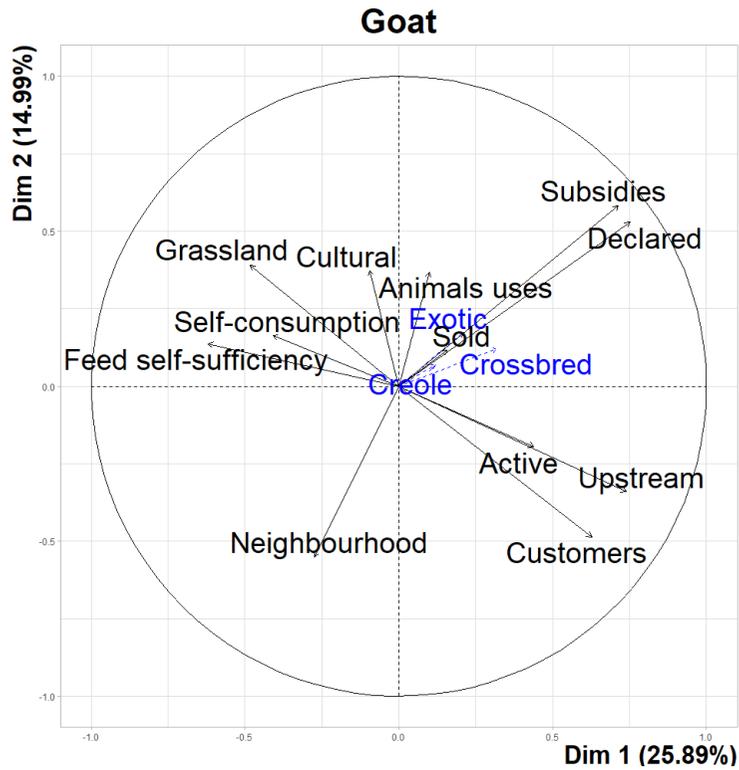
548



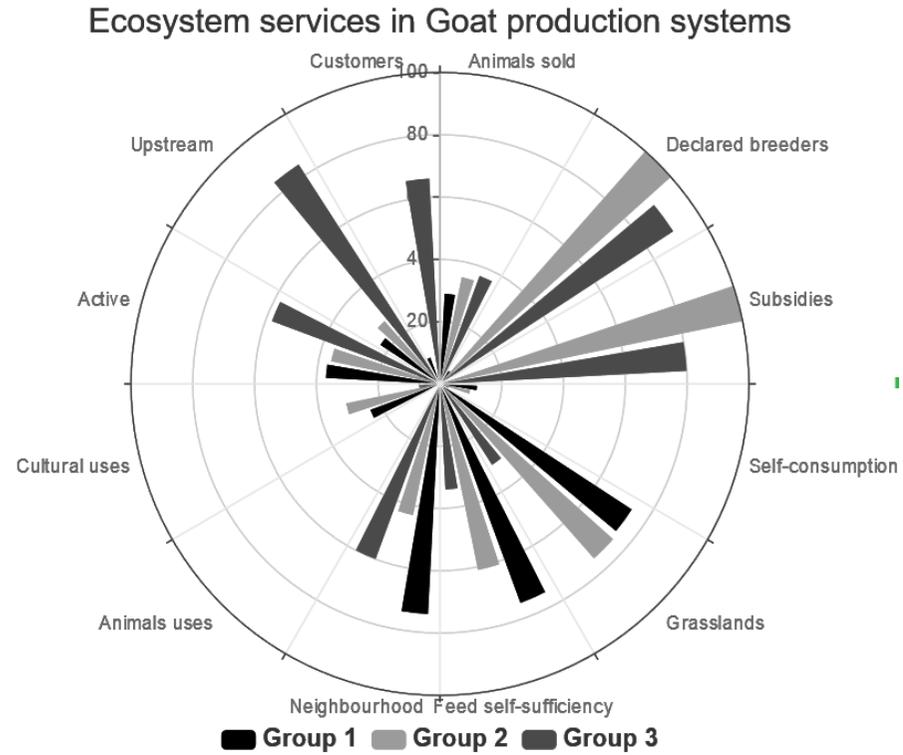
549 **Figure 6. Goat farming systems of Guadeloupe from surveys on a total of 66 farms: a) First two principal component axis; b) Rose diagram of ecosystem**
 550 **services provided according to the 6 groups of goat farms identified by a principal component analysis followed by a hierarchical ascending**
 551 **classification.**

552

a)



b)



553

554 **Table 1: Main characteristics of the farmers and their livestock activities.**

Farmers	Item	Percentage
Gender	Male	89 %
	Female	11 %
Age (years)	20-29	7 %
	30-39	9 %
	40-49	16 %
	50-59	27 %
	Above 60	41 %
Secondary occupation	No	18 %
	Employee	50 %
	Unemployed	6 %
	Student	2 %
	Retired	25 %
Livestock	Item	percentage
Monospecific farms	Pig	9 %
	Cattle	21 %
	Goat	25 %
Mixed livestock farms	Pig + Cattle	9 %
	Pig + Goat	12 %
	Cattle + Goat	16 %
	Pig + Cattle + Goat	8 %
Pig	0 animal	62 %
	1-20 animals	35 %
	More 100 animals	3 %
Pig feed self-sufficiency level (% of on-farm feed)	Total feed self-sufficiency	7 %
	≤ 10 %	7 %
	10 to 50 %	30 %
	More than 50 %	56 %
Cattle	0 animal	47 %
	1-5 animals	16 %
	6-15 animals	15 %
	16-30 animals	14 %

	More than 30 animals	8 %
Pasture for cattle	No pasture	9 %
	≤ 1 ha	12 %
	1 to 5 ha	42 %
	5 to 10 ha	21 %
	More than 10 ha	16 %
Goat	0 animal	38 %
	1-5 animals	10 %
	6-15 animals	34 %
	16-30 animals	9 %
	More than 30 animals	9 %
Pasture for goat	No pasture	5 %
	≤ 1 ha	58 %
	1 to 5 ha	30 %
	More than 5 ha	7 %

555

Table 2: Effect of breed on ecosystem services using MANOVA models¹.

Specie	N. Creole farms	N. Exotic farms	N. crossbred farms	WTS² p-value	MATS³ p-value
Pig⁴	13	11	15	0.18	0.11
Cattle⁵	21	1	27	0.11	0.02*
Goat⁶	29	3	28	0.77	0.54

¹The response vector for the MANOVA models is composed with the following variables: Animals sold, Declared breeders, Subsidies, Self-consumption, Grasslands, Feed self-sufficiency, Neighbourhood, Animals uses, Cultural uses, Active, Upstream and Customers; ²WTS: resampling Wald-type statistic test; ³MATS: Modified ANOVA-type statistic test; ⁴Pig: the 4 variables Declared breeders, Subsidies, Grasslands and Animal uses were excluded from the response vector because of lack of variability; ⁵Cattle: the variables Cultural uses was excluded from the response vector because of lack of variability; ⁶Goat: the variables Animal uses was excluded from the response vector because of lack of variability.

8

Références bibliographiques

- Abrahams, P.W., Steigmajer, J., 2003. Soil Ingestion by sheep grazing the metal enriched floodplain soils of Mid-Wales. *Environ. Geochem. Health* 25, 17–24. <https://doi.org/10.1023/A:1021217402950>
- Achenbach, T.E., 2000. Physiological and classical pharmacokinetic models of oxytetracycline in cattle. Simon Fraser University, Burnaby, BC, Canada.
- Afssa, 2007. Avis de l'agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'actualisation des données scientifiques sur la toxicité du chlordécone en vue d'une éventuelle révision des limites tolérables d'exposition proposées par l'AFSSA en 2003. (No. 6).
- Agreste, 2019a. Mémento de la statistique agricole – Guadeloupe, édition 2019.
- Agreste, 2019b. Mémento de la statistique agricole – Martinique, édition 2019.
- Albrecht, A., Brossard, M., Chotte, J.L., Feller, C., 1992. Les stocks organiques des principaux sols cultivés de la Martinique (Petites Antilles). *Cah ORSTOM* 27, 23–26.
- Alexandre, G., 1991. Qualités maternelles des chèvres Créole allaitantes. *Rev. DÉlevage Médecine Vét. Pays Trop.* 44, 51–55.
- Alexandre, G., Asselin de Beauville, S., Bienville, Y., Shitalou, E., 2003. La chèvre multifonctionnelle dans la société antillaise. *Ethnozootecnie* 70, 35–52.
- Alexandre, G., Asselin de Beauville, S., Shitalou, E., Zebus, M., 2008. An overview of the goat meat sector in Guadeloupe: conditions of production, consumer preferences, cultural functions and economic implications. *World* 10, 2–5.
- Alexandre, G., Aumont, G., Mandonnet, N., Naves, M., 1999. La chèvre Créole de Guadeloupe (FWI) : une ressource génétique importante pour les Tropiques humides. *Anim. Genet. Resour. Inf.* 26, 43–45. <https://doi.org/10.1017/S1014233900001188>
- Alqahtani, S.A., Alsultan, A., Alqattan, H.M., Eldemerdash, A., Albacker, T.B., 2018a. Population Pharmacokinetic Model for Vancomycin Used in Open Heart Surgery: Model-Based Evaluation of Standard Dosing Regimens. *Antimicrob. Agents Chemother.* 62, e00088-18. <https://doi.org/10.1128/AAC.00088-18>
- Alqahtani, S.A., Alsultan, A., Alqattan, H.M., Eldemerdash, A., Albacker, T.B., 2018b. Population Pharmacokinetic Model-Based Evaluation of Standard Dosing Regimens for Cefuroxime Used in Coronary Artery Bypass Graft Surgery with Cardiopulmonary Bypass. *Antimicrob. Agents Chemother.* 62, e02241-17. <https://doi.org/10.1128/AAC.02241-17>
- ANSES, 2019. Avis relatif à la fixation d'une limite maximale de résidus de chlordécone dans les muscles et dans la graisse pour les denrées carnées (No. 2018- SA- 0265). Maisons-Alfort.
- ANSES, 2018. Recherche de chlordécone dans la graisse périrénale, le foie et le muscle de bovins en Martinique et Guadeloupe (TRIPLÉT) (Rapport de synthèse No. PBM / 2017 / 03).
- ANSES, 2017. Exposition des consommateurs des Antilles au chlordécone, résultats de l'étude Kannari.
- ANSES, 2015. Méthode de dosage des résidus de chlordécone dans les denrées d'origine animale (No. ANSES PBM Pest LSA-INS-0164-Version 05). Maisons-Alfort.
- ANSES, 2011. Evaluation de l'exposition alimentaire au CLD des enfants guadeloupéens de 18 mois (Rapport d'étude).
- Archimède, H., Gourdine, J.L., Franchone, A., Alexandre, G., Marie Magdeleine, C., Calif, E., Fleury, J., Anais, C., Renaudeau, D., 2011a. Le bananier et ses produits dans l'alimentation animale. *Innov. Agron.* 16, 181–192.
- Archimède, H., Xande, X., Gourdine, J.L., Fra, Alexandre, G., Boval, M., Coppry, O., Arquet, R., Fleury, J., Regnier, C., Renaudeau, D., 2011b. La canne à sucre et ses co-produits dans l'alimentation animale. *Innov. Agron.* 16, 165–179.

- Aumont, G., Gautier, D., Coulaud, G., Gruner, L., 1991. Gastro-intestinal parasitism of cattle in native pasture grazing system in Guadeloupe (French West Indies). *Vet. Parasitol.* 40, 29–46. [https://doi.org/10.1016/0304-4017\(91\)90081-6](https://doi.org/10.1016/0304-4017(91)90081-6)
- Aumont, G., Gruner, L., Hostache, G., 2003. Comparison of the resistance to sympatric and allopatric isolates of *Haemonchus contortus* of black belly sheep in Guadeloupe (FWI) and of INRA 401 sheep in France. *Vet. Parasitol.* 116, 139–150. [https://doi.org/10.1016/S0304-4017\(03\)00259-0](https://doi.org/10.1016/S0304-4017(03)00259-0)
- Bastien, O., Matheron, G., Leimbacher, F., 1991. Le mouton en Martinique. I. Description des principaux phénotypes identifiés et étude de quelques caractères morphologiques. *Rev. D'Élevage Médecine Vét. Pays Trop.* 44, 75–82.
- Belfiore, C.J., Yang, R.S.H., Chubb, L.S., Lohitnavy, M., Lohitnavy, O.S., Andersen, M.E., 2007. Hepatic sequestration of chlordecone and hexafluoroacetone evaluated by pharmacokinetic modeling. *Toxicology* 234, 59–72. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2007.02.002>
- Blaxter, K.L., Fowler, V.R., Gill, J.C., 1982. A study of the growth of sheep to maturity. *J. Agric. Sci.* 98, 405. <https://doi.org/10.1017/s0021859600041952>
- Bousquet-Mélou, A., Mercadier, S., Alvinerie, M., Toutain, P.L., 2004. Endectocide exchanges between grazing cattle after pour-on administration of doramectin, ivermectin and moxidectin. *Int. J. Parasitol.* 34, 1299–1307. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2004.08.005>
- Bouveret, C., Rychen, G., Lerch, S., Jondreville, C., Feidt, C., 2013. Relative bioavailability of tropical volcanic soil-bound chlordecone in piglets. *J. Agric. Food Chem.* 61, 9269–9274. <https://doi.org/10.1021/jf400697r>
- Boylan, J.J., Cohn, W.J., Egle, J.L., Blanke, R.V., Guzelian, P.S., 1979. Excretion of chlordecone by the gastrointestinal tract: evidence for a nonbiliary mechanism. *Clin. Pharmacol. Ther.* 25, 579–585. <https://doi.org/10.1002/cpt1979255part1579>
- Brochot, C., Willemin, M.E., Zeman, F., 2014. «Chapitre 13. La modélisation toxicopharmacocinétique à fondement physiologique : son rôle en évaluation du risque et en pharmacologie», Franck Varenne éd., *Modéliser & simuler – Tome 2. Epistémologies et pratiques de la modélisation et de la simulation.*, Éditions Matériologiques. ed. Paris.
- Buflot, B., Galan, F., Julien, L., Traineau, I., Badouard, B., 2008. Typologie des exploitations avec porcs en Guyane et aux Antilles Françaises. Caractérisation des systèmes de production pour mettre en place un réseau de références technico-économiques. *Journ. Rech. Porc.* 40, 273–274.
- Bungay, P.M., Dedrick, R.L., Matthews, H.B., 1981. Enteric transport of chlordecone (kepone®) in the Rat. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* 9, 309–341. <https://doi.org/10.1007/BF01059269>
- Buur, J., Baynes, R.E., Craigmill, A.L., Riviere, J.E., 2005. Development of a physiologic based pharmacokinetic model for estimating sulfamethazine concentrations in swine and application to prediction of violative residues in edible tissues. *Am. J. Vet. Res. Cover* 66, 1686–1693. <https://doi.org/10.2460/ajvr.2005.66.1686>
- Buur, J., Baynes, R.E., Riviere, J.E., 2008. Estimating meat withdrawal times in pigs exposed to melamine contaminated feed using a physiologically based pharmacokinetic model. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 51, 324–331. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2008.05.003>
- Buur, J., Baynes, R.E., Smith, G., Riviere, J.E., 2009. A physiologically based pharmacokinetic model linking plasma protein binding interactions with drug disposition. *Res. Vet. Sci.* 86, 293–301.
- Buur, J., Baynes, R.E., Smith, G., Riviere, J.E., 2006. Use of probabilistic modeling within a physiologically based pharmacokinetic model to predict sulfamethazine residue withdrawal times in edible tissues in swine. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50, 2344–2351. <https://doi.org/10.1128/aac.01355-05>
- Canope, I., Raynaud, Y., Hedreville, F., Despois, E., Racon, B., 1980. Etude comparative des performances de reproduction des truies de races Créole et Large White en Guadeloupe. *Ann. Génétique Sélection Anim.* 12, 267–280. <https://doi.org/10.1186/1297-9686-12-3-267>

- Chatelut, E., 2018. Pharmacocinétique: les fondamentaux / Ouvrage du Groupe des Enseignans de Pharmacocinétique (GEPK) ; coordonné par Etienne Chatelut. Edimark, Paris.
- Chemineau, P., Mahieu, M., Varo, H., Shitalou, E., Jego, Y., Grude, A., Thiminier, J., 1991. Reproduction des caprins et des ovins Créole de Guadeloupe et de Martinique. *Rev. D'Élevage Médecine Vét. Pays Trop.* 44, 45–50. <https://doi.org/10.19182/remvt.9234>
- Chen, K., Seng, K.Y., 2012. Calibration and validation of a physiologically based model for soman intoxication in the rat, marmoset, guinea pig and pig. *J. Appl. Toxicol.* 32, 673–686. <https://doi.org/10.1002/jat.1671>
- Chevallier, M.L., Della-Negra, O., Chaussonnerie, S., Barbance, A., Muselet, D., Lagarde, F., Darii, E., Ugarte, E., Lescop, E., Fonknechen, N., Weissenbach, J., Woignier, T., Gallard, J.F., Vueilleumier, S., Imfeld, G., Le Paslier, D., Saaidi, P.L., 2019. Natural chlordecone degradation revealed by numerous transformation products characterize in key French West Indies environmental compartments. *Environ. Sci. Technol.* 53, 6133–6143. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b06305>
- Clewell, R.A., Clewell, H.J., 2008. Development and specification of physiologically based pharmacokinetic models for use in risk assessment. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 50, 129–143. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2007.10.012>
- Clostre, F., Lavigne, A., Jurjanz, S., Jondreville, C., Dalibard, C., Liabeuf, J.M., Lesueur-Jannoyer, M., 2013. Cinétiques de contamination et de décontamination de canards par la chlordécone pendant le contrôle biologique des adventices dans un verger de goyaviers. Document De Synthèse Cirad-INRA-Université De Lorraine.
- Cohn, W.J., Boylan, J.J., Blanke, R.V., Fariss, M.W., Howell, J.R., Guzelian, P.S., 1978. Treatment of chlordecone (kepone) toxicity with cholestyramine – results of a controlled clinical trial. *N. Engl. J. Med.* 298, 243–248. <https://doi.org/10.1056/NEJM197802022980504>
- Collas, C., Mahieu, M., Tricheur, A., Crini, N., Badot, P.M., Archimède, H., Rychen, G., Feidt, C., Jurjanz, S., 2019. Cattle exposure to chlordecone through soil intake. The case-study of tropical grazing practices in the French West Indies. *Sci. Total Environ.* 668, 161–170. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.384>
- Collet, S.H., Picard-Hagen, N., Lacroix, M.Z., Puel, S., Viguie, C., Bousquet-Mélou, A., Toutain, P.L., Gayrard, V., 2015. Allometric scaling for predicting human clearance of bisphenol A. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 284, 323–329. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2015.02.024>
- Craigmill, A.L., 2003. A physiologically based pharmacokinetic model for oxytetracycline residues in sheep. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 26, 55–63. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2885.2003.00451.x>
- Danielak, D., Twardosw, J., Kasprzyk, A., Wachowiak, J., Kalwak, K., Glówka, F., 2018. Population pharmacokinetics of treosulfan and development of a limited sampling strategy in children prior to hematopoietic stem cell transplantation. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 74, 79–89. <https://doi.org/10.1007/s00228-017-2344-x>
- de Kock, M., Tarning, J., Workman, L., Allen, E.N., Tekete, M.M., Djimde, M.T., Bell, D.J., Ward, S.A., Barnes, K.I., Denti, P., 2018. Population Pharmacokinetic Properties of Sulfadoxine and Pyrimethamine: a Pooled Analysis To Inform Optimal Dosing in African Children with Uncomplicated Malaria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 62, e01370-17. <https://doi.org/10.1128/AAC.01370-17>
- Derks, H.J.G.M., Berende, P.L.M., Olling, M., Everts, H., Liem, A.K.D., de Jong, A.P.J.M., 1994. Pharmacokinetic modeling of polychlorinated dibenzo-p-dioxins (PCDDs) and furans (PCDFs) in cows. *Chemosphere* 28, 711–715. [https://doi.org/10.1016/0045-6535\(94\)90222-4](https://doi.org/10.1016/0045-6535(94)90222-4)
- Desprats, J.F., Pierre-Léande, C., Ovarbury, T., 2016. Suivi et mise à jour 2016 du SIG sur la contamination des sols de Martinique par la chlordécone. Rapport final BRGM RP- 66297 - FR.
- Dow, N., 2006. Determination of compound binding to plasma proteins. *Curr. Protoc. Pharmacol.* 34, 7.5.1-7.5.15. <https://doi.org/10.1002/0471141755.ph0705s34>

- EFSA, 2014. Modern methodologies and tools for human hazard assessment of chemicals. *EFSA J.* 12. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3638>
- Egle, J.L., Fernandez, S.B., Guzelian, P.S., Borzelleca, J.F., 1978. Distribution and excretion of chlordecone (Kepone) in the rat. *Drug Metab. Dispos.* 6, 91–95.
- Fan, J., de Lannoy, I.A.M., 2013. Pharmacokinetics. *Biochem. Pharmacol.* 87, 93–120. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2013.09.007>
- Fariss, M.W., 1980. Comparative metabolism of chlordecone (kepone) in mammals. Virginia Commonwealth University/Medical College of Virginia.
- Fariss, M.W., Blanke, R.V., Saady, J.J., Guzelian, P.S., 1980. Demonstration of major metabolic pathways for chlordecone (kepone) in humans. *Drug Metab. Dispos.* 8, 434–438.
- Fisher, D.J., Bender, M.E., Roberts, M.H., 1983. Effects of ingestion of kepone-contaminated food by juvenile blue crabs (*Callinectes sapidus rathbun*). *Aquat. Toxicol.* 4, 219–234. [https://doi.org/10.1016/0166-445X\(83\)90019-X](https://doi.org/10.1016/0166-445X(83)90019-X)
- Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley, G.H., 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. Biol. Chem.* 226, 497–509.
- Fourcot, A., Feidt, C., Bousquet-Mélou, A., Ferran, A.A., Gourdine, J.L., Bructer, M., Joaquim-Justo, C., Rychen, G., Fournier, A., 2020. Modeling chlordecone toxicokinetics data in growing pigs using a nonlinear mixed-effects approach. *Chemosphere* 250, 126151. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126151>
- Fournier, A., 2011. Transfert de polluants organiques persistants (POP) vers l'œuf de poule : influence des caractéristiques des polluants et du statut physiologique de l'animal. Université de Lorraine.
- Fournier, A., Feidt, C., Lastel, M.L., Archimède, H., Thomé, J.P., Mahieu, M., Rychen, G., 2017. Toxicokinetics of chlordecone in goats: Implications for risk management in French West Indies. *Chemosphere* 171, 564–570. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.12.054>
- Freijer, J., Eijkeren, J.V., Sips, A., 1999. Model for estimating initial burden and daily absorption of lipophilic contaminants in cattle (No. RIVM Report no. 643810 005). National Institute of Public Health and the Environment, Bilthoven The Netherlands.
- Frew, J.A., Brown, J.T., Fitzsimmons, P.N., Hoffman, A.D., Sadilek, M., Grue, C.E., Nichols, J.W., 2018. Toxicokinetics of the neonicotinoid insecticide imidacloprid in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp. Biochem. Physiol. Part C Toxicol. Pharmacol.* 205, 34–42. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2018.01.002>
- Gabrielsson, J., Weiner, D., 2012. Non-compartmental analysis. *Methods Mol Biol.* 2012;929:377-89. *Methods Mol. Biol.* 929, 377–389. https://doi.org/10.1007/978-1-62703-050-2_16
- Galan, F., Julien, L., Buflot, B., 2008a. Panorama des filières animales et typologie des systèmes d'exploitation avec élevage de Guade-loupe. Programme « Réseaux de références » POSEI France.
- Galan, F., Reuillon, J.L., Letellier, O., Bleubar, S., Marie, F., 2009. Caractérisation des systèmes d'élevage bovin des départements d'outre-mer (DOM). Premiers résultats issus des Réseaux de références. *Rencontre Rech. Rumin.* 1–8.
- Galan, F., Traineau, I., Julien, L., Buflot, B., 2008b. Panorama des filières animales et typologie des systèmes d'exploitation avec élevage de Martinique. Programme « Réseaux de références » POSEI France.
- Gay, O.M., Blood, D.C., Hinchcliff, K.W., 2000. The haematological values for cattle, sheep, goats and pigs are reproduced with permission from Radostits. *Vet. Med.* 9, 1819–1822.
- Gayrard, V., Lacroix, M.Z., Grandin, F.C., Collet, S.H., Mila, H., Viguié, C., Gély, C.A., Rabozzi, B., Bouchard, M., Léandri, R., Toutain, P.L., Picard-Hagen, N., 2019. Oral systemic bioavailability

- of Bisphenol A and Bisphenol S in pigs. *Environ. Health Perspect.* 127, 77005. <https://doi.org/10.1289/EHP4599>
- Gbangdoche, A.B., Glèglè Kakaï, R., Salifou, S., Albuquerque, L.G., Leroy, P.L., 2008. Comparison of non-linear growth models to describe the growth curve in West African Dwarf sheep. *Animal* 2, 1003–1012. <https://doi.org/10.1017/S175173110800220>
- Gismondi, E., Beisel, J.N., Cossu-Leguille, C., 2012. Influence of gender and season on reduced glutathione concentration and energy reserves of *Gammarus roeseli*. *Environ. Res.* 118, 47–52. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2012.06.004>
- Godard, E., 2007. Godard, E., 2007. Chlordécone 1999-2007 – Découverte et gestion d'une pollution agricole sans précédent. Groupe Régional des phytosanitaires (GREPHY), Fort-de-France, Martinique (France) Séance plénière du 22 octobre. 32p. Presented at the Groupe Régional des phytosanitaires (GREPHY), séance plénière du 22 octobre, Fort-de-France, Martinique (France), p. 32.
- Goliomytis, M., Orfanos, S., Panopoulou, E., Rogdakis, E., 2006. Growth curves for body weight and carcass components, and carcass composition of the Karagouniko sheep, from birth to 720 d of age. *Small Rumin. Res.* 66, 222–229. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.09.021>
- Gourdine, J.L., Renaudeau, D., Xande, X., Régnier, C., Anais, C., Alexandre, G., Archimède, H., 2011. Systèmes de production valorisant des ressources locales en production porcine en milieu tropical. *Innov. Agron.* 16, 75–87.
- Green, N., Johnson, D., Wilkins, B.T., 1996. Factors Affecting the Transfer of Radionuclides to Sheep Grazing on Pastures Reclaimed from the Sea. *J. Environ. Radioact.* 30, 173–183. [https://doi.org/10.1016/0265-931X\(95\)00019-7](https://doi.org/10.1016/0265-931X(95)00019-7)
- Guzelian, P.S., 1982. Comparative toxicology of chlordecone (kepone) in humans and experimental animals. *Annu. Rev. Pharmacol.* 22, 89–113. <https://doi.org/10.1146/annurev.pa.22.040182.000513>
- Hansch, B., Leo, A., Hoekman, D., 1995. Exploring QSAR: hydrophobic, electronic, and steric constants, Washington, DC: American Chemical Society. ed.
- Healy, W.B., Ludwig, T.G., 1965. Wear of sheep's teeth I. The role of ingested soil. *N. Z. J. Agric. Res.* 8, 737–752. <https://doi.org/10.1080/00288233.1965.10423710>
- Heatherington, A.C., Fisher, H.L., Sumler, M.R., Waller, C., Shah, P.V., Hall, L.L., 1998. Percutaneous absorption and disposition of [¹⁴C]Chlordecone in young and adult female rats. *Environ. Res.* 79, 138–155. <https://doi.org/10.1006/enrs.1998.3862>
- Henri, J., Carrez, R., Méda, B., Laurentie, M., Sanders, P., 2017. A physiologically based pharmacokinetic model for chickens exposed to feed supplemented with monensin during their lifetime. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 40, 370–382. <https://doi.org/10.1111/jvp.12370>
- Hewitt, L.A., Ayotte, P., Plaa, G.L., 1986. Modifications in rat hepatobiliary function following treatment with acetone, 2-butanone, 2-hexanone, mirex, or chlordecone and subsequently exposed to chloroform. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 83, 465–473. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(86\)90229-2](https://doi.org/10.1016/0041-008X(86)90229-2)
- Hoogenboom, L.A., van Eijkeren, J.C., Zeilmaker, M.J., Mengelers, M.J., Herbes, R., Immerzeel, J., Traag, W.A., 2007. A novel source for dioxins present in recycled fat from gelatin production. *Chemosphere* 68, 814–823. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.02.032>
- Hoogenboom, R., Zeilmaker, M., Eijkeren, J.V., Kan, K., Mengelers, M.J., Luykx, D., Traag, W., 2010. Kaolinic clay derived PCDD/Fs in the feed chain from a sorting process for potatoes. *Chemosphere* 78, 99–105. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.10.016>
- Houston, T.E., Mutter, L.C., Blanke, R.V., Guzelian, P.S., 1981. Chlordecone alcohol formation in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*): a model for human metabolism of chlordecone

- (kepone). *Fundam. Appl. Toxicol.* 1, 293–298. [https://doi.org/10.1016/S0272-0590\(81\)80132-7](https://doi.org/10.1016/S0272-0590(81)80132-7)
- Huang, L., Lin, Z., Zhou, X., Zhu, M., Gehring, R., Riviere, J.E., Yuan, Z., 2015. Estimation of residue depletion of cyadox and its marker residue in edible tissues of pigs using physiologically based pharmacokinetic modelling. *Food Addit. Contam.* 32, 2002–2007. <https://doi.org/10.1080/19440049.2015.1100330>
- Huang, Q., Riviere, J.E., 2014. The application of allometric scaling principles to predict pharmacokinetic parameters across species. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 10, 1241–1253. <https://doi.org/10.1517/17425255.2014.934671>
- IEDOM, 2019a. Rapport annuel, Guadeloupe 2018.
- IEDOM, 2019b. Rapport annuel, Martinique 2018.
- IEDOM, 2015. Rapport annuel, Guadeloupe 2014.
- IPCS, 1984. Environmental Health Criteria 43 : Chlordecone. International Programme on Chemical Safety, World Health Organization.
- Jackson, P.G.G., Cockcroft, P.D., 2002. Veterinary Medicine, in: *Clinical Examination of Farm Animals*. p. 302.
- Jannoyer, M., Cattan, P., Woignier, T., Clostre, F., 2016. *Crisis Management of Chronic Pollution*, Boca Raton: CRC Press. ed.
- Jondreville, C., Bouveret, C., Lesueur-Jannoyer, M., Rychen, G., Feidt, C., 2013. Relative bioavailability of tropical volcanic soil-bound chlordecone in laying hens (*Gallus domesticus*). *Environ. Sci. Pollut. Res.* 20, 292–299. <https://doi.org/10.1007/s11356-012-1010-1>
- Jondreville, C., Fournier, A., Mahieu, M., Feidt, C., Archimède, H., Rychen, G., 2014a. Kinetic study of chlordecone orally given to laying hens (*Gallus domesticus*). *Chemosphere* 111, 275–281. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.05.008>
- Jondreville, C., Lavigne, A., Jurjanz, S., Dalibard, C., Liabeuf, J.M., Clostre, F., Lesueur-Jannoyer, M., 2014b. Contamination of free-range ducks by chlordecone in Martinique (French West Indies): a field study. *Sci. Total Environ.* 336–341. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.05.083>
- Jones, H.M., Rowland-Yeo, K., 2013. Basic concepts in physiologically based pharmacokinetic modeling in drug discovery and development. *CPT Pharmacomet. Syst. Pharmacol.* 2, e63. <https://doi.org/10.1038/psp.2013.41>
- Jurjanz, S., Collas, C., Lastel, M.L., Godard, X., Archimède, H., Rychen, G., Feidt, C., 2017. Evaluation of soil intake by growing Creole young bulls in common grazing systems in humid tropical conditions. *Animal* 1363–1371. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.384>
- Jurjanz, S., Jondreville, C., Mahieu, M., Fournier, A., Archimède, H., Rychen, G., Feidt, C., 2014. Relative bioavailability of soil-bound chlordecone in growing lambs. *Environ. Geochem. Health* 36, 911–917. <https://doi.org/10.1007/s10653-014-9608-5>
- Lafontaine, A., Gismondi, E., Dodet, N., Joaquim-Justo, C., Boulangé-Lecomte, C., Caupos, F., Lemoine, S., Lagadic, L., Forget-Leray, J., Thomé, J.P., 2017. Bioaccumulation, distribution and elimination of chlordecone in the giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*: Field and laboratory studies. *Chemosphere* 185, 888–898. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.07.099>
- Lastel, M.L., 2016. *Chlordécone et filières animales antillaises – De la distribution tissulaire aux stratégies de décontamination chez les ruminants*. Université de Lorraine.
- Lautz, L.S., Dorne, J.L., Oldenkamp, R., Hendriks, A.J., Ragas, A.M.J., 2020. Generic physiologically based kinetic modelling for farm animals: Part I. Data collection of physiological parameters in swine, cattle and sheep. *Toxicol. Lett.* 319, 95–101. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2019.10.021>

- Lautz, L.S., Oldenkamp, R., Dorne, J.L., Ragas, A.M.J., 2019. Physiologically based kinetic models for farm animals: Critical review of published models and future perspectives for their use in chemical risk assessment. *Toxicol. In Vitro* 60, 61–70. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2019.05.002>
- Leavens, T.L., Tell, L.A., Clothier, K.A., Griffith, R.W., Baynes, R.E., Riviere, J.E., 2012. Development of a physiologically based pharmacokinetic model to predict tulathromycin distribution in goats. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 35, 121–131. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2011.01304.x>
- Leavens, T.L., Tell, L.A., Kissell, L.W., Smith, G., Smith, D., Wagner, S.A., Shelver, W., Wu, H., Baynes, R.E., Riviere, J.E., 2014. Development of a physiologically based pharmacokinetic model for flunixin in cattle (*Bos taurus*). *Food Addit. Contam. – Part Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.* 31, 1506–1521.
- Lerch, S., Lastel, M.L., Fournier, A., Jurjanz, S., Dziurla, M.A., Linder, M., Feidt, C., Rychen, G., 2018. Distribution de la chlordécone au sein de l'organisme du chevreau en fonction des teneurs tissulaires en lipides polaires. *Rencontre Rech. Rumin.* 24, 426.
- Lewis, R.M., Emmans, G.C., Simm, G., 2002. A description of the growth of sheep and its genetic analysis. *Anim. Sci.* 74, 51–62. <https://doi.org/10.1017/S1357729800052176>
- Li, M., Gehring, R., Riviere, J.E., Lin, Z., 2017. Development and application of a population physiologically based pharmacokinetic model for penicillin G in swine and cattle for food safety assessment. *Food Chem. Toxicol.* 107, 74–87. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.06.023>
- Liber, Y., 2019. Etude des déterminants biologiques de l'absorption de la chlordécone par la plante. Université de Lyon.
- Lin, Z., Gehring, R., Mochel, J.P., Lave, T., Riviere, J.E., 2016. Mathematical modeling and simulation in animal health – part II: principles, methods, applications, and value of physiologically based pharmacokinetic modeling in veterinary medicine and food safety assessment. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 39, 421–438. <https://doi.org/10.1111/jvp.12311>
- Loizou, G., Spendiff, M., Barton, H.A., Bessems, J., Bois, F.Y., Bouvier d'Yvoire, M., Buist, H., Clewell, H.J., Meek, B., Gundert-Remy, U., Goerlitz, G., Schmitt, W., 2008. Development of good modelling practice for physiologically based pharmacokinetic models for use in risk assessment: The first steps. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 50, 400–411. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2008.01.011>
- MacLachlan, D.J., 2010. Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model for residues of lipophilic pesticides in poultry. *Food Addit. Contam. – Part Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.* 27, 302–314. <https://doi.org/10.1080/19440040903296683>
- MacLachlan, D.J., 2009. Influence of physiological status on residues of lipophilic xenobiotics in livestock. *Food Addit. Contam. – Part Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.* 26, 692–712. <https://doi.org/10.1080/02652030802669170>
- Mahieu, M., 2014. Gestion du parasitisme gastro-intestinal des petits ruminants en zone tropicale humide. Université de Lorraine.
- Mahieu, M., Arquet, R., Coppry, O., Alexandre, G., Fanchone, A., Naves, M., Boval, M., Mandonnet, N., Fleury, J., Archimède, H., 2011. Des techniques intégrées pour un élevage de ruminants productif et durable aux Antilles-Guyane. *Innov. Agron.* 16, 89–103.
- Mahieu, M., Aumont, G., Alexandre, G., 1997. Elevage intensif des ovins tropicaux à la Martinique. *INRA Prod. Anim.* 10, 21–32.
- Mahieu, M., Fournier, A., Lastel, M.L., Feidt, C., Rychen, G., Archimède, H., 2015. Chlordecone and animal breeding individual variability of the excretion capacity of ruminants and consequences on the contamination. Presented at the 44ème congrès du Groupe Français des Pesticides, 26-29 mai 2014.

- Mandonnet, N., Aumont, G., Fleury, J., Arquet, R., 2001. Assessment of genetic variability of resistance to gastrointestinal nematode parasites in creole goats in the humid tropics. *J. Anim. Sci.* 79, 1706–1712. <https://doi.org/10.2527/2001.7971706x>
- Mares, P., Ranny, M., Sedlacek, J., Skorepa, J., 1983. Chromatographic analysis of blood lipids - comparison between gas chromatography and thin-layer chromatography with flame ionization detection. *J. Chromatogr.* 275, 295–305.
- McNally, K., Cotton, R., Loizou, G.D., 2011. A workflow for global sensitivity analysis of PBPK models. *Front. Pharmacol.* 2, 31. <https://doi.org/10.3389/fphar.2011.00031>
- Méda, B., Travel, A., Guyot, Y., Henri, J., Royer, E., Baéza-Campone, E., Jondreville, C., 2020. A PBPK model to study the transfer of α -hexabromocyclododecane (α -HBCDD) to tissues of fast- and slow-growing broilers. *Food Addit. Contam. – Part Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.* 37, 316–331. <https://doi.org/10.1080/19440049.2019.1681596>
- Mets, B., 1991. Lignocaine extraction ratio and clearance as an indicator of hypoxic hepatic injury - A study using the *in situ* and the isolated perfused pig liver. University of Cape Town.
- Molowa, D.T., Shayne, A.G., Guzelian, P.S., 1986a. Purification and characterization of chlordecone reductase from human liver. *J. Biol. Chem.* 261, 12624–12627.
- Molowa, D.T., Wrighton, S.A., Blanke, R.V., Guzelian, P.S., 1986b. Characterization of a unique aldo-keto reductase responsible for the reduction of chlordecone in the liver of the gerbil and man. *Toxicol. Environ. Health* 17, 375–384. <https://doi.org/10.1080/15287398609530832>
- Naves, M., 2003. Caractérisation Et Gestion d'une Population Bovine Locale De La Zone Tropicale: Le Bovin Créole De Guadeloupe. Université Antilles-Guyane.
- Naves, M., Alexandre, G., Leimbacher, F., Mandonnet, N., Menendez-Buxadera, A., 2001. Les ruminants domestiques de la Caraïbe : Le point sur les ressources génétiques et leur exploitation. *INRA Prod. Anim.* 14, 181–192.
- Naves, M., Alexandre, G., Mahieu, M., Gourdine, J.L., Mandonnet, N., 2011. Les races animales locales : bases du développement innovant et durable de l'élevage aux Antilles. *Innov. Agron.* 16, 193–205.
- Naves, M., Menendez-Buxadera, A., 1997. Comportamiento productivo del ganado creole en Guadalupe análisis de 15 años de trabajo. *Arch. Lat. Am. Prod. Anim.* 5, 530–532.
- Pelligand, L., Soubret, A., King, J.N., Elliott, J., Mochel, J.P., 2016. Modeling of Large Pharmacokinetic Data Using Nonlinear Mixed-Effects: A Paradigm Shift in Veterinary Pharmacology. A Case Study With Robenacoxib in Cats. *CPT Pharmacomet. Syst. Pharmacol.* 5, 625–635. <https://doi.org/10.1002/psp4.12141>
- Pérez-Guillé, M.G., Toledo-López, A.T., Rivera-Espinosa, L., Radames, A.M., Murata, C., Lares-Asseff, I., Chávez-Pacheco, J.L., Gómez-Garduño, J., Zamora Gutiérrez, A.L., Orozco-Galicia, Ramírez-Morales, K., Lugo-Goytia, G., 2018. Population Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Dexmedetomidine in Children Undergoing Ambulatory Surgery. *Pediatr. Anesthesiol.* 127, 716–723. <https://doi.org/10.1213/ANE.0000000000003413>
- Perrette, J., Le Floch, C., Naves, M., Gourdine, J.L., Alexandre, G., 2020. Intérêts des secteurs formels et informels de l'élevage pour une fourniture variée de services écosystémiques: le cas de la Guadeloupe. *Ethnozootecnie* 107, 95–108.
- Pfeifer, N.D., Harris, K.B., Zhixia Yan, G., Brouwer, L.R., 2013. Determination of intracellular unbound concentrations and subcellular localization of drugs in rat sandwich-cultured hepatocytes compared with liver tissue. *Drug Metab. Dispos.* 41, 1949–1956. <https://doi.org/10.1124/dmd.113.052134>
- Qian, M.R., Wang, Q.Y., Yang, H., Sun, G.Z., Ke, X.B., Huang, L.L., Gao, J.D., Yang, J.J., Yang, B., 2017. Diffusion-limited PBPK model for predicting pulmonary pharmacokinetics of florfenicol in pig. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 40, e30–e38. <https://doi.org/10.1111/jvp.12419>

- Renaudeau, D., Giorgi, M., Silou, F., Weisbecker, J.L., 2006. Effect of breed (lean or fat pigs) and sex on performance and feeding behaviour of group housed growing pigs in a tropical climate. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 19, 593–600.
- Renaudeau, D., Gourdine, J.L., Fleury, J., Archimède, H., 2011. Innovations biotechniques de la production de porcs en milieu tropical. *Innov. Agron.* 16, 63–75.
- Renaudeau, D., Hilaire, M., Mourot, J., 2005. A comparison of carcass and meat quality characteristics of Creole and Large White pigs slaughtered at 150 days of age. *Anim. Res.* 54, 43–54. <https://doi.org/10.1051/animres:2004042>
- Renaudeau, D., Hilaire, M., Weisbecker, J.L., Mourot, J., 2003. Comparaison des performances de croissance, de carcasse et de qualité de la viande du porc Créole et Large White. *Journ. Rech. Porc.* 35, 243–250.
- Renaudeau, D., Mandonnet, N., Tixier-Boichard, M., Noblet, J., Bidanel, J.P., 2004. Atténuer les effets de la chaleur sur les performances des porcs : la voie génétique. *INRA Prod. Anim.* 17, 93–108.
- Roberts, M.H., Leggett, A.T., 1980. Egg extrusion as a kepone-clearance route in the blue crab, *Callinectes sapidus*. *Estuaries* 3, 192–199. <https://doi.org/10.2307/1352069>
- Rochette, R., Andrieux, P., Bonnal, V., Cattan, P., 2017. Contamination des bassins versants de la Guadeloupe continentale par la chlordécone - Actualisation des connaissances et cartographie des zones à risque de contamination. *Projet ChlEauTerre*.
- Rodrigues, C., Chiron, C., Rey, E., Dulac, O., Comets, E., Pons, G., Jullien, V., 2017. Population pharmacokinetics of oxcarbazepine and its monohydroxy derivative in epileptic children. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 83, 2695–2708. <https://doi.org/10.1111/bcp.13392>
- Saint-Hilaire, M., 2018. Toxicocinétique de la chlordécone chez la brebis. Université de Lorraine.
- Saint-Hilaire, M., Bertin, T., Inthavong, C., Guérin, T., Fournier, A., Feidt, C., Rychen, G., Parinet, J., 2018. Validation of analytical methods for chlordecone and its metabolites in the urine and feces of ewes. *J. Chromatogr. B* 1093–1094, 66–76. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.06.058>
- Saint-Hilaire, M., Rychen, G., Thomé, J.P., Joaquim-Justo, C., Le Roux, Y., Feidt, C., Fournier, A., 2019. Linear toxicokinetic of chlordecone in ewe's serum. *Environ. Sci. Pollut. Res.* <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05800-z>
- Savvateeva, D., Numata, J., Pieper, H., Lahrssen-Wiederholt, M., Bulik, S., 2020. Physiologically based toxicokinetic models and in silico predicted partition coefficients to estimate tetrachlorodibenzo-p-dioxin transfer from feed into growing pigs. *Arch. Toxicol.* 94, 187–196. <https://doi.org/10.1007/s00204-019-02617-0>
- Schimmel, S.C., Patrick, J.M., Fass, L.F., Oglesby, J.L., Wilson, A.J., 1979. Kepone®: Toxicity and bioaccumulation in blue crabs. *Estuaries* 2, 9–15. <https://doi.org/10.2307/1352033>
- Sjögren, E., Bredberg, U., Lennernäs, H., 2012. The pharmacokinetics and hepatic disposition of repaglinide in pigs: mechanistic modeling of metabolism and transport. *Mol. Pharm.* 9, 823–841. <https://doi.org/10.1021/mp200218p>
- Skalsky, H.L., Fariss, M.W., Blanke, R.V., Guzelian, P.S., 1979. The role of plasma proteins in the transport and distribution of chlordecone (Kepone®) and other pol-yhalogenated hydrocarbons. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 320, 231–237.
- Smith, G., Arant, F.S., 1967. Residues of kepone in milk from cows receiving treated feed. *J. Econ. Entomol.* 60, 925–927. <https://doi.org/10.1093/jee/60.4.925>
- Smith, K.M., Abrahams, P.W., Dagleish, M.P., Steigmajer, J., 2009. The intake of lead and associated metals by sheep grazing mining-contaminated floodplain pastures in Mid-Wales, UK: I. Soil ingestion, soil-metal partitioning and potential availability to pasture herbage and livestock. *Sci. Total Environ.* 407, 3731–3739. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.02.032>

- Soine, P.J., Blanke, R.V., 1984. High-density lipoproteins decrease the biliary concentration of chlordecone in isolated perfused pig liver. *J. Toxicol. Environ. Health* 14, 319–335. <https://doi.org/10.1080/15287398409530583>
- Soine, P.J., Blanke, R.V., Guzelian, P.S., Schwartz, C.C., 1982. Preferential binding of chlordecone to the protein and high density lipoprotein fractions of plasma from humans and other species. *J. Toxicol. Environ. Health* 9, 107–118. <https://doi.org/10.1080/15287398209530146>
- Soine, P.J., Blanke, R.V., Schwartz, C.C., 1983. Chlordecone metabolism in the pig. *Toxicol. Lett.* 17, 35–41. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(83\)90032-2](https://doi.org/10.1016/0378-4274(83)90032-2)
- Stark, F., Fanchone, A., Semjen, I., Moulin, C.H., Archimède, H., 2016. Crop-livestock integration, from single-practice to global functioning in the tropics: Case studies in Guadeloupe. *Eur. J. Agron.* 80, 9–20. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2016.06.004>
- Tatareau, J., Lalaus, G., Shitalou, E., Milhet, P., Barré, N., Matheron, G., 1991. L'élevage des petits ruminants en Martinique, Guadeloupe et Guyane: Situation actuelle. *Rev. D'Élevage Médecine Vét. Pays Trop.* 44, 5–10.
- Teleken, J., Galvão, A., Weber, R., 2017. Comparing non-linear mathematical models to describe growth of different animals. *Acta Sci. Anim. Sci.* 39, 73–81. <https://doi.org/10.1016/j.vas.2020.100135>
- Thiel, C., Schneckener, S., Krauss, M., Ghallab, A., Hofmann, U., Kanacher, T., Zellmer, S., Gebhardt, R., Hengstler, J.G., Kuepfer, L., 2015. A systematic evaluation of the use of physiologically based pharmacokinetic modeling for cross-species extrapolation. *J. Pharm. Sci.* 104, 191–206. <https://doi.org/10.1002/jps.24214>
- Toutain, P.L., Bousquet-Mélou, A., 2004. Volumes of Distribution. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 27, 441–453. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2004.00602.x>
- Urien, S., 2003. La pharmacocinétique de population, aspects fondamentaux. *Lett. Pharmacol.* 17, 97–102.
- van Asselt, E.D., Kowalczyk, J., van Eijkeren, J.C.H., Zeilmaker, M.J., Ehlers, S., Fürst, P., Lahrssen-Wiederholt, M., van der Fels-Klerx, H.J., 2013. Transfer of perfluorooctane sulfonic acid (PFOS) from contaminated feed to dairy milk. *Food Chem.* 141, 1489–1495. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.04.035>
- van der Vorst, E.P.C., 2020. High-Density Lipoproteins and Apolipoprotein A1, in: Hoeger, U., Harris, J.R. (Eds.), *Vertebrate and Invertebrate Respiratory Proteins, Lipoproteins and Other Body Fluid Proteins*. Springer International Publishing, Cham, pp. 399–420. https://doi.org/10.1007/978-3-030-41769-7_16
- van Eijkeren, J.C.H., Jager, D.T., Sips, A.J.A.M., 1998. Generic PBPK-modelling of lipophilic contaminants in the cow (No. n°679102042). National Institute for Public Health and the Environment, Bilthoven, The Netherlands.
- van Veld, P.A., Bender, M.E., Roberts, M.H., 1984. Uptake, distribution, metabolism and clearance of chlordecone by channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquat. Toxicol.* 5, 33–49. [https://doi.org/10.1016/0166-445X\(84\)90030-4](https://doi.org/10.1016/0166-445X(84)90030-4)
- Vassaux, D., Rehel, M., Lagadic, L., 2013. First evidence of the presence of chlordecone-reductase in the freshwater shrimp *Macrobrachium rosenbergii* and the oyster *Crassostrea gigas*. Implications for water quality and food safety assessment in tropical regions. Presented at the 6th SETAC Africa Conference, Lusaka, Zambia.
- Vertueux, C., Mandonnet, N., Leimbacher, F., Antoine, S., Domarin, D., Naves, M., 2006. Potentiel de production du mouton Martinik : Une contribution possible à l'intensification de l'agriculture caribéenne. Presented at the 13èmes Rencontres Autour Des Recherches Sur Les Ruminants, Paris (France).

-
- Yang, B., Huang, L.L., Fang, K., Wang, Y.L., Peng, D.P., Liu, Z.L., Yuang, Z.H., 2014. A physiologically based pharmacokinetic model for the prediction of the depletion of methyl-3-quinoxaline-2-carboxylic acid, the marker residue of olaquinox, in the edible tissues of pigs. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 37, 66–82. <https://doi.org/10.1111/jvp.12053>
- Yang, F., Liu, H.W., Li, M., Ding, H.Z., Huang, X.H., Zeng, Z.L., 2012. Use of a Monte Carlo analysis within a physiologically based pharmacokinetic model to predict doxycycline residue withdrawal time in edible tissues in swine. *Food Addit. Contam.* 29, 73–84. <https://doi.org/10.1080/19440049.2011.624126>
- Yang, X., Zhou, Y.F., Yu, Y., Zhao, D.H., Shi, W., Fang, B.H., Liu, Y.H., 2015. A physiologically based pharmacokinetic model for quinoxaline-2-carboxylic acid in rats, extrapolation to pigs. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 38, 55–64. <https://doi.org/10.1111/jvp.12143>
- Yuan, L.G., Luo, X.Y., Zhu, L.X., Wang, R., Liu, Y.H., 2010. A physiologically based pharmacokinetic model for valnemulin in rats and extrapolation to pigs. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 34, 224–231. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2885.2010.01230.x>
- Zebus, M.F., Alexandre, G., Diman, J.L., Paul, J.L., Despois, E., Phaëton, E., 2005. Diversité des élevages porcins en Guadeloupe - Première évaluation technico-économique. *Journ. Rech. Porc.* 37, 407–412.
- Zeng, D., Lin, Z., Fang, B., Li, M., Gehring, R., Riviere, J.E., Zeng, Z., 2017. Pharmacokinetics of Mequindox and its marker residue 1,4-bisdesoxymequindox in swine following multiple oral gavage and intramuscular administration: an experimental study coupled with population physiologically based pharmacokinetic modeling. *J. Agric. Food Chem.* 65, 5768–5777. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b01740>
- Zeng, D., Lin, Z., Zeng, Z., Fang, B., Li, M., Yi-Hsien, C., Sun, Y., 2019. Assessing Global Human Exposure to T-2 Toxin via Poultry Meat Consumption Using a Lifetime Physiologically Based Pharmacokinetic Model. *J. Agric. Food Chem.* 67, 1563–1571. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b07133>
- Zhu, X., Huang, L., Xu, Y., Xie, S., Pan, Y., Chen, D., Liu, Z., Yuan, Z., 2017. Physiologically based pharmacokinetic model for quinocetone in pigs and extrapolation to mequindox. *Food Addit. Contam. – Part Chem. Anal. Control Expo. Risk Assess.* 34, 192–210. <https://doi.org/10.1080/19440049.2016.1258121>

RÉSUMÉ

L'utilisation de la chlordécone (CLD), un pesticide organochloré utilisé dans les bananeraies des Antilles Françaises de 1972 à 1993, a conduit à une pollution durable des surfaces agricoles. En ingérant des aliments ou des matrices environnementales (sol, eau ou végétaux) contaminés, les animaux sont susceptibles d'être exposés à la CLD. Ces travaux de thèse s'intègrent dans l'objectif de sécurisation des filières animales vis-à-vis du risque CLD.

Les objectifs de cette thèse sont (1) d'apporter des connaissances sur les mécanismes de distribution et d'élimination de la CLD chez les animaux d'élevage et (2) de développer des outils d'aide à la décision pour accompagner les filières animales locales.

Pour cela, des expérimentations *in vivo* ont été réalisées chez le porc en croissance et la brebis adulte. Chez le porc, deux expérimentations consistant à suivre les cinétiques d'élimination sérique et fécale suite à une administration intraveineuse en dose unique de CLD ou de CLDOH (chlordécol) ont été réalisées. Des approches non compartimentales et compartimentales ont été utilisées pour estimer les paramètres toxicocinétiques de la CLD et de ses métabolites à partir des cinétiques sériques. Les cinétiques fécales ont permis de caractériser le métabolisme de la CLD et de quantifier son excrétion fécale. Chez la brebis, l'ensemble de ces données toxicocinétiques étant déjà disponibles dans la littérature, l'objectif était de les compléter en caractérisant la distribution de la CLD. Une expérimentation impliquant des abattages sériés pendant une phase de contamination et de décontamination a permis de caractériser la dynamique de distribution de la CLD. Des corrélations de concentrations entre les tissus ont ainsi été établies et des temps de demi-vies tissulaires ont été calculés. Le suivi de la cinétique fécale a également permis de compléter les connaissances sur l'excrétion de la CLD.

L'ensemble des résultats toxicocinétiques obtenus chez la brebis ont été utilisés pour développer un modèle pharmacocinétique à base physiologique (PBPK) permettant de prédire les concentrations de CLD dans différents tissus. Ce modèle servira de base pour l'élaboration d'outils d'aide à la décision pour accompagner les filières animales dans les zones contaminées par la CLD. Une étude *in vivo* est envisagée chez le porc pour caractériser la dynamique de distribution tissulaire et ainsi pouvoir développer des outils similaires à ceux construits chez la brebis.

Mots clés : Chlordécone, Toxicocinétique, Ruminants, Porc, Modélisation

ABSTRACT

The use of chlordane (CLD), an organochlorine pesticide used in the French West Indies banana fields between 1972 and 1993, resulted in a long-term pollution of agricultural areas. Animals may be exposed to CLD by ingesting contaminated food or environmental matrices (soil, water or plants). This PhD project is integrated in the objective of securing animal sectors against CLD risk.

The aims of this thesis are (1) to provide knowledge on distribution and elimination mechanisms of CLD in farm animals and (2) to develop decision support tools to assist local animal sectors.

To this end, *in vivo* experiments were performed in adult ewes and growing pigs. In pigs, two experiments consisting of monitoring serum and fecal elimination kinetics following a single intravenous administration of CLD or CLDOH (chlordane) were performed. Non-compartmental and compartmental approaches were used to estimate toxicokinetic parameters of CLD and its metabolites from serum kinetics. Faecal kinetics were used to characterize metabolism of CLD and to quantify its faecal excretion. In ewes, these toxicokinetic data were already available in literature, so the objective was to complete them by characterizing CLD distribution. An experiment involving sequentially slaughters during contamination and decontamination phases allowed to characterize the distribution dynamics of CLD. Correlations between concentrations in tissues were established and CLD half-lives in tissues were calculated. The monitoring of fecal kinetics provided additional knowledge on CLD excretion.

All toxicokinetic results obtained in ewes were used to develop a physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model to predict CLD concentrations in various tissues. This model will be used to develop decision support tools to assist animal sectors in CLD contaminated areas. An *in vivo* study is being considered in pigs to characterize the dynamics of CLD tissue distribution and thus be able to develop similar tools to those developed in ewes.

Keywords : Chlordecone, Toxicokinetics, Ruminants, Pigs, Modelling