

Contexte et objectifs

- Les circonstances d'exposition aux pesticides sont encore mal connues pour beaucoup de situations de travail ou sont sous-estimées. C'est le cas du semis de semences enrobées où peu d'informations existent sur l'exposition aux pesticides. Le projet PESTEXPO semis maïs est une étude d'exposition des travailleurs agricoles lors des tâches associées au semis de maïs avec semences enrobées de pesticides. Parmi les matières actives utilisées dans l'enrobage de semences de maïs, on trouve le prothioconazole (PTC), molécule fongicide qui peut être dégradée assez rapidement par photolyse¹ en desthio-prothioconazole (DPTC), son métabolite principal.
- L'objectif est de déterminer le niveau d'exposition cutané et respiratoire des utilisateurs.
- LABÉO a mis au point une méthode de dosage par LC-MS/MS permettant de doser les deux molécules (PTC et DPTC) dans une même analyse, d'atteindre une limite de quantification la plus basse possible afin de détecter des concentrations potentiellement très faibles. La méthode développée est simple et rapide en raison du nombre important d'échantillons à traiter.

Matériel et méthode

Dispositifs de mesure de l'exposition au prothioconazole

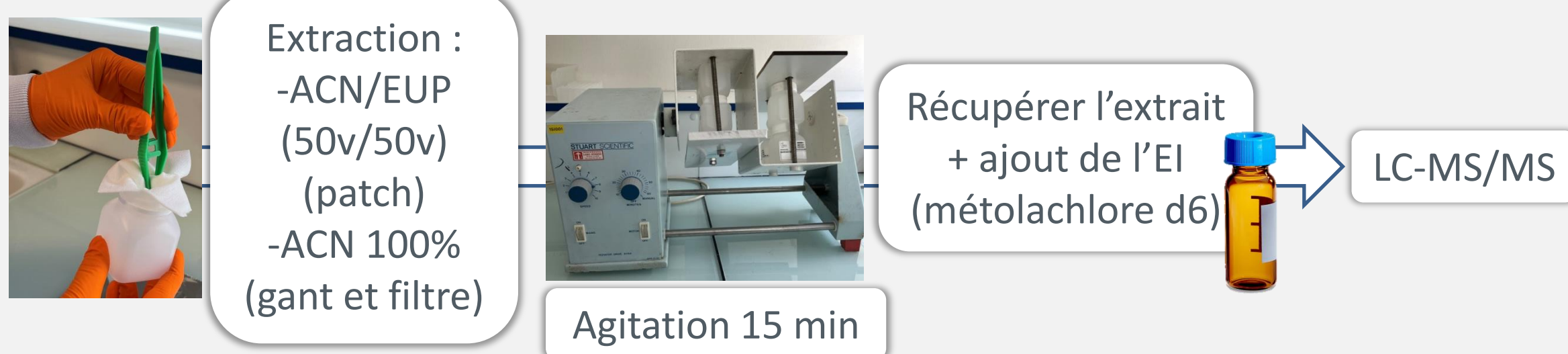
Afin de mesurer les niveaux d'exposition, les agriculteurs sont équipés de :

- gants en coton
- patches en coton disposés sur les différentes parties du corps
- pompes d'échantillonnage équipées de filtres XAD2

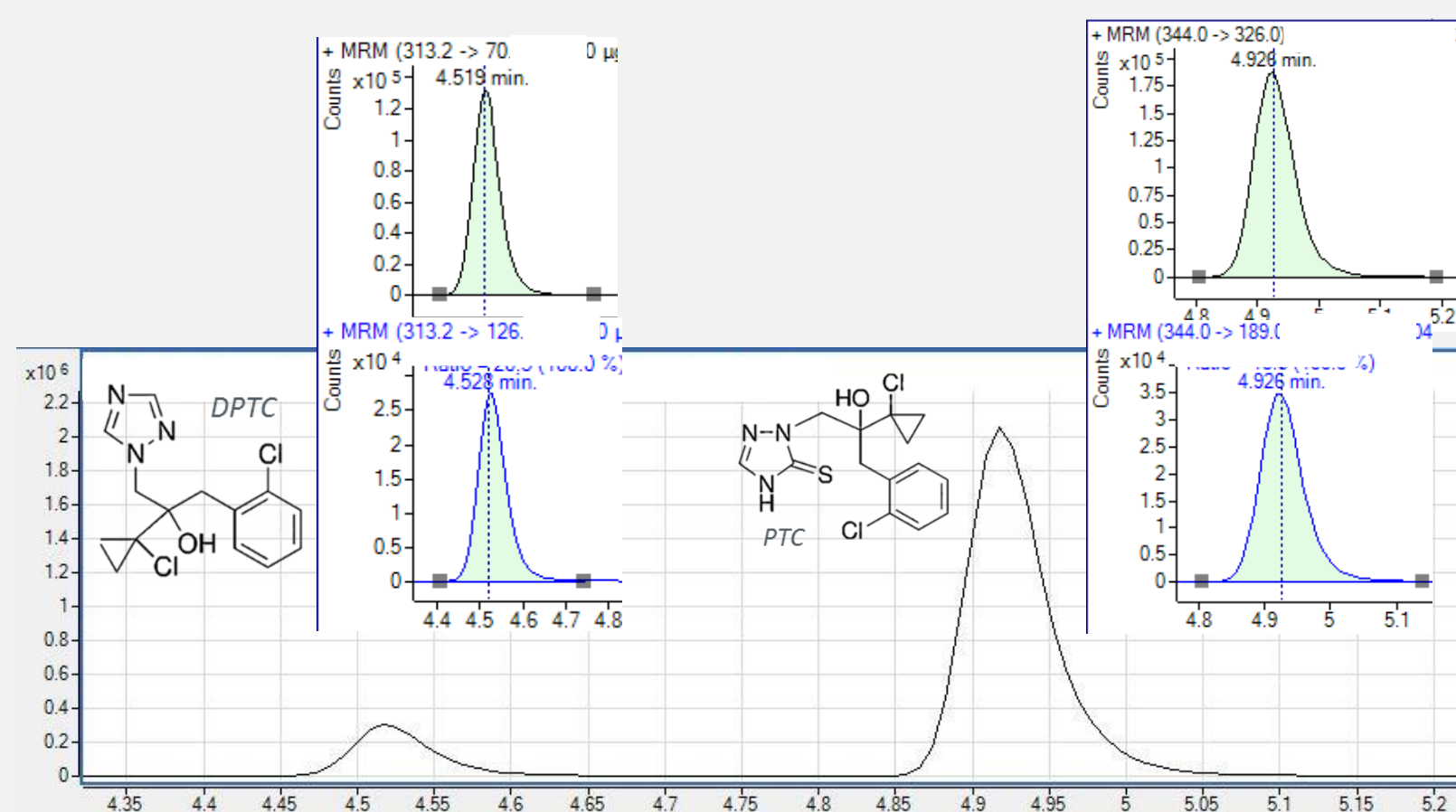
Des frottis sont également effectués avec des patches sur le matériel avant et après utilisation.



Préparation des échantillons



Dosage du prothioconazole et du desthio-prothioconazole par LC-MS/MS



Chaîne Agilent 1290 UPLC couplée au spectromètre de masse triple quadripôle 6495

- Colonne Zorbax Eclipse Plus C18 : 50 mm x 2,1 - 1,8 µm (Agilent)
- Température du four : 40 °C
- Débit : 0,40 mL/min
- Volume injection : 5µL

Paramètres d'acquisition MSMS

Molécules	Mode ESI	Ions précurseurs (m/z)	Ions produits (m/z)	Energie de collision (eV)	Temps de rétention (min)
PTC	+	344	326* 189	12 30	4.9
DPTC	+	313.2	70* 126.1	41 49	4.49
Métolachlore D6	+	290.2	258.2* 182.2	10 20	4.89

* Ions quantifieurs

Gradient d'élution

Temps (min)	EUP 0,01% AF (%)	ACN 0,01% AF (%)
0	97	3
2	70	30
7	5	95
9	97	3
10	97	3

AF = acide formique

Validation de la méthode selon la norme NF T90-210

Etude d'exactitude sur les gants

Niveaux	Niveau 1	Niveau 2	Niveau 3
Valeur de référence (µg/L)	0.50	1.00	5.00
Ecart Maximal Acceptable en %	40%	30%	30%
Fidélité			
Écart-type de répétabilité ($s_{répét}$)	0.03	0.10	0.02
Écart-type de fidélité (s_F)	0.03	0.10	0.48
Coefficient de variation de répétabilité ($CV_{répét}$)	5.1%	9.7%	0.5%
Coefficient de variation de fidélité (CV_F)	5.1%	9.7%	9.1%
Estimation des incertitudes avec la norme NF ISO 11352	35.0%	27.4%	27.1%
Justesse			
Valeur moyenne estimée	0.57	1.03	5.26
Biais (%)	14.3%	2.7%	5.1%
Conclusion sur le biais	négligeable	négligeable	négligeable
Etude de l'exactitude avec la norme NF T90-210			
Limite haute d'acceptabilité	0.70	1.30	6.50
Limite haute de tolérance	0.63	1.23	6.21
Limite basse de tolérance	0.51	0.83	4.30
Limite basse d'acceptabilité	0.30	0.70	3.50
Conclusion : l'exactitude de la méthode est	vérifiée	vérifiée	vérifiée

Figure 1 : Profil d'exactitude du prothioconazole en µg/L dans l'extrait

Objectifs de performance : Ecart Maximal Acceptable 40% à la LQ et 30 % niveaux 2 et 3

- **Etude de linéarité** : Gamme d'étalonnage avec référence synthétique (0.50 - 1 - 2 - 5 - 10 - 20 - 50 µg/L), étalonnage interne (métolachlore d6)
- **Détermination des limites de quantification (LQ)** : 20 ng/patch et 40 ng/gant
- **Etude de stabilité** : le prothioconazole et le desthio-prothioconazole sont stables à la congélation sur les patches après 6 mois de conservation et sur les gants après 3 mois de conservation.
- **Etude de rendement** :

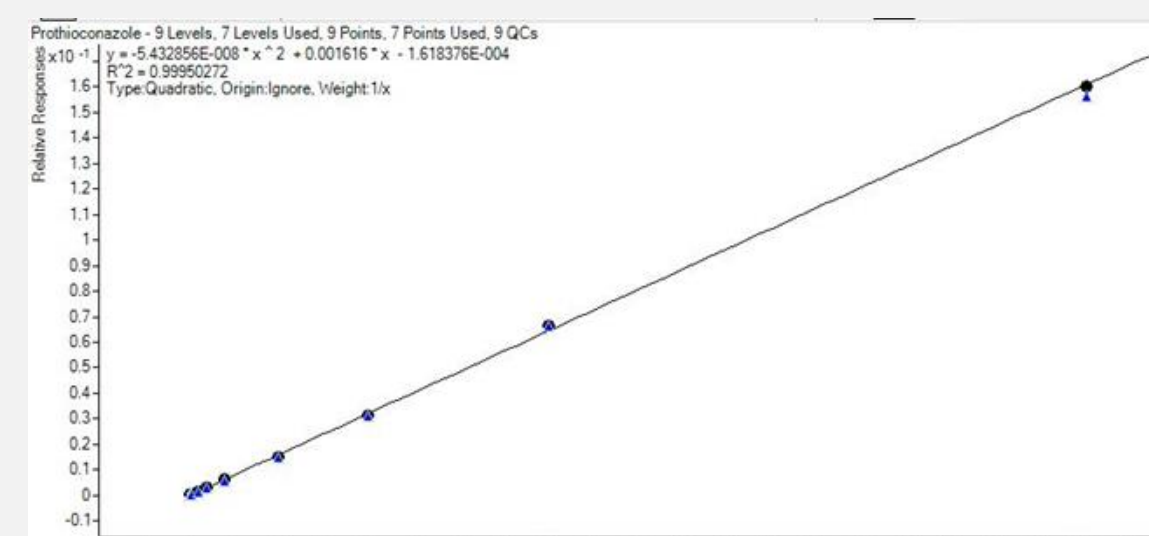


Figure 2 : Étalonage linéaire du prothioconazole

Molécules	Rendement d'extraction LQ	Rendement d'extraction niveau 2	Rendement d'extraction niveau 3	Rendement moyen	Coefficient Variation critère <20%
PTC	116 %	107 %	101 %	108 %	8 %
DPTC	97 %	95 %	99 %	97 %	8 %

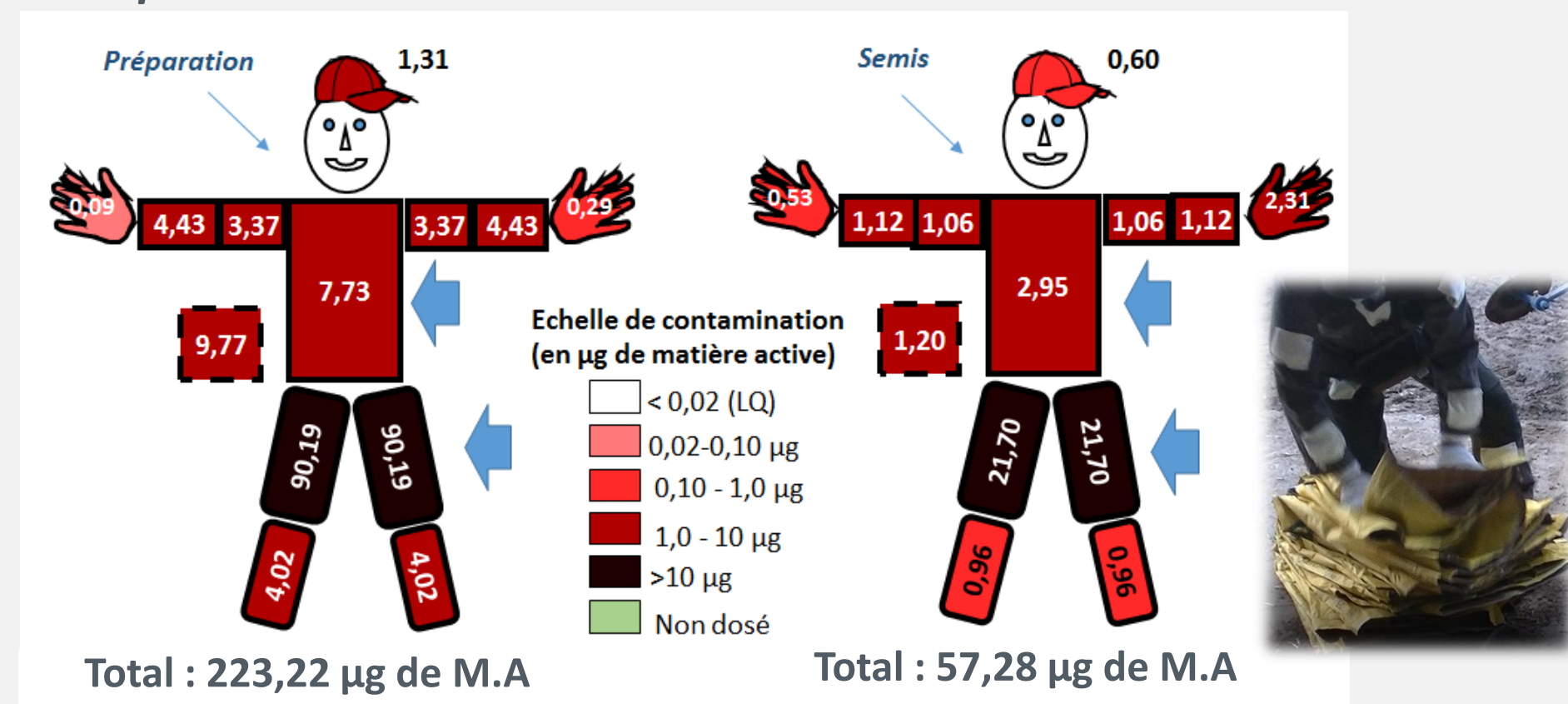
Pas de correction de rendement nécessaire

Conclusion : La méthode des résidus de pesticides a été validée selon le référentiel NF T90-210 avec une limite de quantification en prothioconazole et en desthio-prothioconazole de 20 ng/patch et 40 ng/gant.

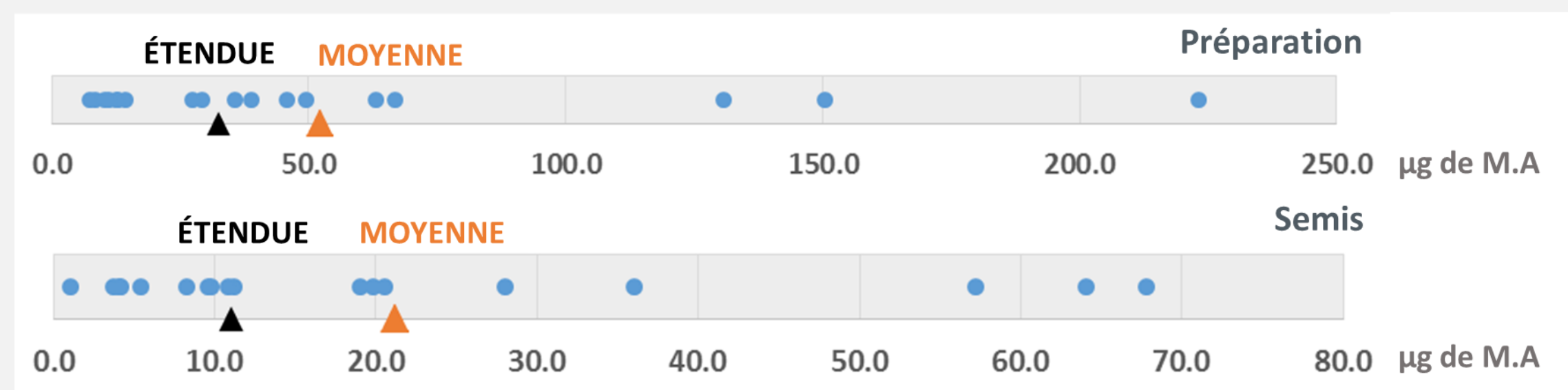
Résultats

- Les **mesures d'exposition** sur les différentes zones du corps sont exprimées en µg de matière active (ici le prothioconazole). Un facteur de correction est appliqué afin d'extrapoler la quantité obtenue sur le patch à la surface corporelle de la zone étudiée.
- Une faible proportion de desthio-prothioconazole est retrouvée (environ 10%).

Exemple de résultats de l'observation 22



Bilan de l'exposition au prothioconazole des 18 observations



Phase	Préparation	Semis
Nombre observation	18	18
Etendue (µg de M.A)	[7 - 223]	[1 - 68]
Médiane (µg de M.A)	32.6	11.1
Moyenne (µg de M.A)	52	21

Conclusion :

- La préparation (remplissage des semoirs) est plus exposante que le semis de maïs.
- Les cuisses sont la zone la plus exposée, certainement liée au pliage des sacs de semences.
- Plus l'agriculteur intervient sur le semoir, plus il est exposé.

Conclusion

La mise en place du dosage du prothioconazole dans les gants et les patches a permis de quantifier l'exposition des agriculteurs par une méthode très sensible et validée selon la norme NF T90-210. Cette étude montre que l'exposition aux pesticides existe lors des semis de maïs et qu'elle était largement ignorée par les agriculteurs, les organismes agricoles et les pouvoirs publics. Les résultats ont été présentés aux agriculteurs, à des organismes agricoles et font l'objet d'une fiche synthétique qui est utilisée par les préventeurs de la MSA.