

Maisons-Alfort, le 18 avril 2006

AVIS

de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments relatif à l'évaluation des risques liés à la présence d'organoétains dans les aliments

LA DIRECTRICE GENERALE

L'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa) a été saisie le 31 mars 2005 par la Direction générale de l'alimentation d'une demande d'évaluation des risques liés à la présence d'organoétains dans les aliments pour identifier les couples analyte-matrice qu'il serait pertinent d'analyser pour mieux cerner l'exposition de la population française à ces contaminants.

Après consultation du comité d'experts spécialisé "Résidus et contaminants chimiques et physiques", réuni le 23 novembre 2005 et le 22 février 2006, l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments émet l'avis suivant.

1 CONTEXTE

L'étain est l'un des éléments métalliques les plus utilisés sous sa forme organique. La production mondiale d'organoétains (OTC) a été multipliée par 5 ces 40 dernières années et est actuellement estimée à environ 50 000 t par an, dont 23% de biocides trisubstitués, composés les plus toxiques. La plupart des dérivés organostanniques présents dans l'environnement sont d'origine anthropique. Leur utilisation massive contribue à leur introduction directe ou indirecte dans l'environnement. Malheureusement, ces composés sont également de redoutables polluants, quelques nanogrammes d'étain par litre seulement pouvant perturber le milieu naturel. Ils sont également suspectés d'être des perturbateurs endocriniens pour l'homme. En raison des problèmes rencontrés dans le bassin d'Arcachon, la France a interdit, dès 1982, l'utilisation des peintures antisalissures à base de tributylétain (TBT) sur les bateaux de moins de 25 m, puis d'autres pays ont ensuite légiféré. Les composés du TBT figurent sur la liste des substances prioritaires dans le domaine de l'eau de l'Union européenne (Décision N° 2455/2001/CE).

Les OTC ont fait l'objet d'évaluations toxicologiques et écotoxicologiques nombreuses de la part de l'OMS (WHO 1999a,b, WHO 2001), de l'US EPA (EPA 1997, 1999), du Bureau fédéral allemand d'évaluation du risque (BGVV, 2000), de l'ATSDR (ATSDR, 2003) et du Comité scientifique européen sur la toxicité, l'écotoxicité et l'environnement (CSTEE 2003, 2004). Fin 2004, l'Agence Européenne de Sécurité Alimentaire (AESA/EFSA) a publié un rapport sur les risques liés à la contamination des denrées alimentaires par les composés organostanniques (EFSA, 2004) dont plusieurs éléments sont repris dans cet avis.

En se fondant sur les évaluations réalisées par ces diverses instances, la réflexion des experts de l'Afssa a été organisée autour des points suivants :

- identification des dangers présentés par les organoétains (source de contamination, données toxicologiques, dose de référence toxicologique) ;
- identification des molécules organostanniques à retenir pour évaluer les risques pour la santé ;
- choix des denrées à retenir pour la recherche des organoétains en vue d'estimer l'exposition alimentaire ;
- identification d'une méthode d'analyse.

2 LES ORGANOETAINS ET LEURS UTILISATIONS

Les composés organostanniques ou organoétains (OTC) sont des dérivés covalents de l'étain (IV) de formule générique $R_x Sn(L)(4-x)$ où R est un groupement alkyl ou aryl (ex : méthyl, butyl, phényl, octyl) et L un ligand organique ou inorganique (figure 1).

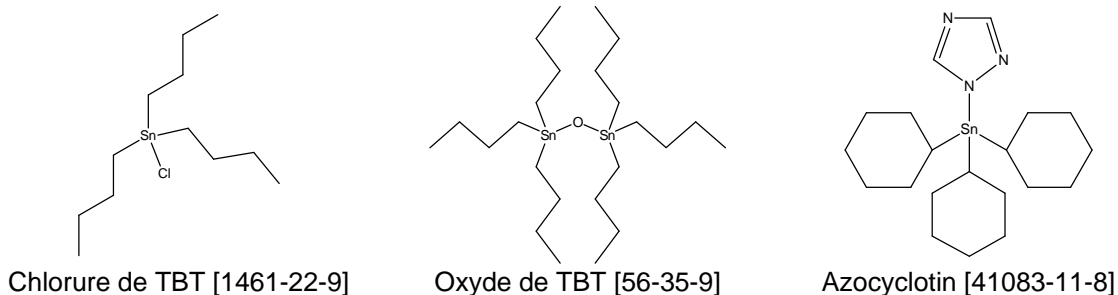


Figure 1. Structures de trois alkylétains tri-substitués

Plus d'une centaine de composés organostanniques existent. Les OTC tri-alkylés ou tri-arylés sont à des degrés divers des biocides. Les dérivés tri-alkylés et plus particulièrement ceux du tributylétain (TBT) ont été largement utilisés à partir des années 60 comme molluscicides, agents antisalissures des peintures (coques de bateaux, appontements, bouées, casiers, etc.), enduits de protection du bois, algicides dans le bâtiment, désinfectants dans les systèmes d'aéro-réfrigération, les circuits de refroidissement des usines de pâte à papier, des brasseries, des tanneries et des usines textiles. Le règlement européen (CE) n°782/2003 du 14 avril 2003 a interdit à compter du 1^{er} juillet 2003 toute application de peintures contenant des composés organostanniques sur les parties ou surfaces extérieures des navires battant pavillon de l'Union européenne. Au 1^{er} janvier 2008, les systèmes antisalissures pouvant libérer des OTC seront totalement proscrits.

Certains OTC tri-substitués sont utilisés comme pesticides (fongicides, acaricides)¹. Ce sont l'hydroxyde de triphénylétain (Fentine hydroxyde ou TPTOH), l'hydroxyde de tricyclohexylétain (Cyhexatin ou TCTH), le tricyclohexylétain triazole (Azocyclotin ou TCTT), l'oxyde de trinéophénylétain (Fenbutatin ou TNTO) et l'acétate de triphénylétain (Fentine acétate ou TPTAc).

Les OTC mono- et di-substitués [monométhylétain (MMT), diméthylétain (DMT), dibutylétain (DBT), mono-*n*-octyltin (MOT) et di-*n*-octylétain (DOT)] sont utilisés en mélange comme stabilisants thermiques du polychlorure de vinyle (PVC) pour la fabrication de tuyaux, raccords, fenêtres, profilés et emballages au contact des aliments (EFSA, 2004 ; EC, 1999). L'effet stabilisant recherché dépend des autres ligands de l'atome d'étain, les plus répandus étant les esters de l'acide thioglycolique et les acides carboxyliques.

Dans l'industrie chimique, beaucoup d'autres composés organostanniques, non rattachés à la famille des OTC, sont utilisés comme catalyseurs.

Au plan réglementaire, certains OTC figurent à l'annexe 1 de la Directive 67/548/CEE :

- les dérivés du triéthylétain (TET) et ceux du triméthylétain (TMT) sont classés en tant que groupes très toxiques et aussi très toxiques pour les organismes aquatiques (T+/N, R26/27/28- 50-53) ;
- les dérivés du tributylétain (TBT) du triphénylétain (TPT) et du tripropylétain (TPrT) sont classés en tant que groupe toxiques et aussi très toxiques pour les organismes aquatiques (respectivement T/N, R21-25-36/38-48/23/25-50-53, T/N, R23/24/25-50-53 et T/N, R23/24/25-50-53) ;
- les dérivés du trioctylétain (TOT) sont classés en tant que groupe irritants et nocifs à long terme pour les organismes aquatiques (Xi/N, R36/37/38-53) ;

¹ Seuls sont homologués en France le cyhexatin, l'azocyclotin et le fentabutin. Ces substances actives sont en cours de réévaluation au niveau européen.

- l'hydrogénoborate de dibutylétain - seul dérivé du dibutylétain classé - est considéré comme toxique et aussi très toxique pour les organismes aquatiques (T, R21/22-41-43-48/25-50/53) ;
- l'hydroxyde de tri(cyclohexyl)tin (cihexatin) est classé nocif et aussi très toxique pour les organismes aquatiques (Xn, R20/21/22-50/53) ;
- l'acétate et l'hydroxyde de triphénylétain (TPTAc et TPTOH) sont classés très toxiques et aussi très toxiques pour les organismes aquatiques, cancérigènes de catégorie 3 et toxiques pour la reproduction de catégorie 3 (T+/N, R 24/25-26-37/38-40-41-48/23-50/53-63) ;
- l'azocyclotin est classé très toxique et aussi très toxique pour les organismes aquatiques ((T+/N, R 25-26-37/38-40-41-50/53).

Les OTC sont relativement lipophiles, peu solubles dans l'eau et facilement adsorbés sur les particules en suspension dans l'environnement aquatique. Ils s'accumulent dans les sédiments et secondairement dans les organismes benthiques.

3 SOURCES D'EXPOSITION HUMAINE AUX ORGANOÉTAINS

La source principale d'exposition de la population générale aux organoétains provient des aliments, en particulier des poissons et autres produits de la mer. La contamination des aliments est causée principalement par l'utilisation des organoétains tri-substitués comme biocides, composants des peintures antisalissures et comme fongicides. Les bassins d'eaux, spécialement ceux qui ont un faible échange d'eaux, peuvent accumuler les organoétains apportés par les activités nautiques et les ruissellements agricoles, avec une accumulation ultérieure le long de la chaîne alimentaire (EFSA 2004).

Trois acaricides à base d'étain sont homologués en France et peuvent être appliqués sur de nombreuses cultures (fruits et légumes, cultures de graines oléagineuses, céréales, pomme de terre). En raison de leurs nombreuses applications, on peut craindre de les retrouver dans l'environnement, notamment dans l'eau et les sédiments des rivières et qu'ils contaminent les organismes aquatiques.

L'exposition aux organoétains, essentiellement en milieu professionnel, peut également survenir par absorption cutanée ou par inhalation.

La principale source d'exposition de l'homme aux organoétains est l'alimentation au travers de la consommation de produits de la mer. La contribution potentielle des produits végétaux traités par les organoétains reste à explorer.

4 DONNEES TOXICOLOGIQUES

4.1 Toxicité aiguë et sub-chronique des OTC

La plupart des OTC possèdent une toxicité immédiate pour les rongeurs. Dans le cas des alkylétains, elle dépend de la longueur et du nombre de groupements alkyl, les dérivés trisubstitués présentant une toxicité aiguë plus élevée que les dérivés di- et monosubstitués qui constituent des métabolites majeurs. Par ailleurs, la toxicité aiguë de cette famille de molécules est peu influencée par la nature du quatrième ligand (hydroxyle, fluorure, acétate, oléate, etc.).

Dans le cas des dérivés tributylés, c'est le TBTO qui constitue le dérivé de référence. Sa DL₅₀ orale varie selon les études de 94 à 234 mg/kg p.c. chez le rat et de 44 à 230 mg/kg p.c. chez la souris (EFSA, 2004). Pour les dérivés du DOT utilisés comme plastifiants, la DL₅₀ orale est nettement supérieure à 1 000 mg/kg p.c.

La DL₅₀ du TPT sous forme d'hydroxyde ou d'acétate de TPT varie de 140 à 298 mg/kg p.c. chez le rat et de 81 à 93 mg/kg p.c. chez la souris.

L'administration répétée à des rats Wistar pendant 4 semaines de 0 ; 0,25 ; 1,0 ; 4,0 et 16,0 mg/kg p.c./j de TBTO dans l'alimentation entraîne l'apparition de signes non spécifiques (réduction du poids corporel et de la prise alimentaire) et spécifiques (augmentation de l'activité

des transaminases, réduction du nombre de lymphocytes, atrophie de la partie corticale du thymus) perceptibles dès la dose de 1 mg/kg p.c./j (Krajnc *et al.*, 1984).

Lors d'une expérimentation similaire d'une durée étendue à 6 semaines, Krajnc *et al.* (1984) ont observé une baisse de l'insulinémie ainsi qu'une diminution de l'activité thyroïdienne. L'administration à des rats pendant 4 semaines de TBTO et de TBTC de pureté analytique à la concentration de 5 ou de 25 mg/kg de régime a provoqué une atrophie sévère du thymus perceptible dès le 7^{ème} jour (Bressa *et al.*, 1991).

Chez le singe (*Macaca fascicularis*), le TBTO administré à la dose de 0,160 mg/kg p.c./j, 6 jours par semaine durant 22 semaines, entraîne une diminution du nombre total des leucocytes circulants après 8, 10 et 22 semaines, sans autre modification hématologique ou effet sur le poids corporel (Karrer *et al.*, 1992).

Les stabilisants des matières plastiques dérivés du DOT ont fait l'objet d'une évaluation toxicologique par le comité scientifique de l'alimentation humaine (SCF) en 1999 (EC, 1999). Les études de toxicité à 90 jours chez le rat montrent une augmentation du poids du rein (NOAEL : 15 mg/kg p.c./j.) ainsi qu'une diminution dose-dépendante du poids du thymus.

Alors que le triméthyltétain (TMT) et le triéthyltétain (TET) sont des composés connus pour être de puissants neurotoxiques pour l'animal et l'homme, on dispose de très peu de données expérimentales pour des dérivés tels le TPrT, le TBT et le TPT. Chez l'homme, la dizaine de cas d'intoxication au TBT, par inhalation ou contact cutané, survenue lors de l'application de peintures, ne mettent pas en évidence de signes caractéristiques d'atteinte neurotoxique centrale ou périphérique (Shelton *et al.*, 1992 ; Wax et Dockstader, 1995 ; Benya, 1997). L'étude de ces cas montre que les dérivés du TBT sont surtout des irritants non-sensibilisants des voies respiratoires et de la peau.

Quelques cas d'intoxication à l'acétate de TPT par inhalation ou par ingestion ont été rapportés (Manzo *et al.*, 1981 ; Wu *et al.*, 1990 ; Lin et Hsueh, 1993) avec le plus souvent des signes cliniques (sensation ébrieuse, nausées, photophobie, faiblesse générale) qui régressent spontanément après quelques jours. Seuls les cas sévères mentionnent des symptômes d'atteinte neurologique. Le TPT est un irritant non sensibilisant modéré des voies respiratoires et de la peau. Dans trois cas d'intoxication par ingestion, une atteinte réversible du tubule rénal a aussi été décrite (Lin et Hsueh, 1993).

4.2 Génotoxicité et cancérogénèse des OTC

Le pouvoir mutagène du TBTO a été évalué par de nombreux tests *in vitro* (Davis *et al.*, 1987). Le TBTO donne des résultats négatifs dans les tests de mutagenèse bactérienne sur *B. subtilis* (Rec assay) et *S. typhimurium* (TA1530, TA1535, TA1538, TA97, TA98 et TA100) sans ou avec activation métabolique. Des résultats pour la plupart négatifs ont été aussi observés au travers de plusieurs tests de mutation génique sur des cellules eucaryotes telles que les levures *S. cerevisiae* et *S. pombe*, les cellules V79 de hamster chinois, les cellules de lymphome murin (test tk+/tk-) et les cellules CHO de hamster chinois (échange de chromatides sœurs). Le test de mutation létale récessive sur *D. melanogaster* a aussi produit des résultats négatifs. Cependant, chez la souris, le TBTO et le chlorure de TBT (respectivement 50 mg/kg p.c. et 100 mg/kg p.c.) administrés par gavage augmentent de près de 50 % la fréquence des micronoyaux induits par la mitomycine C dans les réticulocytes circulants tout en étant dénués d'effet génotoxique propre (Yamada et Sasaki, 1993). Globalement, les dérivés du TBT ne présentent pas de caractère mutagène.

Le chlorure de DBT (0,2 µg/ml) induit la mutation génique HGPRT dans les cellules CHO *in vitro* (Li *et al.*, 1982) mais s'avère non mutagène en test d'Ames.

L'hydroxyde et l'acétate de TPT (TPTOH et TPTAc) sont pratiquement dénués de pouvoir mutagène *in vitro* sur les bactéries et sur les cellules de mammifères. Ils s'avèrent cependant faiblement clastogènes *in vitro* sur des lymphocytes humains (Kirkland, 1985). Chao *et al.* (1999) ont montré que l'acétate de TPT augmentait de manière dose-dépendante la fréquence des

micronoyaux dans les cellules CHO en l'absence d'activation métabolique alors que seule la concentration la plus élevée (150 ng/ml) induit une augmentation significative de la fréquence des micronoyaux en présence d'activation métabolique (S9). Dans cette même expérience, ce composé augmentait l'échange des chromatides sœurs uniquement avec activation métabolique alors que l'hydroxyde de TPT (150 ng/ml) augmentait significativement la fréquence des micronoyaux avec ou sans S9, et l'échange des chromatides sœurs SCE seulement en l'absence de S9. Sasaki *et al.* (1993) ont montré que trois dérivés du TPT accroissent la fréquence des aberrations chromatidiennes exposées à des agents clastogènes de référence (mitomycine C, cisplatine, oxyde de 4-nitroquinoline, méthanesulfonate de méthyle, actinomycine D).

Globalement, on peut considérer que l'hydroxyde de TPT n'induit pas de mutation génique mais qu'il est faiblement clastogène *in vitro*. Sa capacité d'induire des aberrations chromosomiques *in vivo* n'est pas démontrée. L'acétate de TPT n'apparaît pas non plus fortement génotoxique *in vitro* mais il peut induire l'échange des chromatides sœurs et l'apparition de micronoyaux dans les cellules CHO. Les dérivés dialkylés tels le dichlorure de DOT n'exercent pas d'effet génotoxique sur les cellules procaryotes et eucaryotes.

Le pouvoir cancérogène des OTC chez les rongeurs a fait l'objet de plusieurs études. Tennekes *et al.* (1989b) ont réalisé une étude de deux ans chez le rat Wistar (KFM-Han) recevant du TPTOH dans l'alimentation à raison de 0,4 ; 1,6 et 3,2 mg/kg p.c./j. Une augmentation non significative des adénomes de l'hypophyse chez les femelles et des tumeurs des cellules de Leydig chez les mâles a été observée pour les deux plus fortes doses.

Chez des souris NMRI (KFM-Han) recevant pendant 80 semaines un régime contenant du TPTOH à la concentration de 0, 5, 20 et 80 mg/kg, l'incidence des adénomes hépatiques dans les deux sexes et des carcinomes hépatocellulaires chez les femelles était augmentée seulement à la concentration de 80 mg/kg (dose équivalente ~ 21,8 mg/kg p.c./j) (Tennekes *et al.*, 1989a).

Chez des rats Wistar nourris avec un régime contenant du TBTO à des concentrations de 0 ; 0,5 ; 5 et 50 mg/kg (doses équivalentes 0 ; 0,025 ; 0,25 et 2,5 mg/kg p.c./j), Wester *et al.* (1988, 1990) ont observé une augmentation non liée à la dose de diverses tumeurs des glandes endocrines (hypophyse, surrénales et parathyroïdes). Daly *et al.* (1992) n'ont pas mis en évidence d'augmentation des cancers chez les souris CD-1 recevant une provende contenant du TBTO à raison de 0,5 ; 25 et 50 mg/kg (dose équivalente de 0 ; 0,75 ; 3,75 or 7,5 mg/kg p.c./j) pendant 18 mois.

Le pouvoir cancérogène d'un mélange 2:1 de trichlorure de n-octylétain (MOT) et de dichlorure de dioctylétain (DOT) a été étudié chez des rats hybrides RII 1/Tif x RII 2/Tif de génération F3, à des concentrations de 0 ; 4,95 ; 14,5 ; 45,5 et 115,4 mg/kg (doses équivalentes 0 ; 0,25 ; 0,71 ; 2,2 et 5,7 mg/kg p.c./j). A la dose la plus élevée, l'incidence des lymphomes - notamment du thymus - était augmentée chez les femelles et chez les mâles. En revanche, les doses ≤ 14,5 mg/kg de régime (~ 0,23 mg de DOT/kg p.c./j) n'avaient aucun effet sur l'incidence des tumeurs.

A l'heure actuelle, les seuls OTC classés cancérogènes par la Commission européenne sont l'hydroxyde et l'acétate de TPT. Leur classement comme cancérogène suspecté (catégorie 3²) est justifié par l'apparition de tumeurs hypophysaires et testiculaires chez le rat reflétant des perturbations hormonales profondes ainsi qu'à moindre degré de pertinence la survenue de tumeurs hépatiques chez les souris en l'absence d'effet génotoxique. Aucun OTC n'a fait l'objet d'une évaluation par le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC).

Les organoétains présentent un faible, sinon une absence de potentiel génotoxique et quelques tests révèlent pour certains d'entre eux des effets clastogènes. Concernant les effets cancérogènes, ceux ci apparaissent à des doses supérieures aux effets immunotoxiques (voir 4.4) et les tumeurs observées sont des tumeurs des glandes endocrines et des organes impliqués dans le système immunitaire. Aucun OTC n'a été

² Catégorie 3 (R40) : substances préoccupantes pour l'homme en raison d'effets cancérogènes possibles mais pour lesquelles les informations disponibles ne permettent pas une évaluation satisfaisante (preuves insuffisantes). Il existe des informations issues d'études adéquates sur les animaux, mais elles sont insuffisantes pour classer la substance dans la catégorie 2.

classé comme cancérogène par le CIRC. L'hydroxyde et l'acétate de TPT sont classés en catégorie 3 par la Commission européenne.

4.3 Effets reprotoxiques des alkylétains

Chez les mollusques

Les mollusques néogastéropodes tels *Nucella lapillus* (L) sont particulièrement sensibles aux dérivés tributylés de l'étain qui induisent le phénomène de l'imposex (ou pseudo hermaphrodisme) caractérisé par l'apparition d'organes sexuels mâles (pénis, canal déférent) chez un individu femelle qui devient alors stérile. Ces changements, dont le mécanisme n'est pas établi avec certitude, seraient liés à une augmentation de production de testostérone dans la mesure où ils peuvent être annulés par un apport d'œstrogènes et mimés par des inhibiteurs spécifiques du CYP19A1 (aromatase, EC 1.14.14.1).

Chez les poissons

On sait depuis moins longtemps que les OTC peuvent aussi perturber la différenciation sexuelle durant le développement chez les vertébrés. Ainsi, chez les alevins du Cardeau hrame ou flet japonais (*Paralichthys olivaceus*) recevant un régime contenant de l'oxyde de TBT (0,1 et 1 µg/g) de 35 à 100 j après l'éclosion, période couvrant la phase de différenciation sexuelle, la proportion d'inversion sexuelle femelle → mâle passe de 2,2 % chez les témoins à 25,7 % chez les poissons recevant 0,1 µg TBTO/g de régime et atteint 31,1 % chez ceux recevant 1 µg TBTO/g de régime (Shimazaki *et al.*, 2003). La masculinisation des individus femelles se manifeste par l'apparition de testicules d'apparence morphologique et de structure histologique normales.

Chez les mammifères

Les effets reprotoxiques de dérivés alkylés de l'étain chez les mammifères sont moins bien connus. L'exposition à long terme au chlorure de TBT induit chez le rat des anomalies de la différenciation sexuelle dans la descendance tant chez les femelles (anomalies de l'œstrus, réduction de la distance ano-génitale, ouverture du vagin retardée) que chez les mâles (réduction du poids des testicules et de l'épididyme, oligospermie, hypotrophie prostatique) (Ogata *et al.*, 2001; Omura *et al.*, 2001). Ces changements s'accompagnent d'une diminution marquée de la concentration du 17β-œstradiol du sérum sans modification concomitante de la LH et de la testostérone. L'exposition de rats mâles prépubères à des doses fortes de TBT (15 mg/kg p.c.) ou de TPT (2 et 6 mg/kg p.c.) a des effets androgène-mimétiques et provoque également une réduction de la croissance pondérale du thymus et de la rate, pouvant s'expliquer selon Grote *et al.* (2004) par une modification de la balance androgène-œstrogène via une action sur l'axe hypothalamo-hypophysaire.

Certaines de ces modifications pourraient s'expliquer par une action des alkylétains sur les enzymes de la stéroïdogénèse, dont l'aromatase, en perturbant les voies de biosynthèse des hormones stéroïdiennes.

Ogata *et al.* (2001), et Omura *et al.* (2001) ont réalisé une étude sur deux générations des effets du chlorure de TBT administré dans le régime à raison de 5, 25 et 125 mg/kg. Chez les rats mâles de la génération F1 le poids des testicules était réduit de manière dose-dépendante (respectivement de 6 %, 7 % et 18 %) alors que cet effet ne se manifestait à la génération F2 que pour la dose la plus élevée (20 %). Cette diminution était accompagnée d'une décroissance du poids de l'épididyme, de la prostate ventrale ainsi que d'une diminution du nombre des spermatozoïdes et des spermatozoïdes à la génération F2 pour les doses de 25 et 125 mg/kg. De plus, une diminution du nombre des petits viables par portée et un allongement de la distance ano-génitale ont été observés pour toutes les doses à la génération F1

Les études consacrées aux effets sur le développement réalisées chez les rats SD recevant du TBTO par gavage (Schroeder *et al.*, 1981) ont également démontré une augmentation dose-dépendante des anomalies squelettiques et des fentes palatines. La fréquence de cette anomalie a été aussi rapportée chez des souris NMRI (Davis *et al.*, 1987). Crofton *et al.* (1989) ont observé chez les rattes Long-Evans recevant du TBTO à la dose de 2,5 ; 5 ; 10 ; 12 et 16 mg/kg p.c./j de G6 à G20 une diminution de la taille des portées et du taux de survie des nouveau-nés. Chez les rattes Wistar, Harazono *et al.* (1998) ont rapporté que le chlorure de TBT (8,1 ; 16,3 et 32,5

mg/kg) de G0 à G3 provoquait une diminution dose-dépendante des pertes pré- et post-implantation.

D'autres études montrent que l'exposition au TBT durant la gestation réduit la croissance pondérale du nouveau-né et des organes comme le foie et le thymus (tableau 1). Cooke *et al.* (2004) ont observé chez le rat une diminution du poids du foie, associée à des modifications de l'activité d'enzymes marqueurs d'hépatotoxicité, et du poids du thymus et de la rate, dans un groupe de femelles ayant reçu par voie orale, pendant 60 jours après le sevrage, une dose de TBT de 0,025 mg/kg p.c./j.

Le tableau 1 récapitule les études sur les effets reprotoxiques du TBT chez les rongeurs.

Tableau 1 : Etudes de l'effet reprotoxique du TBT chez les rongeurs

Espèce	Durée	Effet critique	LOAEL ³ (mg/kg p.c./j)	NOAEL ⁴ (mg/kg p.c./j)	Référence
rat	G9 à G16	Dimin. poids maternel Dimin. ossification	9 5	5 -	Schroeder, 1981
rat	F2	Dimin. perf. reproduction Poids des nouveau-nés	- 3,43	4,42 0,34	Schroeder, 1990
rat	G6 à G20	Dimin. poids maternel Dimin. poids et survie des nouveau-nés	10	5	Crofton <i>et al.</i> , 1989
rat	F2	Dimin. poids testicules adultes F1 Dimin. distance ano-génitale des nouveau-nés	0,25	-	Ogata <i>et al.</i> , 2001; Omura <i>et al.</i> , 2001
souris	G6 à G15	Dimin. poids maternel Dimin. poids fœtus + anomalies ossification	11,7 23,4	5,8 11,7	Davis <i>et al.</i> , 1987
souris	G6 à G15	Dimin. poids maternel Nb résorptions + poids fœtus	40 40	20 20	Baroncelli <i>et al.</i> , 1995
souris	G6 à G15	Sang	-	20	Karrer <i>et al.</i> , 1995
rat	G8 à G19 et 90 jours après sevrage	Dimin. croissance pondérale Thymus, foie, rein	0,025	-	Cooke <i>et al.</i> , 2004
rat	G0 à 19 ou G8 à G19	Dimin. poids fœtus + anomalies ossification Hormones thyroïdiennes (mères)	20 2,5	-	Adeeko <i>et al.</i> , 2003

L'embryotoxicité du TBTO a été étudiée chez la souris, le rat et le lapin. Chez le rat et la souris le TBTO induit des malformations - dont la fente palatine - mais à des doses entraînant des effets toxiques chez les mères ($\geq 1,0$ mg/kg) de sorte qu'il ne peut être considéré comme tératogène.

D'autres OTC trisubstitués, tels le TPT, et disubstitués, tels le thioglycolate de dioctylétain (DOTTG), ont également des effets embryo- ou fœtotoxiques (diminution de la taille des portées et du poids des nouveau-nés, de la rate et du thymus, malformations fœtales, etc.) chez le rat, la souris et le lapin. Farr *et al.* 2001 ont administré du dichlorure de DBT par voie orale à des rattes Wistar gestantes à des doses de 1 ; 2,5 ; 5 et 10 mg/kg p.c. de G6 à G17. La dose la plus élevée a entraîné une baisse du poids corporel et du poids du thymus chez les mères. Seule une légère augmentation de la fréquence des malformations (4/262 vs 1/269 pour les témoins) a été observée. Selon ces auteurs, le NOAEL, pour cet effet critique, se situerait pour les différentes souches de rats entre 1,7 et 5 mg/kg p.c./j. Faqi *et al.* (2001) ont montré qu'un mélange de thioglycolate de DOT et de MOT (80/20) administré par gavage à des souris NMRI gestantes à des doses de 20 ; 30 ; 45 ; 67 ou 100 mg/kg p.c./j de G6 à G17 provoquait des effets embryo- et fœtotoxiques dont des malformations du squelette avec un NOAEL de 45 mg/kg p.c./j. Des

³ LOAEL : Lowest observed adverse effect level (dose induisant le plus petit effet néfaste observé)

⁴ NOAEL : No observed adverse effect level (dose sans effet néfaste observé)

données non publiées reprises dans l'évaluation de l'EFSA (EFSA 2004) suggèrent que le même mélange, administré par la même voie chez des lapines NZW gestantes, de G6 à G16 aux doses de 1 ; 10 ou 100 mg/kg p.c./j provoque aussi des anomalies squelettiques mais avec un NOAEL beaucoup plus faible de 1 mg/kg p.c./j.

L'exposition à long terme au chlorure de TBT induit chez le rat des anomalies de la différenciation sexuelle dans la descendance tant chez les femelles que chez les mâles. Les études consacrées aux effets sur le développement ont démontré chez le rat une augmentation dose-dépendante des anomalies squelettiques et des fentes palatines après une exposition au TBTO. L'exposition au TBT durant la gestation réduit la croissance pondérale du nouveau-né et des organes comme le foie et le thymus

4.4 Effets immunotoxiques des alkylétains

Les OTC présentent des propriétés cytotoxiques multiples *in vitro* et *in vivo* sur de très nombreux types cellulaires dont les cellules immunes et les neurones. Les mécanismes cytotoxiques comportent des effets sur :

- la membrane cellulaire,
- l'homéostasie du calcium,
- la fonction mitochondriale.

L'étude quantitative de la relation structure-activité (QSAR) des OTC trisubstitués indique une cytotoxicité dépendant de la taille du substituant, l'optimum correspondant au résidu butyle. La même tendance existe pour les composés disubstitués. Ainsi les DL₅₀ des OTC trisubstitués de la série TMT, TET, TPrT, TBT et TPT sur des lignées de cellules humaines *in vitro* varient de l'ordre de 1 mM (TMT) à 1 µM (TBT). Parmi les OTC trisubstitués, les groupements butyle et cyclohexyle sont ceux qui confèrent la plus grande toxicité immédiate.

La cytotoxicité forte du TBT proviendrait de sa capacité à perturber profondément la teneur en ions Ca²⁺ libres du milieu intracellulaire. Stridh *et al.* (1999) ont en particulier montré que le TBT (2 µM) induisait une augmentation de la concentration du calcium intracellulaire des lymphocytes T de la lignée Jurkat. En présence de calcium dans le milieu extracellulaire, les OTC induisent une augmentation du calcium intracellulaire dans divers types de cellules (neutrophiles, hépatocytes, granulocytes et thymocytes). Cependant, ce mécanisme toxique n'est probablement pas unique dans la mesure où la chélation du calcium intracellulaire par le BAPTA n'empêche pas le déclenchement de l'apoptose induite par les OTC, notamment dans les cellules immunocompétentes (Krug *et al.*, 2003).

Des concentrations de TBT de 1 à 5 µM induisent rapidement l'apoptose dans des cellules sanguines de truite (Tiano *et al.*, 2003) et en 24 h à une concentration voisine de 3 µM dans les branchies de moule *Mytilus galloprovincialis* (Micic *et al.*, 2001).

Chez l'homme, l'effet cytotoxique des OTC a été largement étudié *in vitro* sur des lymphocytes NK (natural killer) qui représentent 5 à 20% des lymphocytes circulants. L'exposition au TBT à la concentration 200 nM inhibe 40 à 90% de leur capacité de lyse des cellules tumorales. L'effet inhibiteur des OTC butylés décroît avec le nombre de résidus (TBT > DBT > MBT). L'altération de protéines au niveau des récepteurs membranaires assurant la liaison des cellules tumorales pourrait expliquer ce phénomène (Odman-Ghazi *et al.*, 2003 ; Whalen *et al.*, 1999, 2002 a,b, 2003). De plus, Thomas *et al.* (2004) ont montré, sur ce type de lymphocytes, que l'expression de deux protéines cytotoxiques, le granzyme B et la perforine indispensables à la fonction de cytolyse était abaissée après une exposition au TBT (200 nM) pendant 24 h.

Les composés organostanniques tels que le dioctylétain (DOT), le dibutylétain (DBT), le tributylétain (TBT) et son oxyde (TBTO) ainsi que le triphénylétain (TPT) induisent une baisse des lymphocytes dans le thymus et les organes lymphoïdes périphériques probablement par blocage de la prolifération des lymphocytes immatures et par voie de conséquence une baisse de l'immunité à médiation cellulaire (Snoeij *et al.*, 1988a,b ; Pieters *et al.*, 1994a,b,c, 1995 ; Gennari *et al.*, 1997, 2002).

L'étude de l'exposition chronique durant 18 mois de rats mâles réalisée par Vos *et al.* (1990) a permis déterminer un LOAEL pour l'effet immunotoxique du TBTO (diminution des IgE circulantes, infestation des muscles par les larves de *Trichinella spiralis*) de 5 mg/kg de régime (dose journalière équivalente ingérée ~ 0,25 mg/kg/j). Dans cette étude, le NOAEL était de 0,5 mg/kg de régime (dose journalière équivalente ingérée ~ 0,025 mg/kg/j).

Le tableau 2 récapitule un ensemble d'études réalisées chez les rongeurs pour évaluer les effets immunotoxiques du TBT.

Tableau 2 : Études de l'effet immunotoxique du TBT chez les rongeurs

Espèce	Durée	Effet critique	LOAEL (mg/kg/j)	NOAEL (mg/kg/j)	Référence
rat	28 j	Immunité - thymus	5	0,5	Verdier <i>et al.</i> , 1991
rat	4 semaines	Ganglions lymphatiques (hémorrag.)	0,5	-	Krajnc <i>et al.</i> , 1984
rat	1 semaine	Ganglions lymphatiques (hémorrag.)	0,4	-	Bressa <i>et al.</i> , 1991
rat	6 semaines	Titre virus	2	-	Garssen <i>et al.</i> , 1995
rat	6 semaines	Dimin. poids du thymus	8	2	Van Loveren <i>et al.</i> , 1990
rat	6 semaines	Immunité – thymus Résistance hôte	2	-	Vos <i>et al.</i> , 1984
rat	6 semaines	Dimin. IL + 2 R alpha RNAm Dimin. CD25 express.	0,5	-	Vandebriel <i>et al.</i> , 1998
rat	13 à 26 semaines	Dimin. poids thymus	3	-	Funahashi <i>et al.</i> , 1980
rat	18 semaines	Dimin. poids thymus	16	-	Carthew <i>et al.</i> , 1992
rat (adulte)	5 mois	Immunité – thymus	2,5	0,25	Vos <i>et al.</i> , 1990
rat (après sevrage)	4,5 ou 18 mois	Immunité – thymus	0,25	0,025	Vos <i>et al.</i> , 1990
souris (gestation)	G4 à G17 et G11 à G17	Immunité cellulaire et humorale	0,1	-	Buckiova <i>et al.</i> , 1992
rat (avant sevrage)	10 doses	Dimin. réponse mitogène	5	2,5	Smialowicz <i>et al.</i> , 1989
rat	G8 à G19 et 90 jours après sevrage	Croissance pondérale Thymus foie rein	0,025	-	Tryphonas <i>et al.</i> , 2004

Le pouvoir immunotoxique du TBT a été beaucoup plus étudié que celui du TPT, du DBT ou du DOT. Les composés organostanniques tels que le dioctylétain (DOT), le dibutylétain (DBT), le tributylétain (TBT) et son oxyde (TBTO) ainsi que le triphénylétain (TPT) induisent une baisse des lymphocytes dans le thymus et les organes lymphoïdes périphériques probablement par blocage de la prolifération des lymphocytes immatures et par voie de conséquence une baisse de l'immunité à médiation cellulaire. Tous ces organostanniques ont en commun de ralentir la croissance pondérale du thymus chez les rongeurs à des doses suffisamment proches et vraisemblablement par le même mécanisme.

4.5 Données chez l'homme

Il n'existe pas d'étude de population de grande portée sur l'imprégnation de l'organisme humain par les OTC. Toutefois, des butylétains ont été retrouvés dans des prélèvements de foie en Pologne, au Danemark et au Japon, la somme MBT + DBT + TBT+ s'échelonnant pratiquement de 1 à 100 µg/kg de poids frais (tableau 3). Le DBT, métabolite formé rapidement dans cet organe constituait l'espèce majoritaire alors que le TBT était peu ou pas présent.

Dans un échantillon de la population du Michigan, Kannan *et al.* (1999) ont détecté la présence de MBT, DBT et TBT dans 53, 81 et 70 % respectivement, des prélèvements de sang analysés.

En Allemagne, c'est le TPT qui constituait l'OTC majoritaire dans le sang, alors que le TBT était présent en faible quantité et que le MBT, le DBT, le MOT et le DOT n'étaient pas détectés (Lo *et al.*, 2003).

Tableau 3 : Concentrations des OTC dans le sang et le foie humains, exprimées en µg/L pour le sang et en µg/kg pour le foie (EFSA, 2004).

Pays	Échantillon (nb)	OTC	Moyenne	Min	Max	Source
Allemagne	Sang (8)	TPT	-	0,17	0,67	Lo <i>et al.</i> , 2003
Danemark	Foie (18)	MBT	1,6	0,3	14,7	Nielsen & Strand, 2002
		DBT	9	0,8	28,3	
		TBT	-	n.d	n.d	
		TBT+DBT+MBT	10,7	1,1	33	
Japon	Foie (4)	MBT	-	14	22	Takahashi <i>et al.</i> , 1999
		DBT	-	45	76	
		TBT	-	n.d.	n.d	
		TBT+DBT+MBT	-	59	96	
Pologne	Foie (9)	TBT+DBT+MBT	-	2,4	11	Kannan & Falandysz, 1997
U.S.A	Sang (32)	TBT+DBT+MBT	-	n.d.	101	Kannan <i>et al.</i> , 1999

4.6 Valeurs toxicologiques de référence

Au regard de l'ensemble des effets toxiques des OTC, l'effet immunotoxique survient chez l'animal aux doses d'exposition les plus faibles.

Concernant les TPT utilisés comme fongicides, la DJA de cyhexatin et de l'azocyclotin a été fixé en 1994 par le JMPR à 7 µg/kg p.c./j et celle du fenbutatin à 30 µg/kg p.c./j en 1992.

En 1999, l'OMS avait déterminé une valeur guide pour l'exposition orale au TBTO de 0,25 µg/kg/j en se fondant sur la NOAEL de 25 µg/kg p.c./j obtenue à partir d'une étude de toxicité chronique chez le rat (Vos *et al.*, 1990) pour un effet immunosuppresseur (facteur de sécurité de 100 par rapport à la NOAEL) (WHO, 1999b).

A partir de cette même étude de Vos *et al.* (1990), l'EPA a calculé une benchmark dose de 0,68 mg/kg (limite inférieure de l'IC 95% pour une fréquence de réponse de 10%) correspondant à une dose journalière équivalente 0,03 mg/kg p.c./j (EPA, 1997). La dose de référence dérivée (RfD) comprend un facteur d'incertitude de 100 et est égale à 0,0003 mg/kg p.c./j (0,3 µg/kg p.c./j).

En raison de mécanismes similaires d'action et d'effets immunotoxiques communs à plusieurs OTC, le CSTE (CSTEE, 2004) a préconisé la fixation d'un apport journalier tolérable pour le groupe TBT + DBT + DOT + TPT, sous forme de chlorures, de 0,27 µg/kg p.c./j (soit 0,1 µg/kg p.c./j exprimé en étain).

Dans son avis de 2004, l'AESA considère que, compte tenu des effets immunotoxiques similaires observés chez plusieurs OTC qui peuvent avoir des effets additifs, il est pertinent d'établir une DJT de groupe et propose de retenir une DJT de 0,25 µg/kg p.c./j pour l'ensemble des quatre composés : TBT, DBT, TPT et DOT (EFSA, 2004).

Une DJT de 0,25 µg/kg p.c./j pour l'ensemble des quatre composés : TBT, DBT, TPT et DOT semble pertinente, soit 0,1 µg/kg p.c./j exprimé en étain.

5 DONNEES DE CONTAMINATION

Deux études européennes⁵ fournissent des estimations de la contamination des produits de la pêche en organoétains : la Tâche SCOOP européenne 3.2.13 (Scoop, 2003) réalisée en 2003 et les résultats d'un programme de recherche financé par la Commission européenne OT-SAFE 2004.

En France, dans le cadre de l'étude *Calipso* (AFSSA/DGAL/INRA⁶) relative aux modes d'approvisionnement locaux en produits de la mer chez des forts consommateurs : évaluation de l'exposition aux métaux lourds et quantification du risque sanitaire associé, les niveaux de contamination des produits de la mer par les organoétains ont été déterminés.

Au Royaume-Uni, la Food Standard Agency (FSA, 2005) a évalué les niveaux de contamination des coquillages aux organoétains, produits et/ou disponibles sur le marché britannique.

Une étude réalisée sur le bassin d'Arcachon présente une évolution de la contamination des mollusques bivalves (moules et huîtres) par certains organoétains.

Les diverses évaluations réalisées à ce jour ne mentionnent aucune donnée de contamination sur des denrées autres que les produits de la mer, les denrées végétales notamment.

5.1 Données de la Tâche Scoop 3.2.13

Huit pays participants ont soumis des données de contamination pour 3 butylétains alors que 5 pays ont soumis des données pour 3 phénylétains dans les matrices suivantes : mollusques, moules, crustacés, céphalopodes, gastéropodes, poissons d'eau douce, poissons marins, autres (conserves, huiles, produits transformés, ...).

La plupart des données sur les poissons ont été fournies par l'Allemagne. Parmi les OTC dosés, seule l'Allemagne a également fourni des données de contamination non seulement pour le TétrabT et le TétrapT mais aussi pour les MOT, DOT et TOT dans les poissons et les produits de la mer, en nombre limité et toujours inférieures aux limites de détection (LD) pour les octylétains.

Il convient cependant de noter que :

- ce sont, pour la plupart, des données issues de la surveillance de la qualité des eaux littorales et eaux douces et non des données de plans de surveillance d'espèces effectivement consommées qui ont été analysées ;
- les données fournies par les huit états membres participants sont très dissemblables qualitativement et quantitativement (nombre d'analyses, espèces choisies, organostanniques analysés) ce qui ne permet pas de réelles comparaisons ; un résultat inattendu - pour ne pas dire aberrant - au sein d'une petite série de données "nationales" tire la moyenne vers le haut et donne un niveau de contamination qui ne reflète sans doute pas la réalité. L'extrême dispersion des données de contamination est illustrée dans le tableau 4.

⁵ Dans le cadre d'un programme européen (<http://www.comprendo-project.org/index2.html>) qui vise à évaluer l'exposition de la population européenne à des substances présentant des activités androgéniques et anti-androgéniques, ainsi que celle des espèces de la faune aquatiques, une estimation des niveaux de contamination des denrées alimentaires est en cours de réalisation.

⁶ Résultats Etude Calipso (Etude AFSSA/DGAL/INRA) : Contamination en composés organostanniques et exposition des forts consommateurs de poissons et produits de la mer (en cours de traitement)

Tableau 4 : Gamme de concentrations des butyl- et phénylétains dans les produits de la pêche, exprimées en µg/kg de poids frais (d'après la Tâche Scoop 3.2.13)

Groupe	TBT	DBT	MBT	TPT	DPT	MPT
Mollusques y compris les moules	2-109	2,5-70	0,6-67	1,6-48	0,6-2,2	0,1-23
Crustacés	3-145	0,9-28	0,9-12	1,1-42	0,5-3,8	0,1-3,3
Poissons marins	1-97	0,1-217	0,1-14	2,1-439	0,3-126	0,1-64
Poissons d'eaux douces (lacs, fermes)	11-22	0,5-5,1	4,8	11,6	2,7	2,5
Poissons d'eaux douces (fluviale, portuaire)	7,8-198	0,5-39	0,2-17	4,9-42	2,3-26	0,4-11
Poissons en conserve ou transformés	2-7,4	2,7-5	3-14	4,0	2,2	2,5

Le regroupement des données analysées en 2 grandes catégories, les poissons d'un coté et les produits de la mer hors poissons de l'autre, conduit à observer que les teneurs en organoétains dans les produits de la mer hors poissons sont en général plus élevées que celles détectées dans les poissons. Pour le TBT, les valeurs de concentration médiane et moyenne sont respectivement de 14 et 60 µg/kg de poids frais dans les produits de la mer hors poissons au lieu de 5 et 17 µg/kg de poids frais dans les poissons. Les concentrations (médianes et moyennes) en DBT et TPT sont en général inférieures à celles observées pour le TBT (EFSA 2004).

L'analyse globale des données de la Tâche Scoop indique que :

- les mollusques bivalves accumulent davantage de TBT, DBT et MBT que les poissons ;
- les poissons d'eau douce apparaissent comme une source significative d'exposition ;
- les crustacés d'une part et les conserves de poissons et les produits à base de poissons d'autre part jouent un rôle très minoritaire dans l'apport de butylétains ;
- le profil d'accumulation des phénylétains semble similaire à celui des butylétains, mais les données de contamination sont vraiment trop peu nombreuses pour qu'on puisse tirer une quelconque conclusion.

Il convient de noter également que ces résultats analytiques ont été obtenus sans harmonisation adéquate des procédures analytiques et/ou des processus d'intercalibration (par des essais interlaboratoires) des différents laboratoires, entravant la comparaison de ces données.

5.2 Données du programme de recherche OT SAFE 2004

Les données recueillies dans le cadre de la Tâche SCOOP 3.2.13 peuvent être complétées par les résultats du programme de recherche européen OT-SAFE auquel ont participé 13 partenaires de 11 pays européens (OT-SAFE 2004). 235 échantillons de 25 espèces différentes de produits de la mer ont été prélevés dans 135 sites différents (France : 2 saumons importés et 8 huîtres). Selon cette étude, d'une part les teneurs en TBT, DBT et MBT ne sont pas significativement réduites pendant la cuisson ménagère ou industrielle des moules, d'autre part, les matrices les plus contaminées en TBT, par ordre décroissant sont les mollusques bivalves, les crustacés (crevettes uniquement), les céphalopodes et les poissons (tableau 5).

Tableau 5 : Concentration moyenne (min-max) en TBT dans les mollusques bivalves, les crustacés et les poissons, exprimée en µg/kg de TBT de poids frais (d'après OT-SAFE 2004)

	TBT	Nb d'échantillons
Mollusques bivalves dont les moules	113 (2-751)	108
Crustacés (crevettes seulement)	46 (0-199)	15
Céphalopodes	10 (0-29)	14
Poissons	17 (0-491)	94

Les niveaux moyens de TBT suivent les tendances attendues, c'est à dire des niveaux bas pour les poissons (qui peuvent métaboliser le TBT) et des niveaux plus élevés pour les bivalves.

Parmi les espèces de poissons, la famille des harengs – avec sardine > anchois > hareng - est la plus contaminée en moyenne [31 (min-max 1-491) µg de TBT /kg de poids frais]. Il convient de noter cependant, que les échantillons de sardines prélevés en Grèce présentaient des teneurs élevées en TBT. Ceci explique que la concentration moyenne des poissons apparaît relativement importante.

Les fortes teneurs dans les mollusques sont liés davantage aux pays qu'aux espèces et proviennent des échantillons italiens (Mer Méditerranée) et portugais (Océan Atlantique). Le niveau moyen élevé pour les crevettes (crustacés) est dû aux teneurs des échantillons belges (Mer du Nord) alors que les teneurs des échantillons portugais et espagnol sont faibles.

Ces observations montrent la disparité des niveaux de contamination selon les régions et les pays.

5.3 Estimation des niveaux de contamination par les organoétains de produits de la mer consommés en France

L'étude *Calipso*⁶ a porté sur 138 produits frais et surgelés prélevés dans les 4 sites choisis pour cette étude (Le Havre, Lorient, La Rochelle et Toulon), ainsi que sur 21 produits en conserve, produits fumés ou plats préparés à base de produits de la mer, soit 159 produits en tout.

La représentativité de l'échantillonnage des produits a été réalisée en tenant compte des :

- fréquences de consommation et quantités consommées obtenues dans le cadre de l'enquête de consommation,
- modes d'achats (produits frais, semi-frais, congelés, conserves...),
- lieux d'approvisionnement (pêche à pied, achat au port, au marché, chez le poissonnier, dans un autre type de commerce ou consommation hors-domicile),
- origines des produits (préférentiellement locale, régionale...).

Les niveaux de contamination en composés organostanniques : butylétains (MBT, DBT, TBT), en phénylétains (MPT, DPT, TPT) et en octylétains (MOT, DOT, TOT) ont été déterminés dans ces 159 produits de la mer couvrant 30 espèces de poisson, 17 espèces de mollusques, crustacés et céphalopodes, 6 types de produits en conserves, 4 type de poissons fumés et 4 types de plats préparés.

L'analyse des composés organostanniques a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse couplée à un plasma induit par champ micro-onde et à un détecteur par émission atomique.

Les résultats montrent que :

- pour les poissons frais et surgelés, 11 à 15% des données sont inférieurs à la limite de détection (LD) pour les espèces butylées, 47 à 52% pour les phénylées et plus de 90% pour les octylées. La teneur moyenne des poissons est de 5,6 µg/kg de poids frais (PF) (min-max : 1,1-23 µg/kg PF). Néanmoins, les poissons présentant les teneurs moyennes les plus élevées sont le flétan avec 23 µg/kg PF et l'espadon avec 19 µg/kg PF, tous organoétains confondus.
- pour les mollusques, crustacés et céphalopodes, les teneurs moyennes pour les 9 organoétains sont relativement faibles, les échantillons de calmars et d'étrilles présentant les teneurs moyennes les plus élevées. La teneur moyenne pour l'ensemble de ces échantillons est de 6 µg/kg PF (min-max : 1,2-14 µg/kg PF).
- pour les autres produits de la mer (conserves, produits fumés et plats préparés), les plus fortes concentrations sont relevées dans les conserves, en particulier thon, maquereau, sardines et anchois (moy : 9,2 µg/kg PF, min-max : 4,1-14 µg/kg PF). Il faut cependant interpréter ces résultats avec prudence compte tenu des problèmes d'homogénéisation rencontrés lors de l'échantillonnage des produits en conserve.

Concernant la contamination régionale, il apparaît peu de différences entre les contaminations des poissons entre les différents sites (tableau 6). En ce qui concerne les mollusques, crustacés et céphalopodes, il semble que les échantillons du Havre soient plus contaminés par les organoétains que les échantillons des autres sites. Cependant, ce résultat est à interpréter avec prudence compte tenu du faible nombre d'échantillons (10 à 12 espèces soit 40 à 48 sous-échantillons selon le site), du nombre important de données censurées (teneur inférieure à la LD) et du fait que les espèces échantillonnées sont parfois différentes d'un site à l'autre (mollusques, crustacés...).

Tableau 6 : Contamination moyenne en organoétains des poissons, mollusques, crustacés et céphalopodes, par site et pour l'ensemble des sites ($\mu\text{g}/\text{kg}$ PF)

		n ^a		Total ^b	MBT	DBT	TBT	MPT	DPT	TPT	MOT	DOT	TOT
Le Havre	Poissons	22	Moy	7,8	1,7	1,5	2,4	0,5	0,5	1,0	0,1	0,1	0,1
			ET	6,9	1,6	1,1	3,9	0,4	0,4	1,8	0,1	0	0
	Mollusques, crustacés et céphalopodes	10	Moy	16,4	2,6	2,6	8,0	0,5	0,6	1,4	0,5	0,1	0,1
			ET	12,6	2,8	2,1	10,3	0,2	0,6	1,8	1,2	0	0
Lorient	Poissons	27	Moy	3,9	1,0	0,5	0,7	0,3	0,5	0,3	0,3	0,2	0,1
			ET	4,2	1,4	0,7	2,0	0,3	0,4	0,2	0,4	0,3	0
	Mollusques, crustacés et céphalopodes	11	Moy	3,3	0,4	0,5	1,4	0,4	0,2	0,2	0,1	0,1	0,1
			ET	2,5	0,2	0,6	1,8	0,2	0,1	0,1	0	0	0
La Rochelle	Poissons	23	Moy	5,5	1,3	1,0	1,5	0,4	0,6	0,4	0,2	0,1	0,1
			ET	6,3	2,4	1,4	2,4	0,3	0,7	0,5	0,3	0	0
	Mollusques, crustacés et céphalopodes	12	Moy	3,8	0,8	0,6	1,7	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1
			ET	2,0	0,7	0,4	1,5	0,2	0,1	0,2	0,0	0	0
Toulon	Poissons	23	Moy	8,0	1,3	1,9	3,1	0,4	0,5	0,3	0,3	0,1	0,1
			ET	10,8	1,8	3,9	5,5	0,3	0,4	0,3	0,6	0	0
	Mollusques, crustacés et céphalopodes	10	Moy	3,6	0,7	0,5	1,8	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
			ET	2,5	0,5	0,3	1,8	0	0	0	0	0	0
Toutes régions	Poissons	95	Moy	6,2	1,3	1,2	1,9	0,4	0,5	0,5	0,2	0,1	0,1
			ET	7,4	1,8	2,2	3,7	0,3	0,5	0,9	0,4	0,2	0
			P95	19,2	4,9	3,3	9,7	0,9	1,5	1,4	1,1	0,1	0,1
	Mollusques, crustacés et céphalopodes	43	Moy	6,6	1,1	1,0	3,1	0,3	0,2	0,4	0,2	0,1	0,1
			ET	8,2	1,6	1,4	5,7	0,2	0,4	1,0	0,6	0	0
			P95	22,9	2,4	3,5	9,4	0,7	0,7	2,8	0,1	0,1	0,1

a : Nb d'échantillons composites, chacun étant composé de 5 sous-échantillons de la même espèce, représentatifs des modes d'approvisionnement sur chaque site (port, marché, GMS...)

b La colonne de résultats Total correspond à la somme des 9 composés organostanniques analysés.

5.4 Enquête sur la présence des organoétains dans les coquillages au Royaume-Uni

L'étude réalisée au Royaume-Uni (FSA, 2005) a porté sur 125 coquillages (moules, huîtres, coquilles Saint-Jacques, palourdes, coques) prélevés sur les lieux de production autour de la Grande-Bretagne et sur 44 produits à base de coquillage prélevés sur les lieux de vente (échantillons du commerce) dans lesquels ont été dosés le MBT, le DBT et le TBT.

Les échantillons du commerce, dont une bonne partie était importée, présentent des teneurs en butylétains plus élevées que les échantillons prélevés sur les lieux de production. La teneur moyenne pour la somme des trois butylétains est de 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$ poids frais (mini-max- : 5-480 $\mu\text{g}/\text{kg}$ poids frais) si les échantillons du commerce sont inclus. Pour le MBT, 8 échantillons sur 155 sont au-dessus de la limite de détection (LD) avec des teneurs comprises entre 7 et 245 $\mu\text{g}/\text{kg}$ poids

frais. 18 échantillons présentent des teneurs en DBT comprises entre 2 et 69 µg/kg poids frais et 49 échantillons ont des teneurs supérieures à la LD pour le TBT avec des teneurs moyennes comprises entre 3 et 20 µg/kg poids frais selon les espèces. Le niveau le plus élevé en TBT concerne un échantillon de moules du commerce (167 µg/kg poids frais).

Ces résultats montrent l'amplitude des niveaux de contamination et confirment ceux observés dans la Tâche Scoop ou le programme OT-SAFE mais sont beaucoup plus élevés que dans l'étude *Calipso*.

5.5 Etude de la présence des organoétains dans les moules et les huîtres sur le bassin d'Arcachon

Une étude publiée en 2005 sur le bassin d'Arcachon visait à suivre durant une année l'évolution de la contamination environnementale de certains contaminants dont les organoétains. Les moyennes annuelles en butylétains dans les moules *Mytilus sp.* varient selon les 7 sites étudiés entre 3-79, 10-475 et 27-1621 µg/kg de poids sec exprimé en étain total pour le MBT, DBT et TBT respectivement. Les 3 sites de parc à huîtres sont aussi peu contaminés que le site de référence, soit 27-30 µg/kg de poids sec exprimé en étain total pour le TBT mais de grandes variations saisonnières sont observées (Devier *et al.*, 2005).

Les produits de l'étude *Calipso* présentent des niveaux de contamination plus faibles que ceux des autres études, y compris ceux de l'étude sur les coquillages au Royaume-Uni. Les données de contamination, rassemblées par la Tâche Scoop, doivent être prises avec précaution dans la mesure où la plupart proviennent de dosage de produits de la mer prélevés à des fins de surveillance environnementale.

6 ESTIMATION DE L'EXPOSITION ALIMENTAIRE AUX ORGANOETAINS

6.1 Estimation de l'exposition de la population européenne au travers des données de la Tâche Scoop

Les résultats de la Tâche SCOOP sur l'exposition de la population européenne indiquent un niveau d'exposition du consommateur allant du picogramme à quelques nanogrammes d'OTC par kg p.c. et par jour. Ces données, d'origine, de représentativité et de qualité très diverses, présentent certains facteurs d'incertitude mais quelques informations ont pu en être retirées. D'une part, les mollusques bivalves semblent être, pour la population générale, la source principale d'exposition aux organoétains bien que les poissons de mer et les poissons d'eaux douces puissent également contribuer à cette exposition ; les crustacés semblent contribuer très faiblement à l'exposition. D'autre part, certaines teneurs dans les mollusques bivalves peuvent apporter à elles seules plus de 30% de la DJT fixée pour le TBT (0,25 µg/kg p.c./j) chez les forts consommateurs grecs et allemands.

L'AESA, en se fondant sur les données de contamination de la Tâche Scoop et sur les données de consommation de la Norvège dont la consommation de produits de la mer est une des plus élevée en Europe, a estimé l'exposition d'un consommateur à une contamination moyenne et médiane et celle d'un fort consommateur (tableau 7).

Tableau 7 : Estimation, à partir des données de consommation en Norvège et des données de contamination de la Tâche Scoop, de l'apport alimentaire de TBT, DBT et TPT lié à la consommation de poissons et produits dérivés par un adulte, exprimée en µg/kg p.c./j (EFSA, 2004).

APPORT en µg/kg p.c./j	Pour une contamination médiane				Pour une contamination moyenne			
	TBT	DBT	TPT	Total	TBT	DBT	TPT	Total
Population (seuls consommateurs)	0,009	0,003	0,005	0,018	0,038	0,022	0,023	0,083
Forts consommateurs (95 ^{ème} percentile)	0,019	0,007	0,011	0,037	0,078	0,046	0,047	0,171

En comparant avec la DJT de 0,25 µg/kg p.c./j pour le groupe TBT, DBT, TPT et DOT recommandé par l'AESA (EFSA, 2004), le niveau d'apport médian représente 7,2 % de cette valeur de référence pour les seuls consommateurs et 14,8 % pour les forts consommateurs. Des pourcentages bien supérieurs seraient toutefois observés en prenant en compte le 95^{ème} percentile de contamination, liés en particulier à la présence de TBT. Cependant, en raison des biais signalés au point 5.1 concernant la qualité des données de contamination, ces estimations ne sont qu'indicatives et nécessitent d'être considérées avec précaution.

6.2 Estimation de l'exposition des forts consommateurs des produits de la mer en France

Dans le cadre de l'étude *Calipso*⁶, l'exposition humaine aux organoétains via la consommation des produits de la mer a été estimée à partir des données de contamination présentées au point 5.3 et des données de consommation des forts consommateurs de produits de la mer.

L'étude *Calipso* comporte une étude de consommation ciblée sur des forts consommateurs de poissons et produits de la mer dans 4 régions côtières françaises. La représentativité de l'échantillon de la population enquêtée a été assurée par un recrutement aléatoire des individus (hors méthode des quotas, porte à porte avec espacement de 5 numéros) selon la méthode du "random route". 1000 individus, soit 250 par site, ont été inclus dans cette étude, répondant aux critères suivants :

- population adulte (18 ans et plus),
- consommer des produits de la mer au moins 2 fois par semaine, critère défini à partir de l'étude INCA de 1999. En effet, la fréquence de consommation médiane calculée à partir des données de consommation individuelle de produits de la mer dans la population de l'étude INCA était de 2 fois par semaine (CREDOC-AFSSA-DGAL, 2000⁷),
- résider de manière permanente sur l'un des sites sélectionnés depuis un certain nombre d'années.

Un certain nombre de données de contamination étant censurées (teneur inférieure à la limite de détection LD), celles-ci ont été estimées comme étant égales à la ½ LD. Les résultats des apports en organoétains sont présentés dans le tableau 8.

⁷ CREDOC-AFSSA-DGAL, 2000. Enquête Nationale sur les Consommations Alimentaires. Editions Tec & Doc.

Tableau 8 : Exposition moyenne des forts consommateurs de produits de la mer aux organoétains, exposition au P95 et quantification de la probabilité pour les sujets d'être au-dessus de la DHTP, par site, sans distinction d'âge et de sexe ($\mu\text{g}/\text{kg p.c./sem}$, Moy \pm ET)

		Le Havre n=249	Lorient n=247	La Rochelle n=248	Toulon n=252	Ensemble des sujets n=996
Total pour 9 organoétains	Moy \pm ET	0,13 \pm 0,09 ^a	0,07 \pm 0,04 ^b	0,08 \pm 0,05 ^b	0,11 \pm 0,07 ^c	0,10 \pm 0,07
	P95	0,34	0,15	0,18	0,26	0,24
TBT, DBT, TPT et DOT	Moy \pm ET	0,09 \pm 0,07	0,03 \pm 0,02	0,05 \pm 0,03	0,07 \pm 0,04	0,06 \pm 0,05
	P95	0,23	0,08	0,11	0,14	0,14
	% ind>DHTP*	0%	0%	0%	0%	0%

Sur une même ligne, les valeurs présentant une lettre différente en indice sont significativement différentes $P < 0,05$ (test de Tukey)

Total : MBT, DBT, TBT, MPT, DPT, TPT, MOT, DOT, TOT

* DHTP fixée pour les composés TBT, DBT, TPT et DOT à 1,75 $\mu\text{g}/\text{kg pc/sem}$ par l'EFSA en 2004

L'exposition à l'ensemble des composés organostanniques n'excède pas 0,14 $\mu\text{g}/\text{kg p.c./sem}$ en moyenne, et 0,34 $\mu\text{g}/\text{kg p.c./sem}$ au P95, quel que soit le site et le groupe d'âge et de sexe considéré, ce qui représente respectivement 8 et 19% de la DHTP fixée à 1,75 $\mu\text{g}/\text{kg pc/sem}$ (DJT pour le TBT, le DBT, le TPT et le DOT: 0,25 $\mu\text{g}/\text{kg p.c./j}$, EFSA, 2004). Les sujets du Havre puis ceux de Toulon apparaissent significativement plus exposés que les individus des autres sites ($p < 0,05$).

Les contributeurs majeurs à l'exposition aux organoétains (tableau 9) sont le thon (13%), le saumon, le maquereau, le colin ou lieu noir, la coquille Saint-Jacques et le cabillaud (6%).

Tableau 9 : Contributeurs à l'exposition totale aux organoétains (% de contribution)

Espèce	%	Espèce	%
Anchois*	3,66	Langoustine	1,04
Anguille	0,33	Lieu jaune	0,71
Araignée de mer	0,10	Limande	0,40
Bar/loup	4,39	Maquereau*	6,22
Baudroie/Lotte	0,96	Merlan	1,53
Bigorneau/Vigneau	0,26	Merlu	2,31
Bulot/Buccin	1,24	Moule	1,34
Cabillaud/Morue	5,89	Oursin	0,68
Calmar/Encornet/Chipiron	2,57	Paella	1,38
Carrelet	0,58	Pétoncle	0,53
Colin/Lieu noir	6,12	Pilchard	0,10
Coque/Rigadeaux	0,47	Poulpe	0,28
Coquille saint-jacques	6,10	Raie	1,08
Crabe*	1,17	Rascasse	0,06
Crevette/Bouquet/Gamba	1,67	Rouget	0,21
Dorade	1,82	Roussette/Saumonette	1,13
Egelfin*	0,28	Saint-Pierre	0,44
Empereur	0,27	Sardine*	4,24
Espadon	1,43	Saumon*	6,45
Etrille	1,01	Seiche	0,41
Flétan	2,89	Sole	1,85
Grenadier/Hoki	0,96	Soupe de poisson	1,39
Grondin	0,04	Surimi	4,39
Hareng*	0,32	Tacaud/Gade	0,10
Homard	0,03	Tarama	0,09
Huitre	2,54	Thon*	13,34
Julienne	1,19		

En gras : les principaux contributeurs (> 5%)

* Certaines espèces prennent en compte les différentes formes de conditionnement possibles : Hareng : frais et conserve, Maquereau : frais, conserve et fumé, Sardine : frais et conserve, Saumon : frais et fumé, Thon : frais et conserve, Anchois : frais et conserve, Crabe : frais et conserve, Egelfin : frais et fumé (haddock)

6.3 Estimation de l'exposition de la population britannique au travers de la seule consommation de coquillages

Les résultats de l'étude du Royaume-Uni (FSA, 2005) sur l'exposition de la population britannique aux organoétains au travers de la seule consommation des coquillages et en utilisant des valeurs de contamination maximales montrent que, pour le consommateur adulte moyen, la contribution des coquillages à l'exposition aux organoétains représente entre 1 et 10 % de la DJT (recommandée par l'AESA) et que, pour le fort consommateur (97,5^{ème} percentile), cet apport représente entre 3 et 40 % de la DJT. D'une façon générale, ce sont les moules et les huîtres qui sont les plus contributrices à l'exposition. Au regard de ces résultats, la Food Standard Agency estime que les niveaux d'organoétains trouvés dans les coquillages ne présentent pas un risque sanitaire.

L'estimation de l'exposition moyenne et au P95 chez les forts consommateurs de produits de la mer aux 9 composés organostanniques analysés montre que cette exposition reste bien en dessous de la DJT recommandée pour le groupe TBT, DBT, TPT et DOT, respectivement 8 % et 19 % de la DJT. Ces estimations sont comparables à celles réalisées par l'AESA (EFSA, 2004) fondées sur les données de contamination de la Tâche Scoop et les données de consommation norvégienne qui montrent des niveaux d'exposition médians pour la population européenne compris entre 7 et 15 % de la DJT.

7 METHODES D'ANALYSE

La mise en œuvre d'une technique d'analyse des organoétains requiert des procédures qui comportent typiquement les étapes suivantes : extraction et/ou enrichissement de la matrice, dérivation des espèces ioniques lors d'une séparation en GC car les espèces ioniques des organoétains ne sont pas volatiles, de nettoyage (si nécessaire), une séparation chromatographique et une détection sélective. Chaque étape reste critique pour la fiabilité et la comparabilité des résultats finals (Morabito, 1995). Aussitôt après l'étape de prélèvement, il est recommandé de placer les échantillons dans un congélateur, pour réduire au minimum les risques de dégradation pendant le stockage, en attendant que l'analyse soit faite (Carrichia *et al.* 1994).

Les exigences requises pour déterminer les teneurs en organoétains dans différentes matrices environnementales, notamment dans les matrices biologiques, sont très rigoureuses, nécessitant des limites de quantification (LQ) de l'ordre du ng.L⁻¹ ou du µg.kg⁻¹, une spécificité importante pour éviter les interférences de la matrice tout en permettant la détermination simultanée des différences espèces organostanniques d'intérêts, une excellente justesse et fidélité, (répétabilité et reproductibilité).

Il convient cependant de noter qu'il n'existe aucune méthode normalisée ni de méthode validée en inter- et intra-laboratoire en France et que l'existence de méthodes analytiques validées voire normalisées selon les critères internationaux constitue évidemment un préalable à la production de données fiables de teneurs dans les aliments.

La majorité des techniques d'analyses courantes est basée sur des techniques couplées – associant une technique de séparation adaptée à un détecteur spécifique (Cornelis *et al.* 2005 ; Morabito et Quevauviller 2002 ; Szpunar *et al.* 2000). Actuellement, la chromatographie en phase gazeuse sur colonne capillaire (CGC) et la chromatographie liquide haute performance (CLHP) sont les techniques de séparation les plus utilisées. La séparation par GC est la plus largement répandue pour déterminer les organoétains et permet la séparation de nombreuses espèces avec une excellente résolution (Cornelis *et al.* 2003a ; Szpunar *et al.* 2000).

Il est intéressant de constater que les matériaux de référence certifiés (MRC) sont généralement certifiés lors d'essais interlaboratoires en utilisant différentes méthodes (Cornelis *et al.* 2003b ; Morabito et Quevauviller 2002) et d'observer que la CGC est la technique de séparation majoritairement utilisée, couplée à un détecteur PFPD ou MS (Morabito et Quevauviller 2002). Néanmoins, depuis 2-3 ans, l'ID-MS (séparation par GC ou CLHP couplée à un détecteur MS,

AED ou ICP-MS) est de plus en plus utilisée par l'IRMM et les laboratoires nationaux de métrologie et d'essais lors d'une certification (Sturgeon et al. 2003).

L'utilisation préférentielle de certaines techniques dans le cadre d'une certification d'un matériau de référence est un excellent indicateur du degré de confiance en ces techniques à produire des résultats les plus fiables.

Les techniques les plus sophistiquées (GC-ID-MS, GC-ID-MS/MS, GC-ID-ICP-MS) restent généralement dédiées uniquement aux confirmations alors que les techniques les plus simples (GC-PFPD ou GC-AED) sont réservées aux analyses de première intention et utilisées en routine, comme cela a été observé lors de la récente Tâche Scoop Task 3.2.13. (Scoop, 2003) concernant les organoétains.

Toutefois, considérant la présence croissante de techniques de pointe dans les laboratoires des réseaux du laboratoire national de référence (LNR) pour répondre aux besoins actuels et futurs d'analyse de divers contaminants, il pourrait également s'avérer judicieux d'orienter le choix d'une méthode de spéciation des organoétains, associant une séparation par CPG à une spectrométrie de masse et une quantification par dilution isotopique (ID-MS). La technique utilisant un plasma induit à haute fréquence couplée à la spectrométrie de masse (ID-ICP-MS) après séparation par CPG étant encore peu répandue, serait réservée aux confirmations.

A noter que ces deux types de détection (MS et ICP-MS) sont plutôt complémentaires (Szpunar et al. 2000 ; White et al. 1998) : le principal atout de la spectrométrie de masse est de préserver l'intégrité structurale des composés, ce qui peut aider à l'élucidation de leur identité, en cas de doute mais elle reste beaucoup moins sensible, alors que les atouts principaux de la détection par ICP-MS sont d'une part sa sensibilité (LD allant de 0,6 à 20 pg.L⁻¹) et d'autre part, seule cette technique permettra de réaliser la spéciation simultanée de plusieurs éléments, comme le mercure et l'étain (Monperrus et al. 2003a). La technique ID-ICP-MS a été reconnue par le Comité Consultatif pour la Quantité de Matière (CCQM) comme **méthode primaire**, ce qui explique pourquoi elle est souvent utilisée dans le cadre de la certification de matériaux de référence "à matrice" par les laboratoires nationaux de métrologie et d'essais (Rivier *et al.*, 2005).

A noter que les critères d'identification par spectrométrie de masse sont fonction du type de matériel, dont certains critères doivent impérativement être respectés (norme NF T90-250).

Pourquoi une quantification par dilution isotopique ?

Lorsque cela est possible, la quantification par dilution isotopique offre la possibilité de développer une méthode de référence primaire permettant une plus grande justesse et fidélité (Rivier et al. 2005, Monperrus *et al.*, 2005 ; Centineo *et al.*, 2004 ; Sturgeon *et al.*, 2003 ; Rodríguez-Gonzalez *et al.*, 2003 ; Wahlen & Wolff-Briche 2003 ; García Alonso *et al.*, 2002), à condition cependant de s'assurer que l'isotope enrichi ajouté n'est pas extrait plus efficacement que l'analyte présent dans la matrice (Monperrus et al. 2004). De plus, la dilution isotopique permet d'étudier la faible reproductibilité d'une extraction par micro-extraction sur phase solide (SPME) (Bancon-Montigny *et al.*, 2002), les processus de décomposition spécifiques des différents organoétains, les pertes, les faibles taux de récupération, qui peuvent se produire durant les étapes d'extraction ou de dérivation avec de nombreuses techniques de préparation des échantillons, ainsi que la dérive du signal pendant la détection (Rodríguez-Gonzalez *et al.*, 2004 ; Monperrus *et al.*, 2004, 2003b ; Encinar *et al.*, 2002). L'incertitude associée au résultat est ainsi réduite.

Toutefois, comme toutes les techniques, la dilution isotopique a certaines limites et ne permet pas de compenser ni une extraction non quantitative des organoétains de la matrice, ni les processus de décomposition avant extraction, ni un problème de contamination (Monperrus *et al.*, 2004).

L'assurance qualité des résultats

Les préoccupations de l'assurance qualité des résultats d'analyses de spéciation de l'étain sont encore plus importantes à considérer qu'en analyse en élément total, en raison des nombreuses sources d'incertitude et des difficultés pour contrôler l'ensemble du processus analytique

(Cornelis *et al.*, 2005). Les principales raisons, parmi d'autres, sont dues à la complexité de la procédure analytique, aux possibilités de décomposition des analytes ou à la formation d'artéfacts pendant la préparation des échantillons, à la disponibilité limitée de certaines solutions standards de haute pureté et de matériaux de référence certifiés (MRC).

Chaque série d'analyse doit être encadrée par des Contrôles Qualités Internes (CQI) pertinents permettant à l'analyste signataire de valider ou non les résultats de l'essai. Ces CQI comportent généralement un blanc de protocole et un standard interne subissant l'ensemble de la procédure analytique, un contrôle de la dérive de la sensibilité, un contrôle de la justesse par un matériau de référence (Interne, externe ou certifié), si possible certifié dont la matrice et la concentration en éléments d'intérêts doivent être les plus proches possibles des échantillons analysés.

Seuls trois matériaux de référence certifiés dans des denrées alimentaires sont actuellement disponibles, le CRM 477 sur un tissu de moule, certifié en MBT ($1,50 \pm 0,28 \text{ mg.kg}^{-1}$), DBT ($1,54 \pm 0,12 \text{ mg.kg}^{-1}$) et TBT ($2,20 \pm 0,19 \text{ mg.kg}^{-1}$) (Rodríguez-Gonzalez *et al.*, 2004), le CRM 710 sur un tissu d'huître, certifié en DBT ($82,0 \pm 15,0 \mu\text{g.kg}^{-1}$) et TBT ($133,0 \pm 19,0 \mu\text{g.kg}^{-1}$) avec une valeur indicative pour le MBT de $50,0 \pm 14,0 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (Morabito *et al.*, 2004) et le NIES 11 sur de la chair de poisson, certifié en TBT ($1,3 \pm 0,1 \text{ mg.kg}^{-1}$) avec une valeur indicative de $6,3 \text{ mg.kg}^{-1}$ pour le TPT (Cornelis *et al.*, 2005).

Il convient cependant de noter que si les MRC sont indispensables pour aider les concepteurs de méthode d'analyse à valider leurs procédures et pour s'assurer de l'absence d'erreurs systématiques, néanmoins, il s'avère judicieux de compléter l'usage des MRC par des essais interlaboratoires d'aptitude, afin de compléter les Contrôles Qualités Internes (CQI) par des Contrôles Qualités Externes (CQE) (Jorhem 2004).

La préparation de l'échantillon pour analyse

Sur la base des récentes publications discutant en détail de la comparaison des méthodes d'extraction (Pellegrino *et al.*, 2000), des méthodes de dérivations (Morabito *et al.*, 2000) et de leurs applications aux sédiments et les moules pour étudier la spéciation des organoétains (Morabito et Quevauviller 2002 ; Quevauviller *et al.*, 2000), des essais d'optimisations adaptées et évaluées devront être réalisés pour déterminer les conditions les plus appropriées au couple analyte/matrice retenu.

Une méthode d'analyse basée sur la séparation par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM) pourrait être retenue mais elle devrait être optimisée et validée avant tout transfert technologique comme outil analytique de routine.

8 CONCLUSIONS

L'identification des dangers fait apparaître que les organoétains peuvent induire des effets immunotoxiques et sur la reproduction chez l'animal de laboratoire. La littérature rapporte quelques cas d'exposition aiguë chez l'homme au tributylétain (TBT) et au triphénylétain (TPT) mais aucune donnée n'est disponible sur les effets sur la santé humaine résultant d'une exposition à long terme. Cependant, en raison des effets observés chez l'animal, l'exposition de la population aux organoétains doit être estimée.

Les organoétains présentant des effets immunotoxiques similaires et éventuellement additifs, une dose journalière tolérable (DJT) de $0,25 \mu\text{g/kg p.c./j}$ peut être retenue pour la somme des quatre composés tributylétain (TBT), dibutylétain (DBT), triphénylétain (TPT) et di-octylétain (DOT).

Parmi la centaine de composés organostanniques existants, les composés de l'étain mono-, di- et tri-butylés (MBT, DBT et TBT) et mono-, di- et tri-phénylés (MPT, DPT et TPT) sont plus particulièrement retrouvés dans les produits de la pêche. Les octylétains ne sont pas détectés dans ces denrées. En France, l'exposition moyenne et au P95 estimée des forts consommateurs des produits de la mer aux 9 composés organostanniques est très inférieure à la DJT (8 à 19 % de la DJT). Il convient de noter cependant qu'aucune donnée de contamination sur des denrées

autres que les produits de la mer, les denrées végétales notamment, n'est disponible et mentionnée dans les diverses évaluations.

Au regard de l'ensemble des résultats disponibles, l'exposition aux organoétains au travers des produits de la mer ne semble pas présenter un risque pour le consommateur.

Cependant, trois acaricides à base d'étain sont homologués en France et peuvent être appliqués sur de nombreuses cultures (fruits et légumes, cultures de graines oléagineuses, céréales, pomme de terre). En raison de leurs nombreuses applications, on peut craindre de les retrouver dans l'environnement, notamment dans l'eau et les sédiments des rivières et qu'ils contaminent les organismes aquatiques. Afin de prendre en compte cette source d'exposition, il conviendrait de rechercher des résidus d'étain dans les fruits et les légumes susceptibles d'avoir été traités par l'un ou l'autre de ces trois fongicides homologués ainsi que les composés de l'étain mono-, di- et tri-butylés (MBT, DBT et TBT) et mono-, di- et tri-phénylés (MPT, DPT et TPT) dans les poissons d'eau douce.

Pascale BRIAND

Bibliographie

- Adeeko A., Li D., Forsyth D.S., Casey V., Cooke G.M., Barthelemy J., Cyr D.G., Trasler J.M., Robaire B., Hales B.F. Effects of *in utero* tributyltin chloride exposure in the rat on pregnancy outcome. *Toxicol. Sci.* 2003, 74, 407-15. Epub 2003 May 28.
- ATSDR. Toxicological profile for tin. September 2003. <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp55.html>
- Bancon-Montigny C., Maxwell P., Yang L., Mester Z., Sturgeon RE. Improvement of measurement precision of SPME-GC/MS determination of tributyltin using isotope dilution calibration. *Analytical Chemistry*, 2002, 74, 5606-13.
- Baroncelli S., Karrer D., Turillazzi P.G. Oral bis(tri-n-butyltin) oxide in pregnant mice. I. Potential influence of maternal behavior on postnatal mortality. *J. Toxicol. Environ. Health.* 1995, 46, 355-367.
- Benya T.J. Bis(tributyltin) oxide toxicology. *Drug Metab. Rev.* 1997, 29, 1189-1284.
- BgVV, 2000. Tributylzinn (TBT) und andere zinnorganische Verbindungen in Lebensmitteln und verbrauchernahen Produkten (6. März 2000)
http://www.bfr.bund.de/cm/208/tributylzinn_tbt_und_andere_zinnorganische_verbindungen.pdf
- Bressa G., Hinton R.H., Price S.C., Isbir M., Ahmed R.S., Grasso P. Immunotoxicity of tri-n-butyltin oxide (TBTO) and tri-n-butyltin chloride (TBTC) in the rat. *J. Appl. Toxicol.* 1991, 11, 397-402.
- Buckiova D., Dostal M., Hofmannova V. Embryotoxicity of organotins. *Reprod. Toxicol.* 1992, 6, 178-179.
- Caricchia A. M., Chiavarini S., Cremisini C., Morabito R., Scerbo R. Influence of storage conditions on the determination of organotin in mussels. *Analytica Chimica Acta*, 1994, 286, 329-334.
- Carthew P., Edwards R.E., Dorman B.M. The immunotoxicity of tributyltin oxide (TBTO) does not increase the susceptibility of rats to experimental respiratory infection. *Hum. Exp. Toxicol.* 1992, 11, 71-75.
- Centineo G., Rodríguez-González P., González E. B., García Alonso J. I., Sanz-Medel A. Simultaneous determination of mono-, di- and tributyltin in environmental samples using isotope dilution gas chromatography mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, 2004, 39, 485-494.
- Chao J.S., Wei L.Y., Huang M.C., Liang S.C., Chen H.H. Genotoxic effects of triphenyltin acetate and triphenyl hydroxide on mammalian cells *in vitro* and *in vivo*. *Mutat. Res.* 1999, 444, 167-174.
- Cooke G.M., Tryphonas H., Pulido O., Caldwell D., Bondy G.S., Forsyth D. Oral (gavage), *in utero* and postnatal exposure of Sprague-Dawley rats to low doses of tributyltin chloride. Part 1: Toxicology, histopathology and clinical chemistry. *Food Chem. Toxicol.* 2004, 42, 211-220.
- Crofton K.M., Dean K.F., Boneck V.M., Rosen M.B., Sheets L.P., Chernoff N., Reiter L.W. Prenatal or postnatal exposure to bis(tri- n-butyltin)oxide in the rat: Postnatal evaluation of teratology and behavior. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1989, 97, 113-123.
- CSTEE 2003. Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment (CSTEE). Opinion on assessment of the risks to health and the environment posed by the use of organostannic compounds (excluding use as a biocide in antifouling paints) and a description of the economic profile of the industry. Adopted at 38th Plenary meeting, 12 June 2003.
- CSTEE 2004. Scientific Committee on Toxicity, Ecotoxicity and the Environment (CSTEE). Opinion on Revised assessment of the risks to health and the environment associated with the use of organostannic compounds (excluding use in antifouling paints). Adopted at 43rd Plenary meeting, 28 May 2004.
- Cornelis R., Caruso J., Crews, Heumann K. Handbook of elemental speciation I: Techniques and methodology. Gas chromatography and other gas based methods –Garcia Alonso J.I., Ruiz Encinar J., 2003a, Chapter 4.2; p. 163-200, John Wiley & Sons Ltd, England.
- Cornelis R., Caruso J., Crews, Heumann K. Handbook of elemental speciation I: Techniques and methodology. Reference Materials – Quevauviller P., 2003b, Chapter 7.2; p. 563-590, John Wiley & Sons Ltd, England.

Cornelis R., Caruso J., Crews, Heumann K. Handbook of elemental speciation II: Species in the Environment, food, medicine and H. environmental health. Speciation of Tin – E. Rosenberg, 2005, Chapter 2.20; p. 422-463, John Wiley & Sons Ltd, England.

Daly I.W. An eighteen month oncogenicity feeding study in mice with bis(trinbutyltin) oxide (TBTO). 1992. Unpublished report by Bio/dynamics, Inc. prepared for TBTO.

Davis, A., Barale, R., Brun, G., Forster, R., Günther, T., Hautefeuille, H., van der Heijden, C.A., Knaap, A.G.A.C., Krowke, R., Kuroki, T., Loprieno, N., Malaveille, C., Merker, H.J., Monaco, M., Mosesso, P., Neubert, D., Norppa, H., Sorsa, M., Vogel, E., Voogd, C.E., Umeda M. and Bartsch, H. Evaluation of the genetic and embryotoxic effects of bis(tri-*n*-butyltin)oxide (TBTO), a broad-spectrum pesticide, in multiple *in vivo* and *in vitro* short-term tests. *Mutat. Res.* 1987, 188, 65-95.

Décision N° 2455/2001/CE du Parlement européen et du Conseil du 20 novembre 2001 établissant la liste des substances prioritaires dans le domaine de l'eau et modifiant la directive 2000/60/CE. Journal officiel des Communautés européennes, L 331, 1-5 (15.12.2001).

Devier M-H., Augagneur S., Budzinski H., Le Menach K., Mora P., Narbonne J-F., Garrigues P. One-year monitoring survey of organic compounds (PAHs, PCBs, TBT), heavy metals and biomarkers in blue mussels from the Arcachon bay, France. *Journal of Environmental Monitoring*, 2005,7, 224-240.

Directive 67/548/CEE du Conseil, du 27 juin 1967, concernant le rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives relatives à la classification, l'emballage et l'étiquetage des substances dangereuses.

EC. Scientific Committee on Food (SCF). Opinion on an additional list of monomers and additives for food contact materials (23 September, 1999). SCF/CS/PM/GEN/3334 final.

EFSA. Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission to assess the health risks to consumers associated with exposure to organotins in foodstuffs. *EFSA Journal*, 2004,102, 1-119. <http://www.efsa.eu.int>

Encinar J.R., Rodriguez-Gonzalez P., Garcia alonso J.I., Sanz-Medel A. Evaluation of extraction techniques for the determination of butyltin compounds in sediments using isotope dilution-GC/ICPMS with ¹¹⁸Sn and ¹¹⁹Sn-enriched species. *Analytical chemistry*, 2002, 74, 270-281.

EPA 1997. Toxicological review: Tributyltin oxide. Integrated Risk Information System (IRIS). U.S. Environmental Protection Agency, Washington DC.

EPA 1999. Triphenyltin hydroxide. RED: EPA 738-R-99-010. U.S. Environmental Protection Agency, Washington DC.

Faqi A.S., Schweinfurth H., Chahoud I. Developmental toxicity of an octyltin stabilizer in NMRI mice. *Reprod. Toxicol.* 2001, 15, 117-122.

Farr C.H., Reinisch K., Holson J.F., Neubert D. Potential teratogenicity of di-*n*-butyltin dichloride and other dibutyltin compounds. *Teratog. Carcinog. Mutagen.* 2001, 21, 405-415.

FSA (2005). Survey of organotins in shellfish. 81/05, October 2005. <http://www.food.gov.uk/science/surveillance/fsisbranch2005/fsis8105>

Funahashi N., Iwasaki I., Ide G. Effects of bis (tri-*n*-butyltin) oxide on endocrine and lymphoid organs of male rats. *Acta Pathol. Jpn.* 1980, 30, 955-966.

García Alonso J. I., Ruiz Encinar J., Rodríguez Gonzalez P., Sanz-Medel A. Determination of butyltin compounds in environmental samples by isotope-dilution GC-ICP-MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2002, 373, 432-440.

Gennari A., Potters M., Seinen W., Pieters R. Organotin-induced apoptosis as observed *in vitro* is not relevant for induction of thymus atrophy at antiproliferative doses, *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1997, 147, 259-266.

Gennari A., Bol M., Seinen W., Penninks A., Pieters R. Organotin-induced apoptosis occurs in small CD4(+)CD8(+) thymocytes and is accompanied by an increase in RNA synthesis. *Toxicology*, 2002, 175, 191-200.

- Garssen J., Van der Vliet H., De Klerk A., Goettsch W., Dormans J.A.M.A., Bruggeman C.A., Osterhaus A.D.M.E., Van Loveren H. A rat cytomegalovirus infection model as a tool for immunotoxicity testing. *Eur. J. Pharmacol.* 1995, 292, 223-231.
- Grote K., Stahlschmidt B., Talsness C.E., Gericke C., Appel K.E., Chahoud I. Effects of organotin compounds on pubertal male rats. *Toxicology* 2004, 202, 145-158.
- Harazono A., Ema M., Ogawa Y. Evaluation of early embryonic loss induced by tributyltin chloride in rats: phase- and dose-dependent antifertility effects. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 1998, 34, 94-99.
- Heidrich D.D., Steckelbroeck S., Klingmuller D. Inhibition of human cytochrome P450 aromatase activity by butyltins. *Steroids*, 2001. 66, 763-769.
- Kannan K., Falandysz J. Butyltin residues in sediment, fish, fish-eating birds, harbour porpoise and human tissues from the polish coast of the baltic sea. *Marine Pollut. Bull.* 1997, 34, 203-207.
- Kannan K., Senthilkumar K., Giesy J.P. Occurrence of butyl compounds in human blood. *Environ. Sci. Technol.* 1999, 33, 1776-1779.
- Karrer D., Baroncelli S., Ciaralli L., Turillazzi P.G. Effect of subchronic bis(trinbutyltin) oxide (TBTO) oral administration on haematological parameters in monkeys: a preliminary report. *Food Chem. Toxicol.* 1992, 30, 715-718.
- Karrer D., Baroncelli S., Turillazzi P.G. Oral bis(tri-n-butyltin) oxide in pregnant mice. II. Alterations in hematological parameters. *J. Toxicol. Environ. Health*, 1995, 46, 369-377.
- Kirkland D.J. Study to evaluate the chromosome damaging potential of HOE 029664 - substance technical by its effects on cultured human lymphocytes using an *in vitro* cytogenetics assay. 1985. Unpublished Report A31614 from Microtest Research Limited, UK. Submitted to WHO by Hoechst AG., Frankfurt-am-Main.
- Krajnc E.I., Wester P.W., Loeber J.G., Van Leeuwen F.X.R., Vos J.G., Vaessen H.A.M.G., Van der Heijden C.A. Toxicity of bis(tri- *n*-butyltin)oxide (TBTO) in the rat. I. Short-term effects on general parameters and on the endocrine and lymphoid systems. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1984, 75, 363-386.
- Krajnc E.I., Vos J.G., Wester P.W., Loeber J.G., Van der Heijden C.A. Toxicity of bis(tri-*n*-butyltin)oxide (TBTO) in rats. Unpublished report submitted to the Office of Toxic Substances, (1987) US Environmental Protection Agency, with cover letter dated 18 May 1987 (Document Control No. FYI-OTS-0687-0550 Sequence A).
- Krug H.F., Choi Y.M., Meixner S. Intracellular calcium is altered but is not involved in tributyltin-induced apoptosis. *Signal Transduction*, 2003, 3/4, 182.
- Li A.P., Dahl A., Hill J.O. *In vitro* cytotoxicity and genotoxicity of dibutyltin dichloride and dibutylgermanium dichloride. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 1982, 64, 482-485.
- Lin J.L., Hsueh S. Acute nephropathy of organotin compounds. *Am. J. Nephrol.* 1993, 13, 124-128.
- Lo S., Allera A., Albers P., Heimbrecht J., Jantzen E., Klingmuller D., Steckelbroeck S.. Dithioerythritol (DTE) prevents inhibitory effects of triphenyltin (TPT) on the key enzymes of the human sex steroid hormone metabolism. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2003, 84, 569-576.
- Manzo L., Richelmi P., Sabbioni E., Pietra R., Bono F., Guardia L. Poisoning by triphenyltin acetate. Report of two cases and determination of tin in blood and urine by neutron activation analysis. *Clin. Toxicol.* 1981, 18, 1343-1353.
- Micic M., Bihari N., Labura Z., Muller W.E., Batel R. Induction of apoptosis in the blue mussel *Mytilus galloprovincialis* by tri-*n*-butyltin chloride. *Aquat. Toxicol.* 2001, 55, 61-73.
- Monperrus M., Martin-Doimeadios R.C.R., Scancar J., Amouroux D., Donard, O.F.X. Simultaneous sample preparation and species-specific isotope dilution mass spectrometry analysis of monomethylmercury and tributyltin in a certified oyster tissue. *Analytical Chemistry*, 2003a, 75, 4095-4102.
- Monperrus M., Zuloaga O., Krupp E., Amouroux D., Wahlen R., Fairman B., Donard O.F.X. Rapid, accurate and precise determination of tributyltin in sediments and biological samples by species specific isotope

dilution-microwave extraction-gas chromatography-ICP mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2003b, 18, 247-53.

Monperrus M., Krupp E., Amouroux D., Donard O.F.X., Rodríguez Martín-Doimeadios, R.C. Potential and limits of speciated isotope-dilution analysis for metrology and assessing environmental reactivity. *Trends in Analytical Chemistry*, 2004, 23, 261-272.

Monperrus M., Tessier E., Veschambre S., Amouroux D., Donard O.F.X. Simultaneous speciation of mercury and butyltin compounds in natural waters and snow by propylation and species-specific isotope dilution mass spectrometry analysis. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2005, 381, 854-862.

Morabito R., Speciation of Organotin Compounds in Environmental Matrices. *Microchemical Journal*, 1995, 51, 198-206.

Morabito R., Massanisso P., Quevauviller P. Derivatization methods for the determination of organotin compounds in environmental samples. *Trends in Analytical Chemistry*, 2000, 19, 113-119.

Morabito R., Quevauviller P. Performances of spectroscopic methods for tributyltin (TBT) determination in the 10 years of the EU-SM&T organotin programme. *Spectroscopy Europe*, 2002, 14, 18-23.

Morabito R., Massanisso P., Camara C., Larsson T., Frech W., Kramer K.J.M., Bianchi M., Muntau H., Donard O.F.X. Lobinski R., McSheehy S., Pannier F., Potin-Gautier M., Gawlik B.M., Bøwadt S., Quevauviller P. Towards a new Certified Reference material for butyltins, methylmercury and arsenobetaine in oyster tissue. *Trends in analytical chemistry*, 2004, 23, 664-676.

Nielsen J.B., Strand J. Butyltin Compounds in Human Liver. *Environ. Res.* 2002, 88, 129-133.

Odman-Ghazi S.O., Hatcher F., Whalen M.M. Expression of functionally relevant cell surface markers in dibutyltin-exposed human natural killer cells. *Chem. Biol. Interact.* 2003, 146, 1-18.

Ogata R., Omura M., Shimasaki Y., Kubo K., Oshima Y., Aou S., Inoue N. Two-generation reproductive toxicity study of tributyltin chloride in female rats, *J. Toxicol. Environ. Health*, 2001, 63, 127-144.

Ohno S., Nakajima Y., Nakajin S.. Triphenyltin and Tributyltin inhibit pig testicular 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity and suppress testicular testosterone biosynthesis. *Steroids*. 2005, 70, 645-651.

Omura M., Ogata R., Kubo K., Shimasaki Y., Aou S., Oshima Y., Tanaka A., Hirata M., Makita Y., Inoe N. Two-generation reproductive toxicity study of tributyltin chloride in male rats. *Toxicol. Sci.* 2001, 64, 224-232.

OT SAFE. Sources, consumer exposure and risks of organotin contamination in seafood. Final report of the European Commission Research Project OT-SAFE N° QLK1-2001-01437, 149 p. (Dec. 2004).

Pellegrino C., Massanisso P., Morabito R. Comparison of twelve selected extraction methods for the determination of butyl- and phenyltin compounds in mussel samples. *Trends in analytical chemistry*, 2000, 19, 97-106.

Pieters R.H., Bol M., Seinen W., Penninks A.H. Cellular and molecular aspects of organotin-induced thymus atrophy. *Hum.Exp.Toxicol.* 1994, 13, 876-879.

Pieters R.H., Bol M., Penninks A.H.. Immunotoxic organotins as possible model compounds in studying apoptosis and thymocyte differentiation. *Toxicology*,. 1994, 91, 189-202.

Pieters R.H., Bol M., Ariens T., Punt P., Seinen W., Bloksma N., Penninks A.H. Selective inhibition of immature CD4-CD8+ thymocyte proliferation, but not differentiation, by the thymus atrophy-inducing compound di-n-butyltin dichloride. *Immunology*, 1994, 81, 261-267.

Pieters R.H., Punt P., Bol M., van Dijken J.M., Seinen W., Penninks A.H. The thymus atrophy inducing organotin compound DBTC stimulates TcR alpha beta-CD3 signalling in immature rat thymocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1995, 214, 552-558.

Quevauviller P., Astruc M., Morabito R., Ariese F., Ebdon L. Collaborative evaluation of methods for tributyltin determinations in sediment and mussel tissue. *Trends in analytical chemistry*, 2000, 19, 180-188.

Règlement (CE) n°782/2003 du Parlement européen et du Conseil du 14 avril 2003 interdisant les composés organostanniques sur les navires. JOCE L 115 du 09/05/2003 p. 0001 – 0011.

Rivier C., Stumpf C., Labarraque G., Hervouët G., Désenfant M., Priel M., Rouyer J-M., Seiller M-P. Matériaux de référence et essais d'aptitude : deux outils au service de la qualité des analyses. *Spectra Analyse*, 2005, 256, 33-35.

Rodríguez-Gonzalez P., Ruiz Encinar J., García Alonso J.I., Sanz-Medel A. Isotope dilution analysis as a definitive tool for the speciation of organotin compounds. *Analyst*, 2003, 128, 447-452.

Rodríguez-Gonzalez P., Alonso J.I.G., Sanz-Medel A. Development of a triple spike methodology for validation of butyltin compounds speciation analysis by isotope dilution mass spectrometry part 2. study of different extraction procedures for the determination of butyltin compounds in mussel tissue CRM 477. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2004, 19, 767-72.

Sasaki Y.F., Yamada H., Sugiyama C., Kinai N. Increasing effect of tributyltins and triphenyltins on the frequency of chemically induced chromosome aberrations in cultured Chinese hamster cells. *Mutat. Res.* 1993, 300, 5-14.

Schroeder R.E.. A teratology study in rats with bis(tri-*n*-butyl-tin)oxide. 1981. Unpublished report prepared by Bio/dynamics, Inc., for Elf Atochem (MRID No. 00137158, 92172005, 92172016; HED Document No. 003914, 004691, 010916).

Schroeder R.E. A two-generation reproduction study in rats with bis(tri-*n*-butyltin)oxide. 1990. Unpublished report prepared by Bio/dynamics, Inc., for Schering AG and M&T Chemicals, Inc. (MRID No. 416938-01).

SCOOP. Report on Tasks for Scientific Cooperation (SCOOP), task 3.2.13. Assessment of the dietary exposure to organotin compounds of the population of the EU member states. European Commission, Directorate-General Health and Consumer Protection, Reports on tasks for scientific co-operation, October 2003.

Shelton D., Urch B., Tario S.M. Occupational asthma induced by a carpet fungicide – tributyltin oxide. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1992, 90, 274-275.

Shimasaki Y., Kitano T., Oshima Y., Inoue S., Imada N., Honjo T. Tributyltin causes masculinization in fish. *Environ. Toxicol. Chem.* 2003, 22, 141-144.

Smialowicz R.J., Riddle M.M., Rogers R.R., Leubke R.W., Copeland C.B. Immunotoxicity of tributyltin oxide in rats exposed as adults or pre-weanlings. *Toxicology*, 1989, 57, 97-111.

Snoei N.J., Penninks A.H., Seinen W. Dibutyltin and tributyltin compounds induce thymus atrophy in rats due to a selective action on thymic lymphoblasts, *Int. J. Immunopharmacol.* 1988, 10, 891-899.

Snoei N.J., Bol-Schoenmakers M., Penninks A.H., Seinen W. Differential effects of tri-*n*-butyltin chloride on macromolecular synthesis and ATP levels of rat thymocyte subpopulations obtained by centrifugal elutriation, *Int. J. Immunopharmacol.* 1988, 10, 29-37.

Stridh H., Gigliotti D., Orrenius S., Cotgreave I. The role of calcium in pre- and postmitochondrial events in tributyltin-induced T-cell apoptosis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1999, 266, 460-465.

Sturgeon R.E., Wahlen R., Brandsch T., Fairman B., Wolf-Briche C., Garcia Alonso J.I., Rodriguez P., Gonzalez, Ruiz Encinar J., Sanz-Medel A., Inagaki K., Takatsu A., Lalere B., Monperrus M., Zuloaga O., Krupp E., Amouroux D., Donard O.F.X., Schimmel H., Sejerøe-Olsen B., Konieczka P., Schultze P., Taylor P., Hearn R., Mackay L., Myors R., Win T., Liebich A., Philipp R., Yang L., Willie S. Determination of tributyltin in marine sediment: Comité Consultatif pour la Quantité de Matière (CCQM) pilot study P-18 international intercomparison. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2003, 376, 780- 787.

Szpunar J., McSheehy S., Polec K., Vacchina V., Mounicou S., Rodriguez I., Lobinski R. Gas and liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry detection for environmental speciation analysis - advances and limitations. *Spectrochimica acta*, 2000, 55, 779-793.

Takahashi S., Mukai H., Tanabe S., Sakayama K., Miyazaki T., Masuno H. Butyltin residues in livers of humans and wild terrestrial mammals and in plastic products. *Environ. Pollut.* 1999, 106, 213-218.

Tennekes H., Horst K., Luetkemeier H., Vogel W., Vogel O., Armstrong J., Ehlers H.A., Muller E., Terrier C. TPTH-technical (Code: HOE 029664 OF ZD97 0004) oncogenicity 80-week feeding study in mice. 1989a. Unpublished report 047002 (A40467) of RCC Research and Consulting Company AG, Itingen. Submitted to WHO by Hoechst AG, Frankfurt-am-Main [cited in JMPR, 1992].

- Tennekes H., Horst K., Luetkemeier H., Vogel W., Vogel O., Armstrong J., Ehlers H.A., Muller E., Terrier C. TPTH-technical (Code: HOE 029664 OF ZD97 0007) chronic toxicity/oncogenicity 104-week feeding study in rats. 1989b. Unpublished report 046980 (A40468) of RCC Research and Consulting Company AG, Itingen. Submitted to WHO by Hoechst AG, Frankfurt-am-Main [cited in JMPR, 1992].
- Thomas L.D., Shah H., Green S.A., Bankhurst A.D., Whalen M.M. Tributyltin exposure causes decreased granzyme B and perforin levels in human natural killer cells. *Toxicology*, 2004, 200, 221-233.
- Tiano L., Fedeli D., Santoni G., Davies I., Falcioni G. Effect of tributyltin on trout blood cells: changes in mitochondrial morphology and functionality. *Biochim. Biophys. Acta* 2003, 1640, 105-112.
- Tryphonas H., Cooke G., Caldwell D., Bondy G., Parenteau M., Hayward S., Pulido O. Oral (gavage), *in utero* and post-natal exposure of Sprague-Dawley rats to low doses of tributyltin chloride. Part II: effects on the immune system. *Food Chem. Toxicol.* 2004, 42, 221-235.
- Vandebriel R.J., Meredith C., Scott M.O., Rohall P.J., Van Loveren H. Effects of *in vivo* exposure to bis(tri-*n*-butyltin)oxide, hexa-chlorobenzene, and benzo(a)pyrene on cytokine (receptor) mRNA levels in cultured rat splenocytes and on IL-2 receptor protein levels. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1998, 148, 126-136.
- Van Loveren H., Krajnc E.I., Rombout P.J.A., Blommaert F.A., Vos J.G. Effects of ozone, hexachlorobenzene, and bis(tri-*n*-butyltin)oxide on natural killer activity in the rat lung. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1990, 102, 21-33.
- Verdier F., Virat M., Schweinfurth H., Descotes J. Immunotoxicity of bis(tri-*n*-butyltin) oxide in the rat. *J. Toxicol. Environ. Hlth.* 1991, 32, 307-319.
- Vos J.G., DeKlerk A., Krajnc E.I., Kruizinga W., van Ommen B., Rozing J. Toxicity of bis(tri-*n*-butyltin)oxide in the rat. II. Suppression of thymus-dependent immune responses and of parameters of nonspecific resistance after short-term exposure. *Toxicol. Appl. Pharmacol* 1984 Sep 30;75(3):387-408.
- Vos J.G., DeKlerk A., Krajnc E.I., Van Loveren V., Rozing J. Immunotoxicity of bis(tri- *n*-butyltin)oxide in the rat: effects on thymus-dependent immunity and on nonspecific resistance following long-term exposure in young versus aged rats. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1990, 105, 144-155.
- Wax P.M., Dockstader L. Tributyltin use in interior paints: a continuing health hazard. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 1995, 33, 239-241.
- Whalen M.M., Loganathan B.G., Kannan K. Immunotoxicity of environmentally relevant concentrations of butyltins on human natural killer cells *in vitro*. *Environ. Res.* 1999, 81, 108-116.
- Whalen M.M., Green S.A., Loganathan B.G. Brief butyltin exposure induces irreversible inhibition of the cytotoxic function on human natural killer cells, *in vitro*. *Environ. Res.* 2002a, 88, 19-29.
- Whalen M.M., Ghazi S., Loganathan B.G., Hatcher F. Expression of CD16, CD18 and CD56 in tributyltin-exposed human natural killer cells. *Chem. Biol. Interact.* 2002b, 139, 159-176.
- Whalen M.M., Wilson S., Gleghorn C., Loganathan B.G. Brief exposure to triphenyltin produces irreversible inhibition of the cytotoxic function of human natural killer cells. *Environ. Res.* 2003, 92, 213-220.
- Wahlen R., Wolff-Briche C. Comparison of GC-ICP-MS and HPLC-ICP-MS for species-specific isotope dilution analysis of tributyltin in sediment after accelerated solvent extraction. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2003, 377, 140-48.
- White S., Catterick T., Fairman B., Webb K. Speciation of organo-tin compounds using liquid chromatography- atmospheric pressure ionisation mass spectrometry and liquid chromatography- inductively coupled plasma mass spectrometry as complementary techniques. *Journal of Chromatography A*, 1998,794, 211-18.
- Wester P.W., Krajnc E.L., Van Leeuwen F.X.R. *et al.* Two year feeding study in rats with bis(tri-*n*-butyltin)oxide (TBTO). 1988. Report (658112 003). National Institute of Public Health and Environmental Hygiene, Bilthoven, Netherlands.
- Wester P.W., Krajnc E.I., Van Leeuwen F.X., Loeber J.G., Van der Heijden C.A., Vaessen H.A., Helleman P.W. Chronic toxicity and carcinogenicity of bis(tri-*n*-butyltin) oxide (TBTO) in the rat. *Food Chem. Toxicol.* 1990, 28, 179-196.

WHO. 1999a. IPCS. Concise International Chemical Assessment 13: Triphenyltin compounds. World Health Organization, Geneva.

WHO. 1999b. IPCS. Concise International Chemical Assessment 14: Tributyltin oxide. World Health Organization, Geneva.

WHO 2001. IPCS. Integrated Risk Assessment. C. Tributyltin and triphenyltin compounds. J. Sezikawa, G. Suter II, L. Birnbaum. IRA/01/12.

Wu R.M., Chang Y.C., Chiu H.C. Acute triphenyltin intoxication: a case report. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiat.* 1990, 53, 356-357.

Yamada H., Sasaki Y.F. Organotin are co-clastogens in a whole mammalian system. *Mutat. Res.* 1993, 301, 195-200.