UNIVERSITÉ DE LORRAINE

AVERTISSEMENT

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

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

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

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

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

THESE

MODELISATION DU DEVENIR DE L'HEXABROMOCYCLODODECANE (HBCD) CHEZ LA POULE PONDEUSE : INFLUENCE DES CARACTERISTIQUES PHYSIOLOGIQUES

Elena Domínguez-Romero

Présentée et soutenue le 21 novembre 2016

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LORRAINE

Spécialité : Sciences Agronomiques

Jury composé de :

Mme Lucille MONTAGNE	Professeur des Universités, Agrocampus Ouest, UMR PEGASE, Rennes	Présidente du Jury
M. Daniel SAUVANT	Professeur des Universités, AgroParisTech, UMR MoSAR, Paris	Rapporteur
Mme Isabelle OSWALD	Directeur de Recherche, INRA, UMR ToxAlim, Univ. Paul Sabatier, Toulouse	Rapporteur
M. Guido RYCHEN	Professeur des Universités, Université de Lorraine, Nancy.	Examinateur *(Directeur UR AFPA)*
M. Stéphane DESOBRY	Professeur des Universités, Université de Lorraine, Nancy.	Examinateur *(Directeur ED RP2E)*
Mme Angélique TRAVEL	Ingénieur, ITAVI, Nouzilly	Invitée *(Employeur)*

Thèse sous la direction de :

Mme Catherine JONDREVILLE	Ingénieur de Recherche, INRA, Champenoux	Directrice
Mme Elisabeth BAEZA-CAMPONE	Ingénieur de Recherche, INRA URA, Nouzilly	Codirectrice

Résumé

L'hexabromocyclododécane (HBCD) est un retardateur de flamme bromé qui a été utilisé notamment comme additif dans des polystyrènes (PS). En 2013, l'HBCD a été inclus à l'annexe A de la Convention de Stockholm comme Polluant Organique Persistant. Les denrées alimentaires d'origine animale (DAOA) constituent la source principale d'exposition de la population générale à ce polluant. Selon l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA, 2011), le niveau moyen d'exposition chez l'adulte est de 0,09-0,99 ng kg^{-1} PV j^{-1} et ne représente pas un risque majeur pour la sécurité sanitaire des aliments et la santé du consommateur. Des concentrations moyennes proches d'un ng g^{-1} lipides sont rapportées normalement dans les DAOA. Toutefois, des concentrations maximales supérieures à 2000 ng g^{-1} lipides dans des échantillons de certaines DAOA dont des œufs ont été rapportées. Plusieurs sources potentielles d'exposition orale des volailles à ce polluant existent dont le sol, des plantes et accessoirement des aliments contaminés. L'ingestion de fragments de matériaux contaminés auxquels les animaux pourraient avoir accès dans certains élevages a été suggérée. L'α-HBCD est l'isomère majoritaire dans des PS prélevés dans des bâtiments d'élevage et dans les DAOA. Ainsi, les poules pondeuses pourraient être exposées majoritairement à l'α-HBCD. Toutefois, la synthèse bibliographique met en évidence l'absence d'informations sur le devenir de l'α-HBCD chez la poule pondeuse. La réalisation d'une expérimentation *in vivo* a permis d'estimer la plupart des paramètres cinétiques du devenir de l'α-HBCD ingéré chez la poule pondeuse. L'estimation du taux d'extraction de l'α-HBCD dans le foie a été réalisée grâce au développement d'un modèle pharmacocinétique basé sur la physiologie (PBPK) de transfert de l'α-HBCD chez la poule pondeuse. Ce modèle a été développé, calibré par des données de la littérature, une analyse de sensibilité a été réalisée et plusieurs paramètres ont été ajustés sur des résultats *in vivo*. Une validation du modèle a été testée. Ce modèle a permis de déterminer l'influence des caractéristiques physiologiques de l'animal sur le devenir de l'α-HBCD chez la poule pondeuse notamment pendant la ponte et la mue. Parmi les caractéristiques physiologiques considérées propres à différentes souches de poules pondeuses, le poids vif (PV) est celle qui influence le plus la concentration d'α-HBCD dans les tissus et les œufs chez la poule exposée. Un PV bas prédispose à une concentration plus élevée dans ces matrices. Des performances de ponte élevées diminuent la concentration de la molécule dans les différentes matrices. La mue produit une augmentation considérable de la charge corporelle de la molécule chez des poules exposées. Ce modèle peut être extrapolé à d'autres animaux et molécules lipophiles après modification de certains paramètres.

Mots clés : ***Sécurité Sanitaire des Aliments, HBCD, modèle PBPK, poule pondeuse, caractéristiques physiologiques.***

Abstract

Hexabromocyclododecane (HBCD) is a brominated flame retardant mainly used as an additive in polystyrene (PS). In 2013, HBCD was included in the annex A of the Stockholm Convention as a Persistent Organic Pollutant. The foodstuffs of animal origin are the main source of exposure of the general population to this pollutant. According to EFSA (2011), the mean exposure level of the adult to HBCD is 0.09-0.99 ng kg^{-1} BW d^{-1} and doesn't represent a major risk to the food safety and the consumer's health. Mean concentrations close to 1 ng g^{-1} lipids are generally reported in the foodstuffs of animal origin. Nevertheless, maximal concentrations higher than 2000 ng g^{-1} lipids have been reported in some food samples including eggs. Several potential sources of oral exposure of the hens to this pollutant include the contaminated soil and plants and additionally contaminated feed. The ingestion of contaminated material fragments accessible in some breeding buildings by the hens has also been suggested. Generally, the α-HBCD is the predominant isomer in the PS sampled in the buildings of breeding systems and in the foodstuffs of animal origin. The hens could be exposed mainly to this isomer. However, the bibliographic synthesis highlights the absence of information about the α-HBCD kinetics in the laying hen. The realization of an *in vivo* experience has allowed the estimation of the majority of the α-HBCD kinetic parameters in the laying hen. The development of a physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model has made it possible to estimate the extraction rate of the α-HBCD in the hen's liver. This model has been developed, calibrated by literature data, a sensitivity analysis has been developed on each parameter and some parameters have been adjusted on the basis of experimental *in vivo* results. A validation of the model has been attempted. This model has allowed to determine the influence of the main physiological characteristics on the α-HBCD accumulation in tissues and transfer to eggs in the laying hen at several physiological stages, principally lay and molt. Among the physiological characteristics considered as specific to different laying hen strains, the body weight (BW) is the main feature influencing the α-HBCD kinetics. Thus if the hen is exposed to the α-HBCD, a low BW predisposes the hen to have higher concentrations of the molecule in all the matrices. A high laying performance diminishes the concentration of the molecule in these matrices. The molting stage raises the body charge of the molecule in exposed hens. This model can be extrapolated to other animals and lipophilic molecules after modification of some parameters.

Keywords : ***Food Safety, HBCD, PBPK model, laying hen, physiological features.***

Valorisation scientifique des travaux de thèse (octobre 2016)

PUBLICATIONS :

Domínguez-Romero, E., R. Cariou, E. Omer, P. Marchand, G. Dervilly-Pinel, B. Le Bizec, A. l. Travel, and C. Jondreville, 2016, Tissue Distribution and Transfer to Eggs of Ingested α-Hexabromocyclododecane (α-HBCDD) in Laying Hens (Gallus domesticus): Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 64 (10), p. 2112-2119.

Domínguez-Romero E., B. Méda, J. Henri, E. Royer, S. Guérin, A. García-de Salazar, E. Baéza, A. Travel, C. Jondreville. Transfer of the α-HBCD in the laying hen: a physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model. **Publication rédigée en vue d'une soumission dans Food Additives & Contaminants (Annexe 1).**

COMMUNICATIONS ORALES :

Internationales :

Dominguez-Romero, E., Cariou, R., Baéza, E., Vénisseau, A., Marchand, P., Engel, E., Ratel, J., Dervilly-pinel, G., Le bizec, B., Travel, A., Jondreville, C. Transfer to eggs of alpha-HBCD ingested by laying hens. XVI European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products, 10-13 mai, 2015, Nantes, France

Cariou R, Huneau-Salaün A, **Dominguez-Romero E**, Omer E, Amand G, Souchet C, Balaine L, Charpiot A, Vénisseau A, Marchand P, Marcon M, Ratel J, Le Bouquin S, Royer E, Dervilly-Pinel G, Engel E, Baéza E, Le Bizec B, Travel A, Jondreville C. Hexabromocyclododecane in poultry and pork: a comprehensive study of exposure and transfer into products. 7th International Symposium on Brominated Flame Retardants, Beijing, April 21-24, 2015.

Nationales. Présentation orale de la thèse lors de :

15ème Journée Thésards/Postdocs, Unité de Recherches Avicoles, Nouzilly, le 26 mai 2014.
Assemblée Consultative du Laboratoire UR AFPA, le 9 octobre 2014.
16ème Journée Thésards/Postdocs, Unité de Recherches Avicoles, Nouzilly, le 18 mai 2015.
Assemblée Consultative du Laboratoire UR AFPA, le 5 novembre 2015.

COMMUNICATIONS AFFICHEES :

Dominguez-Romero, E., Cariou, R., Omer, E., Marchand, P., Dervilly-Pinel, G, Le Bizec, B., Hartmeyer , P., Travel, A., Jondreville , C. (2016). Transfert vers l'œuf de l'alpha-HBCD ingéré par la poule pondeuse. *Séminaire Ecole Doctorale RP2E, Université de Lorraine*, Vandoeuvre-lès-Nancy (France), 28 Janvier 2016. Prix du Poster.

Dominguez-Romero, E., Cariou, R., Baeza, E., Venisseau, A., Marchand, P., Engel, E., Ratel, J., Dervilly-Pinel, G., Le Bizec, B., Hartmeyer , P., Travel, A., Jondreville , C. (2015). Etude cinétique du transfert vers l'œuf de l'alpha-HBCD ingéré chez la poule pondeuse. In: 11èmes Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras (p. 1120-1125). *Journées de la Recherche Avicole et des Palmipèdes à Foie Gras*. Presented at 11. Journées de la Recherche Avicole et Palmipèdes à Foie Gras, Tours (France), 25th to 26th May 2015.

Cariou R, Baéza E, **Dominguez-Romero E**, Omer E, Souchet C, Vénisseau A, Marchand P, Dervilly-Pinel G, Le Bizec B, Travel A and Jondreville C. Accumulation and tissue distribution of ingested α-hexabromocyclododecane (α-HBCDD) in broiler chicken (Gallus domesticus). 36th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs, Firenze, Italy, 28th August – 02nd September 2016.

Omer E, Cariou R, Baéza E, **Dominguez-Romero E**, Souchet C, Vénisseau A, Marchand P, Dervilly-Pinel G, Le Bizec B, Travel A and Jondreville C. Enantiomer-specific accumulation and depuration of α-hexabromocyclododecane (α-HBCDD) in broiler chicken (Gallus domesticus) as a tool to identify contamination sources. 36th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs, Firenze, Italy, 28th August – 02nd September 2016.

B. Méda, E. Royer, S. Guérin, A. García de Salazar, **E. Domínguez-Romero**, J. Henri, A. Travel, E. Baéza and C. Jondreville Accumulation and tissue distribution of ingested α-hexabromocyclododecane (α-HBCDD) in broiler chicken (Gallus domesticus). 67th Annual Meeting of the European Federation of Animal Science, Belfast UK, 29th August – 2nd September 2016.

Ratel, J., Mercier, F., Abou El Karam, S., Cariou, R., **Dominguez-Romero, E.**, Travel, A., Jondreville, C., Engel, E. (2015). Relevance of volatile metabolome in animal-derived products to reveal a food chain contamination by hexabromocyclododecane. In: *61st International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST)* (p. 250-250). Presented at *61st* International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST), Clermont-Ferrand (France), 23rd to 28th August 2015.

Ratel, J., Mercier, F., Abou El Karam, S., Cariou, R., **Dominguez-Romero, E.**, Jondreville, C., Travel, A., Engel, E. (2015). *Relevance of the volatile metabolome in animal-derived food to reveal a pollutant contamination in food chain*. Presented at 9èmes Journées Scientifiques du Réseau Français de Métabolomique et Fluxomique RFMF, Lille (France), 9th–11th June 2015.

Remerciements

Je remercie les membres du jury de l'intérêt accordé à mon travail de thèse et de leur évaluation objective de ce travail.

Je remercie les personnes qui ont participé à mes travaux. Merci aux personnes ayant participé aux discussions pour la conception des caractéristiques globales du modèle conceptuel commun à trois espèces dans le cadre du projet BrAviPorc ; aux collègues avec qui j'ai eu le plaisir de travailler et qui ont contribué avec une réelle implication dans la réalisation des expérimentations *in vivo* sur poules pondeuses au sein de l'UR AFPA (Université de Lorraine) et sur poulets de chair au sein de l'INRA URA et PEAT.

Je remercie aussi les membres de mon Comité de thèse pour leurs propositions, corrections et mots d'encouragement qui m'ont vraiment aidée : M. Philippe Schmidely, M. Pascal Sanders, M. Jérôme Henri et Mme Anne Bourdillon.

Merci aussi à toutes les personnes dont j'ai pu faire la rencontre pendant ces trois ans, sur les sites où j'ai travaillé et dans des congrès, pour les discussions intéressantes qui m'ont fait réfléchir, pour leurs points de vue, qui m'ont conduite à appliquer certaines de leurs recommandations très utiles dans mon travail.

Merci à l'ANRT et l'ITAVI d'avoir financé cette thèse.

Je suis heureuse d'avoir pu aboutir ce travail, qui m'a permis de m'épanouir. J'ai mis toute mon énergie dans la réalisation de ce travail, comme je m'implique toujours à 100% dans ce que je fais. Je crois à mon chemin, à un parcours que je construis avec efforts, motivation et grâce à l'aide de différentes personnes. Je souhaite remercier particulièrement :

M. Guido Rychen (directeur de l'UR AFPA, Université de Lorraine) et M. Stéphane Desobry (Directeur de l'Ecole Doctorale RP2E). Votre soutien a été essentiel et je vous remercierai toujours de vous être tellement impliqués pour me permettre d'achever mon travail dans de bonnes conditions. Merci à tous mes collègues et camarades de l'UR AFPA, particulièrement de l'équipe MRCA. J'ai adoré de travailler à l'Université auprès de vous, dans une si bonne ambiance. Merci à d'autres professionnels de l'Université de Lorraine (dont Mme Fivet) qui m'avez accueillie chaleureusement et soutenue pendant toute ma thèse. Merci du soutien et du suivi qui m'ont été offerts par de grands professionnels de différents domaines à l'Université de Lorraine (M. Müller, Mme Mayeux, Mme Streff, Mme Weber et M. Rémy), au

CHRU de Nancy (Mme Barrère et Mme Pichené) et auprès de Mme Buffet. Ces derniers mois à l'Université m'ont redonné confiance en moi.

Merci à mes collègues de bureau (ou « voisins ») informaticiens à l'INRA de Champenoux. Ça a toujours été un plaisir d'échanger avec vous. A mes camarades de bureau (et « voisins ») à l'INRA URA de Tours. Je garderai de bons souvenirs de cette bonne ambiance et de votre amitié. Merci à tous mes collègues à l'équipe MOCA de l'INRA URA, c'était un plaisir de travailler parmi vous.

Le travail en équipe dans la recherche, je l'ai appris auprès de mes responsables, mes collègues et mes camarades de stages à l'INRA de Theix et du Master Recherche de Nutrition Animale et Elevage à Clermont-Ferrand. Je vous remercierai toujours de cet enseignement si utile dont je garde de mémorables souvenirs. Le travail dans la recherche peut être un vrai plaisir car il s'agit comme je l'ai appris auprès de vous d'échanger des idées librement, de discuter des points de vue différents, de réfléchir et de faire avancer les choses ensemble. Je remercie Isabelle, Pierre, Lahlou, Maguy, Jean, Gonzalo… ces amis et tous mes collègues chez les anciennes équipes DIMA et AMUVI, de leur confiance et leurs enseignements. Pierre et Lahlou, c'est grâce à tout ce que vous m'avez appris en modélisation que j'ai pu réaliser ce travail de thèse.

Et puis merci à toutes les personnes que j'ai rencontrées au préalable pendant mes différentes études et expériences professionnelles et qui m'ont fait grandir à tous les niveaux. Pendant mes études de Médecine Vétérinaire et mes études de Science et Technologie des Aliments à l'Université de Cordoue en Espagne. A mes responsables de stage de Médecine Vétérinaire, notamment Juan Carlos. Merci aux personnes auprès desquelles j'ai travaillé dans l'usine agroalimentaire de Séville (Polvillo) pendant les presque quatre années où j'ai été Responsable de Qualité et de Prévention des Risques liés au Travail. Tout ce que j'ai appris auprès de vous me servira pour toujours. Je garde de bons amis, de bons souvenirs et beaucoup d'expérience utile pour la vie. Gracias Pedro. Et puis mes profs de Français à l'Institut Culturel Français de Séville, qui m'ont appris en très peu de temps (certains soirs pendant un an et demi) les bases de cette belle langue, lesquelles ont été fondamentales et que j'ai pu améliorer pendant ces cinq années d'études (Masters 1 et 2 et Doctorat) en France.

Gracias a mi familia y amigos. Sabéis quiénes sois y lo importantes que sois para mí. Thanks to my friends. You know who you are and how you are important for me. Merci à mes amis. Vous savez qui vous êtes et comme vous êtes importants pour moi.

Sommaire

1 INTRODUCTION GENERALE 27

2 SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE 30

2.1 Généralités 30

2.1.1 Utilisation, propriétés et transfert d'HBCD vers l'environnement depuis des matériaux contaminés 30

2.1.2 Présence d'HBCD dans l'environnement. 34

2.1.2.1 Air et poussière 34

2.1.2.2 Eau 36

2.1.2.3 Sédiments et sol 37

2.1.2.4 Plantes 39

2.1.2.5 Animaux 39

2.1.3 Présence d'HBCD dans des environnements d'élevage. 41

2.1.4 Exposition humaine à l'HBCD ; HBCD dans les produits alimentaires 44

2.1.4.1 Sources d'exposition humaine à l'HBCD 44

2.1.4.2 Niveaux d'exposition de la population générale à l'HBCD et caractérisation des risques. 46

2.1.4.3 Concentration d'HBCD dans les aliments. 50

2.1.4.4 Concentration d'HBCD dans les œufs et ovoproduits dans différents systèmes d'élevage. 52

2.2 Principes liés à la toxicocinétique des POP et le devenir de l'HBCD chez l'animal. 56

2.2.1 Généralités sur la physiologie de la poule pondeuse 56

2.2.1.1 Physiologie de la croissance 56

2.2.1.2 Physiologie de la ponte 57

2.2.2 Introduction aux principaux concepts utilisés en toxicocinétique 62

2.2.3 Toxicocinétique de l'HBCD (étapes ADME) chez l'animal 67

2.2.3.1 Absorption 67

2.2.3.2 Distribution 69

2.2.3.3 Métabolisme et excrétion 77

2.3 Démarche de modélisation et types de modèles existants 110

2.3.1 Généralités 110

2.3.2 Types de modèles existants 111

2.3.3 Etapes de construction et d'évaluation d'un modèle 112

2.3.4 Caractéristiques des modèles mécanistes : modèle à compartiments et modèle pharmacocinétique basé sur la physiologie (PBPK) 113

2.4 Conclusion 119

3 DISTRIBUTION, TRANSFERT VERS L'ŒUF ET ELIMINATION DE L'ALPHA-HBCD INGERE CHEZ LA POULE PONDEUSE LORS D'UNE EXPOSITION SUIVIE D'UNE DECONTAMINATION. EXPERIMENTATION *IN VIVO.* 122

3.1 Introduction 122

3.2 **Tissue Distribution and Transfer to Eggs of Ingested α-Hexabromocyclododecane (α-HBCDD) in Laying Hens *(Gallus domesticus)* 124**

4 INFLUENCE DES CARACTERISTIQUES PHYSIOLOGIQUES SUR LE DEVENIR DE L'ALPHA-HBCD CHEZ LA POULE PONDEUSE. MODELE PHARMACOCINETIQUE BASE SUR LA PHYSIOLOGIE (PBPK) 132

4.1 Introduction 132

4.2 Calibration 137

4.2.1 Sous-modèle physiologique 137

4.2.1.1 Croissance et poids corporels 138

4.2.1.2 Croissance et poids tissulaires 141

4.2.1.3 Quantité de lipides corporels 147

4.2.1.4 Quantité de lipides tissulaires 148

4.2.1.5 Profil de lipides tissulaires 153

4.2.1.6 Irrigation sanguine 154

4.2.1.7 Ponte 156

4.2.1.8 Ingestion d'aliment 160

4.2.2 Sous-modèle de transfert de l'α-HBCD ingéré 162

4.2.2.1 Ingestion et absorption d'α-HBCD 162

4.2.2.2 Distribution 163

4.2.2.3 Métabolisme 164

4.2.2.4 Elimination 165

4.3 Simulations du modèle de base et modifications testées sur la structure du modèle. 166

4.3.1 Modèle de base 166

4.3.2 Modifications testées sur le modèle de base 169

4.3.2.1 Différenciation de deux compartiments de quantité d'HBCD dans le gras abdominal, caractérisés par des débits sanguins différents 170

4.3.2.2 Limitation du flux de sortie d'α-HBCD en provenance du gras abdominal et du muscle des cuisses 170

4.3.2.3 Calcul de la clairance hépatique en fonction de la quantité d'α-HBCD présente dans le foie. 171

4.3.3 Simulations du modèle modifié. 171

4.3.3.1 Division du gras abdominal en deux compartiments à débits plasmatiques différents. 171

4.3.3.2 Limitation du flux de sortie d'α-HBCD en provenance du gras abdominal et du muscle des cuisses. 172
4.3.3.3 Calcul de la clairance hépatique en fonction de la quantité d'α-HBCD présente dans le foie. 174
4.3.4 Conclusions sur les modifications testées 174
4.3.5 Simulation du modèle de base sur l'ensemble des stades physiologiques représentés 175

4.4 Analyse de sensibilité 177
4.4.1 Valeurs testées des paramètres 177
4.4.2 Calcul du « ratio de variation réponse/paramètre » par stade physiologique 181
4.4.3 Résultats de l'analyse de sensibilité et discussion 182
4.4.3.1 Résultats 182
4.4.3.2 Paramètres ayant une influence à plusieurs stades physiologiques 190
4.4.3.3 Paramètres ayant une influence en fin de croissance 193
4.4.3.4 Paramètres ayant un effet lors des 1er et 2ème cycles de ponte 195
4.4.3.5 Paramètres ayant un effet pendant la mue (perte puis récupération du PV). 196
4.4.3.6 Discussion de l'analyse de sensibilité 197

4.5 Ajustement 199
4.5.1 Introduction des données physiologiques expérimentales dans le sous-modèle physiologique 200
4.5.1.1 Croissance et poids corporels 200
4.5.1.2 Croissance et poids des tissus 201
4.5.1.3 Quantité de lipides tissulaires 202
4.5.1.4 Ponte et ingestion d'aliment 203
4.5.1.5 Simulations du modèle après introduction des données physiologiques expérimentales dans le sous-modèle physiologique 203
4.5.2 Ajustement des proportions de lipides neutres dans les lipides totaux des tissus et du plasma (tissue neut lipid ratio, kg kg^{-1}), du débit sanguin vers le foie (Liver coef, L kg tissu^{-1} j^{-1}) et du taux d'extraction d'α-HBCD dans le foie (E_{liver}, %) 205

4.6 Validation du sous-modèle de transfert 210

4.7 Analyse de l'influence des caractéristiques physiologiques des poules pondeuses, caractéristiques de différents systèmes d'élevage, dans l'accumulation d'α-HBCD dans les tissus et son transfert vers l'œuf. 212
4.7.1 Analyse des scénarii d'élevage complets 214
4.7.2 Analyse par groupe de paramètres 217
4.7.2.1 Modification des paramètres liés au poids vif (BW2 et AGE2g) 217
4.7.2.2 Modification des paramètres liés aux performances de ponte (LR max, LR min, LR persist, Wegg max) 219

4.7.3 Discussion : influence des caractéristiques de l'animal dans l'accumulation d'α-HBCD dans les tissus et son transfert vers l'œuf chez la poule pondeuse 221

4.8 Conclusion du modèle 222

5 DISCUSSION GENERALE 228

5.1 Influence des caractéristiques physiologiques de la poule pondeuse sur l'accumulation de l'α-HBCD dans les tissus et son transfert vers l'œuf : pertinence de la modélisation PBPK, atouts et limites du modèle développé 228

5.2 Complémentarité des approches expérimentale et de modélisation pour décrire les processus ADME de l'α-HBCD chez la poule pondeuse ; atouts et limites de l'approche expérimentale. 234

5.3 Contribution à l'évaluation et à la maitrise du risque lié à l'α-HBCD 235

5.4 Perspectives 237

6 REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 240

7 ANNEXES 255

Annexe 1. Transfer of the α-HBCD in the laying hen: a physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model 255

Annexe 2 : représentation du débit cardiaque (L j^{-1}) en fonction du poids vif (kg), pour l'ensemble des données bibliographiques compilées. Différenciation des données par type de souche de volaille, sexe et stade physiologique. 304

Annexe 3 : représentation du poids du jaune à partir du poids de l'œuf 305

Annexe 4 : follicules initialisés (croix) en fonction du nombre total de follicules à initialiser en 10 jours ($N_{init10d}$) 305

Annexe 5 : comparaison par GLM des concentrations d'α-HBCD simulées par le modèle modifié vis-à-vis du modèle de base. Les deux modifications du modèle présentées consistent en une division du gras abdominal en deux compartiments à débit plasmatique différent 306

Annexe 6 : représentation de la relation entre le PV simulé (kg) après introduction des données physiologiques expérimentales dans le sous-modèle physiologique vis-à-vis du PV observé (kg), après élimination de deux points observés aberrants. 306

Annexe 7 : représentation du poids de l'œuf (EggW, kg) et de l'aliment ingéré (DFI, kg j-1) en fonction de l'âge (j). 307

Liste d'abréviations (hors composants du modèle)

α-, β- et γ-HBCD(D)	Isomères principaux de l'hexabromocyclododécane
[HBCD]	Concentration d'HBCD (µg kg^{-1} MG)
AbD	Efficacité d'absorption digestive (%)
AbDap	Efficacité d'absorption digestive apparente (%)
ADME	Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion
ANSES	Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
apo-VLDL-II	Apoprotéine spécifique produite dans le foie chez la poule en ponte
BCF_{ss}	Facteur de bioconcentration d'une molécule dans l'organisme à l'équilibre (L g^{-1})
BMF	Facteur de bioaccumulation d'une molécule dans l'organisme (sans unités)
BMF_{ss}	Facteur de biomagnification d'une molécule dans l'organisme à l'équilibre (sans unités ou g g^{-1} MG)
BrAviPorc (projet)	"Prévenir la contamination des produits animaux par des polluants organiques persistants émergents, les retardateurs de flamme bromés"
C_{alim}	Concentration d'une molécule dans l'aliment contaminé (ng g^{-1})
CASDAR	Compte d'affectation spéciale "développement agricole et rural", Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt (France)
CH	Cholestérol
C_{milieu}	Concentration d'une molécule dans le milieu contaminé (ng L^{-1})
C_{org}	Concentration d'une molécule dans l'organisme (ng g^{-1} MG)
DAOA	Denrées alimentaires d'origine animale
DGAL	Direction Générale de l'Alimentation (Ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt, France)
EA	Efficacité d'assimilation (%)
ECHA	Agence Européenne des Produits Chimiques
EFSA	Autorité Européenne de Sécurité des Aliments
EPA	Agence de Protection Environnementale, Etats-Unis
EPS	Polystyrène(s) expansé(s)
ET	Ecart-type
ETR	Ecart-type résiduel
F	Foie
FAO	Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture
FSH	Hormone stimulante du follicule
GA	Gras abdminal
GLM	Modèle linéaire généralisé
HACCP	Système d'Analyse de Dangers et de Points de Contrôle Critique
HAP	Hydrocarbures aromatiques polycycliques
HBCD	Hexabromocyclododécane
HBCDD	Hexabromocyclododécane
HDL	Lipoprotéines de haute densité

I	Taux d'ingestion (g aliment g^{-1} PV j^{-1})
IC50	Concentration(s) inhibitorire(s) médiane(s) (µM)
INFOSAN	Réseau International des Autorités de Sécurité Sanitaire des Aliments
ITAVI	Institut Technique de l'Aviculture (France)
JO	Jaune d'œuf
k_d	Constante de décontamination de 1^{er} ordre d'une molécule dans l'organisme ou dans un tissu (j^{-1})
$k_{d\,g}$	Constante de décontamination de 1^{er} ordre corrigée par la croissance (j^{-1})
k_g	Constante de croissance (j^{-1})
Kow	Coefficient de partition octanol-eau
Kp	Coefficient de partition d'une molécule entre un tissu et le plasma (L kg^{-1})
k_u	Constante de contamination de 1^{er} ordre de la molécule dans l'organisme ou dans un tissu (kg kg^{-1} MG j^{-1})
LB	"Lower bound" (comptabilisation des résultats non détectés ou non quantifiés comme égaux à 0)
LD	Limite de détection (ng g^{-1} MG)
LDL	Lipoprotéines de faible densité
LH	Hormone luteinizante
LOAEL	Plus bas niveau d'exposition présentant des effets adverses observables (mg kg^{-1} PV)
LQ	Limite de quantification (ng g^{-1} MG)
MB	"Medium bound" (comptabilisation des résultats non détectés ou non quantifiés comme 1/2 de la LD ou de la LQ respectivement)
MC	Muscles des cuisses
MF	Matière fraîche (g)
MG	Matière grasse (g)
MP	Muscles pectoraux
MS	Matière sèche (g)
n.r.	Non renseigné
NL	Proportion de lipides neutres dans les lipides totaux
NOAEL	Niveau d'exposition sans effets adverses observables (mg kg^{-1} PV)
NRC	National Research Council
OCDE / OECD	Organisation de Coopération et de Développement Economiques
PBCDe	Pentabromocyclododécene
PBDE	Polybromodiphényl éther(s)
PBPK	(Modèle) pharmacocinétique basé sur la physiologie
PCB	Polychlorobiphényles
PF	Poids frais
PH	Phospholipides
Pl	Plasma
POP	Polluant(s) Organique(s) Persistant(s)
PS	Polystyrène(s)
PV	Poids vif (Kg)
PVar	Pourcentage de variation (%)
R^2	Coefficient de détermination

RASFF	Système d'alerte rapide pour les denrées alimentaires et les aliments pour animaux (Commission européenne)
RFB	Retardateur(s) de Flamme Bromé(s)
RV	Ratio de variation
t	Temps (j)
$t_{1/2}$	Temps de demi-vie d'une molécule dans l'organisme ou dans un tissu (jours ou minutes)
TBCD	Tetrabromocyclododécadiene
TBCDe	Tetrabromocyclododécene
t_d	Temps de décontamination (j)
TG	Triglycérides
UB	"Upper bound" (comptabilisation des résultats non détectés ou non quantifiés comme égaux à la LD ou à la LQ respectivement)
UR AFPA	Unité de Recherche Animal et Fonctionnalités des Produits Animaux (France)
VLDL	Lipoprotéines de très faible densité
VTR	Valeur toxicologique de référence (µg kg^{-1} PV j^{-1})
WHO	Organisation Mondiale de la Santé
XPS	Polystyrène(s) extrudé(s)

Liste des abréviations composant le modèle

Acronyme	Description
a_{blood}	Pente de l'équation quasi isométrique de poids du sang en fonction du PV
AGE maturity	Âge auquel l'initialisation des follicules commence (j)
AGE1	Âge auquel la simulation débute (j)
AGE2	Âge auquel le PV est maximisé et la mue débute (j)
AGE3	Âge auquel la perte de poids durant la mue se termine (j)
AGE4	Âge auquel la mue se termine et la réinitialisation reprend (j)
AGE5	Âge auquel la simulation se termine (j)
a_{liver}	Pente de l'allométrie de la croissance du foie
a_{mA}	Pente de l'allométrie de la croissance des muscles pectoraux
a_{mB}	Pente de l'allométrie de la croissance des muscles des cuisses
$a_{storagefat}$	Pente de l'allométrie de la croissance du gras abdominal
a_{yolk}	Pente de la relation linéaire entre le poids du jaune et le poids de l'œuf (kg kg^{-1})
b lip liver	Ordonnée à l'origine de la relation linéaire entre la quantité de lipides hépatiques et le poids du foie hors mue (kg)
b_{blood}	Ordonnée à l'origine de l'équation de croissance du poids du sang en fonction du PV
Bgomp	Taux d'augmentation du poids vif au point d'inflexion de la courbe de croissance (j^{-1})
b_{liver}	Ordonnée à l'origine de l'allométrie de croissance du foie
b_{mA}	Ordonnée à l'origine de l'allométrie de croissance des muscles pectoraux
b_{mB}	Ordonnée à l'origine de l'allométrie de croissance des muscles des cuisses
Body total lipids	Poids des lipides corporels totaux (kg)
$b_{storagefat}$	Ordonnée à l'origine de l'allométrie de croissance du gras abdominal
BW	Poids corporel (kg)

BW AGE2	Poids vif simulé à l'AGE2 (kg)
BW gain	Gain de poids vif (kg j^{-1})
BW lipid cont AGE1	Proportion de lipides corporels à l'AGE1 (kg kg^{-1})
BW lipid cont AGE2	Proportion de lipides corporels à l'AGE2 (kg kg^{-1})
BW lipid cont AGE3	Proportion de lipides corporels à l'AGE3 (kg kg^{-1})
BW loss	Perte de poids vif (kg j^{-1})
BW1	Poids vif (PV) à AGE1 (kg)
BW2	PV à AGE2 (kg)
$\mathbf{b_{yolk}}$	Ordonnée à l'origine de la relation linéaire entre le poids du jaune et le poids de l'œuf (kg)
DFI	Taux d'ingestion quotidienne d'aliment (kg j^{-1})
Diet HBCD conc	Concentration d'α-HBCD dans l'aliment (µg kg^{-1})
$\mathbf{E_{diet}}$	Valeur énergétique métabolisable de l'aliment (MJ kg^{-1})
Ei	Energie métabolisable ingérée au quotidien (MJ j^{-1})
$\mathbf{E_{liver}}$	Taux d'extraction de l'α-HBCD dans le foie (%)
Follic neut lipid ratio	Proportion de lipides neutres dans les lipides totaux du follicule ou du jaune (kg kg^{-1})
Follic(1..10) lipid dep	Dépôt quotidien de lipides dans le follicule (kg j^{-1})
HBCD abs	Quantité d'α-HBCD absorbée (µg j^{-1})
HBCD abs coef	Coefficient d'absorption de l'α-HBCD ingéré dans le tube digestif (%)
HBCD liver Cl	Quantité d'α-HBCD éliminé par métabolisme hépatique (µg j^{-1})
HBCD plasma liver	Flux net d'α-HBCD vers le foie (µg j^{-1})
HBCD plasma tissue i	Flux net d'α-HBCD vers chaque tissu (µg j^{-1})
$\mathbf{HBCD_{Foll[1..10]}}$	Quantité d'α-HBCD dans le follicule en formation (µg)
$\mathbf{HBCD_{liver}}$	Quantité d'α-HBCD dans le foie (µg)
$\mathbf{HBCD_{mA}}$	Quantité d'α-HBCD dans les muscles pectoraux (µg)
$\mathbf{HBCD_{mB}}$	Quantité d'α-HBCD dans les muscles des cuisses (µg)
$\mathbf{HBCD_{other}}$	Quantité d'α-HBCD dans le reste des tissus (µg)
$\mathbf{HBCD_{plasma}}$	Quantité d'α-HBCD dans le plasma (µg)
$\mathbf{HBCD_{plasma\ foll[1..10]}}$	Flux quotidien d'α-HBCD du plasma vers le follicule en formation (µg j^{-1})
$\mathbf{HBCD_{storagefat}}$	Quantité d'α-HBCD dans le gras abdominal (µg)
$\mathbf{HBCD_{Yolk[1..10]}}$	Quantité d'α-HBCD dans le jaune d'œuf pondu (µg)
$\mathbf{HBCD_{yolk[1..10]}}$ **ov**	Flux d'α-HBCD sortant dans le jaune d'œuf pondu (µg j^{-1})
Ht growth or lay	Valeur d'hématocrite pendant la croissance et la ponte (%)
Ht molt	Valeur d'hématocrite pendant la mue (%)
$\mathbf{k\ growth_{follic}}$	Variable de calcul du taux de croissance du follicule (kg^{-1} j^{-1})
Kp	Coefficient de partition de la molécule entre un tissu et le plasma (L kg^{-1})
$\mathbf{kW_{egg}}$	Constante de calcul du taux de variation du poids de l'œuf en fonction de l'âge (j^{-1})
Lipid deposition	Gain de lipides corporels (kg j^{-1})
Lipid loss	Perte de lipides corporels (kg j^{-1})
Liver coef	Débit sanguin vers le foie (L kg $tissu^{-1}$ j^{-1})

Liver lipid cont	Pente de la relation linéaire entre la quantité de lipides hépatiques et le poids du foie hors mue (kg kg^{-1})
Liver lipid cont AGE3	Proportion minimale de lipides hépatiques pendant la mue (kg kg^{-1})
Liver neut lipid ratio	Proportion de lipides neutres dans les lipides totaux du foie (kg kg^{-1})
Liver neutral	Poids des lipides neutres dans le foie (kg)
Liver perf	Débit plasmatique vers le foie (L j^{-1})
Liver total lipids	Poids des lipides totaux dans le foie (kg)
LR max	Taux de ponte maximal (%)
LR min	Taux de ponte minimal pendant la phase décroissante du taux de ponte (%)
LR persist	Persistance de la ponte (semaines)
mA coef	Débit sanguin vers les muscles pectoraux (L kg $tissu^{-1}$ j^{-1})
mA lipid cont	Proportion de lipides dans les muscles pectoraux hors mue (kg kg^{-1})
mA lipid cont AGE2	Proportion de lipides dans les muscles pectoraux à l'AGE2 (kg kg^{-1})
mA lipid cont AGE3	Proportion minimale de lipides dans les muscles pectoraux pendant la mue (kg kg^{-1})
mA neut lipid ratio	Proportion de lipides neutres dans les lipides totaux des muscles pectoraux (kg kg^{-1})
mA neutral	Poids des lipides neutres dans les muscles pectoraux (kg)
mA perf	Débit plasmatique vers les muscles pectoraux (L j^{-1})
mA total lipids	Poids des lipides totaux dans les muscles pectoraux (kg)
mB coef	Débit sanguin vers les muscles des cuisses (L kg $tissu^{-1}$ j^{-1})
mB lipid cont	Proportion de lipides dans les muscles des cuisses hors mue (kg kg^{-1})
mB lipid cont AGE2	Proportion de lipides dans les muscles des cuisses à l'AGE2 (kg kg^{-1})
mB lipid cont AGE3	Proportion minimale de lipides dans les muscles des cuisses pendant la mue (kg kg^{-1})
mB neut lipid ratio	Proportion des lipides neutres dans les lipides totaux des muscles des cuisses (kg kg^{-1})
mB neutral	Poids des lipides neutres dans les muscles des cuisses (kg)
mB perf	Débit plasmatique vers les muscles des cuisses (L j^{-1})
mB total lipids	Poids des lipides totaux dans les muscles des cuisses (kg)
Mean W_{egg}	Poids moyen d'œuf pondu par jour pendant 10 j (kg j^{-1})
mV_{blood}	Masse volumique du sang (kg L^{-1})
N_{cycle}	Nombre de cycles de 10 jours depuis le début de la ponte
$N_{init10d}$	Nombre de jaunes initialisés par intervalle de temps de 10 jours, entre AGE maturity et AGE2, puis entre AGE4 et AGE5
Other neut lipid ratio	Proportion de lipides neutres dans les lipides totaux du compartiment « other » (kg kg^{-1})
Other neutral	Poids des lipides neutres dans le compartiment « other » (kg)
Other perf	Débit plasmatique vers le compartiment « other » (L j^{-1})
Other total lipids	Poids des lipides totaux dans le compartiment « other » (kg)
Plasma lipid cont	Concentration de lipides dans le plasma hors ponte (kg L^{-1})
Plasma lipid cont lay	Concentration de lipides dans le plasma pendant la ponte (kg L^{-1})
Plasma neut lipid ratio	Proportion de lipides neutres dans les lipides totaux du plasma hors ponte (kg kg^{-1})

Plasma neut lipid ratio lay	Proportion de lipides neutres dans les lipides totaux du plasma pendant la ponte (kg kg^{-1})
Plasma neutral	Poids des lipides neutres dans le plasma (kg)
Plasma total lipids	Poids des lipides totaux dans le plasma (kg)
Prop BW molt	Fraction maximale de perte de PV pendant la mue (%)
Prop Ei molt	Restriction énergétique pendant la mue (%)
Prop W_{blood} molt	Fraction maximale de perte de poids du sang pendant la mue (%)
Prop W_{liver} molt	Fraction maximale de perte de poids du foie pendant la mue (%)
Prop W_{mA} molt	Fraction maximale de perte de poids des muscles pectoraux pendant la mue (%)
Prop W_{mB} molt	Fraction maximale de perte de poids des muscles des cuisses pendant la mue (%)
Prop $W_{storagefat}$ molt	Fraction maximale de perte de poids du gras abdominal pendant la mue (%)
Q coef	Débit cardiaque (L kg PV^{-1} j^{-1})
Storagefat coef	Débit sanguin vers le gras abdominal (L kg $tissu^{-1}$ j^{-1})
Storagefat lipid cont	Proportion de lipides dans le gras abdominal hors mue (kg kg^{-1})
Storagefat neut lipid ratio	Proportion de lipides neutres dans les lipides totaux du gras abdominal (kg kg^{-1})
Storagefat neutral	Poids des lipides neutres dans le gras abdominal (kg)
Storagefat perf	Débit plasmatique vers le gras abdominal (L j^{-1})
Storagefat total lipids	Poids des lipides totaux dans le gras abdominal (kg)
tissue i lipid dep	Dépôt de lipides dans un tissu i (kg j^{-1})
tissue i lipid loss	Perte de lipides dans un tissu i (kg j^{-1})
TQ	Débit plasmatique (L j^{-1})
V_{plasma}	Volume du plasma (L)
$W_{follic[1..10]}$ gain	Dépôt de jaune dans chaque follicule en croissance rapide (kg j^{-1})
$W_{all\ yolks\ 10\ d}$	Somme du poids des jaunes ovulés pendant 10 jours (kg)
W_{blood}	Poids du sang (kg)
W_{egg}	Poids de l'œuf en fonction de l'âge ou du taux de ponte (kg)
W_{egg} max	Poids maximal de l'œuf (kg)
W_{follic} min	Poids minimal du follicule, au début de la phase de croissance rapide de celui-ci (kg)
$W_{Follic(1..10)}$	Poids de chaque follicule en croissance rapide (kg)
W_{liver}	Poids du foie (kg)
W_{mA}	Poids des muscles pectoraux (kg)
W_{mB}	Poids des muscles des cuisses (kg)
W_{other}	Poids du compartiment « other » (kg)
$W_{storagefat}$	Poids du gras abdominal (kg)
W_{tissue} AGE2	Poids du tissu correspondant atteint en simulation à l'AGE2 (kg)
$W_{tissue\ i}$ gain	Gain de poids d'un tissu i (kg j^{-1})
$W_{tissue\ i}$ loss	Perte de poids d'un tissu i (kg j^{-1})
W_{yolk}	Poids maximal du follicule en fin de croissance rapide (kg)
$W_{Yolk(1..10)}$	Poids du jaune d'œuf ovulé (kg)
$W_{yolk[1..10]}$ ov	Quantité de jaune d'œuf ovulé (kg j^{-1})
Yolk lipid cont	Concentration de lipides dans le follicule ou le jaune (kg kg^{-1})

Liste des tableaux

Tableau 1 : résultats *in vitro* de concentrations inhibitoires médianes (IC50, µM) d'antagonisme des isomères α-, β- et γ-HBCD sur des récepteurs liés à la transcription, transport et métabolisme d'hormones, et sur des récepteurs de dioxines 33

Tableau 2 : niveaux d'exposition à l'HBCD (ng kg^{-1} PV j^{-1}) estimés chez l'enfant, l'adulte et les personnes âgées dans différents pays. 49

Tableau 3 : concentration d'HBCD total et des isomères α-, β- et γ-HBCD (ng g^{-1} lipides), dans des œufs en provenance de différents systèmes d'élevage en Europe. 52

Tableau 4 : concentration d'HBCD total et des isomères α-, β- et γ-HBCD (ng g^{-1} lipides), dans des œufs en provenance de différents systèmes d'élevage en Afrique, en Amérique et en Asie. 53

Tableau 5 : temps d'atteinte de la concentration maximale de l'α-, le β- et le γ-HBCD dans les tissus, pendant les heures suivant une exposition orale unique (3 mg kg^{-1} PV) à chaque isomère 71

Tableau 6 : résultats de concentration (unités spécifiées dans le tableau) des isomères α- et γ-HBCD rapportés dans la littérature chez la souris, le rat et l'oiseau exposés oralement à ces molécules, partie I 73

Tableau 7 : résultats de concentration (unités spécifiées dans le tableau) des isomères α-, β- et γ-HBCD rapportés dans la littérature chez la souris, le rat et l'oiseau exposés oralement à ces molécules, partie II 74

Tableau 8 : voies de métabolisme mises en évidence et métabolites identifiés à partir d'une exposition à un mélange d'isomères d'HBCD chez différentes espèces 81

Tableau 9 : voies de métabolisme mises en évidence et métabolites identifiés à partir d'une exposition à l'α-HBCD chez différentes espèces 83

Tableau 10 : voies de métabolisme mises en évidence et métabolites identifiés à partir d'une exposition au β-HBCD chez différentes espèces 84

Tableau 11 : voies de métabolisme mises en évidence et métabolites identifiés à partir d'une exposition au γ-HBCD chez différentes espèces ($1^{ère}$ partie) 85

Tableau 12 : voies de métabolisme mises en évidence et métabolites identifiés à partir d'une exposition au γ-HBCD chez différentes espèces ($2^{ème}$ partie) 86

Tableau 13 : ratio des proportions des isomères γ- et α-HBCD dans certains tissus et dans le corps entier (ratio γ/α, sans unités ou %) mesuré par plusieurs études suite à une exposition de l'animal à l'HBCD 90

Tableau 14 : efficacité d'assimilation (%) des isomères α-, β- et γ-HBCD chez le poisson 93

Tableau 15 : facteurs de bioaccumulation (BMF, sans unités) et facteurs de bioconcentration (BCF, L kg^{-1}) des isomères α-, β- et γ-HBCD chez le poisson 94

Tableau 16 : résultats de temps de demi-vie de l'α-, le β- et le γ-HBCD estimés chez le poisson dans la littérature (1ère partie) 97

Tableau 17 : résultats de temps de demi-vie de l'α-, le β- et le γ-HBCD estimés chez le poisson dans la littérature (2ème partie) 98

Tableau 18 : résultats de temps de demi-vie et de cinétique de décontamination de l'α-, le β- et le γ-HBCD estimés chez les mammifères dans la littérature (1ère partie) 101

Tableau 19 : résultats de temps de demi-vie et de cinétique de décontamination de l'α-, le β- et le γ-HBCD estimés chez les mammifères dans la littérature (2ème partie) 102

Tableau 20 : résultats de la littérature de temps de demi-vie (j) de l'α-, le β- et le γ-HBCD estimés chez l'oiseau exposé oralement à ces molécules 104

Tableau 21 : résultats de la littérature sur la proportion de la dose de l'α-, le β- ou le γ-HBCD éliminée en 4 jours (% dose) dans les fèces et l'urine chez des rongeurs. 107

Tableau 22 : principales caractéristiques des modèles de transfert de polluants lipophiles développés par MacLachlan (2010) et Fournier et al. (2015), 1ère partie 116

Tableau 23 : principales caractéristiques des modèles de transfert de polluants lipophiles développés par MacLachlan (2010) et Fournier et al. (2015), 2ème partie 117

Tableau 24 : acronyme, description et valeur des paramètres relatifs à la croissance et au poids corporels et tissulaires 139

Tableau 25 : acronyme, description et valeur initiale des variables et compartiments relatifs à la croissance et au poids corporels et tissulaires 140

Tableau 26 : acronymes, description et valeur des paramètres relatifs à la quantité et au profil de lipides tissulaires 145

Tableau 27 : acronyme, description et valeur initiale des variables et compartiments relatifs à la quantité et au profil des lipides tissulaires et à l'irrigation sanguine 146

Tableau 28 : acronyme, description et valeur des paramètres relatifs à l'irrigation sanguine 146

Tableau 29 : acronyme, description et valeur des paramètres relatifs à la ponte et l'ingestion d'aliment 156

Tableau 30 : acronyme, description et valeur des variables et compartiments relatifs à la ponte 157

Tableau 31 : acronyme, description et valeur des paramètres relatifs à l'ingestion et l'absorption d'α-HBCD 162

Tableau 32 : acronyme, description et valeur des paramètres relatifs à la métabolisation d'α-HBCD 163

Tableau 33 : acronyme, description et valeur initiale des variables et compartiments relatifs à la distribution et l'élimination d'α-HBCD 163

Tableau 34 : acronyme, description et valeur des paramètres relatifs aux modifications du modèle de base 169

Tableau 35 : acronyme, description et valeur des variables et compartiments relatifs aux modifications du modèle de base 169

Tableau 36 : valeurs minimale et maximale établies pour l'analyse de sensibilité des paramètres relatifs à la croissance et aux poids corporel et tissulaires. 178

Tableau 37 : valeurs minimale et maximale établies pour l'analyse de sensibilité des paramètres relatifs à la quantité de lipides corporels et tissulaires 179

Tableau 38 : valeurs minimale et maximale établies pour l'analyse de sensibilité des paramètres relatifs au profil lipidique et à la quantité de lipides corporels et tissulaires pendant la mue 179

Tableau 39 : valeurs minimale et maximale établies pour l'analyse de sensibilité des paramètres relatifs à l'irrigation sanguine. 180

Tableau 40 : valeurs minimale et maximale établies pour l'analyse de sensibilité des paramètres relatifs à la ponte et à l'ingestion. 180

Tableau 41 : valeurs minimale et maximale établies pour l'analyse de sensibilité des paramètres relatifs au transfert d'α-HBCD. 180

Tableau 42 : ratio de variation (RV) réponse / paramètre aux différents stades physiologiques, pour les paramètres liés à la croissance et aux poids corporel et tissulaires 183

Tableau 43 : ratio de variation (RV) réponse / paramètre aux différents stades physiologiques, pour des paramètres liés à la croissance et aux poids corporel et tissulaires spécifiques au stade de mue 184

Tableau 44 : ratio de variation (RV) réponse / paramètre aux différents stades physiologiques, pour les paramètres liés à la quantité de lipides tissulaires 185

Tableau 45 : ratio de variation (RV) réponse / paramètre aux différents stades physiologiques, pour les paramètres liés au profil de lipides dans les tissus 186

Tableau 46 : ratio de variation (RV) réponse / paramètre aux différents stades physiologiques, pour les paramètres liés au profil de lipides dans le plasma et pour les paramètres liés au contenu lipidique dans les tissus et dans le corps pendant la mue 187

Tableau 47 : ratio de variation (RV) réponse / paramètre aux différents stades physiologiques, pour tous les paramètres liés à l'irrigation sanguine 188

Tableau 48 : ratio de variation (RV) réponse / paramètre aux différents stades physiologiques, pour tous les paramètres liés à la ponte et à l'ingestion 189

Tableau 49 : ratio de variation (RV) réponse / paramètre aux différents stades physiologiques, pour les paramètres liés à la cinétique de transfert de l'HBCD 190

Tableau 50 : paramètres présentant le plus d'influence sur la concentration d'α-HBCD dans l'ensemble des tissus (foie, muscles pectoraux, muscles des cuisses, gras abdominal, plasma, "other") pendant la fin de croissance 193

Tableau 51 : paramètres ayant le plus d'influence sur la concentration d'α-HBCD dans les tissus (foie, muscles pectoraux et des cuisses, gras abdominal, plasma, "other", jaune) pendant les 1er et 2ème cycles de ponte..... 195

Tableau 52 : paramètres ayant le plus d'influence sur la concentration d'α-HBCD dans l'ensemble des tissus (foie, muscles pectoraux, muscles des cuisses, gras abdominal, plasma, "other") pendant la mue 196

Tableau 53 : résumé des résultats de l'analyse de sensibilité : principaux paramètres présentant un influence sur la concentration de la molécule dans les tissus/œufs, stades physiologiques et matrices pour lesquels le paramètre a une influence, précision de la valeur basale du paramètre 198

Tableau 54 : acronyme, description et valeur des paramètres du modèle relatifs à la croissance et au poids corporels obtenus lors de l'introduction des données physiologiques expérimentales dans le sous-modèle physiologique 201

Tableau 55 : acronyme, description et valeur des paramètres et des compartiments du modèle relatifs à la croissance et au poids tissulaires obtenus lors de l'introduction des données expérimentales dans le sous-modèle physiologique 202

Tableau 56 : acronyme, description et valeur des paramètres relatifs à la quantité de lipides tissulaires obtenus lors de l'introduction des données physiologiques expérimentales dans le sous-modèle physiologique 203

Tableau 57 : acronyme, description et valeur des paramètres du modèle relatifs aux proportions de lipides neutres dans les lipides totaux des tissus et du plasma, de débit sanguin vers le foie et de taux d'extraction d'α-HBCD dans le foie avant et après ajustement du modèle 207

Tableau 58 : acronyme, description et valeur du paramètre du modèle relatif à la proportion de lipides neutres dans le plasma hors ponte, avant et après correction du paramètre suite à l'ajustement 207

Tableau 59 : concentrations observées, simulées par le modèle de base et simulées par le modèle de base ajusté, d'α-HBCD dans le gras abdominal (µg kg^{-1} lipides) après 11 semaines d'exposition (début de la décontamination) et après 7 semaines de décontamination. Pourcentage de variation dans la concentration de la molécule dans le gras abdominal entre le début et la fin de la décontamination. 209

Tableau 60 : valeur des paramètres du modèle liés au poids vif (PV), taux de ponte, poids de l'œuf et mise en place ou non de mue, correspondants à différents systèmes d'élevage ... 213

Tableau 61 : pourcentages de variation (PVar) de la concentration d'α-HBCD dans tous les tissus (gras abdominal, foie, plasma, muscles pectoraux, muscles des cuisses, « other » ; aussi le jaune d'œuf pendant la ponte) aux différents âges représentatifs des différents stades physiologiques, après modification de l'ensemble des paramètres propres à quatre systèmes d'élevage différents..... 214

Tableau 62 : principales caractéristiques du modèle de transfert de l'α-HBCD chez la poule pondeuse développé pendant cette thèse, 1ère partie 224

Tableau 63 : principales caractéristiques du modèle de transfert de l'α-HBCD chez la poule pondeuse développé pendant cette thèse, 2ème partie 225

Tableau 64 : résumé des atoûts et limites du modèle développé pendant cette thèse. Caractéristiques communes et différences vis-à-vis des modèles de MacLachlan (2010) et Fournier (2011) 229

Liste des figures

Figure 1 : concentration de l'α-HBCD (gauche) et de β-HBCD (droite) (ng g^{-1} MS) dans différents tissus pendant 30 jours d'exposition suivis de 30 jours de décontamination chez le poisson (Zhang et al., 2014). Adapté avec permission d'Elsevier, Journal of Hazardous Materials, Copyright © 2014 Elsevier 63

Figure 2. A : concentration (µM) d'α-, β- et γ-HBCD dans le milieu pendant 60 minutes d'incubation avec des fractions hépatiques de rat (adapté avec permission d'ACS, Environmental Science & Technology, Copyright © 2014 American Chemical Society). B : concentrations (ng TEQ kg^{-1}) de dioxines simulées et observées dans le tissu adipeux et dans les œufs (matrice d'intérêt marquée sur le graphique), pendant 60 jours d'exposition suivis de 60 jours de décontamination (adapté avec permission de Taylor & Francis, Food Additives & Contaminants, Copyright © 2010 Taylor & Francis) 65

Figure 3 : exemple de modèle mécaniste bicompartimental simple. QA=quantité de matière dans le compartiment A (kg) ; QB : quantité de matière (kg) dans le compartiment B ; Flux B A : flux de matière depuis B vers A (kg j^{-1}) ; Flux A B : flux de matière depuis A vers B (kg j^{-1}) ; Flux env A : flux de transfert de matière depuis l'environnement vers A (kg j^{-1}) ; Flux A env : flux de transfert de matière depuis A vers l'environnement (kg j^{-1}) 114

Figure 4 : schéma du sous-modèle physiologique, 1ère partie : composants du modèle liés à la croissance et poids corporel et des tissus, à la quantité et au profil des lipides dans le corps et dans les tissus et à l'irrigation. Doubles flèches : flux de matière (kg j^{-1}) ; compartiments (carrés) : quantités de matière (kg) ; flèches discontinues : flux d'information (pas d'unités) ; reste de composants : variables de calcul ou paramètres du modèle. Gris : duplication de certains composants du modèle représentés ailleurs. L'ensemble des paramètres du modèle sont décrits dans la liste d'abréviations. "Tissue i" est une dénomination générique de chacun des tissus représentés dans le modèle et remplace sur ce diagramme leurs noms spécifiés dans la liste d'abréviations, c'est-à-dire : storagefat, mA, mB, liver, blood, plasma, other. 134

Figure 5 : schéma du sous-modèle physiologique, 2ème partie : composants du modèle liés à la ponte et à l'ingestion. Doubles flèches : flux de matière (kg j^{-1}) ; compartiments (carrés) : quantités de matière (kg) ; flèches discontinues : flux d'information (pas d'unités) ; reste de composants : variables de calcul ou paramètres du modèle. Gris : duplication de certains composants du modèle représentés ailleurs. L'ensemble des paramètres du modèle sont décrits dans la liste d'abréviations. 135

Figure 6 : schéma du sous-modèle de transfert. Doubles flèches : flux de matière (kg j^{-1}) ; compartiments (carrés) : quantités de matière (kg) ; flèches discontinues : flux d'information (pas d'unités) ; reste de composants : variables de calcul ou paramètres du modèle. Gris : duplication de certains composants du modèle représentés ailleurs. L'ensemble des paramètres du modèle sont décrits dans la liste d'abréviations. "Tissue i" est une dénomination générique de différents tissus représentés dans le modèle et remplace sur ce diagramme leurs noms spécifiés dans la liste d'abréviations, précisément : storagefat, mA, mB, other. 136

Figure 7 : schéma général des âges et stades physiologiques représentés dans le modèle . 137

Figure 8 : évolution du poids vif de la poule au cours de la fin de la croissance, le 1^{er} cycle de ponte, la mue et le $2^{ème}$ cycle de ponte (simulation du modèle). 140

Figure 9: évolution du poids des tissus (kg et pourcentage du poids vif) en fonction de l'âge de la poule (simulation du modèle) 142

Figure 10 : évolution du poids des lipides dans les tissus (g) avec l'âge (simulation du modèle) 148

Figure 11 : évolution de la concentration de lipides dans les tissus (pourcentage ou g L^{-1}) avec l'âge (simulation du modèle) 149

Figure 12 : poids de l'œuf (kg) en fonction de l'âge de la poule (j) (simulation du modèle). 158

Figure 13 : nombre de follicules initialisés par période de 10 jours pendant le 1^{er} cycle de ponte, en fonction de LR persist, de LR max et de LR min (simulations du modèle) 160

Figure 14: évolution de la consommation quotidienne d'aliment en fonction de l'âge de la poule (simulation du modèle) 160

Figure 15 : concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans les différentes matrices, observées expérimentalement (« observé ») et simulées (« simulé, modèle de base ») après 18 semaines d'exposition à 40 µg d'α-HBCD kg^{-1} d'aliment 167

Figure 16 : concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans les différentes matrices, observées expérimentalement (« observé ») et simulées (« simulé, modèle de base ») pendant 11 semaines d'exposition à 40 µg d'α-HBCD kg^{-1} d'aliment suivies de 7 semaines de décontamination 167

Figure 17 : comparaison des concentrations d'α-HBCD dans le gras abdominal (µg kg^{-1} lipides) simulées par le modèle modifié vis-à-vis du modèle de base et des données observées. Les modifications consistent en une division du gras abdominal en deux compartiments à débit plasmatique différent (tracé jaune : ratio Wstoragefat=0,5 ; ratiostoragefat coef=2 ; tracé bleu foncé : ratio Wstoragefat=0,8 ; ratiostoragefat coef=5) 172

Figure 18 : concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans le jaune d'œuf pendant 11 semaines d'exposition à 40 µg d'α-HBCD kg^{-1} d'aliment et 7 semaines de décontamination, a) mesurées expérimentalement (« observé »), b) simulée par le modèle de base, c) simulées après limitation du flux de sortie d'HBCD en provenance du gras abdominal et du muscle des cuisses (croix rouges et vertes) et d) simulée après modification du calcul de la clairance hépatique (losanges violets) 172

Figure 19 : concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans le foie pendant 11 semaines d'exposition à 40 µg d'α-HBCD kg^{-1} d'aliment suivies de 7 semaines de décontamination, a) mesurées expérimentalement (« observé »), b) simulées par le modèle de base, c) simulées après limitation du flux de sortie d'HBCD en provenance du gras abdominal et du muscle des cuisses (tracés rouge et vert) et d) simulées après modification du calcul de la clairance hépatique (tracé violet)..... 173

Figure 20 : concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans le gras abdominal pendant 11 semaines d'exposition à 40 µg d'α-HBCD kg^{-1} d'aliment suivies de 7 semaines de décontamination, a) mesurées expérimentalement (« observé »), b) simulée par le modèle de base, c) simulées après limitation du flux de sortie d'HBCD en provenance du gras abdominal et du muscle des cuisses (tracés rouge et vert) et d) simulée après modification du calcul de la clairance hépatique (tracé violet) 173

Figure 21 : concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans les muscles des cuisses et dans le plasma pendant 11 semaines d'exposition à 40 µg d'α-HBCD kg^{-1} d'aliment et 7 semaines de décontamination, a) mesurées expérimentalement (« observé »), b) simulées par le modèle de base, c) simulées après limitation du flux de sortie d'HBCD en provenance du gras abdominal et du muscle des cuisses (tracés rouge et vert) et d) simulées après modification du calcul de la clairance hépatique (tracé violet) 173

Figure 22 : concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) simulées par le modèle de base dans les différentes matrices lors d'une exposition à un aliment contaminé (40 µg d'α-HBCD kg^{-1} d'aliment) depuis 12 jusqu'à 92 semaines d'âge. Le niveau d'exposition est réduit de 60% en début de mue du fait d'une réduction de la quantité d'aliment ingérée pendant cette période. 176

Figure 23 : évolution des coefficients de partition (Kp, L kg^{-1}) de l'α-HBCD entre les tissus et le sang en fonction du stade physiologique et de l'âge de l'animal 177

Figure 24 : concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans les différentes matrices simulées par le modèle de base lors d'une exposition continue à l'α-HBCD depuis 12 jusqu'à 92 semaines d'âge à 40 µg d'α-HBCD kg^{-1} d'aliment. Ages d'étude lors de l'analyse de sensibilité (flèches) 181

Figure 25: évolution du PV (kg) simulé par le modèle après introduction des données expérimentales physiologiques et du PV observé expérimentalement en fonction de la durée d'expérimentation..... 201

Figure 26 : évolution du poids des tissus simulé par le modèle après introduction des données expérimentales dans le sous-modèle physiologique et du poids des tissus observé expérimentalement, en fonction de la durée d'expérimentation 202

Figure 27 : concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans les matrices, observées expérimentalement (« observé ») et simulées par le modèle après introduction des données physiologiques expérimentales (« simulé, physiologie ajustée ») pendant 18 semaines d'exposition à 40 µg d'α-HBCD kg^{-1} d'aliment 204

Figure 28 : concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans les matrices, observées expérimentalement (« observé ») et simulées par le modèle après introduction des données physiologiques expérimentales (« simulé, physiologie ajustée ») pendant 11 semaines d'exposition à 40 µg d'α-HBCD kg^{-1} d'aliment suivies de 7 semaines de décontamination.. 204

Figure 29 : concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans les différentes matrices, observées expérimentalement (« observé ») et simulées par le modèle après introduction des données physiologiques expérimentales et ajustement des proportions de lipides neutres dans les lipides totaux dans les tissus (NL), de liver coef et de E_{liver} (« simulé (physiologie, NL, E_{liver} et liver coef ajustés) ») pendant 18 semaines d'exposition à 40 µg d'α-HBCD kg^{-1} d'aliment .. 208

Figure 30 : concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans les différentes matrices, observées expérimentalement (« observé ») et simulées par le modèle après introduction des données physiologiques expérimentales et ajustement des proportions de lipides neutres dans les lipides totaux dans les tissus (NL), de liver coef et de E_{liver} (« simulé (physiologie, NL, E_{liver} et liver coef ajustés) ») pendant 11 semaines d'exposition à 40 µg d'α-HBCD kg^{-1} d'aliment suivies de 7 semaines de décontamination. 208

Figure 31 : concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans les différentes matrices, observées expérimentalement (« observé ») et simulées par le modèle après introduction des données physiologiques expérimentales et ajustement des proportions de lipides neutres dans les lipides totaux dans les tissus (NL), de liver coef et de E_{liver} (« simulé (physiologie, NL, E_{liver} et liver coef ajustés) ») pendant 18 semaines d'exposition à 3,62 µg d'α-HBCD kg^{-1} d'aliment 210

Figure 32 : relation entre les concentrations d'α-HBCD dans le gras abdominal prédites et mesurées chez les poules exposées pendant 18 semaines à un aliment contenant 3,62 µg d'α-HBCD kg^{-1} 211

Figure 33 : relation entre les concentrations d'α-HBCD dans le jaune d'œuf prédites et mesurées chez les poules exposées pendant 18 semaines à un aliment contenant 3,62 µg d'α-HBCD kg^{-1} 211

Figure 34 : relation entre les concentrations d'α-HBCD dans le foie prédites et mesurées chez les poules exposées pendant 18 semaines à un aliment contenant 3,62 µg d'α-HBCD kg^{-1}. 211

Figure 35 : pourcentages de variation (PVar) de la concentration d'α-HBCD dans tous les tissus (gras abdominal, foie, plasma, muscles pectoraux, muscles des cuisses, « other » ; aussi le jaune d'œuf pendant la ponte) aux différents âges représentatifs des différents stades physiologiques, après modification de l'ensemble des paramètres propres à chaque système d'élevage. 215

Figure 36 : pourcentages de variation (PVar) de la concentration d'α-HBCD dans le gras abdominal, dans le plasma et dans les tissus restants (foie, muscles pectoraux, muscles des cuisses, « other »), calculés pour des systèmes d'élevage sans mue, en comparaison avec les concentrations lors d'une mue. L'ensemble des paramètres propres à chaque système d'élevage ont été modifiés. Les symboles représentent la moyenne du PVar dans tous les tissus ± écart-type 216

Figure 37 : pourcentage de variation (PVar) de la concentration d'α-HBCD dans tous les tissus (gras abdominal, foie, plasma, muscles pectoraux, muscles des cuisses, « other » ; aussi le jaune d'œuf pendant la ponte) aux différents âges représentatifs des différents stades physiologiques, après modification des paramètres liés au poids vif et à la croissance (BW2 et AGE2g) selon les valeurs correspondantes à chaque système d'élevage. Les symboles représentent la moyenne du PVar dans tous les tissus ± écart-type 218

Figure 38 : pourcentage de variation (PVar) de la concentration d'α-HBCD dans les tissus (gras abdominal, foie, plasma, muscles pectoraux, muscles des cuisses, « other » ; aussi le jaune d'œuf pendant la ponte) aux âges représentatifs des différents stades physiologiques, après modification des paramètres liés à la ponte (LR max, LR min, LR persist, Wegg max) selon les valeurs correspondantes à chaque système d'élevage. 220

Figure 39 : concentrations normalisées d'α-HBCD dans les tissus après division par la concentration de la molécule dans l'aliment, observées expérimentalement (« observé ») et simulées par le modèle (« simulé ») rapportées lors d'une exposition pendant 18 semaines à des aliments contaminés soit à 40 soit à 3,62 µg kg^{-1}. Matrices : foie, F ; gras abdominal, GA ; jaune d'œuf, JO 231

1 Introduction générale

*« La **Santé Publique** est la science et l'art de prévenir la maladie, prolonger la vie et promouvoir la santé à travers les efforts organisés de la société »* (Sir Donald Acheson, 1988). L'objectif de cette science est de promouvoir la santé et le bien-être des individus de la société de façon durable, en renforçant des services de santé intégrés et en réduisant les inégalités (World Health Organisation). La Santé Publique est exercée par des professionnels de différents secteurs dont les actions consistent en ou visent à a) améliorer les déterminants socioéconomiques de la société (réduction de la pauvreté, accès à l'éducation, l'eau, l'alimentation et l'hygiène), b) généraliser un contexte environnemental qui favorise la santé, en assurant parmi d'autres leviers **l'innocuité** de l'eau, **des aliments** et de l'air, c) interventions sanitaires de promotion de la santé à long terme (vaccinations, dépistage), d) interventions cliniques préventives de l'occurrence ou de la transmission de maladies (ex. traitement de l'hypertension et l'hyperlipidémie) et e) éducation sanitaire (ex. conseil diététique) (Frieden, 2010).

La Sécurité Alimentaire et la Sécurité Sanitaire des Aliments constituent en effet des piliers de la Santé Publique. La **Sécurité Alimentaire** (*« Food security »*) vise à ce que *« tous les êtres humains aient, à tout moment, un accès physique et économique à une nourriture suffisante, saine et nutritive qui leur permette de satisfaire leurs besoins nutritionnels et leurs préférences alimentaires pour mener une vie saine et active »* (World Food Summit, 1996). La **Sécurité Sanitaire des Aliments** (*« Food safety »*) fait référence à la prévention des dangers, chroniques ou aigus, qui peuvent faire qu'un aliment donné devienne nuisible pour la santé du consommateur (FAO/WHO, 2003). Parmi ces dangers, on peut citer la présence de microbes pathogènes, de résidus de pesticides, de contaminants chimiques, de résidus de médicaments vétérinaires, une mauvaise utilisation des additifs autorisés ou la présence d'allergènes pour des personnes sensibles à ceux-ci. Enfin, des controverses existent sur le danger pour la santé des organismes génétiquement modifiés (FAO/WHO, 2003). Quand on parle de **contaminants** alimentaires, on fait référence à des agents ou substances qui peuvent se retrouver dans un aliment sans y avoir été volontairement ajoutés et qui peuvent compromettre son innocuité et par conséquence la sécurité sanitaire des aliments. Il ne faut donc pas confondre le concept de contamination (involontaire) avec celui d'adultération frauduleuse d'un aliment (FAO/WHO, 2003).

Dans ce cadre, des **systèmes nationaux de contrôle des aliments** favorisent par la surveillance et le contrôle des aliments la confiance du consommateur. Ces systèmes nationaux comprennent généralement : l'implémentation de lois et de règlements, des plans

de surveillance et contrôle des aliments, une gestion et coordination des différents agents composant les systèmes de contrôle, des services d'inspection, des laboratoires d'analyse et des actions de communication. Toutefois le contrôle des aliments n'est pas basé uniquement sur l'échantillonnage et analyse des produits finaux, il se base notamment sur a) la responsabilité de tous les acteurs, hygiène et traçabilité dans les pratiques de production, transformation, transport, vente et préparation des aliments (concept « de la ferme à la chaine »), b) l'analyse de risques (Système d'Analyse de Dangers et de Points de Contrôle Critique - méthode HACCP) et c) la transparence (FAO/WHO, 2003). Enfin, des **réseaux internationaux** comme le Système d'alerte rapide pour les denrées alimentaires et les aliments pour animaux (RASFF) au niveau européen et le Réseau International des Autorités de Sécurité Sanitaire des Aliments (INFOSAN) au niveau mondial assurent les échanges d'information entre pays et facilitent la prise de décisions et une mise en place d'actions nécessaires et rapides dans le cas où un risque pour la Santé Publique est détecté dans la chaine alimentaire. Le rapport d'activités 2014/2015 de l'INFOSAN rapporte 77 événements liés à la sécurité des aliments entre les 186 pays membres de ce réseau pendant cette période, parmi lesques 33 consultations ou vérifications et 44 événements qui ont demandé une coordination entre l'INFOSAN et ses membres (FAO/WHO, 2016). Une majorité des 77 événements totaux concerne des dangers biologiques (65 et 59% des événements respectivement en 2014 et 2015) et des dangers chimiques (25 et 22% en 2014 et 2015). Plusieurs événements concernent des composés chimiques organiques, dont trois ont été rapportés sur des dangers liés au benzopyrène et à des insecticides organophosphorés (monocrotophos et malathion), des molécules qui présentent des propriétés chimiques communes avec certains **Polluants Organiques Persistants (POP)** listés dans la Convention de Stockholm. Les POP sont des contaminants chimiques qui se caractérisent parce qu'une fois délayés dans l'environnement sont capables a) d'y persister pendant de longues périodes, b) d'une large distribution géographique de par leur capacité d'être transportés à de longues distances, c) de s'accumuler dans les constituants lipidiques de l'organisme des êtres humains et des animaux et d) de produire des effets toxiques ou nocifs sur la santé humaine ou l'environnement (Stockholm Convention). Cette Convention internationale, adoptée en 2001 et entrée en vigueur en 2004, comprend actuellement 30 POP dont une majorité de pesticides (16 molécules) et/ou de molécules chimiques industrielles (10 molécules) ainsi que des contaminants qui résultent d'une production fortuite, non intentionnelle. Ces molécules sont listées selon l'objectif d'élimination dans leur production et utilisation (annexe A, 22 molécules), de restriction de leur production et utilisation (annexe B, 2 molécules) ou de limitation de leurs décharges dans l'environnement (annexe C, 6 molécules).

L'hexabromocyclododécane (HBCD) est un retardateur de flame bromé introduit en tant que POP à l'annexe A de la Convention de Stockholm en 2013 (décision SC-6/13). La consommation de denrées alimentaires d'origine animale (DAOA) constitue la source principale d'exposition de la population générale à ce contaminant. Des concentrations moyennes d'HBCD total généralement inférieures à 1 ng g^{-1} matière grasse (MG) sont rapportées dans les produits végétaux et dans la plupart des DAOA et d'environ 15,3 ng g^{-1} MG dans des poissons (EFSA, 2011). L'α-HBCD est généralement l'isomère majoritaire dans les aliments. A ces concentrations moyennes dans les aliments, l'EFSA conclue que les niveaux d'exposition quotidienne des consommateurs à la molécule (entre 0,09 et 0,99 ng kg^{-1} poids vif j^{-1} chez l'adulte) ne représentent pas un risque pour la santé. Cependant, des concentrations maximales d'HBCD total supérieures à 2000 ng g^{-1} MG ont été rapportées dans certains échantillons d'œuf (DGAL, 2009; Hiebl and Vetter, 2007), de viande de poulet (DGAL, 2009) et de poisson (Nakagawa et al., 2010). Cela pose question sur les raisons de ces contaminations et la façon de limiter le risque de contamination des DAOA par ce polluant. Dans ce contexte, la Commission Européenne en 2014 (2014/118/EU) et l'ANSES en 2012 (Avis 2010-SA-0225) ont recommandé de considérer le dosage de l'HBCD dans les plans nationaux de surveillance des DAOA. L'Avis de l'ANSES (2012) met en exergue des questions non résolues à cette date notamment sur les raisons des contaminations élevées retrouvées dans certaines denrées issues de la filière avicole, parmi lesquelles la typologie des élevages concernés et la confirmation expérimentale de la relation dose-imprégnation entre l'ingestion d'un matériau contaminé par la volaille et les teneurs élevées retrouvées dans les œufs et la viande. La réalisation de deux expérimentations *in vivo* (poule pondeuse et poulet de chair), la première d'entre elles faisant partie intégrante du corps de la thèse permettent de caractériser le devenir de cet isomère chez la volaille. Cette thèse a d'ailleurs pris en charge la conception, le développement, l'évaluation et l'utilisation d'un modèle pharmacocinétique basé sur la physiologie (PBPK) de transfert de l'α-HBCD chez la poule pondeuse. Ce modèle a permis d'estimer le taux d'extraction hépatique de la molécule chez la poule pondeuse et de hiérarchiser les caractéristiques physiologiques, certaines différentes pour les souches-type de différents systèmes d'élevage, selon leur influence sur la contamination des œufs et des tissus par la molécule suite à une exposition orale à la molécule.

2 Synthèse bibliographique

2.1 Généralités

2.1.1 Utilisation, propriétés et transfert d'HBCD vers l'environnement depuis des matériaux contaminés

Utilisation

Les retardateurs de flamme bromés (RFB) constituent une classe très hétérogène de molécules qui ont en commun des propriétés ignifuges. Les différents RFB présentent des différences notamment de dimension moléculaire (volume, poids et aire de surface moléculaires, nombre de carbones) et de polarité (Andersson et al., 2006).

L'HBCD est un retardateur de flame bromé (RFB) utilisé principalement comme additif dans des polystyrènes expansés (EPS) ou extrudés (XPS) (environ 95% de son utilisation dans l'UE ; (EPA, 2014)). La concentration d'HBCD dans les EPS et XPS représente environ 0,6 et 3,9% respectivement (Cariou et al., 2014). De façon minoritaire, l'HBCD est ajouté dans des matériaux textiles dont des tissus de rembourrage et de tapissage dans les automobiles et dans des équipements électriques et électroniques (ECHA, 2009). Le mélange technique d'HBCD est constitué de trois isomères principaux, le γ-HBCD étant l'isomère prédominant (entre environ 75 et 90%), suivi des isomères α- et β-HBCD, lesquels représentent respectivement environ 10 à 13% et 1 à 12% (Covaci et al., 2006; Heeb et al., 2005).

L'HBCD a été inclus à l'annexe A de La Convention de Stockholm sur les polluants organiques persistants (POP) en 2013 (décision SC-6/13). L'inclusion dans cette annexe vise à ce que les parties ayant ratifié cette Convention prennent des mesures pour l'élimination de la production et l'utilisation de l'HBCD, avec des exceptions concernant sa présence dans les polystyrènes expansés et extrudés utilisés par l'industrie de la construction.

Propriétés

Les RFB peuvent être divisés en monomères bromés, composés additifs ou réactifs selon la manière où ils sont ajoutés dans des polymères (Andersson et al., 2006). L'étude réalisée par ces auteurs montre que la majorité des RFB additifs présentent une taille moléculaire élevée et que la plupart des RFB présentent une charge atomique élevée. L'HBCD fait partie des RFB appliqués comme additifs dans les matériaux à ignifuger, en d'autres termes cette molécule s'intègre dans ces matériaux sous forme de mélange, sans liaison covalente, en contraste

avec des RFB réactifs, c'est-à-dire capables d'une liaison chimique à la matrice du matériel auxquels ils sont ajoutés (ECHA, 2009; Law et al., 2005). Cette absence de liaison covalente favorise le lessivage de l'HBCD depuis les matériaux traités (Law et al., 2005). Plusieurs hypothèses existent sur de possibles mécanismes de transfert des retardateurs de flamme bromés depuis des matériaux traités vers l'air et la poussière. Pour des RFB réactifs, l'abrasion semble la voie la plus probable de transfert vers la poussière. Pour des RFB additifs, tel que l'HBCD, ce transfert peut comprendre une combinaison de plusieurs voies, précisément : a) volatilisation depuis le matériau traité, b) abrasion du matériau traité et transfert direct vers la poussière et c) migration par contact direct entre la poussière et le matériau traité (Rauert et al., 2015). Ces auteurs ont étudié le transfert d'HBCD depuis des rideaux traités avec de l'HBCD vers la poussière, en utilisant des chambres d'essai soit à 60°C soit à température ambiance (Rauert et al., 2015). Les conditions d'essai appliquées ont évité l'abrasion et le transfert par contact direct avec la poussière et limité les voies de transfert possibles à la volatilisation. Une augmentation significative de la concentration d'HBCD dans la poussière a été rapportée au bout de 24 h dans la chambre maintenue à 60°C. Une augmentation similaire de la concentration moyenne d'HBCD a été rapportée au bout d'une semaine dans la chambre à température ambiante. Ces résultats confirment l'importance de la volatilisation comme voie de transfert d'HBCD depuis des matériaux traités vers la poussière avec une vitesse de réaction plus élevée pour des températures élevées.

L'HBCD est une molécule lipophile qui présente un coefficient de partition octanol-eau (log Kow) de l'ordre de 5,6 (Marvin et al., 2011). Les isomères α-, β- et γ-HBCD présentent des propriétés physico-chimiques différentes, qui participent au changement de profil, depuis le mélange technique où le γ-HBCD est majoritaire, à certains compartiments de l'environnement où ce profil se transforme progressivement en faveur d'une augmentation de l'isomère α-HBCD en détriment du γ-HBCD. La présence de l'HBCD dans l'environnement sera abordée en détail sur le point suivant de cette synthèse (cf. 2.1.2). Parmi les propriétés étudiées chez les différents isomères, la solubilité estimée dans l'octanol (mol m^{-3}) de l'α-HBCD est de l'ordre de 4 fois et plus de 2 fois plus élevée que la solubilité dans ce milieu apolaire des isomères γ- et β- respectivement (Marvin et al., 2011). La solubilité dans l'eau était également entre environ 2 et 3 fois plus élevée pour l'isomère α-, en comparaison avec les isomères β- et γ-HBCD. Les trois isomères diffèrent également par leur capacité de dégradation et d'isomérisation y compris en milieu abiotique. En effet, l'isomérisation à hautes températures de trois mélanges d'HBCD a été étudiée, chacun de ces mélanges étant constitué à plus de 99% par l'un des trois isomères α-, β- ou γ-HBCD (Peled et al., 1995). Selon cette étude, après environ 45 minutes à 190°C, la composition des trois mélanges

conflue vers une composition « d'équilibre » où l'isomère α- devient prédominant (environ 78% de l'HBCD total), suivi des isomères β- (13%) et γ-HBCD (9%). Ces résultats confirment une capacité d'isomérisation des trois molécules et notamment des isomères β- et γ-HBCD en α-HBCD. La capacité d'isomérisation de chaque isomère en les deux autres a été confirmée après exposition à la lumière d'une solution pure en chacun des isomères (Harrad et al., 2009a). Ces auteurs indiquent également une prédominance de l'isomérisation du γ- en α-HBCD. A des températures entre 130 et 160°C appliquées aux trois isomères, d'autres études indiquent qu'aucun équilibre dans la composition des isomères n'est atteint (Heeb et al., 2008a; Heeb et al., 2008b). Ces auteurs rapportent un taux de dégradation proportionnel à la température appliquée pour les trois isomères. La dégradation du γ-HBCD consiste principalement en l'isomérisation en α-HBCD, tandis que le β-HBCD subit principalement une racémisation (interconversion des énantiomères (+)- et (-)-β-HBCD). Le taux de dégradation de l'isomère γ- est environ 4-7 fois plus élevé que celui du β-HBCD. Pour l'α-HBCD, ces auteurs ont confirmé une dégradation élevée sans isomérisation. En accord avec les résultats de Peled et al. (1995), Cariou et al. (2015) ont montré que, lors du processus d'extrusion d'un mélange technique de polystyrène (8% d'α-HBCD, 7% de β- et 85% de γ-HBCD) à des températures allant de 140 à 200°C, le profil de l'HBCD change et l'α-HBCD devient l'isomère prédominant. En effet la proportion d'α-HBCD dans le polystyrène extrudé représente selon ces auteurs entre 72 et 77% de l'HBCD total. Cette observation a été réalisée à toutes les températures d'extrusion étudiées. Ces auteurs suggèrent que l'isomérisation du γ- en α-HBCD dépend non seulement de la température mais aussi de la pression appliquée lors du processus d'extrusion. Le profil de l'HBCD est également modifié avec augmentation de la proportion d'α-HBCD en dépit de la concentration de γ-HBCD lors d'une exposition de la molécule à de la lumière naturelle (photoisomérisation) (Harrad et al., 2009a). Ces auteurs montrent une dégradation augmentée de l'HBCD total en présence de lumière naturelle.

L'HBCD est capable d'une dissémination dans l'environnement, comme cela sera abordé ci-dessous. L'HBCD présente d'ailleurs d'autres caractéristiques communes aux POP. En effet, cette molécule organique, une fois relayée dans l'environnement, est capable d'être transportée sur de longues distances et de se répandre dans les différents milieux (sol, air, eau), où elle reste pendant de longues périodes (caractéristique de « persistance »). De par ses propriétés lipophiles, l'HBCD est bioaccumulable dans les lipides des tissus chez les êtres vivants et subit une biomagnification dans la chaîne alimentaire, ce qui signifie que la concentration d'HBCD est plus élevée dans les derniers maillons de cette chaîne. Des exceptions à cette biomagnification dans la chaîne alimentaire sont observées dans certains cas, quand les derniers maillons sont capables d'éliminer une partie de l'HBCD ingéré par

métabolisation. L'HBCD est toxique chez les animaux dont l'être humain (Covaci et al., 2006; Marvin et al., 2011). Parmi les effets de l'HBCD dans l'organisme, plusieurs études montrent l'influence de cette molécule sur la fonction thyroïdienne, au travers notamment d'une modification du niveau circulant des hormones thyroïdiennes ; des modifications dans la fonction reproductive et sur le développement ; des altérations de la fonction neuronale et des effets neurotoxiques (Koch, 2015; Marvin et al., 2011). Pour élucider les mécanismes de toxicité de 64 RFB différents, la capacité de ces xénobiotiques d'intéragir comme agonistes ou antagonistes des récepteurs de facteurs de transcription de stéroïdes sexuels, de récepteurs de dioxines, de transporteurs de thyroxine transthyrétine et du métabolisme de l'estradiol a été étudiée *in vitro* (Harju et al., 2007) (Tableau 1).

Tableau 1 : résultats *in vitro* de concentrations inhibitoires médianes (IC50, µM) d'antagonisme des isomères α-, β- et γ-HBCD sur des récepteurs liés à la transcription, transport et métabolisme d'hormones, et sur des récepteurs de dioxines

IC50, µM	Récepteur d'estrogènes (ER-CALUX)	Récepteur d'androgènes (AR-CALUX)	Récepteur de progesterone (PR-CALUX)	Métabolisme de l'estradiol	Transthyrétine	Récepteur de dioxines (DR-CALUX)
Isomère / Processus	Antagonisme			Inhibition	Inhibition compétitive	Antagonisme
α-HBCD	ND	3,4	8,5	ND	12	7,4
β-HBCD	11	12	>15	ND	25	>15
γ-HBCD	4,9	3,7	1,4	ND	ND	11

Source : Harju et al. (2007)

Pour les trois isomères principaux de l'HBCD, aucun agonisme n'a été détecté de ces xénobiotiques pour les récepteurs correspondants. Quant aux concentrations inhibitoires médianes (IC50, µM) d'antagonisme de ces molécules sur les récepteurs étudiés, elles sont différentes et propres à chaque isomère. En effet les isomères α- et γ- sont capables d'une inhibition effective de plusieurs de ces récepteurs à des concentrations généralement plus basses que l'isomère β-HBCD.

Transfert vers l'environnement et d'autres caractéristiques propres aux POP

L'ECHA (2009) a estimé une dissémination d'HBCD dans l'environnement au sein de l'UE-27 d'environ 3 tonnes en 2007, dont 50% étaient libérées dans des eaux usées, environ 21% dans l'air et 29% dans des eaux de surface. Cette dissémination se produisait principalement lors de l'utilisation industrielle des produits textiles, suivie de l'utilisation industrielle des EPS et des XPS. L'étape de mélange de l'HBCD dans ces matériaux et dans des équipements électroniques produisait également une dissémination considérable (ECHA, 2009). La dissémination de la molécule lors de son utilisation industrielle explique que la concentration d'HBCD dans l'environnement soit plus élevée à proximité des sites industriels de production et d'utilisation de l'HBCD (Covaci et al., 2006). Li et al. (2012) ont observé des

concentrations d'HBCD dans le sol et les plantes significativement plus élevées lorsque la distance avec les sites de production d'HBCD ou des sites industriels diminue. La dissémination d'HBCD vers l'environnement a été étudiée aussi pendant la durée de vie des matériaux contenant la molécule. Le rapport conclue que le degré de dissémination en provenance de matériaux isolants présents dans des bâtiments est plus élevé que celui dû aux matériaux textiles. Enfin, une dissémination significative depuis des déchets de ces matériaux à la fin de leur utilisation est également rapportée (ECHA, 2009).

L'HBCD est un retardateur de flamme bromé, utilisé principalement comme additif dans des polystyrènes. Il présente trois isomères principaux, le γ-HBCD étant majoritaire dans le mélange technique (75-90%), suivi des α- (10-13%) et β-HBCD (1-12%). L'HBCD a été inclus dans la Convention de Stockholm sur les polluants organiques persistants (POP) en 2013. En tant que POP, l'HBCD présente des caractéristiques de dissémination dans l'environnement, lipophilicité et bioaccumulation dans les lipides chez les êtres vivants, biomagnification dans la chaîne alimentaire et toxicité. Les trois isomères principaux présentent des différences de solubilité et des taux de dégradation à de hautes températures (>130-140°C) propres. A ces températures et aux préssions appliquées pendant l'extrusion du polystyrène, l'isomérisation du γ- en α-HBCD a été mise en évidence. La photoisomérisation des trois isomères a été confirmée, avec une prédominance de l'isomérisation du γ- en α-HBCD.

La dissémination de l'HBCD dans l'environnement vers des eaux usées, l'air et des eaux de surface se produit lors de son utilisation industrielle et depuis des matériaux contaminés, pendant leur durée de vie utile et à partir de leurs déchets. En effet le transfert d'HBCD par volatilisation depuis des matériaux traités vers la poussière est confirmé. La dissémination est plus élevée à proximité des sites industriels de production et d'utilisation de l'HBCD.

2.1.2 Présence d'HBCD dans l'environnement.

Comme indiqué précédemment, l'HBCD est un polluant ubiquitaire, c'est-à-dire qu'il est distribué dans différents compartiments de l'environnement, dont l'air, l'eau, le sol, les sédiments et les êtres vivants (Covaci et al., 2006; Law et al., 2014). La présence de l'HBCD dans chacun de ces compartiments environnementaux sera abordée ensuite.

2.1.2.1 Air et poussière

Selon certains auteurs, la plupart de l'HBCD présent dans l'air se retrouve liée à des particules et non pas dans la fraction gazeuse, à cause de la pression de vapeur réduite et de la lipophilicité élevée de cette molécule (Covaci et al., 2006). C'est pour cette raison que l'HBCD des environnements intérieurs se distribue principalement dans la poussière (Law et al., 2014). La concentration d'HBCD total et des isomères α-, β- et γ-HBCD a été mesurée au

Royaume Uni a) dans l'air prélevé dans plusieurs environnements intérieurs (foyer, bureau, lieux de restauration) (ng m^{-3}), b) dans la poussière prélevée dans ces environnements et dans les voitures (ng g^{-1}) et c) dans l'air extérieur (ng m^{-3}) (Abdallah et al., 2008). Les concentrations moyennes d'HBCD total dans l'air des environnements intérieurs (0,18 à 0,90 ng m^{-3}) étaient entre 5 et 24 fois plus élevées que dans l'air extérieur (0,04 ng m^{-3}). Dans la poussière, la concentration moyenne d'HBCD total dans des échantillons prélevés dans des voitures (19000 ng g^{-1}) était environ 2 fois plus élevée que dans ceux prélevés dans des foyers (8300 ng g^{-1}) et entre 7 et 12 fois plus élevée que dans d'autres environnements intérieurs analysés (1600-2700 ng g^{-1}). La concentration moyenne d'HBCD dans la poussière prélevée dans des écoles au Royaume Uni (8900 ng g^{-1}) était du même ordre de grandeur que la concentration moyenne d'HBCD dans les poussières prélevées dans des foyers par l'étude d'Abdallah et al. (2008) (Harrad et al., 2010).

Quant au profil de l'HBCD, la proportion moyenne des isomères α- et γ-HBCD était respectivement de 22 et 65% dans l'air et de 33 et 56% dans la poussière (Abdallah et al., 2008). Ces résultats sont en accord avec ceux de Harrad et al. (2010), qui rapportent des proportions moyennes d'α- et de γ-HBCD dans l'HBCD présent dans la poussière de 37 et 48%, respectivement. Ces changements du profil de l'HBCD avec l'augmentation de la proportion d'α- au détriment du γ-HBCD quand on compare le mélange technique d'HBCD et la molécule présente dans l'air, peuvent être liés à l'isomérisation du γ- en α-HBCD lors de l'incorporation à haute température du mélange technique d'HBCD sur des matériaux polymériques (Cariou et al., 2015; Harrad et al., 2010). Les différences de profil observées entre l'air et la poussière rapportées par Abdallah et al. (2008) pourraient s'expliquer par la photoisomérisation du γ- en α-HBCD (Harrad et al., 2009a). Dans tous les cas, il semble que le profil des isomères d'HBCD retrouvés dans ces milieux dépend du profil retrouvé dans les matériaux qui émettent la molécule vers l'environnement, ce profil dans les matériaux dépendant du processus de fabrication subi (Fromme et al., 2016). Cela est cohérent avec un transfert de la molécule depuis les matériaux contenant la molécule vers l'air et la poussière par différentes voies dont la volatilisation (Rauert et al., 2015).

Des concentrations moyennes d'HBCD total dans l'air des environnements intérieurs entre 5 et 24 fois plus élevées que dans l'air extérieur ont été rapportées. L'HBCD dans des environnements intérieurs se distribue principalement dans la poussière. Le profil de l'HBCD dans l'air et dans la poussière est influencé par son profil dans les matériaux contaminés. En comparaison avec le mélange technique, une augmentation de la proportion d'α-HBCD en détriment du γ-HBCD est observée dans l'air (22 et 65% respectivement) et dans la poussière (environ 35% et 52% respectivement). Des processus de photoisomérisation du γ- en α-HBCD peuvent expliquer ces changements de profil.

2.1.2.2 Eau

Dans de l'eau prélevée dans des lacs en Angleterre, les proportions d'HBCD total associé à des particules et celui dissout ont été mesurées (Harrad et al., 2009b). La fraction particulaire de l'eau contenait environ 53% de l'HBCD total, 47% de l'HBCD étant dissout dans l'eau. Les concentrations d'HBCD total mesurées dans ces eaux oscillaient entre 0,08 et 0,27 ng L^{-1}. La concentration d'HBCD total a été mesurée également dans l'eau d'un fleuve au Japon, ainsi que dans des eaux usées affluant et des eaux effluant de 12 sites de traitement d'eaux usées sur la même région (Ichihara et al., 2014). Les concentrations les plus élevées dans cette étude ont été mesurées dans les eaux usées affluant les sites de traitement d'eau (16-400 ng L^{-1}). Ces concentrations ont été réduites d'entre 83 et 99% selon le site lors du traitement des eaux, les eaux effluant ces sites présentant des concentrations d'HBCD (0,39-12 ng L^{-1}) proches de celles retrouvées dans le fleuve (0,19-14 ng L^{-1}). Les auteurs suggèrent qu'une partie de l'HBCD éliminée des eaux usées pendant le traitement des eaux passe dans les boues résultantes de ce traitement. Selon cette étude, la concentration moyenne d'HBCD total dans l'eau prélevée au niveau de l'estuaire du fleuve était plus basse que la concentration mesurée dans l'eau fraîche prélevée dans le cours du fleuve. Les auteurs ont suggéré que cela était dû au flux de l'eau, qui stagne dans l'estuaire favorisant une fixation de l'HBCD à des particules et son probable dépôt dans des sédiments.

L'isomère γ-HBCD était prédominant dans l'eau du fleuve (en moyenne entre 63 et 84% de l'HBCD total), suivi de l'isomère α-HBCD (en moyenne entre 15 et 31% du total). Ce profil de l'HBCD est cohérent avec celui rapporté dans l'eau prélevée dans des lacs (Harrad et al., 2009b). Selon ces résultats, l'isomère γ- est prédominant dans l'eau (environ 62% en moyenne), suivi de l'isomère α- (25% en moyenne). Ce profil est le même dans l'HBCD présent dans la phase particulaire de l'eau et dans l'HBCD dissout. Ces auteurs suggèrent que l'augmentation de la proportion d'α-HBCD par rapport à celle présente généralement dans le mélange technique peut être due à des processus d'isomérisation dans l'environnement, comme commenté précédemment.

Dans l'eau, l'HBCD peut être dissout (47% de l'HBCD total) ou lié à des particules (53%). Dans des sites de traitement des eaux, des diminutions dans la concentration d'HBCD dans l'eau entre 83 et 99% ont été rapportées. Une partie de l'HBCD éliminé des eaux peut passer aux boues résiduelles. L'isomère γ-HBCD est majoritaire dans de l'eau des lacs et d'un fleuve (entre 62 et 84% de l'HBCD total), suivi de l'isomère α-HBCD (entre 15 et 31%). Des processus d'isomérisation dans l'environnement semblent à l'origine de ces variations de profil par rapport au mélange technique.

2.1.2.3 Sédiments et sol

A cause de son hydrophobicité, l'HBCD se lie fortement à des particules solides dans le sol, les sédiments et les boues résiduelles (Covaci et al., 2006). Le profil de l'HBCD dans ces matrices est souvent dominé par l'isomère γ-HBCD (Covaci et al., 2006).

Sédiments

Le dépôt d'HBCD dans des sédiments depuis de l'eau stagnante a été suggéré par Ichihara et al. (2014). Dans des sédiments prélevés dans des lacs anglais, la concentration d'HBCD total était de 0,88-4,8 ng g^{-1} matière sèche (MS) et le γ-HBCD était l'isomère prédominant (environ 75% en moyenne), cette proportion étant plus élevée que celle rapportée dans l'eau de ces lacs (environ 62% de γ-HBCD en moyenne) (Harrad et al., 2009b). Les auteurs suggèrent que cette différence dans les profils de l'HBCD dans l'eau et dans les sédiments peut être due à la solubilité plus importante dans l'eau de l'isomère α- par rapport aux autres isomères (Marvin et al., 2011) ou à la photoisomérisation du γ- en α-HBCD (Harrad et al., 2009a), ce dernier phénomène pouvant se produire dans la colonne d'eau, plus exposée à lumière que les sédiments. Des métabolites débromés ont été retrouvés dans les sédiments, ce qui confirme une transformation de la molécule dans l'environnement.

Sol

La concentration d'HBCD (ng g^{-1} MS) a été mesurée dans différents types de sols superficiels, précisément des sols forestiers, des rivages, des sols urbains, des prairies et des sols agricoles dans une île chinoise non industrialisée, située à proximité d'une région hautement industrialisée (Meng et al., 2011). La concentration moyenne d'HBCD total, qui oscillait entre 0,015 et 0,039 ng g^{-1} MS, n'était pas significativement différente selon le type de sol, ce qui faisait penser à des sources de contamination communes à ces sols. Le γ-HBCD était l'isomère prédominant (environ 70% de l'HBCD total), suivi de l'α-HBCD (environ 25%). La concentration d'HBCD total dans le sol a présenté une tendance à augmenter avec le contenu en matière organique du sol. Les auteurs suggèrent le transport atmosphérique d'HBCD depuis des régions industrialisées et des émissions locales depuis des matériaux contenant la molécule comme des sources potentielles de contamination de ces sols.

L'HBCD a été dosé dans des sols agricoles d'une région chinoise, ces sols étant classés selon l'origine de l'eau utilisée pour l'irrigation : a) eau en provenance d'une rivière recevant des eaux usées industrielles, b) irrigation par de l'eau depuis cette rivière et des eaux souterraines et c) irrigation en utilisant uniquement des eaux souterraines (Wang et al., 2013). Les résultats de cette étude montrent que la source d'irrigation ne présente pas

d'effet significatif sur la concentration d'HBCD dans le sol, cette concentration oscillant entre 0,17 et 34,5 ng g^{-1} MS. Le profil de l'HBCD était dominé par l'isomère γ-HBCD (environ 59% en moyenne), suivi des isomères α- et β-HBCD (environ 28 et 13% respectivement). A partir de ces résultats et au vu également d'une tendance à des concentrations d'HBCD plus élevées dans des sols d'exploitations situées dans le nord-est de la région étudiée, les auteurs ont suggéré que la contamination des sols ne provenait pas de l'eau utilisée pour l'irrigation, mais était arrivée dans les sols par dissémination depuis des sources comme des industries et des chantiers de construction. La possibilité de contamination du sol par le dépôt d'HBCD depuis l'air et par la pluie a été suggérée par d'autres auteurs (Covaci et al., 2009). Wang et al. (2013) citent une autre voie possible de contamination des sols agricoles par l'HBCD, telle que l'amendement de ces sols par des boues résiduelles contenant cette molécule. En effet, l'épandage des boues résiduelles est une voie confirmée de contamination du sol par des RFB (Eljarrat et al., 2008), des concentrations d'HBCD élevées (39-597 ng g^{-1} MS) ayant été mesurées d'ailleurs dans des boues résiduelles (Kupper et al., 2008). L'épandage des déjections animales est également à considérer comme voie de contamination des sols par l'HBCD. En effet, les fèces représentent une voie fondamentale d'élimination de la molécule (2.2.3.3.7). Covaci et al. (2006) ont rapporté un taux de détection de l'HBCD de 75% dans des échantillons de lisier de poules élevées dans des élevages familiaux avec accès à un parcours extérieur.

En Chine, les concentrations d'HBCD total et des isomères α-, β- et γ-HBCD ont été mesurées dans différents compartiments de l'environnement à des distances variables (entre 0 et 76 km) par rapport à des sites de production d'HBCD (Li et al., 2012). Les concentrations d'HBCD total dans le sol et les sédiments ont oscillé respectivement entre 0,88 et 6900 ng g^{-1} MS et entre 2,93 et 1029 ng g^{-1} MS. L'isomère γ-HBCD prédomine dans le sol (67% de l'HBCD total). En accord avec les résultats d'autres études (Covaci et al., 2006), Li et al. (2012) ont mesuré des concentrations d'HBCD dans le sol significativement plus élevées à proximité (moins de 4 km) des sites de production d'HBCD.

Plusieurs voies de contamination des sols sont suggérées, notamment : le transport atmosphérique et le dépôt avec les particules de l'air ou à l'aide de la pluie et l'amendement des sols par des boues résiduelles contaminées. La proximité vis-à-vis de sites de production et d'utilisation d'HBCD présente une influence directe sur la concentration d'HBCD dans le sol. Dans les sédiments, le dépôt d'HBCD depuis de l'eau stagnante est suggéré. Dans le sol et les sédiments, le profil de l'HBCD est souvent dominé par le γ-HBCD (entre 59 et 75% de l'HBCD total) suivi de l'α-HBCD (environ 25-28%).

2.1.2.4 Plantes

Les résultats de Li et al. (2012) montrent des concentrations d'HBCD total dans les plantes variables, qui oscillent entre 110 et 160241 ng g^{-1} MS. La concentration d'HBCD total dans les plantes est significativement corrélée avec la concentration d'HBCD total dans le sol. Ainsi, comme observé dans le sol, la concentration d'HBCD total dans les plantes augmente à proximité des sources de production d'HBCD. Les facteurs de bioconcentration dans les plantes ont été estimés en divisant la concentration d'HBCD total dans les tissus végétaux (ng g^{-1} MS) entre la concentration d'HBCD total dans le sol (ng g^{-1} MS) du site en question. Ces facteurs de bioconcentration ont été généralement supérieurs à 1, la moitié d'entre eux présentant une valeur comprise entre 7 et 39, avec une valeur médiane de 21. L'isomère γ-HBCD prédomine dans les plantes (77% de l'HBCD total). L'absorption racinaire de l'HBCD a été mise en évidence dans des plantules de maïs (Wu et al., 2016) et de blé et est influencée par la solubilité de chaque isomère (Zhu et al., 2016). L'étude de Zhu et al. (2016) a consisté en une exposition des plantes de blé à l'HBCD par deux voies d'exposition, précisément du sol contaminé et de l'air contaminé. Les résultats montrent que la plupart de l'HBCD absorbé dans les racines reste principalement dans celles-ci et qu'entre 14 et 30% de cet HBCD monte jusqu'aux feuilles. L'HBCD présent dans les feuilles provenait majoritairement d'une absorption depuis l'air par les tissus foliaires. Une bioisomérisation des β- et γ-HBCD en α-HBCD a été mise en évidence par Zhu et al. (2016) dans plusieurs tissus de la plante et notamment dans les feuilles.

La contamination des plantes par l'HBCD se produit par absorption racinaire depuis le sol et par dépôt atmosphérique dans les feuilles avec les particules de l'air et absorption pendant la respiration. La concentration d'HBCD total dans les plantes est significativement corrélée avec la concentration d'HBCD total dans le sol, ce qui est cohérent avec une augmentation de la concentration d'HBCD dans les plantes (comme observée dans le sol) à proximité des sites de production et d'utilisation d'HBCD. Une bioconcentration de l'HBCD est observée dans les plantes par rapport au sol. Dans les plantes, le profil de l'HBCD est souvent dominé par le γ-HBCD (environ 77% de l'HBCD total).

2.1.2.5 Animaux

Comme commenté dans les points précédents, le profil de l'HBCD dans différents compartiments de l'environnement est généralement dominé par l'isomère γ-HBCD. Au contraire, dans les tissus animaux l'isomère α- est généralement l'isomère prédominant. Les résultats de Li et al. (2012) dans une zone proche de sites de production d'HBCD en Chine montrent une prédominance de l'α-HBCD chez des animaux aquatiques (en moyenne 57%

d'α-HBCD dans l'HBCD total), ce qui contraste avec le profil de l'HBCD dans du sol et des plantes du même environnement, où le γ-HBCD représentait respectivement environ 67 et 77% dans l'HBCD total. Ces résultats sont cohérents avec ceux de Harrad et al. (2009b) chez des poissons, où l'isomère α-HBCD représente en moyenne environ 64% de l'HBCD total (suivi du γ-HBCD qui représente environ 25%), tandis que le profil de l'HBCD total dans les sédiments et dans l'eau des lacs où le prélèvement a été réalisé est dominé par le γ-HBCD (environ 75 et 62% de γ-HBCD respectivement). Li et al. (2012) soulignent d'ailleurs que chez les animaux, la concentration d'HBCD total est très variable en fonction de l'espèce et du tissu analysés. La hiérarchie des tissus selon leur concentration en HBCD chez l'animal exposé sera abordée plus loin dans cette synthèse (2.2.3.2.2).

La concentration des isomères α-, β- et γ-HBCD (ng g^{-1} lipides) a été mesurée dans le tissu adipeux chez des phoques et dans le foie chez des goélands, les deux espèces habitant sur la même aire au Groenland (Vorkamp et al., 2012). Ces auteurs ont étudié l'évolution de ces concentrations entre 1986 et 2010. L'isomère α-HBCD prédomine chez les deux espèces, les isomères β- et γ- présentant des taux de détection bas (10 et 27% respectivement). La concentration d'α-HBCD dans le foie chez les goélands est restée stable pendant la période temporelle étudiée, tandis que celle dans le tissu adipeux des phoques a augmenté de façon exponentielle, de 6,4% annuellement, de 1986 à 2010. Les auteurs suggèrent que ces différences sont le résultat de différences dans l'alimentation, dans la position dans la chaîne trophique et dans les capacités de métabolisation de la molécule selon l'espèce. Covaci et al. (2006) rapportent une augmentation de la proportion d'α-HBCD dans les maillons supérieurs de la chaîne alimentaire. Des différences dans la concentration d'HBCD total entre trois espèces aviaires, soit insectivores soit principalement herbivores, sédentaires et donc pouvant être utilisées comme bio-indicatrices de la contamination locale par l'HBCD ont été rapportées par une étude réalisée en Chine (Sun et al., 2012). Les zones étudiées ont été classées comme a) zones de recyclage de résidus en provenance de matériaux électriques et électroniques, b) zones urbaines et c) zones rurales. Les résultats montrent que la concentration d'HBCD total dans le muscle et le contenu digestif varie selon l'espèce et la zone d'étude (zone urbaine ~ recyclage > rurale). De par la cohérence dans les niveaux et dans le profil d'HBCD dans le muscle et ceux dans le contenu digestif dans les trois zones étudiées, les auteurs suggèrent que l'alimentation représente la voie principale d'exposition à l'HBCD chez les oiseaux, les différences inter-espèces dans la concentration d'HBCD pouvant être attribuées principalement aux différences dans le régime. Des facteurs de biomagnification ont été estimés de façon approximative en divisant la concentration d'HBCD dans le muscle par la concentration d'HBCD dans le contenu digestif. Ces facteurs de biomagnification ont été supérieurs à 1 chez les trois espèces étudiées. L'α-HBCD a été

majoritaire (>65%) dans tous les échantillons de muscle et de contenu digestif analysés, suivi du γ-HBCD. L'isomère β- n'a pas été détecté dans la plupart des échantillons.

L'HBCD a également été détecté dans les lipides de certains tissus chez l'être humain dans plusieurs pays. L'analyse de la teneur en HBCD d'échantillons humains de lait maternel et de sang prélevés dans la population générale de différents pays montre également une prévalence de l'isomère α-HBCD dans la plupart des cas (Fromme et al., 2016). Les sources d'exposition humaine à l'HBCD seront abordées ci-dessous (cf. 2.1.4.1).

Différentes raisons peuvent expliquer le changement du profil de l'HBCD entre les différents compartiments environnementaux et les animaux, avec une prédominance de l'α-HBCD chez ces derniers. A part les différences dans les propriétés chimiques des trois isomères principaux citées précédemment, qui peuvent influencer les concentrations de ces isomères dans l'environnement et les niveaux d'exposition des animaux à ces isomères, des différences dans les étapes d'absorption, distribution, métabolisme et excrétion chez l'animal peuvent également intervenir dans ce changement du profil de l'HBCD. Cela sera expliqué en détail sur le point 2.2.3 de cette synthèse.

A la différence du profil d'HBCD décrit dans la plupart des compartiments environnementaux, dominé par le γ-HBCD, dans les tissus animaux c'est généralement l'isomère α- qui prédomine, et notamment dans des maillons supérieurs de la chaine alimentaire. Différents résultats suggèrent que l'alimentation est la voie principale d'exposition à l'HBCD chez l'animal. Une augmentation de la proportion d'α-HBCD est d'ailleurs observée dans les maillons supérieurs de la chaîne alimentaire. Des différences dans l'alimentation, dans la position dans la chaine trophique et dans les étapes d'absorption, distribution, métabolisme et excrétion (ADME) de ces isomères chez l'animal peuvent intervenir dans le changement de profil des isomères de l'HBCD.

2.1.3 Présence d'HBCD dans des environnements d'élevage.

La détection de l'HBCD dans des produits issus d'animaux d'élevage a conduit à l'étude par différents auteurs de plusieurs sources potentielles d'exposition à la molécule chez des animaux pendant l'élevage. La présence de l'HBCD dans des denrées alimentaires d'origine animale sera détaillée plus loin (cf. 2.1.4.3 et 2.1.4.4). Les sources potentielles d'exposition à l'HBCD par ingestion qui seront abordées ci-dessous comprennent : du sol et des plantes dans des élevages avec accès à un parcours extérieur, des restes de cuisine dans des élevages familiaux, des aliments pour animaux et des matériaux contaminés présents dans des bâtiments d'élevage.

La concentration des isomères α-, β- et γ-HBCD a été mesurée dans de la viande de poulet en provenance d'élevages conventionnels, avec accès à un parcours extérieur et des élevages biologiques en Belgique (Goscinny et al., 2011). Les résultats montrent une concentration d'HBCD total plus élevée dans de la viande de poulet ayant accès à un parcours extérieur et dans de la viande de poulets biologiques (environ 3 ng g^{-1} lipides dans les deux cas) que dans de la viande de poulet d'élevage conventionnel (environ 1 ng g^{-1} lipides). Sur la base de ces résultats, les auteurs suggèrent que le temps passé à l'extérieur par les animaux dans des élevages avec accès à un parcours extérieur favorise leur exposition à des polluants environnementaux tels que l'HBCD.

L'HBCD total a été dosé dans des œufs en provenance d'élevages familiaux avec accès à un parcours extérieur en Belgique en automne et au printemps (Covaci et al., 2009). Ces auteurs ont dosé également l'HBCD dans le sol présent sur le parcours et dans des restes de cuisine apportés comme aliments aux poules, afin de mieux cerner de possibles sources d'exposition des poules à la molécule dans les élevages. Ces résultats montrent que la saison présente une influence significative dans la concentration d'HBCD total dans les œufs, avec des pourcentages de détection de 30% et de 80% respectivement en automne et au printemps et des concentrations médianes significativement différentes dans les deux saisons, précisément une concentration inférieure à la limite de détection en automne et de 2,85 ng g^{-1} lipides au printemps. Le taux de détection d'HBCD total dans les échantillons de sol a été de 75%. Les auteurs suggèrent que dans des élevages avec accès à un parcours extérieur, la concentration du contaminant dans le sol peut varier selon la saison (ex. dépôt de contaminant plus important depuis l'air vers le sol si la pluviométrie est plus importante), ce qui influence le niveau d'exposition des volailles par ingestion de sol et le niveau de contamination des produits. Cependant, à la différence des résultats observés dans l'œuf, les concentrations médianes d'HBCD total dans le sol n'étaient pas affectées par la saison. Les différences saisonnières dans les concentrations d'HBCD dans les œufs peuvent s'expliquer plutôt par une utilisation plus importante du parcours par les poules au printemps qu'à l'automne à cause des conditions climatiques plus favorables (pluviométrie moins importante, températures plus élevées, durée du jour plus longue). Dans les restes de cuisine, l'HBCD était détecté uniquement dans un échantillon sur dix et à des concentrations relativement faibles, ce qui suggère que cette source d'exposition n'est pas primordiale. Le sol a été confirmé comme source d'exposition potentielle à l'HBCD dans des élevages avec accès à un parcours extérieur mais d'autres sources semblent intervenir. On peut ajouter l'exposition possible par ingestion de plantes contaminées (2.1.2.4). Les auteurs ont suggéré la possibilité d'une voie complémentaire de contamination représentée par des aliments contaminés. Hiebl et Vetter (2007) ont considéré que les aliments pour animaux ne doivent

pas constituer une source d'exposition à l'HBCD, au vu du faible pourcentage de détection (4%) d'HBCD total dans les échantillons d'œuf analysés par ces auteurs. Cependant, la limite de détection de l'HBCD dans l'œuf selon la méthode d'analyse appliquée par cette étude est plus de 30 fois plus élevée que la limite de détection rapportée pour cette même matrice par d'autres études (Covaci et al., 2009; Goscinny et al., 2011). En effet, le pourcentage de détection ou de quantification dans les échantillons dépend en grande partie de la limite de détection ou de quantification de la méthode appliquée. L'étude de Rawn et al. (2011) sur des œufs en provenance de différents types d'élevage (avec et sans accès à un parcours extérieur) rapporte au contraire un pourcentage de détection de l'HBCD dans des œufs de 85%. La contamination des animaux par des aliments semble donc une voie plausible d'exposition dans les élevages. Dans ce sens, l'HBCD a été dosé dans des huiles de poisson destinées à être ajoutées dans des aliments humains et animaux (Ortiz et al., 2011). L'addition d'huile de poisson au régime alimentaire des poules pondeuses permet d'enrichir les œufs en acides gras n-3. Les quantités d'huile de poisson utilisées dans le régime des poules sont toutefois limitées à cause principalement des modifications qu'elles produisent sur les caractéristiques organoleptiques des œufs (Lawlor et al., 2010; Lemahieu et al., 2015). Parmi les huiles de poisson analysées par Ortiz et al. (2011), celles destinées à l'alimentation animale n'étaient pas raffinées, tandis que celles destinées à l'alimentation humaine étaient raffinées. Les auteurs suggèrent que le processus de raffinage pourrait réduire la concentration d'HBCD dans l'huile, car leurs résultats montrent des concentrations moyennes d'HBCD plus élevées dans l'huile à destination de l'alimentation animale (environ 9,7 ng g^{-1}) en comparaison avec la concentration d'HBCD dans l'huile raffinée utilisée pour l'alimentation humaine (environ 1,1 ng g^{-1}). En considérant une proportion de 2% d'huile de poisson ajoutée dans des aliments pour poules, une concentration d'environ 0,2 ng g^{-1} d'aliment peut être estimée à partir de ces résultats. L'HBCD a été dosé dans différents aliments et dans des aliments composés pour certains animaux d'élevage terrestre dont la volaille (Fernandes et al., 2016). L'α-HBCD est l'isomère le plus fréquemment détecté. Le poisson, les aliments pour poisson et des coquillages présentent les concentrations les plus élevées d'HBCD total (respectivement environ 1,4 ; 0,44 et 0,25 ng g^{-1}), suivis des aliments composés pour animaux, de la viande transformée (0,06 ng g^{-1} dans les deux cas) et de certains aliments pour animaux d'origine végétale (0,08 ng g^{-1}). Ces concentrations mesurées dans des aliments pour animaux sont légèrement inférieures à l'estimation de 0,2 ng g^{-1} d'aliment réalisée à partir des résultats d'Ortiz et al. (2011), mais confirment que les aliments pour animaux peuvent être une source d'exposition à ce contaminant dans les élevages.

Par ailleurs, l'exposition des animaux à l'HBCD par ingestion accidentelle de matériaux contaminés a été suggérée (Hiebl and Vetter, 2007), suite à des concentrations très élevées d'HBCD rapportées par ces auteurs dans des œufs en provenance d'un petit élevage dans lequel les animaux pouvaient avoir accès à ces matériaux. A ce sujet, plusieurs sources potentielles d'exposition à l'HBCD présentes dans des élevages de poules pondeuses et de porcs ont été étudiées (Cariou et al., 2014). Ces auteurs ont analysé la présence de brome (indicateur de la possible présence de RFB) dans de nombreux matériaux, parmi lesquels des mangeoires, des abreuvoirs, des nids, des murs, des matériaux isolants, des canalisations ou des câbles. Les résultats montrent que le brome est présent uniquement dans des matériaux isolants, dont un tiers, exactement N=11 étaient des polystyrènes (PS). Ces auteurs ont ensuite mesuré la concentration d'HBCD dans les échantillons contenant du brome. Parmi les sept échantillons contenant de l'HBCD, six consistent en du XPS et un en de l'EPS (Cariou et al., 2015). Les échantillons de XPS contenaient entre 2,2 et 3,85% d'HBCD total, l'EPS contenant 0,6% d'HBCD total. Le profil de l'HBCD était différent selon la classe de polystyrène. Dans l'échantillon d'EPS les isomères α- et γ-HBCD représentaient respectivement environ 25% et 70% de l'HBCD total. Dans les six échantillons de XPS, l'α-HBCD était majoritaire (entre 60 et 80% d'α-HBCD et entre 8 et 25% de γ-HBCD dans l'HBCD total). Ces résultats vont dans le sens que le polystyrène présent dans les bâtiments d'élevage représente une source potentielle d'exposition accidentelle des animaux à l'HBCD, l'isomère α-HBCD étant l'isomère majoritaire dans la plupart de ces matériaux.

Plusieurs études suggèrent que l'accès à un parcours extérieur et la durée de son utilisation peuvent favoriser l'exposition des animaux à des polluants environnementaux tels que l'HBCD. Plusieurs sources potentielles d'exposition par ingestion sont présentées, parmi lesquelles le sol et les plantes pour les élevages avec accès à un parcours extérieur. Pour les différents types d'élevage, les aliments pour animaux représentent également une source potentielle complémentaire d'exposition. L'accès des animaux à des matériaux contaminés (principalement du polystyrène) dans des bâtiments d'élevage a également été suggéré comme source potentielle d'exposition, l'α-HBCD étant l'isomère majoritaire dans des polystyrènes extrudés prélevés dans des bâtiments d'élevage.

2.1.4 Exposition humaine à l'HBCD ; HBCD dans les produits alimentaires.

2.1.4.1 Sources d'exposition humaine à l'HBCD

Chez l'être humain, les sources principales d'exposition à l'HBCD sont les aliments, la poussière et l'air des environnements intérieurs (Law et al., 2005).

La contribution de deux sources potentielles d'exposition à l'HBCD, précisément l'ingestion d'aliments contaminés et l'ingestion de poussière, à l'exposition totale à cette molécule a été estimée au Royaume Uni (Abdallah et al., 2008). Selon ces résultats, l'ingestion d'aliments contaminés et l'ingestion de poussière représentent en moyenne respectivement 75 et 24% de l'exposition totale chez l'adulte et 37 et 63% de l'exposition totale chez le nourrisson. L'inhalation d'air représente moins de 1% de l'exposition totale à HBCD chez les deux classes de population étudiées. Ces résultats sont en accord avec ceux d'une autre étude, dans laquelle les niveaux d'exposition humaine à de l'HBCD par le milieu des denrées alimentaires d'origine animale (DAOA) et de l'ingestion de poussière ont été estimés en Roumanie (Dirtu and Covaci, 2010). Ces auteurs ont mesuré la concentration (ng g^{-1}) d'HBCD total présente dans ces matrices. La quantité de chaque denrée ingérée au quotidien (g j^{-1}) et la quantité de poussière ingérée ont été estimées. En multipliant les concentrations mesurées d'HBCD dans chaque matrice par les quantités ingérées de cette matrice, ils ont estimé la quantité d'HBCD ingérée au quotidien (ng j^{-1}) par ces sources d'exposition et comparé l'importance de chacune. Les concentrations d'HBCD ont pu être mesurées dans tous les échantillons de poussière, tandis qu'elles étaient inférieures à la limite de quantification dans toutes les denrées. En considérant que la concentration d'HBCD dans ces denrées était la moitié de cette limite de quantification, l'ingestion d'aliments contaminés représentait généralement la source principale d'exposition de la population (environ entre 75 et 95%), à l'exception du nourrisson soumis au scénario d'ingestion élevée de poussière, où l'ingestion de poussière pouvait représenter jusqu'à 57% de l'exposition totale.

Les niveaux d'exposition à l'HBCD (ng kg^{-1} PV j^{-1}) par voie de l'air extérieur, de l'air intérieur, de la poussière et des aliments ont été estimés chez des nourrissons entre 3 et 6 mois d'âge, chez de petits enfants et chez des adultes, dans trois pays où les niveaux d'exposition sont hautement variables entre eux, précisément l'Allemagne, le Royaume Uni et les Etats-Unis (Fromme et al., 2016). Plus spécifiquement, les niveaux d'exposition par l'ensemble de ces voies d'exposition à l'HBCD étaient entre 4 et 12 fois plus élevées au Royaume Uni que dans les autres pays considérés, pour tous les groupes d'âge étudiés. Le niveau d'exposition diminuait avec l'âge pour les principales voies d'exposition, c'est-à-dire les aliments, la poussière et l'air intérieur. Chez les enfants, les aliments constituaient la source principale d'exposition au Royaume Uni et aux Etats-Unis, cette source représentant respectivement environ 71 et 58% de l'exposition totale, suivie de l'ingestion de poussière. En Allemagne, l'ingestion de poussière chez les petits enfants représentait jusqu'à 55% de l'exposition totale, suivie des aliments. Chez des nourrissons et chez l'adulte, les aliments étaient la source principale d'exposition (entre 70 et 91% de l'exposition totale dans tous les pays), suivis de la poussière. L'air intérieur était une voie minoritaire, représentant entre environ

0,5 et 6% de l'exposition totale. L'air extérieur était dans tous les cas une voie marginale d'exposition à l'HBCD (< 0,04% dans tous les cas).

En résumé, pour la population générale, ce sont les aliments contaminés qui représentent la source principale d'exposition à l'HBCD chez l'adulte. En tout cas et bien que cela ne fasse pas l'objet de cette thèse, il convient de citer les personnes exposées à de plus hauts niveaux d'exposition à l'HBCD dans le cadre du travail. Ainsi la concentration d'HBCD a été mesurée dans le sérum de travailleurs d'une usine de fabrication de polystyrènes où des opérations d'addition et de mélange d'HBCD dans le PS étaient appliquées (Thomsen et al., 2007). La concentration médiane d'HBCD dans les échantillons prélevés chez les travailleurs de cette usine était de l'ordre de 100 fois plus élevée que la limite de détection (LD=1 ng g^{-1} MG), tandis qu'elle se trouvait en dessous de la LD chez les individus volontaires appartenant à la population générale. Les auteurs suggèrent une voie plausible d'exposition occupationnelle consistante en l'inhalation d'HBCD avec la fraction particulaire de l'air, ces particules pouvant rester dans le poumon et être dissoutes et absorbées progressivement pendant des périodes de plusieurs semaines.

L'ingestion d'aliments contaminés est la source principale d'exposition de la population générale à l'HBCD chez l'adulte et l'enfant. Une source complémentaire d'exposition, qui peut devenir majoritaire chez le nourrisson, est l'ingestion de poussière contaminée. L'inhalation d'air intérieur représente une voie minoritaire d'exposition et l'inhalation d'air extérieur une voie négligeable d'exposition. Des différences géographiques dans les niveaux et la hiérarchie des voies d'exposition sont rapportées. Les niveaux d'exposition à l'HBCD sont décroissants avec l'âge.

2.1.4.2 Niveaux d'exposition de la population générale à l'HBCD et caractérisation des risques.

Niveaux d'exposition

Le niveau d'ingestion quotidienne d'HBCD à partir des aliments par les individus d'une population peut être estimé en caractérisant d'une part les habitudes alimentaires dans la région géographique en question (principaux groupes d'aliments constituant le régime et importance quantitative de ces aliments dans le régime) et d'autre part les concentrations d'HBCD dans ces groupes d'aliments. Dans ce type d'estimation, les termes « lower bound, LB » et « upper bound, UB » sont généralement explicités. Cela concerne la façon de comptabiliser les résultats de concentration de la molécule dans les aliments se trouvant en dessous des limites de détection (LD) ou de la limite de quantification (LQ). La valeur LB est

calculée en assignant la valeur zéro à tous les échantillons dont les concentrations de la molécule se trouvent en dessous de la limite de détection ou de la limite de quantification. La valeur UB est calculée en assignant la valeur des LD et LQ respectivement aux résultats en dessous de ces limites. Pour des cas où moins de 40% des résultats se trouvent en dessus de la limite de quantification, les deux méthodes d'estimation doivent être appliquées et les résultats respectifs rapportés (EFSA, 2011). Des valeurs « medium bound » (MB) peuvent être calculées en considérant les résultats en dessous des limites de détection (LD) ou de quantification (LQ) comme équivalents à ½ de ces limites (Fromme et al., 2016).

A partir des données de consommation obtenues dans 17 pays européens et des résultats de dosage d'HBCD réalisés sur plus de 1700 échantillons dans 7 pays européens entre 2000 et 2010, l'EFSA a estimé l'ingestion quotidienne d'HBCD (ng kg^{-1} PV j^{-1}) pour des individus appartenant à différentes classes d'âge, à partir de 3 ans (EFSA, 2011). Les échantillons ont été classés en six groupes d'aliments, 69% de ces échantillons appartenant au groupe d'aliments « poissons et produits à base de poisson ». Au sein des principaux groupes d'aliments, ceux présentant les plus grandes proportions d'échantillons (%) en dessus de la limite de quantification sont les « poissons et produits à base de poisson » (25% de concentrations d'HBCD quantifiables), les « œufs et ovoproduits » (26%) et le « lait et produits laitiers » (19%). Le rapport fait état d'un niveau d'exposition décroissant avec l'âge, ce niveau oscillant pour des consommateurs présentant un niveau d'ingestion moyen entre 0,15 (LB) et 1,85 (UB) ng kg^{-1} PV j^{-1} pour des enfants de 3 à 10 ans, entre 0,09 (LB) et 0,99 (UB) ng kg^{-1} PV j^{-1} chez l'adulte, entre 0,06 (LB) et 0,54 (UB) ng kg^{-1} PV j^{-1} chez des personnes âgées de plus de 75 ans. La poussière a été classée comme une source d'exposition à l'HBCD à considérer pour les enfants entre 1 et 6 ans d'âge, ce qui est en accord avec les résultats d'autres études signalant l'importance de l'ingestion de poussière comme voie d'exposition chez des jeunes enfants (Abdallah et al., 2008; Fromme et al., 2016). Le rapport de l'EFSA souligne le poisson et les produits à base de poisson comme le contributeur le plus important à l'exposition par les aliments (LB), ce groupe contribuant pour 83 à 88% de l'HBCD ingéré par les aliments. La viande et les produits carnés représentent entre environ 6 et 9% de l'exposition par les aliments, le lait et les produits laitiers entre environ 2 et 5% de l'exposition par les aliments et les œufs et ovoproduits entre environ 1 et 2% de l'exposition par les aliments.

Des niveaux d'exposition chez l'adulte équivalents à ceux estimés par l'EFSA ont été rapportés ultérieurement dans plusieurs pays. En France, l'ingestion quotidienne d'HBCD (ng kg^{-1} PV j^{-1}, UB) a été estimée à environ 0,21 chez l'adulte et 0,32 chez l'enfant (Rivière et al., 2014). L'ingestion quotidienne d'HBCD a été estimée à environ 0,14 ng kg^{-1} PV j^{-1} (MB) en Suède (Törnkvist et al., 2011) et à des niveaux oscillant entre 0,80 (LB) et 1,18 (UB) ng kg^{-1} PV

j^{-1} en Belgique (Goscinny et al., 2011). Ces valeurs sont en accord avec celles estimées par l'EFSA (2011). Les principaux produits impliqués dans cette exposition étaient les viandes et les produits carnés en France et en Belgique (entre 42 et 50% de l'exposition totale par les aliments) et le poisson en Suède (environ 65% de l'exposition totale par les aliments). En considérant un poids moyen chez l'adulte de 65 kg, des niveaux d'exposition de l'ordre de 1,18 ng kg^{-1} PV j^{-1} (MB) peuvent être estimés à partir des résultats d'une étude réalisée en Roumanie (Dirtu and Covaci, 2010), les principaux aliments impliqués étant les produits carnés (52%) et les produits laitiers (42%). Aux Etats-Unis, en considérant un poids moyen chez l'adulte de 65 kg, des niveaux d'exposition de l'ordre de 0,24 ng kg^{-1} PV j^{-1} peuvent être estimés (Schecter et al., 2010) ; le principal contributeur était constitué de la viande, qui représentait environ 81% de l'exposition totale à l'HBCD par les aliments dans ce pays. En Chine, les mêmes ordres de grandeur ont été observés avec une ingestion quotidienne d'HBCD total estimée chez l'adulte à environ 0,43 ng kg^{-1} PV j^{-1} (MB) (Shi et al., 2009). La contribution des différents groupes d'aliments étudiés était principalement due dans l'ordre décroissant aux viandes (en moyenne environ 42% de l'exposition totale), aux poissons et « produits aquatiques » (environ 25%) et aux œufs (environ 18%).

Des niveaux d'exposition légèrement plus élevés ont été estimés en Espagne, de l'ordre de 2,58 ng kg^{-1} PV j^{-1} (Eljarrat et al., 2014). Le poisson et les produits de la mer ont été considérés comme les principaux contributeurs (environ 56%) à l'exposition totale à l'HBCD par l'alimentation. Des niveaux plus élevés d'exposition ont été estimés au Royaume-Uni, à partir d'un dosage d'HBCD dans des mollusques et en considérant la présence au quotidien de ceux-ci dans le régime. Les valeurs d'exposition moyenne à partir du régime ont été estimés chez l'adulte à entre 5,9 et 7,9 ng kg^{-1} PV j^{-1} (UB) (Fernandes et al., 2008). Ces niveaux d'exposition légèrement plus élevés que ceux estimés par l'EFSA pour le groupe d'adultes considérés comme des consommateurs fréquents de poisson, pour lesquels le niveau d'exposition était estimé à entre 1,3 (LB) et 2,8 (UB) ng kg^{-1} PV j^{-1}. Les résultats de Fernandes et al. (2008) sont cohérents avec ceux de Fromme et al. (2016), qui estimaient des niveaux d'exposition à l'HBCD par les aliments chez l'adulte d'environ de 5,9 ng kg^{-1} PV j^{-1}, de l'ordre de 14 fois plus élevés au Royaume-Uni qu'en Allemagne ou aux Etats-Unis, l'exposition étant estimée dans ces deux pays à environ 0,43 ng kg^{-1} PV j^{-1}. Les niveaux d'exposition estimés dans différents pays sont montrés dans le Tableau 2. Ce tableau est organisé par groupe de population (enfant, adulte, personnes âgées) et par ordre croissant d'exposition au sein de chaque groupe de population.

Tableau 2 : niveaux d'exposition à l'HBCD (ng kg^{-1} PV j^{-1}) estimés chez l'enfant, l'adulte et les personnes âgées dans différents pays.

Groupe de population	Niveau d'exposition ng kg^{-1} PV j^{-1}	Pays	Calcul	Principaux groupes d'aliments impliqués	Référence
Enfants	0,15-1,85	UE	LB et UB	Poisson et produits à base de poisson (83-88%), viande et produits carnés (6-9%), lait et produits laitiers (2-5%), œufs et ovoproduits (1-2%)	EFSA, 2011.
	0,32	France	UB	Viande et produits carnés (42-50%), plats combinés (14%)	Rivière et al., 2014
Adultes	0,09-0,99	UE	LB et UB	Poisson et produits à base de poisson (83-88%), viande et produits carnés (6-9%), lait et produits laitiers (2-5%), œufs et ovoproduits (1-2%)	EFSA, 2011.
	0,14	Suède	MB	Poisson (65%), produits laitiers (24%), viande (10%), œufs (1%), gras (1%).	Törnkvist et al., 2011
	0,211	France	UB	Viande et produits carnés (42-50%), poisson (14%)	Rivière et al., 2014
	0,24	Etats-Unis	LB	Viande (81%). Notamment viandes de porc (27%) et de poulet (27%)	Schecter et al., 2010
	0,43	Etats-Unis	n.r.	n.r.	Fromme et al., 2016
	0,43	Allemagne	n.r.	n.r.	
	0,432	Chine	MB	Viande (42%), poisson et produits "aquatiques" (25%), œufs (18%), lait (15%)	Shi et al., 2009
	0,8 - 1,18	Belgique	LB et UB	Viande et produits carnés (42%), "autres" (ex. pizza) (28%), produits laitiers (23%), poisson et produits à base de poisson (7%), œufs (4%)	Goscinny et al., 2011
	1,18	Roumanie	MB	Produits carnés (52%), produits laitiers (42%)	Dirtu et Covaci, 2010
	2,58	Espagne	n.r.	Poisson et produits de la mer (56%), viande (12%), produits laitiers (14%)	Eljarrat et al., 2014
	5,9-7,9	Royaume-Uni	UB	n.r.	Fernandes et al., 2008
	5,9	Royaume-Uni	n.r.	n.r.	Fromme et al., 2016
Personnes âgées	0,06-0,54	UE	LB et UB	Poisson et produits à base de poisson (83-88%), viande et produits carnés (6-9%), lait et produits laitiers (2-5%), œufs et ovoproduits (1-2%)	EFSA, 2011.

LB : lower bound ; MB : medium bound ; UB : upper bound

Caractérisation de risques

L'EFSA a procédé à la caractérisation des risques liés à l'ingestion d'aliments contaminés par l'HBCD basée sur des études des effets toxiques de l'HBCD chez des animaux, une charge corporelle de 0,79 mg kg^{-1} PV étant fixée comme point critique augmentant de 10% le risque d'altérations du comportement (précisément dans l'adaptation de l'activité motrice en réponse à des stimuli externes) chez des souris (EFSA, 2011). La marge d'exposition est calculée en comparant les niveaux d'exposition quotidiens LB et UB (ng kg^{-1} PV j^{-1}) et le niveau d'exposition associé à la charge corporelle de référence. Cette marge d'exposition a été comparée à un facteur d'extrapolation des doses toxiques tenant compte des différences pharmaco-cinétiques et pharmaco-dynamiques inter-espèces et inter-individus. Quand aucune information n'est disponible sur les variabilités inter-espèces et inter-

individus concernant les processus pharmacocinétiques et pharmacodynamiques d'une molécule, un facteur de 100 est généralement appliqué afin de couvrir ces incertitudes dans l'extrapolation des valeurs toxicologiques de référence entre les animaux et l'être humain (EFSA, 2011). Dans ce cas, certaines informations étant disponibles sur la variabilité inter-espèces et inter-individus de ces processus, ce facteur d'incertitude devient moins élevé. Cette étude conclue que les niveaux d'exposition quotidienne estimés à l'HBCD ne constituent pas un danger pour la santé des consommateurs. Fromme et al. (2016) ont calculé des marges d'exposition en comparant les niveaux d'exposition quotidiens à l'HBCD estimés pour trois classes de population (nourrissons de 3 à 6 mois, petits enfants, adultes) dans trois pays (Allemagne, Royaume Uni, Etats-Unis) aux valeurs NOAEL (niveau d'exposition sans effets adverses observables) de 10 mg kg^{-1} PV et LOAEL (plus bas niveau d'exposition présentant des effets adverses observables) de 0,9 mg kg^{-1} PV estimées par des études sur les effets toxicologiques de l'HBCD chez la souris (Ema et al., 2008; Eriksson et al., 2006). Ces auteurs ont tenu compte de l'exposition à l'HBCD par ingestion d'aliments, de poussière et par inhalation d'air extérieur et intérieur. Les marges d'exposition ont été dans tous les cas très supérieures aux limites toxicologiques considérées. Ces résultats concluent que les niveaux d'exposition humaine à l'HBCD rapportés ne représentent pas un danger pour la santé des consommateurs.

Des niveaux d'exposition oscillant entre 0,15 et 2,6 ng kg^{-1} PV j^{-1} ont été rapportés chez des enfants, des adultes et des personnes âgées par différentes études dans l'Union Européenne, des niveaux légèrement plus élevés (5,9 à 7,9 ng kg^{-1} PV j^{-1}) étant rapportés au Royaume-Uni. Les niveaux d'exposition chez l'adulte ont été estimés à 0,24-0,43 ng kg^{-1} PV j^{-1} aux Etats-Unis et en Chine. Plusieurs études concluent que ces niveaux d'exposition moyens à l'HBCD (ng kg^{-1} PV j^{-1}) ne constituent pas un danger pour la santé du consommateur.

2.1.4.3 Concentration d'HBCD dans les aliments.

Différentes études ont mesuré la concentration d'HBCD dans les principaux groupes de denrées alimentaires. Sur cet aspect, le rapport de l'EFSA (2011) rassemble des résultats de dosage d'HBCD réalisés sur plus de 1900 échantillons d'aliment dans 7 pays européens entre 2000 et 2010. Une proportion élevée des échantillons ne présente pas de concentrations détectables d'HBCD. Des concentrations moyennes inférieures à 1 ng g^{-1} lipides (UB) ont été rapportées pour toutes les DAOA à l'exception du poisson et les produits de la mer et pour les végétaux. Des concentrations plus élevées étaient mesurées chez le poisson et les produits de la mer, ces concentrations moyennes allant d'environ 15,3 (LB) à 18,1 (UB) ng d'HBCD total g^{-1} lipides. En accord avec ces résultats, les plans de surveillance et contrôle mis

en place par la Direction Générale de l'Alimentation (DGAL) en France rapportent des concentrations moyennes (ou médianes) généralement inférieures ou proches de 1 ng g^{-1} lipides dans l'ensemble des DAOA terrestres (DGAL, 2009, 2010, 2013, 2014, 2015), ainsi que dans le poisson et les produits de la mer (DGAL, 2014). D'autres études ont mesuré également des concentrations d'HBCD total inférieures ou proches de 1 ng g^{-1} lipides dans du lait, de la viande et des aliments d'origine végétale (Goscinny et al., 2011; Schecter et al., 2010), du poisson et es œufs (Shi et al., 2009). Certaines études ont rapporté des concentrations moyennes de quelques dizaines de ng g^{-1} lipides dans du poisson [environ 40 ng g^{-1} lipides ; (Goscinny et al., 2011; Hiebl and Vetter, 2007)], des œufs [16,7 ng g^{-1} lipides ; (DGAL, 2010)], de la viande bovine [11 ng g^{-1} lipides ; (Goscinny et al., 2011)] et de la viande de dinde et de canard [respectivement 14,7 et 6,5 ng g^{-1} lipides ; (Goscinny et al., 2011)]. Dans ce contexte de concentrations moyennes d'HBCD total généralement faibles dans les aliments, les concentrations maximales d'HBCD total mesurées sur certains échantillons sont extrêmement élevées. Ainsi, différentes études rapportent des concentrations maximales de quelques centaines de ng d'HBCD total par g de lipides dans des œufs [514 ng g^{-1} lipides ; (DGAL, 2010)], de la viande bovine et de la viande de porc [respectivement 380 et 464 ng g^{-1} lipides ; (DGAL, 2009)], voire des concentrations maximales en dessus de 2000 ng g^{-1} lipides dans du poisson [environ 3600 ng g^{-1} lipides chez des poissons pêchés dans des régions proches de sites industriels ; (Nakagawa et al., 2010)], dans de la viande de poulet [3055 ng g^{-1} lipides ; (DGAL, 2009)] et dans des œufs [2000 et 3390 ng g^{-1} lipides ; (DGAL, 2009; Hiebl and Vetter, 2007)]. Selon l'EFSA, l'α-HBCD était généralement l'isomère majoritaire dans les aliments (EFSA, 2011). Sur le reste des études citées ci-dessus, les isomères α- et γ- sont également prédominants par rapport à l'isomère β-, cependant les résultats rapportés montrent des profils variables, où soit l'α-HBCD soit le γ-HBCD représentent l'isomère principal dans les différentes matrices (Goscinny et al., 2011).

Des concentrations moyennes d'HBCD dans les aliments généralement inférieures ou proches de 1 ng g^{-1} MG sont rapportées dans la plupart des DAOA et dans les végétaux, plus élevées dans le poisson où des concentrations moyennes de 15 à 40 ng g^{-1} MG sont rapportées par certaines études. En contraste avec ces concentrations moyennes généralement faibles, des concentrations maximales supérieures à 300 ng g^{-1} MG ont été rapportées dans certains échantillons d'œuf et de viande, voire de l'ordre de 2000 ng g^{-1} MG dans certains échantillons de poisson, de viande et des échantillons d'œuf selon différentes études. Les isomères α- et γ-HBCD sont prédominants dans les aliments, les profils étant variables selon l'étude.

2.1.4.4 Concentration d'HBCD dans les œufs et ovoproduits dans différents systèmes d'élevage.

Les résultats de concentration d'HBCD dans les œufs sont présentés sur les Tableaux 3 et 4.

Tableau 3 : concentration d'HBCD total et des isomères α-, β- et γ-HBCD (ng g^{-1} lipides), dans des œufs en provenance de différents systèmes d'élevage en Europe.

Référence	Pays	Type d'élevage	n	Cal-cul Moy	HBCD total (ng g^{-1} lipides)			α-HBCD (ng g^{-1} lipides)	β-HBCD (ng g^{-1} lipides)	γ-HBCD (ng g^{-1} lipides)
					Moy	Méd	Max	Moy	Moy	Moy
EFSA, 2011	UE	n.r.	31 pour l'HBCD total, 94 pour les isomères	UB	0,20			0,28	0,07	0,19
DGAL, 2009	France	n.r.	40	UB		0,16	**3389**			
DGAL, 2010		n.r.	35		**16,7**	0,29	**514**			
DGAL, 2013		n.r.	20		0,34		2,5			
DGAL, 2014		n.r.	20		0,38		6,3			
DGAL, 2015		n.r.	19		0,10		0,6			
Covaci et al., 2009	Belgique	Accès à un parcours extérieur, élevage familial	10 pools de 15	LB	**6,55**	<0,4 (LQ)	**62,0**			
			10 pools de 15		**8,52**	2,85	**39,3**			
Goscinny et al., 2011	Belgique	Conventionnel	1 pool de 10	UB	<0,55 (LD)			<0,25 (LD)	<0,15 (LD)	<0,15 (LD)
		Accès à un parcours extérieur	1 pool de 10		<0,55 (LD)			<0,25 (LD)	<0,15 (LD)	<0,15 (LD)
		Biologique	1 pool de 10		<0,55 (LD)			<0,25 (LD)	<0,15 (LD)	<0,15 (LD)
Hiebl et Vetter, 2007	Allemagne	Volière	1 pool de 12	n.r.			**120**			
		Accès à un parcours extérieur, petit élevage	1 pool de 12				**2000**			
		Accès à un parcours extérieur	1 pool de 12				**30,0**			
		ns	75 pools de 12		<20 (LD)	<20 (LD)				
Eljarrat et al., 2014	Espagne	n.r.	4	n.r.			3,42	0,51	<0,05 (LD)	1,25
Knutsen et al., 2008	Norvège	n.r.	6	UB	2,13			1,18	0,41	0,54

n.r. = non renseigné

"n" : nombre d'échantillons analysés ; "Moy" : moyenne ; "Méd" : médiane ; "Max" : maximum

LD et LQ : respectivement Limites de Détection et de Quantification (ng g^{-1} lipides) d'un isomère donné ou de l'HBCD total

LB = lower bound ; UB = upper bound

Tableau 4 : concentration d'HBCD total et des isomères α-, β- et γ-HBCD (ng g^{-1} lipides), dans des œufs en provenance de différents systèmes d'élevage en Afrique, en Amérique et en Asie.

Référence	Pays	Type d'élevage	n	Cal-cul Moy	HBCD total (ng g^{-1} lipides)			α-HBCD ng g^{-1} lipides	β-HBCD ng g^{-1} lipides	γ-HBCD ng g^{-1} lipides
					Moy	Méd	Max	Moy	Moy	Moy
Polder et al., 2016	Tanzanie	Accès à un parcours extérieur, élevages familiaux	8 pools de 3-6 œufs	n.r.	**13**	4,7	**63**			
			9 pools de 6		**5,7**	1	**39**			
			4 pools de 6		1,6	0,97	4,3			
			6 pools de 3-6		3,2	2	9,5			
			1 pool de 6				**56**			
Rawn et al., 2011	Canada	Conventionnel	41	LB		0,04	**28,4**	0,025	< 0,006 (LD)	< 0,006 (LD)
		Volière, sans accès à un parcours extérieur	31			0,03	2,2	0,028	< 0,006 (LD)	< 0,006 (LD)
		Œufs enrichis en omega-3	30			0,13	1,6	0,121	< 0,006 (LD)	< 0,006 (LD)
		Accès à un parcours extérieur	30			0,13	2,9	0,131	< 0,006 (LD)	< 0,006 (LD)
		Biologique	30			0,14	**71,9**	0,128	< 0,006 (LD)	< 0,006 (LD)
Schecter et al., 2010	Etats-Unis	n.r.	1 pool de 10	LB	<0,1 (LD)					
Shi et al., 2009	Chine	n.r.	12	MB				0,277		
Zheng et al., 2012	Chine	Accès à un parcours extérieur*, élevages familiaux	8	n.r.	**105**					

"n" : nombre d'échantillons analysés ; "Moy" : moyenne ; "Méd" : médiane ; "Max" : maximum

LD : limite de Détection (ng g^{-1} lipides) d'un isomère donné ou de l'HBCD total

*Site de référence dans une région présentant une forte activité de recyclage de matériaux électroniques

LB = lower bound ; UB = upper bound. n.r. = non renseigné.

Un dosage de l'HBCD a été réalisé dans des jaunes d'œuf en provenance de différents systèmes de production au Canada, précisément des élevages de type a) conventionnel, b) volière, sans accès à un parcours extérieur, c) alimentation des poules enrichie en acides gras n-3, d) accès à un parcours extérieur, e) biologique (Rawn et al., 2011). L'HBCD était détecté dans 85% des jaunes d'œuf analysés, avec des concentrations médianes d'HBCD total situées entre 0,03 et 0,14 ng g^{-1} lipides dans l'ensemble des systèmes d'élevage étudiés et des concentrations maximales de 28,4 et 71,9 ng g^{-1} lipides mesurées respectivement

dans certains échantillons d'élevages conventionnels et biologiques. Les isomères α-, β- et γ-HBCD représentaient respectivement environ 87, 1 et 12% de l'HBCD total. Le type d'élevage ne présentait pas d'influence significative sur le niveau de contamination des œufs. En Belgique, les isomères α-, β- et γ-HBCD ont été dosés dans des œufs en provenance d'élevages a) conventionnels, b) avec accès à un parcours extérieur et c) biologiques (Goscinny et al., 2011). Les trois isomères se trouvaient en dessous de la limite de détection dans tous les cas. Les auteurs indiquent l'effet de dilution que le rassemblement des échantillons individuels en des pools de 10 œufs provoque sur la concentration de contaminant, qui peut masquer une concentration en dessus de la limite de détection dans certains œufs. En Belgique également, l'HBCD total a été dosé dans des œufs en provenance d'élevages familiaux avec accès à un parcours extérieur (Covaci et al., 2009). Les résultats de ces auteurs montrent des taux de détection de 30% en automne et de 80% au printemps, avec des concentrations médianes non détectable et de 2,85 ng g^{-1} lipides respectivement. Des concentrations maximales de plusieurs dizaines de ng g^{-1} lipides étaient rapportées, en accord avec les concentrations maximales mesurées par Rawn et al. (2011).

En Tanzanie, des concentrations moyennes entre 1,6 et 13 ng g^{-1} lipides ont été mesurées dans des œufs en provenance de petits élevages avec accès des poules à un parcours extérieur (Polder et al., 2016). Les concentrations d'HBCD étaient détectables dans plus de 50% des échantillons (entre 50 et 100% des échantillons selon la zone d'étude). Des concentrations maximales de 39 et 63 ng g^{-1} lipides ont été rapportées par cette étude. Ces concentrations moyennes d'HBCD sont plus élevées que les résultats rapportés par d'autres études. Les auteurs expliquent que la région étudiée en Tanzanie a subi une croissance rapide de la population et une urbanisation croissante pendant les dernières années, ce qui a pu influencer les niveaux de contamination environnementale en HBCD. Dans le même sens, des concentrations moyennes d'HBCD total élevées, de l'ordre de 105 ng g^{-1} lipides, ont été mesurées dans des œufs en provenance d'élevages familiaux avec accès à un parcours extérieur en Chine (Zheng et al., 2012). Ce résultat correspond à des élevages de référence qui se trouvent dans une région chinoise où le recyclage de matériaux électroniques est important. Ces concentrations sont de l'ordre de 300 fois plus élevées que dans des œufs commerciaux analysés en Chine (Shi et al., 2009), ces auteurs ayant rapporté des concentrations d'α-HBCD (isomère majoritaire selon cette étude) de l'ordre de 0,3 ng g^{-1} lipides. Ces résultats suggèrent que l'accès à un parcours extérieur peut favoriser l'exposition à ce contaminant environnemental notamment dans des régions où la contamination environnementale est potentiellement élevée, ce qui a été évoqué préalablement (cf. 2.1.3).

Dans le cadre d'un plan de surveillance des aliments en Allemagne, des concentrations détectables et élevées d'HBCD total dans 4% des échantillons d'œuf analysés ont été rapportées (Hiebl and Vetter, 2007). Les trois échantillons positifs provenaient respectivement d'élevages de type volière (120 ng g^{-1} lipides) et d'élevages avec accès à un parcours extérieur (30 et 2000 ng g^{-1} lipides). La concentration très élevée d'HBCD total rapportée dans l'un des échantillons a été attribuée à une contamination accidentelle des poules par ingestion de matériaux contaminés, auxquels les animaux pouvaient avoir accès dans le petit élevage d'origine. Le taux de détection réduit dans cette étude peut être expliqué tant par la limite de détection très élevée (20 ng g^{-1} lipides) dans le système de détection appliqué par ces auteurs par rapport aux limites de détection généralement inférieures à 1 ng g^{-1} lipides dans d'autres études, ainsi qu'à l'effet de « dilution » par rassemblement des échantillons (pools). L'effet de dilution suggéré par Goscinny et al. (2011) est à considérer en particulier dans l'étude de Hiebl et Vetter (2007) en lien avec les concentrations maximales très élevées retrouvées dans certains pools d'échantillons. En effet, ces concentrations maximales représentent la moyenne retrouvée dans les 12 œufs constituant le pool. Cela veut dire que des concentrations plus élevées pourraient être retrouvées dans certains œufs individuels.

L'ingestion d'un seul œuf (environ 60 g de poids, 11,6% de lipides ; Nys et Guyot, 2011), présentant une concentration d'HBCD de 2000 ng g^{-1} lipides, représente un niveau d'exposition chez l'adulte (environ 65 kg) de plus de 200 ng kg^{-1} PV en un seul jour. Ce niveau d'exposition en un jour est entre 200 et 2000 fois plus élevé que les niveaux d'exposition estimés par L'EFSA (2011) chez l'adulte, qui étaient d'entre 0,09 (LB) et 0,99 (UB) ng kg^{-1} PV j^{-1} (Tableau 2).

La concentration d'HBCD (ng g^{-1} MG) a été mesurée dans des œufs en provenance de différents types d'élevage. Des taux de détection d'HBCD allant jusqu'à 85% des échantillons analysés ont été rapportés. L'α-HBCD est généralement l'isomère majoritaire dans les œufs. Certaines études concluent sur l'absence d'influence du type d'élevage dans les niveaux de contamination des œufs, tandis que d'autres résultats suggèrent une exposition des poules au contaminant plus élevées dans des élevages avec accès à un parcours extérieur, notamment dans des régions où la contamination environnementale est élevée. Une concentration maximale de 2000 ng g^{-1} MG était mesurée sur un échantillon dans un petit élevage et attribuée à une contamination accidentelle par ingestion de matériaux contaminés, auxquels les poules pouvaient avoir accès. L'ingestion d'un seul œuf présentant cette concentration maximale d'HBCD représente un niveau d'exposition 200 à 2000 fois plus élevé que les niveaux d'exposition moyens estimés dans différents pays.

2.2 Principes liés à la toxicocinétique des POP et le devenir de l'HBCD chez l'animal.

Quand l'animal est exposé aux POP, ces molécules sont *absorbées* par la voie d'exposition en question vers la circulation sanguine qui réalise leur *distribution* vers les différents tissus de l'organisme, certains de ces tissus étant capables de *métaboliser* ces molécules afin de favoriser leur *élimination*. Ces étapes sont connues par les sigles ADME et seront abordées en détail sur les points 2.2.2 et 2.2.3. La physiologie de l'animal présente une influence directe sur l'enchainement de ces étapes. Ainsi, par exemple, chez des molécules dont l'exposition se fait principalement par voie orale, le niveau d'ingestion peut influencer la quantité de molécule à laquelle l'animal se retrouve exposé. Ce niveau d'ingestion peut être important quand la source d'exposition par ingestion est la poussière, ou des aliments contaminés comme c'est souvent le cas lors d'expérimentations de cinétique. Ensuite, la distribution de la molécule vers les différents tissus de l'organisme sera influencée par des facteurs tels que la taille des tissus, leur irrigation et dans le cas des molécules lipophiles de la concentration de lipides dans chaque tissu. Toutes ces caractéristiques sont dépendantes du stade physiologique de l'animal. Chez la poule en ponte, l'élimination d'une partie de ces molécules dans l'œuf pondu diminue la quantité de molécule restant dans l'organisme. D'autres caractéristiques physiologiques telles que la lipémie (concentration de lipides dans le sang) subissent des modifications chez la poule en ponte et présentent une influence déterminante sur la distribution des molécules dans le corps. Les caractéristiques physiologiques principales qui peuvent présenter une influence sur les étapes ADME des POP chez la poule pondeuse sont détaillées ci-dessous (2.2.1).

2.2.1 Généralités sur la physiologie de la poule pondeuse

2.2.1.1 Physiologie de la croissance

La croissance de la volaille et le développement des différents tissus dépendent de facteurs comme l'âge, la souche, le sexe, le système d'élevage et le programme alimentaire appliqué pendant la période d'élevage (Sakomura et al., 2011; Sturkie, 1986). Les besoins nutritionnels de l'animal peuvent être classés en besoins d'entretien (dépenses liées au fonctionnement normal de l'organisme et au renouvellement cellulaire) et besoins de production (besoins liés à la croissance, à l'exercice ou à la ponte chez la poule mature). Ils varient donc en fonction du stade physiologique de l'animal. Les besoins d'entretien peuvent être influencés par des facteurs comme la température ambiante ou le poids vif. La poule en croissance est spécialement sensible au niveau protéique du régime ; quand celui-ci permet

de satisfaire les besoins en protéines, l'énergie ingérée devient le facteur nutritionnel limitant pendant la croissance. A l'âge de maturité sexuelle, quand commence la croissance rapide des follicules dans l'ovaire, l'énergie ingérée reste le facteur critique pour cette période de fin de croissance et de mise en place de la ponte. A ce stade augmentent d'ailleurs les besoins nutritionnels en calcium, en lien avec la mise en place de la ponte (Leeson and Summers, 1989; NRC, 1994). La poule pondeuse peut atteindre environ 1,7 kg de PV à 21-22 semaines d'âge (ISApoultry, ; Joice&Hill).

La contribution des différents tissus au poids vif varie pendant la croissance. Des équations proposées par différents auteurs permettent de relier la dimension d'un tissu (cette dimension pouvant faire référence à son poids, sa taille ou sa surface) et le poids vif. Ces équations présentant la structure : Dimension tissu = a x PV + b, où « b » est une fonction exponentielle de la constante d'allométrie et « a » le coefficient d'allométrie du tissu (Ibe and Nwakalor, 1987; Tickle et al., 2014). Quand la « dimension » du tissu fait référence à son poids, un coefficient d'allométrie de 1 indique une croissance isométrique du tissu par rapport au gain de PV. Quand le coefficient est supérieur ou inférieur à 1, la croissance du tissu est allométrique par rapport au gain de PV (Tickle et al., 2014). D'autres caractéristiques physiologiques comme le débit cardiaque varient également avec le PV (MacLachlan, 2010; Scanes, 2014; Wideman, 1999).

La croissance des tissus se produit à un taux propre à chaque tissu et généralement différent du taux de croissance corporel. C'est ce qu'on appelle la « croissance allométrique » des tissus. Les besoins nutritionnels de la poule pondeuse varient selon plusieurs facteurs et notamment selon le stade physiologique de l'animal. A l'âge de maturité sexuelle, l'énergie est le facteur limitant pour la mise en place de la ponte, les besoins en calcium augmentant également en lien avec la ponte.

2.2.1.2 Physiologie de la ponte

La poule atteint sa maturité sexuelle vers 16 semaines d'âge, c'est-à-dire 2 à 3 semaines avant la ponte du premier œuf (Nys and Guyot, 2011). A cet âge, la lipogenèse hépatique est augmentée sous l'influence des œstrogènes et de la progestérone, augmentation d'environ 10-15 fois par rapport aux niveaux observés chez la poule « non en ponte » (Nys and Guyot, 2011; Sauveur, 1988). Le profil des lipides du foie est également modifié chez la poule en ponte avec augmentation de la proportion de triglycérides en dépit de la proportion de cholestérol (Entenman et al., 1940; Thayer et al., 1973; Zhang et al., 2011a). Des

lipoprotéines de très faible densité (VLDL) présentant une protéine spécifique apo-VLDL-II seront synthétisées dans le foie à partir de cet âge, ces lipoprotéines permettant un transfert de lipides exclusivement vers le jaune et pas vers d'autres tissus (2.2.3.2) (Nys and Guyot, 2011; Sauveur, 1988).

La lipémie (concentration de lipides dans le sang) augmente aussi chez la poule en ponte. Des augmentations de la lipémie d'entre 2 à 8 fois (Balnave, 1971; Renema et al., 1999; Robinson et al., 2001; Yu et al., 1976) et jusqu'à 20 fois (Nys and Guyot, 2011) sont rapportées dans la littérature chez la poule en ponte, par rapport à sa valeur chez la poule « non en ponte ». Burnham et al. (2003) mentionnent une corrélation positive entre le taux de ponte et la concentration de lipides dans le plasma. Par ailleurs, le profil des lipides du sang est modifié chez la poule en ponte. Ainsi Burnham et al. (2003) rapportent une augmentation de la concentration plasmatique de triglycérides et de cholestérol. Yu et al. (1976) ont mesuré des concentrations plasmatiques de triglycérides plus élevées chez la poule en ponte que chez la poule « non en ponte ».

La concentration de lipides corporels est également plus élevée chez la poule en ponte. Robinson et al. (2001) ont mesuré des concentrations de lipides dans le corps représentant environ 6-8% du PV en début de ponte et 18-20% au pic de ponte.

A partir de la maturité sexuelle et pendant la ponte, certains follicules présents dans l'ovaire subissent une croissance différentielle selon une hiérarchie déterminée par des hormones du système nerveux central (principalement l'hormone stimulante du follicule, FSH et l'hormone luteinizante, LH) et par des facteurs de régulation ovariens. L'hormone FSH est considérée à la base du recrutement folliculaire et des premiers stades de croissance rapide des follicules. Les follicules pré-ovulatoires deviennent plus sensibles à la LH pendant les dernières phases de leur croissance rapide. Des régulations paracrines ont également lieu pendant la croissance folliculaire par des facteurs de croissance et d'autres facteurs qui modulent la sensibilité à la FSH, produits principalement par des cellules de la paroi folliculaire et par le disque germinal du follicule (Nys and Guyot, 2011). Entre 5 et 8 follicules subiront une croissance rapide pendant 7-11 jours, lors de laquelle ils accumuleront des protéines et les lipides transportés dans le sang dans les lipoprotéines synthétisées dans le foie pour un transfert de lipides vers le jaune (Nys and Guyot, 2011). Le début de la croissance rapide de chaque follicule est décalé d'environ 24 h par rapport au follicule précédent dans la hiérarchie. Quand le follicule est mature il est ovulé, c'est-à-dire il est transféré de l'ovaire vers l'oviducte, où il entre au travers de l'infundibulum. Puis, le jaune passe environ 4 h dans le magnum où se produit le dépôt de la membrane péri-vitelline qui sépare le jaune et le blanc, ainsi que le dépôt des protéines du blanc d'œuf et une

hydratation partielle du blanc. Les membranes coquillères sont sécrétées dans l'isthme. Ensuite l'œuf passe dans l'utérus où il reste 20 h pour l'hydratation et la minéralisation de la coquille, ainsi que la sécrétion d'une cuticule externe. La ponte survient environ 1,5 h après achèvement de la coquille. La durée totale depuis l'ovulation à la ponte est d'environ 24-25 h chez des poules appartenant à des souches pondeuses sélectionnées, pouvant durer jusqu'à 27 h chez des poules peu productives (Nys and Guyot, 2011). Chaque jaune est ovulé généralement 15 à 45 minutes après la ponte du jaune précédent (Nys and Guyot, 2011). La durée de la photopériode étant fixe de 24 h, ce décalage de plus de 24 h depuis l'ovulation d'un follicule à l'initialisation de la croissance d'un nouveau follicule dans l'ovaire finit par imposer chez l'animal un jour où il n'y a pas de ponte appelé « jour de pause ». La période pendant laquelle un œuf est pondu par jour est nommée « série » ou « séquence » et peut durer jusqu'à environ 30 jours (Nys and Guyot, 2011). Sauveur (1988) indique une relation inverse entre le nombre d'heures écoulées entre pontes d'une même série et la longueur de la la série. C'est comme si toutes les pontes de la série pouvaient devaient présenter un décalage total d'environ 8 heures (Sauveur, 1988).

L'œuf de poule présente un poids d'entre 50 et 70 g et est composé d'environ 31% de jaune, 59% de blanc et 10% de coquille (Nys and Guyot, 2011). L'œuf contient environ 74,4% d'eau, 12,3% de protéines et 11,6% de lipides. Tous les lipides sont contenus dans le jaune sous forme de lipoprotéines et représentent environ 35% du poids frais du jaune. Les triglycérides constituent plus de deux tiers (65%) de ces lipides, le reste étant constitué de phospholipides et de cholestérol (31 et 4% respectivement) (Nys and Guyot, 2011). Le poids de l'œuf et la proportion de jaune dans l'œuf augmentent avec l'âge (Adams and Bell, 1998; Icken et al., 2014). Le poids de l'œuf est corrélé avec le poids vif de l'animal. Ce poids de l'œuf peut être augmenté par des modifications du régime telle une augmentation de son contenu énergétique (NRC, 1994).

L'intensité de ponte ou « courbe de ponte » d'un troupeau (%) peut être calculée pour une période donnée (jours, j) par l'Eq. 1, où NbO est le nombre d'œufs pondus par le troupeau pendant la période donnée et $NP_1+NP_2+\ldots+NP_j$ le nombre de poules présentes dans le troupeau chaque jour comptabilisé (Sauveur, 1988).

Eq. 1	$IP = \frac{NbO \times 100}{NP_1+NP_2+..+NP_j}$

La courbe de ponte d'un troupeau présente une partie ascendante progressive, d'une durée d'environ 6 semaines. Cela s'explique parce que les poules du troupeau n'entrent pas en maturité sexuelle exactement au même âge. En réalité au niveau individuel, une poule est

capable d'une ponte régulière depuis quelques jours après l'entrée en ponte. Après cette augmentation progressive de la courbe de ponte du troupeau, un pic de ponte maximal est atteint, et survient par la suite un lent déclin progressif du taux de ponte (Sauveur, 1988). Au niveau individuel, le pic de ponte d'une poule donnée persiste plusieurs semaines avant de commencer à décliner (Grossman and Koops, 2001).

Le programme alimentaire des poules en ponte doit être adapté à la souche correspondante. Plusieurs études indiquent que l'état corporel de la poule en début de ponte peut présenter une influence importante sur ses performances reproductives. Une étude a été menée pour étudier parmi d'autres facteurs l'effet du PV en début de ponte sur les performances reproductives chez des poules pondeuses Lohmann brown entre 22 et 50 semaines d'âge (Perez-Bonilla et al., 2012). Cette étude montre que les poules à PV plus élevé en début de ponte présentent un taux de ponte, un poids de l'œuf et niveau d'ingestion plus élevés que celles à PV bas. L'indice de consommation (kg d'aliment ingéré kg^{-1} d'œuf produit) n'était pas significativement différent entre les poules lourdes et légères, et exprimé par douzaine d'œufs, l'indice de consommation était plus élevée chez les poules lourdes. C'est-à-dire l'augmentation apparente des performances de ponte chez des poules lourdes se fait au prix d'un niveau d'ingestion plus élevé. Pour des poules pondeuses de souche Leghorn, une alimentation ad libitum est en général adéquate jusqu'au pic de ponte en vue de leur niveau de consommation bas vis-à-vis d'un taux de ponte élevé, un rationnement étant souvent appliqué ensuite. En effet les besoins de production de la poule diminuent avec le déclin de la ponte, et un maintien de l'alimentation ad libitum favoriserait un engraissement de la poule sans améliorer le taux de ponte. Des équations permettent d'estimer les besoins énergétiques de la poule en ponte en fonction de facteurs comme le poids vif (kg), le poids d'œuf pondu au quotidien ($g\ j^{-1}$), le gain de poids vif ($g\ j^{-1}$) et la température ambiante (ce dernier facteur étant important chez des poules soumises à des changements saisonniers de température). En général, avec la progression dans la courbe de ponte, les besoins protéiques diminuent et les besoins en calcium augmentent (NRC, 1994).

Après le premier cycle de ponte, autour de 69 semaines d'âge, se produit un arrêt de ponte lié généralement à une « mue » (renouvellement total ou partiel des plumes) qui permet une régénération partielle des tissus reproducteurs (Bell, 2003; Sauveur, 1988). L'induction de la mue permet d'utiliser les poules pendant un deuxième voire un troisième cycle de ponte. Une deuxième mue peut être mise en place vers 104 semaines d'âge. Des facteurs tel le prix des œufs peuvent modifier de quelques semaines la date de mise en place de la mue (Bell, 2003). Quand la mue intervient naturellement chez la poule, elle risque de durer environ 16 semaines. Cependant, il est possible de mettre en œuvre différentes méthodes

pour raccourcir sa durée à environ 8 à 10 semaines voire à 3-4 semaines ; cela n'est possible qu'en absence de mue ou en présence d'une mue limitée (Sauveur, 1988). Parmi les méthodes d'induction de la mue, différentes méthodes efficaces existent telle l'application d'un jeûne forcé pendant entre 5 et 13 jours, ou la distribution d'aliments à faible teneur en énergie, en protéines ou en certains minéraux (Bell, 2003; Koelkebeck and Anderson, 2007). Lors de la mue, les follicules subissent une atrésie (Sauveur, 1988). Une atrésie par « éclatement » du follicule, caractérisée par une rupture de la paroi folliculaire et une résorption de ses composants dans le stroma ovarien a été décrite pour des follicules > 1 mm de diamètre, tandis qu'une simple résorption a été décrite pour de plus petits follicules (Gupta et al., 1988).

La perte de poids pendant la mue se situe autour de 20-25%. La reprise de poids en deuxième moitié de mue doit être progressive et la ponte recommence quand les poules ont récupéré leur poids initial (Sauveur, 1988). La concentration de lipides corporels est de 13% pendant la mue, lorsque le poids corporel est le plus faible (vs. 18-20% au pic de ponte) et de 19% lorsque la ponte reprend (Hoyle and Garlich, 1987; Robinson et al., 2001). Pendant la mue, la somme des pertes de poids du tissu adipeux, de l'ovaire, de l'oviducte et du foie représente selon Sauveur (1988) un quart de la perte corporelle totale. Sur certains tissus, une réduction dans la contribution des lipides au poids du tissu a aussi été observée, comme dans le foie (Garlich et al., 1984; Sauveur, 1988), les muscles pectoraux et les muscles des cuisses (Javaid et al., 2011). Plusieurs paramètres sanguins sont également modifiés pendant la mue. En effet, la lipémie sanguine diminue à des valeurs « non en ponte » et le profil des lipides sanguins est modifié avec une diminution de la proportion de triglycérides (Yu et al., 1976). L'hématocrite (%), c'est-à-dire la proportion du volume occupé par les globules rouges dans le volume du sang total, augmente pendant la mue d'environ 17% sa valeur précédant la mue (Bell et al., 1965; Brake and Thaxton, 1979).

Les performances des poules pondeuses pendant le premier, le deuxième et le troisième cycle de ponte ont été comparées par une étude longitudinale réalisée sur 350 élevages (Bell, 2003). La plus grande différence entre cycles était observée pour le poids de l'œuf, qui était en moyenne d'environ 57, 63 et 64 g respectivement lors du 1er, 2ème et 3ème cycles de ponte. Le taux de ponte au pic de la courbe de ponte était en moyenne respectivement de 90, 80 et 75%. Garlich et al. (1984) ont mesuré également des taux de ponte de 90 et 80% respectivement au pic de ponte des 1er et 2ème cycles de ponte. Le taux de ponte était amélioré après la mue (70%), en comparaison avec son niveau quelques semaines avant la mue (63%) (Garlich et al., 1984). Le niveau d'ingestion était similaire pendant les trois cycles de ponte (Bell, 2003).

A l'âge de maturité sexuelle chez la poule pondeuse, la lipogenèse hépatique augmente avec une production dans le foie de lipoprotéines destinées à un transfert de lipides vers le jaune. La concentration en lipides dans le sang et la proportion de triglycérides dans ces lipides augmente. La concentration de lipides corporels peut atteindre 18-20% au pic de ponte. La ponte se produit grâce à une croissance de plusieurs follicules simultanément dans l'ovaire, chacun à un stade de croissance différent. Après 7-11 jours, le follicule mature est ovulé en tant que jaune, le blanc et la coquille sont synthétisés par l'appareil reproducteur et 24-25 h après l'ovulation, l'œuf est pondu. Vers 69 semaines d'âge, après le 1er cycle de ponte, un arrêt de ponte lié à une « mue » peut être induit, ce qui permet une régénération partielle des tissus reproducteurs et l'utilisation des poules pendant un 2ème cycle de ponte. Plusieurs paramètres physiologiques sont modifiés dont le poids vif, qui diminue d'environ 20-25% en début de mue, avant reprise de ce PV en fin de mue. La concentration de lipides corporels diminue, le poids des tissus dont notamment le tissu adipeux, les tissus reproducteurs et le foie sont réduits. La concentration en lipides dans le sang et la proportion de triglycérides dans ces lipides diminuent. L'hématocrite augmente.

Ces modifications dans la composition corporelle selon le stade physiologique influencent les étapes d'absorption, distribution, métabolisme et excrétion des POPs dans l'organisme.

2.2.2 Introduction aux principaux concepts utilisés en toxicocinétique

Différents concepts seront abordés dans cette partie, décrivant des phénomènes liés aux processus toxicocinétiques ou étapes **ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion)** subies par une molécule dans un organisme exposé à la dite molécule. Les définitions et équations détaillées ci-dessous sont générales et pour la plupart extraites ou basées sur les lignes directrices de l'OCDE (2012). Pour des molécules où le niveau d'exposition peut présenter une influence sur la valeur de ces paramètres, il convient de calculer séparément les différents paramètres à partir des résultats obtenus sur chaque niveau d'exposition (OECD, 2012). La toxicodynamique de la molécule, c'est-à-dire les mécanismes de toxicité par lesquels certaines concentrations de la molécule donnent lieu à des effets adverses dans certains tissus ou dans l'organisme (Andersen, 1995) n'est pas abordée ici. En effet la toxicité est hors du champ d'étude de cette thèse.

Suite à l'ingestion d'une matrice contaminée, une fraction du contaminant sera solubilisée depuis cette matrice dans le tube digestif, étant susceptible d'être absorbée ensuite. Il s'agit de la fraction de contaminant ingéré « **bioaccessible** » dans le tube digestif. Des facteurs comme le contenu de carbone organique dans la matrice contaminée, la lipophilicité de la

molécule, la concentration lipidique dans le contenu digestif, le pH du milieu intestinal, ou la quantité de sels biliaires sécrétés par l'animal pour la digestion des lipides peuvent influencer cette bioaccessibilité de la molécule dans le tube digestif (Renwick, 2001; Ruby et al., 2016). La « **biodisponibilité** » fait référence à la fraction du contaminant ingéré qui, après absorption dans la paroi intestinale, est distribuée vers les tissus par la circulation générale (Ruby et al., 2016). La possibilité de métabolisation d'une molécule dans la paroi intestinale ou lors du premier passage dans le foie peut influencer la quantité de molécule qui atteint la circulation générale (Renwick, 2001).

Les termes **« efficacité d'absorption digestive (AbD, %) »** et **« efficacité d'absorption digestive apparente (AbDap, %) »** représentent la fraction de la quantité de molécule ingérée qui est absorbée dans l'intestin. De façon résumée, l'AbDap fait référence à la différence entre la quantité de molécule ingérée et la quantité de molécule qui ressort dans les fèces. Le terme « apparente » indique que l'AbDap ne tient pas compte d'une possible élimination d'une partie de molécule absorbée et métabolisée par diffusion de la molécule depuis la paroi intestinale vers le contenu digestif. L'efficacité d'absorption digestive (AbD, %) représente la quantité de molécule ingérée qui n'est pas absorbée dans l'intestin.

Chez un animal exposé à un POP, la concentration de la molécule augmente dans l'organisme avec le temps d'exposition jusqu'à atteindre un plateau. La concentration de la molécule chez l'animal (ou dans un tissu) se stabilise et n'augmente plus dans le temps ; c'est le **stade d'équilibre** de transfert. Des exemples de non rapprochement du plateau et de rapprochement de celui-ci en fin d'exposition sont montrés dans la Figure 1 pour la concentration d'α- et de β-HBCD (ng g^{-1} MS) dans des viscères de poisson (Zhang et al., 2014).

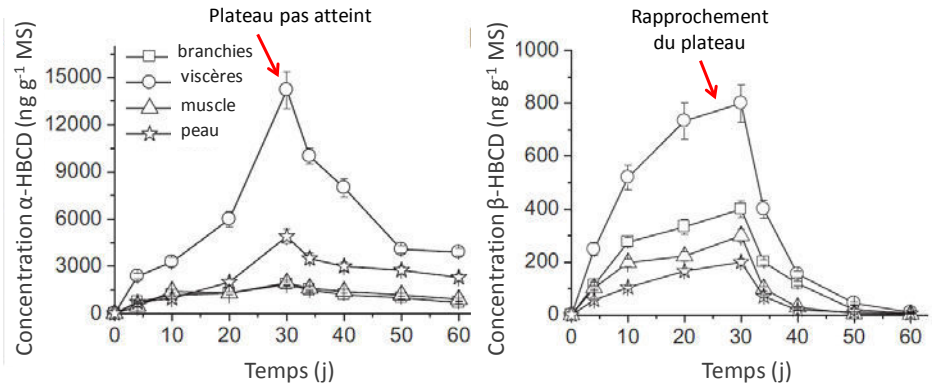


Figure 1 : concentration de l'α-HBCD (gauche) et de β-HBCD (droite) (ng g^{-1} MS) dans différents tissus pendant 30 jours d'exposition suivis de 30 jours de décontamination chez le poisson (Zhang et al., 2014). Adapté avec permission d'Elsevier, Journal of Hazardous Materials, Copyright © 2014 Elsevier

La **bioconcentration** est l'atteinte d'une concentration d'une molécule dans l'organisme plus élevée que sa concentration dans le milieu contaminé. Le facteur de bioconcentration à l'équilibre (BCF_{ss}, L g^{-1}) d'une molécule dans un organisme peut être calculé par l'Eq. 2, où C_{org} (ng g^{-1}) est la concentration de la molécule dans l'organisme (ou dans un tissu) à l'équilibre et C_{milieu} la concentration dans le milieu contaminé (ng L^{-1}) pendant l'exposition.

Eq. 2	$\mathrm{BCF_{ss}} = \frac{\mathrm{C_{org}}}{\mathrm{C_{milieu}}}$

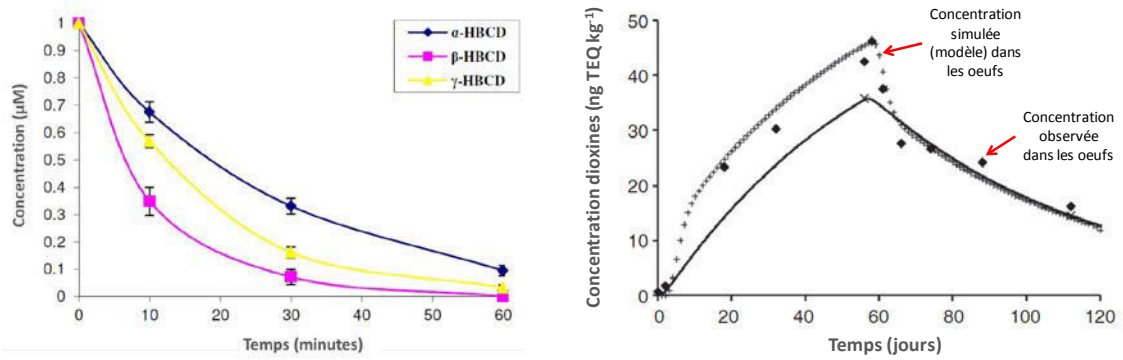
Pour des molécules lipophiles présentant une voie orale d'exposition, où la source d'exposition expérimentale est constituée généralement d'aliments contaminés, ce n'est pas le BCF qui est utilisé mais le facteur de **biomagnification** (BMF). La biomagnification peut être définie comme l'augmentation de la concentration de la molécule dans un organisme ou tissu par rapport à la concentration dans l'aliment. Le BMF à l'équilibre (BMF_{ss}, g g^{-1} MG) peut être calculé par l'Eq. 3, où C_{org} (concentration de la molécule dans l'organisme ou tissu à l'équilibre) peut être exprimée en ng g^{-1} MG et C_{alim} est la concentration de la molécule dans l'aliment (ng g^{-1}). L'expression de C_{org} en ng g^{-1} MG pour des molécules lipophiles permet de s'affranchir des différences de concentration dues au contenu lipidique des échantillons. Le BMF_{ss} est exprimé dans ce cas en g g^{-1} MG.

Eq. 3	$\mathrm{BMF_{ss}} = \frac{\mathrm{C_{org}}}{\mathrm{C_{alim}}}$

Une utilisation différente du concept de biomagnification existe en lien avec l'atteinte de concentrations plus élevées d'une molécule dans les organismes prédateurs que dans les proies d'une chaine alimentaire. Il s'agit précisément de l'augmentation de la concentration normalisée de la molécule sur la base des lipides (quantité de contaminant / quantité de lipides dans l'organisme) dans les derniers maillons de la chaine alimentaire (Kelly and Gobas, 2001; Kelly et al., 2004) (Jandacek and Tso, 2001; Weber and Goerke, 2003). Dans cette thèse, ce n'est pas la biomagnification au niveau de la chaine alimentaire mais celle dans l'organisme d'un animal exposé (Eq. 3) qui sera utilisé par la suite.

A la suite d'une période d'exposition à un POP l'animal peut être soumis à une période de décontamination, c'est-à-dire un arrêt de l'exposition au polluant permettant de réduire la charge corporelle de celui-ci. En effet, la concentration de la molécule dans un système biologique (généralement l'organisme ou un tissu donné) diminue avec le temps de décontamination. La décontamination d'un système biologique suit généralement soit une cinétique de 1er ordre, ce qui signifie que le taux de décontamination est proportionnel à la

concentration de la molécule dans le système pendant la décontamination (Figure 2 A; Abdallah et al., 2014), soit de 2ème ordre, ce qui signifie que le taux de décontamination est proportionnel au carré de la concentration de la molécule dans le système lors de la décontamination (Figure 2 B, concentration simulée et observée dans les œufs ; MacLachlan, 2010). Quand on représente la concentration de la molécule en fonction du temps de décontamination, la courbe cinétique de 2ème ordre présente deux phases différenciées, une première de décontamination rapide et une deuxième où la décontamination se ralentisse et la pente de la courbe s'aplatit.



A. *Abdallah et al. (2014)* ***B.*** *MacLachlan (2010)*

Figure 2. A : concentration (µM) d'α-, β- et γ-HBCD dans le milieu pendant 60 minutes d'incubation avec des fractions hépatiques de rat (adapté avec permission d'ACS, Environmental Science & Technology, Copyright © 2014 American Chemical Society). B : concentrations (ng TEQ kg^{-1}) de dioxines simulées et observées dans le tissu adipeux et dans les œufs (matrice d'intérêt marquée sur le graphique), pendant 60 jours d'exposition suivis de 60 jours de décontamination (adapté avec permission de Taylor & Francis, Food Additives & Contaminants, Copyright © 2010 Taylor & Francis)

Les équations utilisées ensuite sont applicables à des situations où la cinétique de décontamination est de 1er ordre. Leur application n'exige pas l'atteinte du stade d'équilibre pendant l'exposition bien que l'atteinte de ce plateau permet d'obtenir des résultats plus précis. Pour des molécules lipophiles qui font l'objet de cette thèse, une adaptation des équations générales proposées par l'OCDE (2012) est réalisée en exprimant les concentrations de la molécule dans l'organisme ou dans les tissus en ng g^{-1} MG.

La constante de décontamination de 1er ordre d'une molécule dans l'organisme ou dans un tissu ($\mathbf{k_d}$, j^{-1}) peut être estimée à partir des données de concentration de la molécule dans l'organisme pendant la décontamination par l'Eq. 4, où $C_{org}(t)$ est la concentration de la molécule dans l'organisme (ou dans un tissu, ng g^{-1} MG) en fonction du temps de décontamination (t_d, j), et $C_{org}(0)$ la concentration de la molécule dans l'organisme ou tissu (ng g^{-1} MG) au démarrage de la décontamination.

Eq. 4	$C_{org}(t) = C_{org}(0) \times e^{-k_d \times t_d}$

En lien avec le concept de facteur de biomagnification, **l'efficacité d'assimilation (EA, %)** peut être calculée par l'Eq. 5 où les deux termes sont exprimés dans la même unité (ex. ng) (Du et al., 2012; Law et al., 2006).

Eq. 5	$\mathrm{EA} = \frac{\text{Quantité de molécule dans le corps} \times 100}{\text{Quantité ingérée de la molécule}}$

Ensuite, le **facteur de bioaccumulation** (**BMF**, sans unités) peut être estimé par l'Eq. 6, où « I » représente le taux d'ingestion (g aliment g^{-1} PV j^{-1}). A la différence du BMF_{ss}, calculé sur des données d'exposition avec atteinte de l'état d'équilibre, le calcul du BMF peut être réalisé sur des données de cinétique quand l'équilibre n'a pas été atteint.

Eq. 6	$\mathrm{BMF} = \frac{\mathrm{I} \times \mathrm{EA}}{\mathrm{k_d}}$

L'ajustement de l'Eq. 7 sur les données mesurées pendant l'exposition, en utilisant la valeur estimée de k_d, permettra d'estimer la constante de contamination de 1er ordre de la molécule dans l'organisme ou dans un tissu (**k_u**, kg kg^{-1} MG j^{-1}).

Eq. 7	$\mathrm{C_{org}(t)} = \mathrm{C_{alim}} \times \frac{\mathrm{k_u}}{\mathrm{k_d}} \times (1 - \mathrm{e}^{-\mathrm{k_d} \times \mathrm{t}})$

Le **temps de demi-vie** (**$t_{1/2}$**, j) d'une molécule dans un système biologique représente le temps de décontamination nécessaire pour que la concentration de la molécule dans ce système diminue de moitié par rapport à la concentration de la molécule en fin d'exposition. Le $t_{1/2}$ peut être estimé par l'Eq. 8 en appliquant la valeur estimée de k_d. Pour des cinétiques de décontamination de 2ème ordre, certains auteurs réalisent une estimation du $t_{1/2}$ à partir des données de concentration de la molécule dans les tissus dans la deuxième phase de la courbe de décontamination, quand la pente de cette courbe s'aplatit (Szabo et al., 2010; Szabo et al., 2011a).

Eq. 8	$\mathrm{t_{1/2}} = \frac{\ln(2)}{\mathrm{k_d}}$

Chez des animaux en croissance, l'augmentation du poids corporel pendant l'exposition et pendant la décontamination provoque un effet de « **dilution par croissance** » dans la concentration de la molécule dans l'organisme. Il peut être recommandable dans ce cas de corriger la constante de décontamination selon le taux de croissance corporelle pendant l'expérimentation. Pour cela, premièrement une constante de croissance (k_g, j^{-1}) peut être estimée en ajustant l'Eq. 9 sur l'ensemble de données de poids vif (PV) pendant

l'expérimentation. Dans cette équation, PV(t) représente le poids vif en fonction du temps d'expérimentation (t, j) et PV(0) le poids vif en début de d'expérimentation. Ensuite, la constante de décontamination corrigée par la croissance ($k_{d\,g}$, j^{-1}) peut être estimée par l'Eq. 10. Dans ces cas, cette $k_{d\,g}$ devrait remplacer k_d sur les Eq. 6 à Eq. 8.

Eq. 9	$\mathrm{PV(t)} = \mathrm{PV(0)} \times \mathrm{e}^{\mathrm{k_g} \times \mathrm{t}}$
Eq. 10	$\mathrm{k_{d\,g}} = \mathrm{k_d} - \mathrm{k_g}$

2.2.3 Toxicocinétique de l'HBCD (étapes ADME) chez l'animal

Des études *in vivo* et *in vitro* permettant de comprendre la toxicocinétique de l'HBCD chez l'animal sont explorées dans cette partie. Des introductions succinctes abordant des mécanismes mis en jeu dans la toxicocinétique des POP chez l'oiseau précèdent des informations spécifiques aux trois isomères principaux de l'HBCD (α-, β- et γ-HBCD). Comme la quantité d'information sur le transfert de l'HBCD chez l'oiseau est limitée, des études réalisées chez d'autres espèces sont également présentées.

2.2.3.1 Absorption

L'absorption d'une molécule se définit comme le transfert de celle-ci de son site d'administration vers la circulation générale (Renwick, 2001). Les POP sont des molécules lipophiles dont le devenir est généralement lié à celui des lipides. La digestion et l'absorption des lipides chez la volaille impliquent en premier lieu une émulsion des lipides ingérés avec la bile et la sécrétion pancréatique, ce qui permet la digestion ou lipolyse de ces lipides dans les premiers segments de l'intestin grêle (duodénum et jéjunum). Les lipides sont ensuite incorporés dans des micelles biliaires. Les micelles sont des structures globulaires présentant une surface polaire et un noyau apolaire, qui leur permet de transporter des molécules apolaires au travers un milieu polaire. Les micelles biliaires permettent le transport des lipides au travers la couche d'eau stationnaire de la paroi digestive vers les cellules muco-épithéliales de cette paroi, où des triglycérides sont formés et incorporés dans des lipoprotéines (Krogdahl, 1985). Les lipoprotéines présentent le même type de structure que les micelles. Elles placent des lipides présentant une partie de leur structure polaire (phospholipides et cholestérol libre) à la surface, les triglycérides et le cholestérol ester se trouvant à l'intérieur. Des protéines appelées apoprotéines participent à la structure et au devenir des lipoprotéines. Chez la volaille, des lipoprotéines d'origine intestinale nommées «portomicrons » transportent, via la veine porte, les lipides absorbés vers le foie, avant qu'ils

n'arrivent à la circulation sanguine générale. Cette absorption des lipides diffère de celle observée chez les mammifères, où des lipoprotéines appelées « chylomicrons » transportent les lipides du système lymphatique vers le sang, d'où ils sont distribués vers le reste des tissus dont le foie (Walzem, 1996).

L'**efficacité d'absorption digestive apparente (AbDap, %)** a été estimée pour les trois isomères α-, β- et γ-HBCD chez des poissons prédateurs nourris pendant 16 jours d'exposition par des poissons proies contaminés (dose non précisée chez les prédateurs) (Luo et al., 2013). La quantité de chaque isomère dans les fèces représente environ 4,6 ; 2,8 et 2,8% respectivement des quantités d'α-, de β- et de γ-HBCD ingérés par les poissons prédateurs. En considérant que tout l'HBCD présent dans les fèces correspond à celui non absorbé, l'AbDap peut être estimée à environ 95-98% pour les trois isomères.

Des études chez le rat et chez la souris ont rapporté **l'efficacité d'absorption digestive (AbD, %)** des différents isomères de l'HBCD. Ainsi, une estimation de l'AbD des isomères α-, β- et γ-HBCD a été réalisée chez des rats exposés à une dose unique de l'un de ces isomères (3 mg kg^{-1} PV), par différence entre la quantité de chaque isomère administrée, la quantité de ces isomères mesurée dans les tissus ainsi que les métabolites éliminés dans l'urine et dans les fèces pendant les 4 jours suivant l'exposition (Hakk, 2016). Les AbD ont ainsi été estimées à environ 80, 83 et 73% respectivement pour l'α-, le β- et le γ-HBCD. Chez la souris, trois expérimentations ont permis d'estimer l'AbD de l'α-, du β- et du γ-HBCD (Sanders et al., 2013; Szabo et al., 2010; Szabo et al., 2011a). Leurs méthodes d'estimation se basent sur la comparaison soit de la concentration de la molécule dans l'ensemble des tissus (Szabo et al., 2010; Szabo et al., 2011a) soit de la quantité de molécule excrétée (Sanders et al., 2013; Szabo et al., 2010; Szabo et al., 2011a), après une administration unique de l'un des isomères (3 mg kg^{-1} PV) par voie orale et par voie intraveineuse. L'intérêt de comparer les résultats obtenus par ces deux voies d'administration est que la voie parentérale (injection) déverse la totalité de la dose dans le sang, tandis que quand la dose est administrée par voie orale, l'absorption digestive limite la partie de la dose ingérée qui atteint effectivement le sang. Les concentrations dans les tissus après une administration orale seront toujours moins élevées qu'après une administration intraveineuse, sauf dans le cas où l'AbD d'une molécule serait de 100%, ce qui donnerait pour les deux voies des concentrations de la molécule dans les tissus équivalentes. De la même façon, la proportion de dose administrée qui se retrouve dans les fèces sera plus élevée après administration orale (la quantité de molécule présente dans les fèces est dans ce cas constituée de la partie non absorbée et de celle métabolisée et éliminée depuis l'organisme) qu'après administration parentérale (la molécule présente dans les fèces correspond dans ce cas uniquement à la partie qu'après

avoir été métabolisée est éliminée depuis l'organisme). L'AbD des trois isomères était estimée par ces auteurs à entre 80 et 90% dans les trois études réalisées chez la souris.

Des études sur l'influence de la matrice ingérée sur la **biodisponibilité** de l'HBCD n'ont pas été retrouvées dans la bibliographie. Pour d'autres POP, précisément les PCB (Fournier et al., 2012b) et la chlordécone (Jondreville et al., 2013), des résultats expérimentaux chez des oiseaux exposés oralement à ces molécules ont rapporté la non influence de la matrice d'exposition (sol vs. huile contaminés) ou de la teneur en lipides de l'aliment pour les PCB (De Vos et al., 2005; Drouillard and Norstrom, 2003) sur la biodisponibilité de ces POP.

L'absorption des POP est liée à la digestion et l'absorption des lipides. Chez la volaille, cela implique consécutivement une émulsion des lipides ingérés avec la bile et la sécrétion pancréatique, le transport de ces lipides dans des micelles biliaires vers les cellules épithéliales de la paroi digestive et leur incorporation dans des lipoprotéines appelées « portomicrons » vers le foie, d'où elles passeront à la circulation sanguine générale.

Les isomères α-, β- et γ-HBCD présentent une efficacité d'absorption digestive élevée. Les AbD et AbDap des trois isomères rapportées chez le poisson, la souris et le rat sont généralement supérieures à 80%.

Des études sur la biodisponibilité de certains POP chez l'oiseau rapportent généralement la non influence de la matrice d'exposition (sol vs. huile) ou de la teneur en lipides de l'aliment sur cette biodisponibilité.

2.2.3.2 Distribution

Différentes études suggèrent un transport des molécules lipophiles dans le sang lié à celui des lipides (Jandacek and Tso, 2001). Les lipides d'origine alimentaire ainsi que ceux synthétisés dans le foie quittent cet organe et partent avec la circulation sanguine dans des lipoprotéines VLDL, riches en triglycérides, afin de distribuer ces lipides dans les tissus périphériques. L'enzyme lipoprotéine lipase, au niveau des parois vasculaires, hydrolyse les triglycérides contenus dans les VLDL et permet ainsi l'utilisation de ces lipides dans les tissus. Les LDL (lipoprotéines de faible densité) sont issues de l'hydrolyse incomplète des VLDL et permettent le retour des lipides non déposés dans les tissus périphériques vers le foie. Les HDL (lipoprotéines de haute densité) sont riches en cholestérol et permettent l'export de ce lipide vers les tissus périphériques. Des échanges de lipides ont lieu entre les HDL, les LDL et VLDL (Walzem, 1996). Des protéines appelées apoprotéines participent à la structure et au devenir des lipoprotéines. Chez la poule pondeuse à partir de la maturité sexuelle, sous l'influence hormonale des estrogènes et de la progestérone, le foie synthétise des

apoprotéines spécifiques apo-VLDL-II. L'apoprotéine spécifique apo-VLDL-II ainsi que l'apoprotéine apo B sont assemblées à des triglycérides et des phospholipides pour former des lipoprotéines VLDL spécifiques au transfert de lipides vers le jaune. En effet, ces VLDL seront résistantes à la lipolyse par la lipoprotéine-lipase et leurs lipides ne pourront pas être utilisés dans les tissus. Elles peuvent cependant traverser la membrane basale du follicule en formation grâce à une taille réduite et entrer dans le follicule par endocytose après avoir été reconnues par des récepteurs du follicule (Nys and Guyot, 2011; Sauveur, 1988; Walzem, 1996). L'élimination dans le jaune sera abordée dans la partie élimination (2.2.3.3.8). La capacité des lipoprotéines du sang de transporter non seulement des lipides mais également des POP a été mis en évidence expérimentalement pour les PCB chez le pigeon (Borlakoglu et al., 1990).

La distribution sanguine d'une molécule lipophile vers les différents tissus est gérée par des facteurs tels que le débit sanguin du tissu et l'affinité relative de la molécule pour le tissu par rapport à son affinité pour le plasma, ou « coefficient de partition » (**Kp**, L kg^{-1}) (Benet et al., 1996; Renwick, 2001). Le Kp correspond au rapport de concentrations de la molécule dans le tissu et dans le plasma quand le transfert de molécule entre ces matrices atteint l'équilibre (Benet et al., 1996; Cortright et al., 2009). Comme la solubilité de la molécule dans les lipides du tissu et du plasma doit être la même, on postule que le Kp d'une molécule lipophile entre un tissu et le plasma est égal au ratio de concentrations de lipides totaux dans ce tissu et le plasma (MacLachlan, 2009, 2010). Pour des molécules très lipophiles (log Kow≥5) se distribuant majoritairement dans des lipides neutres, tel l'HBCD, le ratio de concentrations de lipides neutres plutôt que de lipides totaux dans le tissu et dans le plasma permettrait d'estimer ce Kp (Haddad et al., 2000; Poulin and Haddad, 2012).

Les unités de mesure sont importantes quand on compare la concentration de la molécule dans différents tissus. Pour des molécules lipophiles telles que l'HBCD, la comparaison de ces concentrations dans les tissus peut donner des résultats différents voire contradictoires en fonction des unités utilisées (ng g^{-1} matière fraîche, MF vs. ng g^{-1} MG). Par exemple, les concentrations d'HBCD total ont été mesurées et les résultats exprimés dans ces deux unités de mesure chez des crécerelles adultes exposées pendant 21 jours à de l'aliment contaminé (environ 51 µg d'HBCD total j^{-1}) suivis de 25 jours de décontamination (Letcher et al., 2015). A la fin de la période de décontamination, exprimées en ng g^{-1} MF, les concentrations d'HBCD total dans le tissu adipeux étaient environ 100 fois plus élevées que dans le foie et 800 fois plus élevées que dans le plasma. En ng g^{-1} MG, ces ratios se réduisaient à 3 et 10 respectivement. La cause de ces ratios beaucoup plus élevés quand les concentrations de la

molécule sont exprimés en ng g^{-1} MF au lieu d'en ng g^{-1} MG est due aux différences dans le contenu lipidique des tissus.

La distribution des molécules lipophiles est liée à la distribution des lipides dans des lipoprotéines dans le sang. Chez la poule en ponte, une apoprotéine spécifique apo-VLDL-II permet le transfert de lipides exclusivement vers le jaune.

La répartition des POP dans les différents tissus est fonction du débit sanguin vers chaque tissu et des coefficients de partition (Kp, L kg^{-1}) de la molécule entre le tissu et le plasma. Pour des molécules très lipophiles comme l'HBCD, le Kp peut être estimé comme le rapport de concentrations de lipides neutres dans le tissu et le plasma. Pour cette molécule, l'expression des concentrations d'HBCD en ng g^{-1} MG permet de comparer l'affinité de l'HBCD pour les tissus en s'affranchissant du contenu lipidique différent de ces tissus.

Lorsque la molécule est absorbée, elle est aussitôt distribuée dans l'organisme, le métabolisme et l'excrétion intervenant de façon concomitante. Ainsi, certains aspects commentés ci-dessous ne sont pas uniquement le résultat de la distribution. Tout de même ils ont été sélectionnés avec l'objectif d'illustrer au plus clair les facteurs qui influencent ce processus.

2.2.3.2.1 Débit sanguin

Des résultats de différentes études chez la souris suggèrent une influence du débit sanguin des tissus dans la distribution de l'HBCD. Des souris adultes (Sanders et al., 2013; Szabo et al., 2010; Szabo et al., 2011a) et en croissance (Szabo et al., 2011b) ont été exposées oralement à la même dose (3 mg kg^{-1} PV) d'un isomère donné. La concentration de chaque isomère (ng g^{-1} MF et % de la dose) dans les tissus a été renseignée depuis les premières 1-3 h et pendant plusieurs jours suivant l'exposition. Le temps nécessaire pour l'atteinte de la concentration maximale d'un isomère dans chaque tissu est compilé dans le Tableau 5.

Tableau 5 : temps d'atteinte de la concentration maximale de l'α-, le β- et le γ-HBCD dans les tissus, pendant les heures suivant une exposition orale unique (3 mg kg^{-1} PV) à chaque isomère

Isomère	Sang	Foie	Muscle	Tissu adipeux	Autres tissus	Références
α-HBCD	1h	1h	8-24 h	48 h	1-24 h; 48 h pour la peau	(Szabo et al., 2011a)
α-HBCD	3h	3h	24 h	48 h	3-24h	(Szabo et al., 2011b)
β-HBCD	3h	3h	3h	8h	3h	(Sanders et al., 2013)
γ-HBCD	3-8 h	1h	3h	24 h	3-8 h	(Szabo et al., 2010)
γ-HBCD	3h	3h	8 h	24 h	3-8 h	(Szabo et al., 2011b)

Ce tableau met en évidence pour les trois isomères que le temps nécessaire pour atteindre le plateau maximal de concentration de ces molécules est plus élevé dans le tissu adipeux que dans les autres tissus. Le temps d'atteinte de ce pic est généralement intermédiaire dans le muscle et plus court dans le foie et le sang. Le foie présente par ailleurs les concentrations les plus élevées de la molécule au pic de concentration. En effet, les concentrations maximales de chaque isomère dans la plupart des tissus ne représentent qu'entre 5 et 50% de celles observées dans le foie. Seule la concentration maximale d'α-HBCD dans le sang est proche (85%) de celle mesurée dans le foie. A la différence de l'absorption des lipides chez l'oiseau, chez les mammifères les lipides absorbés ne sont pas directement dirigés vers le foie. Chez les mammifères, les lipides absorbés après ingestion passent dans le système lymphatique d'où ils sont transférés vers le sang, qui les distribue vers l'ensemble des tissus dont le foie. Les auteurs de ces études suggèrent que ces différences pendant les premières heures après l'exposition peuvent s'expliquer principalement par des différences dans l'irrigation des tissus. Ainsi, la concentration maximale est atteinte plus tôt et à des niveaux plus élevés dans des tissus hautement irrigués tel que le foie et plus tard dans des tissus peu irrigués comme le tissu adipeux.

Pendant les premières heures suivant une exposition orale aux isomères α-, β- et γ-HBCD, des pics de concentration maximale plus élevés sont atteints plus tôt dans des tissus hautement irrigués comme le foie. Le pic de concentration est atteint plus tard dans des tissus peu irrigués comme le tissu adipeux que dans les autres tissus.

2.2.3.2.2 Hiérarchie des tissus

Plusieurs études chez des souris, des rats et des oiseaux ont analysé les concentrations des isomères α-, β- et γ-HBCD dans les tissus pendant à une exposition unique ou répétée à différentes doses de ces isomères. L'ensemble de ces résultats sont présentés dans les Tableaux 6 et 7.

Tableau 6 : résultats de concentration (unités spécifiées dans le tableau) des isomères α- et γ-HBCD rapportés dans la littérature chez la souris, le rat et l'oiseau exposés oralement à ces molécules, partie I

Espèce	Voie d'exposition	Dose(s)	Durée	Isomère	Unités	Résultats	D'autres résultats	Référence
Souris	Orale	3, 10, 30 et 100 mg kg^{-1} PV	1 administration unique, dosage 4 j plus tard	α-HBCD	% de la dose	Tissu adipeux > Foie >≈ Peau > Muscle ≈ Sang	Concentration plus élevée dans le tissu adipeux et le foie pour les doses de 30 et de 100 mg kg^{-1}, et dans la peau et le muscle pour la dose de 100 mg kg^{-1}	(Szabo et al., 2011a)
		3 mg kg^{-1} PV	1 administration par jour pendant 10 jours, dosage 4 j plus tard			Concentrations plus élevées dans plusieurs tissus (tissu adipeux, foie, sang, muscle) après une série d'administrations répétées qu'après une administration unique à la même dose		
Souris en croissance		3 mg kg^{-1} PV	1 administration unique, dosage 4 j plus tard		ng g^{-1} MF	Tissu adipeux > Foie > Peau > Sang > Muscle	Les concentrations en ng g^{-1} poids frais mesurées chez la souris en croissance sont plus élevées que chez la souris adulte (Szabo 2011 a)	(Szabo et al., 2011b)
Souris	Orale	3, 10, 30 et 100 mg kg^{-1} PV	1 administration unique, dosage 4 j plus tard	γ-HBCD	% de la dose	Foie > Peau > Muscle ≈ Sang > Tissu adipeux	Pas d'influence de la dose	(Szabo et al., 2010)
		3 mg kg^{-1} PV	1 administration par jour pendant 10 jours, dosage 4 j plus tard			Concentration dans le sang et le tissu adipeux plus élevée après administration répétée qu'après administration unique. Pas de différences dans les autres tissus.		
Souris en croissance		3 mg kg^{-1} PV	1 administration unique, dosage 4 j plus tard		ng g^{-1} MF	Tissu adipeux > Foie > Muscle ≈ Sang > Peau	Les concentrations en ng g^{-1} poids frais mesurées chez la souris en croissance sont plus élevées que chez la souris adulte (Szabo 2010)	(Szabo et al., 2011b)

Tableau 7 : résultats de concentration (unités spécifiées dans le tableau) des isomères α-, β- et γ-HBCD rapportés dans la littérature chez la souris, le rat et l'oiseau exposés oralement à ces molécules, partie II

Espèce	Voie d'exposition	Dose(s)	Durée	Isomère	Unités	Résultats	D'autres résultats	Référence
Souris	Orale	3, 30 et 100 mg kg^{-1} PV	1 administration unique, dosage 1 j plus tard	β-HBCD	% de la dose	Tissu adipeux > Peau ≈ Muscle > Foie > Sang	Influence de la dose dans concentration dans le tissu adipeux: plus élevée aux doses 30 et 100 mg kg^{-1}	(Sanders et al., 2013)
		3 mg kg^{-1} PV	1 administration par jour pendant 4 jours, dosage 1 j plus tard			Concentrations plus élevées dans tous les tissus, excepté le muscle, 24 h après une série d'administrations répétées qu'après une administration unique à la même dose		
Rat	Orale	3 mg de l'un des isomères kg^{-1} PV	1 administration unique, dosage 4 j plus tard	α-, β- ou γ-HBCD	ng g^{-1} MF	Tissu adipeux > Peau > Foie > Muscle > Plasma	Accumulation plus importante (concentration plus élevée) de l'α- > γ- > β-HBCD	(Hakk, 2016)
		0,3 ; 1, 3, 10, 30, 100 et 200 mg kg^{-1} PV	Période d'exposition de 28-33 jours	Mélange technique (81% de γ-HBCD)	ng g^{-1} MG	Tissu adipeux > Foie	Stabilisation de la concentration d'α- et de γ-HBCD dans les tissus pour des doses en dessus de 30 mg kg^{-1}. Concentrations plus élevées chez la femelle que chez le mâle.	(Van der Ven et al., 2006)
Oiseau (Crécerelle)	Orale	51 µg j^{-1}	21 jours d'exposition et 25 jours de décontamination	Mélange technique (13, 11 et 76% d'α-, de β- et de γ-HBCD)	ng g^{-1} MG	Tissu adipeux > Foie > Plasma	Prédominance d'α-HBCD dans les tissus (α- > γ- > β-HBCD)	(Letcher et al., 2015)
Poule pondeuse	Orale	70 ng kg^{-1} PV j^{-1}	21 j d'exposition et 18 j de décontamination	γ-HBCD	ng g^{-1} MG	Gras abdominal > jaune d'œuf > foie	Plateau de concentration maximale atteint dans le foie et dans le jaune d'œuf, pas atteint dans le gras abdominal	(Fournier et al., 2012a)

Ces résultats mettent en évidence que pour les différents isomères et espèces étudiées, le tissu adipeux présente généralement les concentrations les plus élevées de ces molécules, et cela pour toutes les unités de mesure (ng g^{-1} MF, % de la dose et ng g^{-1} MG) utilisées. Seulement l'étude de Szabo et al. (2010) chez des souris adultes rapporte des concentrations de γ-HBCD moins élevées dans le gras abdominal que dans d'autres tissus.

Les résultats chez l'oiseau, précisément chez des crécerelles montrent des concentrations d'HBCD total dans le tissu adipeux (ng g^{-1} MG) environ 3 fois plus élevées que celles mesurées dans le foie et environ 10 fois plus élevées que les concentrations mesurées dans le plasma (Letcher et al., 2015). Chez la poule pondeuse, l'exposition au γ-HBCD a donné lieu à une accumulation préférentielle de cet isomère dans le gras abdominal, où sa concentration (ng g MG^{-1}) a augmenté presque linéairement pour atteindre environ 0,5 ng g MG^{-1} à la fin de la période d'exposition (Fournier et al., 2012a). Selon cette étude, la concentration de γ-HBCD dans le jaune d'œuf a atteint un plateau à environ 0,36 ng g MG^{-1} à partir de 10 jours d'exposition. Dans le foie, un plateau à environ 0,2 ng g MG^{-1} a été atteint à partir de 4 jours d'exposition. Le plateau de concentration maximal de l'HBCD est atteint dans le jaune d'œuf et dans le foie, tandis que dans le gras abdominal le plateau n'est pas atteint. La concentration plus élevée de la molécule dans le tissu adipeux que dans les autres tissus s'explique par la teneur en lipides très élevée de ce tissu et par conséquence une partition prioritaire de la molécule dans celui-ci. Le temps nécessaire d'exposition plus long pour rapprocher l'équilibre dans ce tissu que dans d'autres pourrait s'expliquer également par le volume élevé de lipides dans ce tissu, qui lui permet de stocker de plus grandes quantités (ng) d'HBCD que dans les autres tissus avant d'atteindre la concentration d'équilibre, ainsi qu'au débit sanguin plus bas de ce tissu.

Il est intéressant de comparer les concentrations de chaque isomère (ng g^{-1} MF) mesurées par trois études chez la souris adulte pour avoir une idée du degré d'accumulation plus important de l'un ou l'autre isomère. Cette comparaison entraine un effet étude mais elle semble pertinente comme approximation du fait de l'utilisation du même type d'animaux (souris femelles de souche C57BL/6, 20 g de PV), même doses et durées d'exposition pour les valeurs comparées (1 administration unique à 3 mg kg^{-1} PV, dosage 4 jours plus tard) et unités de mesure (ng g^{-1} MF). Cette comparaison permet de calculer un ratio de concentrations γ/β qui oscille entre 0,9 et 1,7 dans les différents tissus (excepté le gras abdominal, avec un rapport de 0,05). Au contraire, le ratio de concentrations α/(β+γ) présente une valeur de 23 à 33 dans les différents tissus, voire de 106 dans le sang. Cette comparaison permet de conclure à une accumulation plus importante de l'α-HBCD que des autres isomères. Ce constat est confirmé par les résultats chez le rat (Hakk, 2016) et chez

l'oiseau (Letcher et al., 2015), qui mettent en évidence une accumulation plus importante de l'α-HBCD en comparaison avec les isomères β- et γ-HBCD.

Le nombre d'administrations (unique vs. répétée pendant plusieurs jours) influence les concentrations (en % de la dose) d'α- et de β-HBCD chez la souris, lesquelles augmentent dans la plupart des tissus après exposition répétée (Sanders et al., 2013; Szabo et al., 2011a). Quant au γ-HBCD, la concentration dans la plupart des tissus n'est pas significativement différente de celle observée après une exposition unique ; elle est augmentée uniquement dans le sang et dans le gras abdominal (Szabo et al., 2010). Cela peut être expliqué en partie par la relation entre le délai depuis la dernière administration jusqu'à la prise d'échantillons et le temps de demi-vie estimé par ces mêmes études pour chaque isomère. Ainsi, il semble difficile de pouvoir observer un effet d'accumulation par administrations répétées de l'isomère γ-HBCD 4 jours après l'administration de la dernière dose, compte tenu que le $t_{1/2}$ de cet isomère est inférieur à 4 jours dans la plupart des tissus. A l'inverse, on peut s'attendre à observer un effet d'accumulation pour les isomères α- et β-, pour lesquels le $t_{1/2}$ est très supérieur au délai de 4 et 1 jours respectivement dans certains tissus.

Pour le γ-HBCD, les résultats obtenus chez des souris en croissance et chez des souris adultes sont différents au niveau de la hiérarchie des tissus et de la grandeur des concentrations atteintes dans l'ensemble des tissus, significativement plus élevées chez la souris en croissance que chez l'adulte (Szabo et al., 2010; Szabo et al., 2011b). Parmi les facteurs pouvant provoquer ces différences selon le stade physiologique, les auteurs suggèrent des différences dans l'absorption digestive, dans la composition tissulaire, ou dans le métabolisme des xénobiotiques selon le stade de maturité de l'animal (Szabo et al., 2011b).

Chez le rat on rapporte un effet du sexe, avec des concentrations dans le foie de l'ordre de 5,2 fois plus élevées chez les femelles que chez les mâles à toutes les doses testées (Van der Ven et al., 2006). Des différences sont rapportées entre les sexes au niveau du métabolisme de la molécule qui suggèrent un métabolisme plus important chez la femelle que chez le mâle (2.2.3.3.1, 2.2.3.3.4), ce qui est contradictoire avec des concentrations plus élevées dans les tissus chez la femelle. Ainsi, ces différences dans les concentrations entre les sexes pourraient s'expliquer plutôt par des différences physiologiques de composition corporelle.

Des effets de la dose et/ou du type d'administration sont également mis en évidence chez la souris pour les trois isomères et notamment l'α- et le β-HBCD (Sanders et al., 2013; Szabo et al., 2011a), et chez le rat pour les isomères α- et γ-HBCD (Van der Ven et al., 2006). Ces différences s'expliquent par des différences de métabolisme des différents isomères et seront analysées ci-dessous (2.2.3.3).

Une accumulation préférentielle des isomères α-, β- et γ-HBCD dans le tissu adipeux a été rapportée par différents études chez la souris, le rat et l'oiseau, ce qui s'explique par la teneur en lipides très élevée de ce tissu. Chez la poule pondeuse exposée au γ-HBCD, la hiérarchie des tissus est : gras abdominal > jaune d'œuf > foie. Le temps d'exposition nécessaire à l'atteinte de l'équilibre dans le gras abdominal est plus long que dans d'autres tissus. Une influence du nombre d'administrations de la dose (administration unique vs. répétée) a été observée pour l'α- et le β-HBCD dans la plupart des tissus, et n'a pas été montrée pour le γ-HBCD. Cela semble lié au $t_{1/2}$ de chaque isomère et au délai entre la dernière administration et la prise d'échantillons. L'isomère α- présente une accumulation plus importante dans les tissus en comparaison avec les isomères β- et γ-HBCD.

Le stade physiologique (animal en croissance>adulte) et le sexe (femelle>mâle) présentent une influence sur la concentration dans les tissus et la charge corporelle d'HBCD chez la souris et le rat respectivement. Des effets de la dose sont également rapportés.

2.2.3.3 Métabolisme et excrétion

La « clairance » d'une molécule (L j^{-1} ou L kg^{-1} PV j^{-1}) représente son taux d'élimination total depuis l'ensemble des voies d'élimination de l'organisme. Ce concept fait référence au volume de sang ou de plasma qui est totalement épuré de la molécule par unité de temps (Benet et al., 1996). Les deux mécanismes principaux de « clairance » ou d'élimination d'un xénobiotique depuis l'organisme sont le métabolisme et l'excrétion (Renwick, 2001).

2.2.3.3.1 Métabolisme hépatique de l'HBCD par le cytochrome P450

L'objectif principal du **métabolisme** des xénobiotiques lipophiles est de convertir des molécules non polaires et difficilement excrétées en des molécules hydrophiles et polaires, facilement excrétées (Hutchinson et al., 2014), le foie étant le principal organe en charge de ce métabolisme. Pour cela, différentes réactions ont lieu qui peuvent être classées en a) des réactions enzymatiques de Phase I (addition ou exposition des groupes fonctionnels –OH, -SH, $-NH_2$ ou –COOH) et b) des réactions de Phase II (conjugaison d'un xénobiotique avec de grandes molécules polaires). En plus, certaines molécules ou leurs métabolites peuvent être éliminés depuis les cellules chargées du métabolisme par des transporteurs spécifiques (« Phase III »). Les réactions métaboliques de phase I sur des xénobiotiques lipophiles sont souvent menées par des mono-oxygénases microsomales du cytochrome P450 (Hutchinson et al., 2014). Le cytochrome P450 est une famille d'enzymes présente dans la plupart des

tissus et principalement dans le foie, chargées de métaboliser les xénobiotiques (Olsen et al., 2015).

Une capacité de métabolisme de l'HBCD plus importante dans le foie que dans d'autres tissus est mise en évidence chez le poisson par l'étude de Haukås et al. (2009). Ces auteurs ont mesuré les concentrations des isomères α-, β- et γ-HBCD (µg g^{-1} MG) dans le foie et dans le muscle 48 h et 21 jours après exposition. La concentration d'HBCD total après 48 h était plus élevée dans le foie que dans le muscle pour les isomères α- et γ- et présentait la même tendance (foie>muscle) pour le β-HBCD. La concentration des trois isomères diminuait dans le foie avec le temps, tandis qu'elle ne variait pas dans le muscle. Après 21 jours, la concentration de γ-HBCD était plus élevée dans le muscle que dans le foie et présentait la même tendance (muscle>foie) pour les autres isomères. Les auteurs ont attribué cette persistance dans le muscle à une activité métabolique et une irrigation inférieures de ce tissu par rapport au foie. Une modification des proportions relatives des différents isomères, avec une diminution de la proportion de β-HBCD pendant le temps de l'expérimentation dans le muscle suggère en effet une certaine capacité de ce tissu de métaboliser la molécule, ce qui est cohérent avec l'ubiquité du cytochrome P450 dans l'organisme.

Les activités enzymatiques du cytochrome P450 ont été étudiées chez des rats exposés par voie orale à différentes doses d'HBCD total (0,3 à 200 mg kg PV^{-1} j^{-1}) pendant 28 jours (Germer et al., 2006). Les microsomes et l'ARNm hépatiques ont été analysés pour détermination des niveaux et des activités enzymatiques du cytochrome P450. L'exposition à la molécule provoque une surexpression de l'ARNm et une augmentation des niveaux de protéines de deux des trois cytochromes étudiés, ainsi que de deux des trois activités enzymatiques étudiées (précisément des activités dépentylase et débenzylase). Les auteurs suggèrent que cela peut provoquer des altérations du métabolisme hormonal. La dose d'exposition et le sexe présentent un effet significatif sur ces paramètres, avec une activation du métabolisme à des doses élevées, plus importante chez la femelle que chez le mâle. Dans le même sens, les résultats de Van der Ven (2006) mettent en évidence un ratio γ/α moins élevé chez la femelle que chez le mâle pour les deux doses les plus élevées (100 et 200 mg kg^{-1} PV), ce qui suggère, en accord avec les résultats de Germer et al. (2006), un métabolisme plus important chez la femelle que chez le mâle aux doses testées les plus élevées (2.2.3.3.4).

Chez la volaille, des hépatocytes d'embryon de poulet ont été exposés soit à un mélange technique d'HBCD soit à l'isomère α-HBCD isolé (Crump et al., 2008). Ces auteurs ont étudié l'effet de ces contaminants sur des enzymes métaboliques de phase I, plus spécifiquement les cytochromes CYP2H1 et CYP3A37 (chargés du métabolisme oxydatif) et sur l'enzyme métabolique de phase II UGT1A9 (il s'agit d'une uridine-glucoronosyl-transferase). Sur les

doses d'exposition les plus élevées (généralement >1 µM), ces auteurs ont observé une surexpression de l'ARNm des trois enzymes par l'HBCD. Plus spécifiquement, les deux cytochromes sont induits par les deux traitements d'HBCD. L'UGT1A9 est induit par l'α-HBCD. D'ailleurs, l'expression d'autres protéines liées à l'activité des hormones thyroïdiennes et au métabolisme lipidique, précisément le facteur de transcription THRSP14-α et la protéine L-FABP, est réduite de façon significative après exposition à l'HBCD. Cela est cohérent avec la toxicité de l'HBCD sur la fonction thyroïdienne (Marvin et al., 2011).

Les enzymes du cytochrome P450 dans le foie réalisent le métabolisme de l'HBCD. Le foie étant le principal tissu en charge du métabolisme de l'HBCD, une certaine capacité métabolique d'autres tissus comme le muscle a été suggérée chez le poisson.

Une activation du cytochrome P450 dans le foie a été mise en évidence chez le rat et le poulet exposés à un mélange des trois isomères d'HBCD et chez le poulet exposé à l'α-HBCD. Un effet significatif de la dose (doses élevées>faibles doses) d'exposition et du sexe (femelle>mâle) sur cette activation a été rapporté chez le rat. Un effet de la dose a été rapporté également chez le poulet, avec une activation du métabolisme aux doses élevées.

2.2.3.3.2 Dose d'exposition

Certaines études ont mis en évidence un effet de la dose d'exposition sur la concentration des différents isomères dans les tissus chez différentes espèces (Tableaux 6 et 7).

Ainsi, des études chez la souris ont mis en évidence un effet de la dose d'exposition sur la concentration (exprimée en % dose) de l'α- et le β-HBCD dans certains tissus dont le tissu adipeux, avec une augmentation de cette concentration aux doses les plus élevées (30 et 100 mg kg^{-1} PV) (Sanders et al., 2013; Szabo et al., 2011a). Pour expliquer cette influence de la dose observée pour les isomères α- et β-HBCD, les auteurs suggèrent des phénomènes de saturation de l'élimination aux doses les plus élevées (Sanders et al., 2013). Aucune influence de la dose n'a été rapportée pour le γ-HBCD chez la souris (Szabo et al., 2010). Chez le rat, une influence de la dose sur la concentration d'α- et de γ-HBCD a été rapportée et se traduit dans ce cas en une stabilisation de la concentration dans les tissus (ng g^{-1} MG) pour les doses les plus élevées (>30 mg kg^{-1} PV) après exposition à un mélange technique d'HBCD (Van der Ven et al., 2006). Transformés en % de la dose, ces résultats montrent une diminution de la concentration pour les doses les plus élevées. Cela est cohérent avec une activation du métabolisme chez le rat aux doses les plus élevées, ce que les auteurs suggèrent par ailleurs en vue de la diminution du ratio γ/α aux plus hautes doses (2.2.3.3.4). Une activation du métabolisme hépatique par le cytochrome P450 à des doses élevées

d'HBCD total a en effet été mise en évidence *in vitro* chez le rat (Germer et al., 2006) et chez le poulet (Crump et al., 2008) (2.2.3.3.1).

Chez le poisson, l'EA et le BMF des différents isomères présentent des valeurs plus élevées chez les animaux exposés à la dose basse en comparaison avec ceux exposés à la dose élevée de l'isomère correspondant (Tableaux 14 et 15) (Du et al., 2013; Du et al., 2012). La valeur de l'EA et du BMF dépendent de l'ensemble des étapes ADME. Ces résultats chez le poisson contradictoires avec les résultats obtenus chez la souris mais dans le même sens que ceux rapportés chez le rat ou le poulet, suggèrent des phénomènes d'induction du métabolisme aux doses élevées.

L'ensemble de ces résultats permet de conclure à des différences inter-espèces au niveau des phénomènes d'induction et de saturation du métabolisme.

Certaines études ont mis en évidence un effet de la dose d'exposition sur la concentration dans les tissus, l'efficacité d'assimilation ou les facteurs de bioaccumulation des différents isomères. Des phénomènes de saturation de l'élimination ont été suggérés pour des doses élevées d'α- et de β-HBCD chez la souris. Au contraire, des résultats pour les différents isomères chez le rat, le poulet et le poisson font penser à des phénomènes d'induction du métabolisme chez ces espèces pour des doses élevées d'exposition. Ces résultats soulignent des différences inter-espèces dans le devenir de la molécule chez l'animal.

2.2.3.3.3 Voies du métabolisme de l'HBCD

Plusieurs auteurs ont déterminé les voies métaboliques et identifié les métabolites résultants chez l'animal après exposition à des isomères de l'HBCD, soit *in vivo* chez des rongeurs (Brandsma et al., 2009; Hakk, 2016; Hakk et al., 2012; Sanders et al., 2013; Szabo et al., 2010; Szabo et al., 2011a; Van der Ven et al., 2006), chez des poissons (Du et al., 2012; Law et al., 2006; Luo et al., 2013; Zhang et al., 2014) et chez la volaille (Fournier et al., 2012a), soit *in vitro* sur des fractions hépatiques de mammifères et/ou de poissons (Abdallah et al., 2014; Esslinger et al., 2011; Zegers et al., 2005). Il s'agit d'identifier dans les matrices analysées la molécule présente sous forme non transformée (« molécule originelle »), des isomères résultants de la bioisomérisation ou d'autres métabolites. Cela permet d'identifier les voies de métabolisme subies par chaque isomère dans l'organisme.

Les résultats de différentes études ayant identifié les métabolites résultants d'une exposition à un mélange d'isomères α-, β- et γ-HBCD sont présentés dans le Tableau 8. Ces résultats sont organisés par voie de métabolisme et par espèce.

Tableau 8 : voies de métabolisme mises en évidence et métabolites identifiés à partir d'une exposition à un mélange d'isomères d'HBCD chez différentes espèces

Voies de métabolisme	Espèce	Voie d'exposition	Dose(s)	Durée	Tissus analysés	Métabolites/produits résultants	Références
Hydroxylation	Poisson (Astronotus ocellatus)	Orale	Non spécifiée, prédominance de γ-HBCD	16 j d'exposition et 20 j de décontamination	Corps	Métabolites monohydroxylés. Des différences dans les métabolites identifiés pour les deux espèces de poisson étudiées (proie et prédateur).	(Luo et al., 2013)
Hydroxylation et débromination	Etude *in vitro* sur des fractions hépatiques S9* de rat	Incubation des trois isomères avec les fractions hépatiques	1 et 10 µM de chaque isomère	60 min	Foie	Pentabromocyclododécene (PBCDe) et tetrabromocyclododécadiene (TBCD) ; métabolites monohydroxylés du PBCDe et du TBCD	(Abdallah et al., 2014)
	Rat	Orale	30 et de 100 mg d'HBCD kg PV^{-1} j^{-1}	28 jours d'exposition	Tissu adipeux, muscle et foie	Métabolites monohydroxylés du PBCDe et du tetrabromocyclododécene (TBCDe) ; métabolites mono- et di-hydroxylés de l'HBCD.	(Brandsma et al., 2009)
	Etude *in vitro* sur des fractions hépatiques S9* de poisson (Oncorhynchus mykiss)	Incubation des trois isomères avec les fractions hépatiques	1 et 10 µM de chaque isomère	60 min	Foie	PBCDe et TBCD ; métabolites monohydroxylés du PBCDe	(Abdallah et al., 2014)
Isomérisation	Etude *in vitro* sur des fractions hépatiques S9* de poisson (Oncorhynchus mykiss)	Incubation des trois isomères avec les fractions hépatiques	1 et 10 µM de chaque isomère	60 min	Foie	δ-HBCD	(Abdallah et al., 2014)
	Poisson (Astronotus ocellatus)	Orale	Non spécifiée, prédominance de γ-HBCD	16 j d'exposition et 20 j de décontamination	Corps	Isomérisation du γ- en α-HBCD confirmée par une augmentation de la quantité d'α-HBCD dans le corps pendant la décontamination	(Luo et al., 2013)

Ces études mettent en évidence plusieurs voies de métabolisme de l'HBCD chez le rat et le poisson exposés à un mélange d'HBCD total. L'hydroxylation a été observée chez deux espèces de poisson (proie et prédateur) par identification de métabolites mono-hydroxylés chez ces animaux. Les métabolites identifiés étant différents pour les deux espèces, ces résultats confirment des différences inter-espèces dans les voies du métabolisme subies par l'HBCD (Luo et al., 2013). L'isomérisation du γ-HBCD était fortement suggérée par les résultats de Luo et al. (2013) chez le poisson. Précisément, chez le poisson prédateur exposé majoritairement à l'isomère γ-, la quantité d'α-HBCD augmentait entre le début et la fin de la décontamination. La voie métabolique de l'isomérisation a été également mise en évidence sur des fractions hépatiques de truite par la formation de l'isomère δ-, non présent dans le mélange d'incubation initial (Abdallah et al., 2014). Les résultats de cette étude chez le rat et chez la truite montrent la formation de cinq métabolites obtenus par débromination, plus spécifiquement des isomères du pentabromocyclododecene (PBCDe) et du tetrabromocyclododécadiene (TBCD). Des métabolites obtenus par hydroxylation ont été identifiés également, plus spécifiquement 4 métabolites mono-hydroxylés et 2 métabolites di-hydroxylés de l'HBCD, ainsi que des métabolites mono-hydroxylés du PBCDe et du TBCD, ce dernier uniquement sur les fractions S9 du rat. Les fractions S9 sont des préparations réalisées à partir d'extraits du foie avec l'objectif d'analyser *in vitro* le métabolisme des xénobiotiques. En effet, ces fractions contiennent du cytochrome P450 (Ryu et al., 2006). Il est rapporté un niveau de métabolites produits de l'ordre de 6-9 fois plus élevé sur les fractions hépatiques du rat que sur les fractions hépatiques de la truite. Cette métabolisation plus élevée chez le rat semble donc expliquer la différence des $t_{1/2}$ estimés chez les deux espèces dans cette étude, ce $t_{1/2}$ étant de l'ordre de 6-8 fois plus long chez la truite en comparaison avec le rat. Les voies métaboliques de débromination et d'hydroxylation ont été également mises en évidence *in vivo* chez des rats (Brandsma et al., 2009), par identification du PBCDe et de métabolites mono- et di-hydroxylés de l'HBCD. Des métabolites résultants d'une combinaison de ces deux voies métaboliques ont été également identifiés, précisément des métabolites mono-hydroxylés du PBCDe et du TBCD.

D'autres études ont étudié les voies de métabolisme suivies individuellement par l'un ou l'autre isomère d'HBCD. Il s'agit de deux études *in vitro* (Esslinger et al., 2011; Zegers et al., 2005) et des études *in vivo* chez le rongeur (Hakk, 2016; Hakk et al., 2012; Sanders et al., 2013; Szabo et al., 2010; Szabo et al., 2011a), le poisson (Du et al., 2013; Du et al., 2012; Law et al., 2006; Zhang et al., 2014) et l'oiseau (Fournier et al., 2012a). Tous les résultats concernant les voies de métabolisme organisés par isomère, par voie de métabolisme, puis par espèce et tissu sont présentés de façon résumée pour l'α-, le β- et le γ-HBCD sur les Tableaux 9 à 12.

Tableau 9 : voies de métabolisme mises en évidence et métabolites identifiés à partir d'une exposition à l'α-HBCD chez différentes espèces

Voies de métabolisme	*Espèce*	Voie d'exposition	Dose(s)	Durée	Tissus analysés	Métabolites/produits résultants	Références
Hydroxylation	*Rat*	Orale	3 mg de l'un des isomères kg^{-1} PV	1 administration unique	Foie, fèces	Métabolites monohydroxylés	(Hakk, 2016)
		Incubation de l'un des isomères avec les microsomes	0,06 à 0,95 µM	50 min	Foie	Métabolites mono- et di-hydroxylés	(Esslinger et al., 2011)
	Souris	Orale	3 mg de l'un des isomères kg^{-1} PV	1 administration unique, 4 jours de décontamination	Fèces, foie, tissu adipeux	Métabolite mono-hydroxylé	(Hakk et al., 2012)
Hydroxylation et débromination	*Poisson*	Orale	0,1 ou 1 µg kg^{-1} PV j^{-1}	42 j d'exposition et 21 j de décontamination	Corps entier	Métabolite monohydroxy-dibromé	(Du et al., 2012)
Débromination	*Poisson*	Exposition dans l'eau (milieu)	1 ng mL^{-1}	30 jours d'exposition et 30 jours de décontamination	Branchies, viscères, muscles, peau	Plusieurs métabolites	(Zhang et al., 2014)
Conjugaison avec des groupements complexes	*Rat*	Orale	3 mg de l'un des isomères kg^{-1} PV	1 administration unique	Urine	Plusieurs métabolites	(Hakk, 2016)
n.r.	*Souris*	Orale	3 mg kg^{-1} PV	non spécifié	Bile, sérum, urine, foie, fèces	Métabolites polaires	(Szabo et al., 2011a)

n.r. : non renseigné

Tableau 10 : voies de métabolisme mises en évidence et métabolites identifiés à partir d'une exposition au β-HBCD chez différentes espèces

Voies de métabolisme	Espèce	Voie d'exposition	Dose(s)	Durée	Tissus analysés	Métabolites/produits résultants	Références
Isomérisation	Souris	Orale	3 mg kg^{-1} PV	1 administration unique	Fèces, gras abdominal	α- et γ-HBCD	(Sanders et al., 2013)
	Rat	Orale	3 mg de l'un des isomères kg^{-1} PV	1 administration unique	Fèces	α- et γ-HBCD	(Hakk, 2016)
	Poisson	Orale	0,10 µg kg PV^{-1} j^{-1}	56 j d'exposition et 112 j de décontamination	Foie et muscle	α- et γ-HBCD	(Law et al., 2006)
		Exposition dans l'eau (milieu)	1 ng mL^{-1}	30 jours d'exposition et 30 jours de décontamination	Branchies, viscères, muscles, peau	α-HBCD	(Zhang et al., 2014)
Hydroxylation	Rat	Orale	3 mg de l'un des isomères kg^{-1} PV	1 administration unique	Fèces	Plusieurs métabolites	(Hakk, 2016)
		Incubation d'un isomère avec les microsomes	2 µM de chaque isomère	90 min	Foie	Métabolites mono-hydroxylés	(Zegers et al., 2005)
	Phoque	Incubation d'un isomère avec les microsomes	2 µM de chaque isomère	90 min	Foie	Métabolites mono-hydroxylés	(Zegers et al., 2005)
Hydroxylation et débromination	Poisson	Orale	0,1 ou 1 µg kg^{-1} PV j^{-1}	42 j d'exposition et 21 j de décontamination	Corps entier	Métabolite monohydroxy-dibromé	(Du et al., 2012)
Débromination	Rat	Orale	3 mg de l'un des isomères kg^{-1} PV	1 administration unique	Fèces	Plusieurs métabolites	(Hakk, 2016)
	Poisson	Exposition dans l'eau (milieu)	1 ng mL^{-1}	30 jours d'exposition et 30 jours de décontamination	Branchies, viscères, muscles, peau	TBCD, d'autres métabolites tetra- et tri-bromés	(Zhang et al., 2014)
Oxydation	Rat	Orale	3 mg de l'un des isomères kg^{-1} PV	1 administration unique	Fèces	Plusieurs métabolites	(Hakk, 2016)
Conjugaison avec des groupements complexes	Rat	Orale	3 mg de l'un des isomères kg^{-1} PV	1 administration unique	Fèces, urine	Dibromomethyl mercapturate	(Hakk, 2016)

Tableau 11 : voies de métabolisme mises en évidence et métabolites identifiés à partir d'une exposition au γ-HBCD chez différentes espèces (1ère partie)

Voies de métabolisme	Espèce	Voie d'exposition	Dose(s)	Durée	Tissus analysés	Métabolites/produits résultants	Références
Isomérisation	Poule	Orale	70 ng kg^{-1} PV j^{-1}	21 j d'exposition et 18 j de décontamination	Foie, gras abdominal, œuf	α-HBCD	(Fournier et al., 2012a)
	Rat	Orale	3 mg de l'un des isomères kg^{-1} PV	1 administration unique	Fèces	α- et β-HBCD	(Hakk, 2016)
	Souris	Orale	3 mg de l'un des isomères kg^{-1} PV	1 administration unique, 4 jours de décontamination	Fèces et foie	α- et β-HBCD	(Hakk et al., 2012)
	Poisson	Orale	0,10 µg kg PV^{-1} j^{-1}	56 j d'exposition et 112 j de décontamination	Foie et muscle	α-HBCD	(Law et al., 2006)
			0,1 ou 1 µg kg^{-1} PV j^{-1}	42 j d'exposition et 21 j de décontamination	Corps entier		(Du et al., 2012)
		Exposition dans l'eau (milieu)	1 ng mL^{-1}	30 jours d'exposition et 30 jours de décontamination	Branchies, viscères, muscles, peau		(Zhang et al., 2014)
Hydroxylation	Rat	Orale	3 mg de l'un des isomères kg^{-1} PV	1 administration unique	Fèces	Plusieurs métabolites	(Hakk, 2016)
		Incubation de l'un des isomères avec les microsomes	0,06 à 0,95 µM	50 min	Foie	Métabolites mono- et di-hydroxylés	(Esslinger et al., 2011)
			2 µM de chaque isomère	90 min		Métabolites mono-hydroxylés	(Zegers et al., 2005)
	Phoque	Incubation d'un isomère avec les microsomes	2 µM de chaque isomère	90 min	Foie	Métabolites mono-hydroxylés	(Zegers et al., 2005)

Tableau 12 : voies de métabolisme mises en évidence et métabolites identifiés à partir d'une exposition au γ-HBCD chez différentes espèces (2ème partie)

Voies de métabolisme	Espèce	Voie d'exposition	Dose(s)	Durée	Tissus analysés	Métabolites/produits résultants	Références
Hydroxylation et débromination	Souris	Orale	3 mg de l'un des isomères kg^{-1} PV	1 administration unique, 4 jours de décontamination	Fèces, foie, tissu adipeux	Métabolites debrominés mono- et di-hydroxylés	(Hakk et al., 2012)
	Poisson	Orale	0,1 ou 1 µg kg^{-1} PV j^{-1}	42 j d'exposition et 21 j de décontamination	Corps entier	Métabolite monohydroxy-dibromé	(Du et al., 2012)
Débromination	Rat	Orale	3 mg de l'un des isomères kg^{-1} PV	1 administration unique	Fèces, tissu adipeux	Plusieurs métabolites	(Hakk, 2016)
	Poisson	Exposition dans l'eau (milieu)	1 ng mL^{-1}	30 jours d'exposition et 30 jours de décontamination	Branchies, viscères, muscles, peau	TBCD, d'autres métabolites tetra- et tri-bromés	(Zhang et al., 2014)
Oxydation	Rat	Orale	3 mg de l'un des isomères kg^{-1} PV	1 administration unique	Fèces	Plusieurs métabolites	(Hakk, 2016)
Conjugaison avec des groupements complexes	Rat	Orale	3 mg de l'un des isomères kg^{-1} PV	1 administration unique	Fèces, urine	Plusieurs métabolites	(Hakk, 2016)
n.r.	Souris	Orale	non spécifié	non spécifié	Bile, sérum, urine, foie, fèces	Métabolites polaires	(Szabo et al., 2010)

Les résultats des études compilés dans les tableaux précédents montrent différentes voies de métabolisme des isomères α-, β- et γ-HBCD. Selon l'espèce, les trois isomères peuvent être métabolisés par hydroxylation, débromination, une combinaison des deux voies précédentes ou conjugaison avec des groupements complexes. Deux autres voies sont mises en évidence pour les isomères β- et γ-HBCD, qui n'ont pas été mises en évidence pour l'α-HBCD. Il s'agit de l'isomérisation et l'oxydation. Cette diversité de voies de métabolisme plus importante pour les isomères β- et γ-HBCD que pour l'α-HBCD est cohérente avec une persistance plus élevée de ce dernier, comme cela sera confirmé ci-dessous (2.2.3.3.4, 2.2.3.3.6). Ainsi chez les mammifères, environ 51, 80 et 65% respectivement de l'α-, du β- et du γ-HBCD administrés par voie orale chez des rats était métabolisé dans les 4 jours suivant cette exposition (Hakk, 2016). Par ailleurs des différences dans la forme de la molécule (molécule mère, métabolites) sont évidentes en fonction de la matrice organique considérée. Ainsi par exemple, dans l'urine chez le rat, tous les dérivés des molécules administrées ont été retrouvés sous forme de métabolites polaires (Hakk, 2016). Egalement chez la souris, dans les 24 h suivant une exposition au β-HBCD, la majorité de la molécule présente dans l'urine s'est retrouvée sous forme de métabolites (Sanders et al., 2013). Selon Szabo et al. (2010 ; 2011a), les molécules présentes dans la bile, dans le sérum et dans l'urine après exposition à l'α- et au γ-HBCD consistent exclusivement en des métabolites polaires. Par ailleurs la présence d'un métabolite tetrabromé a été suggérée dans l'urine des souris exposées au γ-HBCD (Hakk et al., 2012).

Un métabolite monohydroxylé a été identifié dans les fèces, dans le foie et dans le tissu adipeux prélevés chez des souris exposées à l'isomère α, ainsi que la molécule originelle dans les fèces et le foie (Hakk et al., 2012). Chez des souris exposées à l'α-HBCD, la proportion de molécule non transformée dans le gras abdominal, dans le foie et dans les fèces est plus élevée que celle rapportée chez des animaux exposés aux autres isomères (Szabo et al., 2011a). Les contributions respectives d'α-HBCD non transformé ont été de 100, 62 et 34% respectivement dans le tissu adipeux, dans le foie et dans les fèces, le reste de la molécule présente dans ces matrices ayant été retrouvée sous forme de métabolites.

Ces proportions ont été respectivement de 92 ; 0,3 et 14% pour le β-HBCD (Sanders et al., 2013). Selon cette étude, dans le foie la molécule se retrouve majoritairement sous forme de métabolites. Dans le tissu adipeux, les isomères α- et γ-HBCD ont pu y être mesurées également. Dans les fèces, environ la moitié de la molécule extraite est constituée de β-HBCD non transformé et de γ-HBCD résultant de la bioisomérisation, l'autre moitié consistant en des métabolites (Sanders et al., 2013).

Pour le γ-HBCD, la molécule non transformée dans le tissu adipeux, dans le foie et dans les fèces des souris exposées à cet isomère a représenté 84, 6 et 4% respectivement (Szabo et

al., 2010). Dans ces deux derniers tissus les métabolites représentent respectivement 79 et 85% de la molécule présente. Entre 11 et 16% de la molécule se présente dans ces matrices sous forme d'isomères α et β, résultants de la bioisomérisation (Szabo et al., 2010). Une autre étude chez des souris exposées au γ-HBCD a identifié des dérivés mono- et di-hydroxylés d'un métabolite pentabromé dans les fèces, dans le foie ou dans le tissu adipeux (Hakk et al., 2012). Dans le foie et les fèces, ces auteurs ont identifié également la molécule originelle (γ-HBCD), les isomères α- et β-HBCD dans les fèces et le β-HBCD dans le foie.

Sur des microsomes de rat exposés aux isomères α- et γ-HBCD, entre 1 et 3 métabolites mono-hydroxylés et entre 3 et 6 métabolites di-hydroxylés ont été identifiés (Esslinger et al., 2011). L'ensemble des métabolites dérivé de chacune de ces molécules est caractéristique, différent des métabolites dérivés des autres. Aucun métabolite du β-HBCD n'a été détecté sur des microsomes exposés à cet isomère. Quatre métabolites mono-hydroxylés ont été identifiés après incubation des isomères β- et γ-HBCD avec des microsomes de rat et de phoque (Zegers et al., 2005). Chacun de ces isomères a donné lieu à deux métabolites différents. Ces isomères ont produit également des métabolites brominés, pas caractérisés mais en tout cas plus polaires que les molécules originelles.

Chez le poisson en croissance, la bioisomérisation du β-HBCD vers les autres isomères et du γ-HBCD en α-HBCD a été mise en évidence (Law et al., 2006). La bioisomérisation du γ- en α-HBCD a également été mise en évidence par une autre étude chez des poissons (Du et al., 2012). Ces auteurs ont détecté un métabolite assigné comme mono-hydroxy-dibromé chez des poissons exposés à chaque isomère α-, β- et γ-HBCD. Une autre étude confirme la bioisomérisation du β- et surtout du γ-HBCD en α-HBCD chez le poisson (Zhang et al., 2014). L'α-HBCD n'a pas subi d'isomérisation. La voie métabolique de débromination a été mise en évidence pour les trois isomères, par identification notamment du tetrabromocyclododécadiene (TBCD), ainsi que d'autres métabolites tetra- et tri-brominés.

Chez la volaille, la bioisomérisation du γ-HBCD en α-HBCD a été mise en évidence (Fournier et al., 2012a). L'α-HBCD néoformé était mesurable dans les différents tissus pendant l'exposition et la décontamination. La concentration d'α-HBCD (ng g^{-1} MG) mesurée dans le foie était proche de celle de l'isomère γ- tout au long de l'exposition. Cependant le degré de bioisomérisation du γ-HBCD ingéré a été globalement faible. Ainsi les auteurs ont estimé qu'environ 0,2 ; 0,2 et 0,03% du γ-HBCD ingéré était respectivement éliminé dans l'œuf, récupéré dans le gras abdominal et dans le foie, sous forme d'α-HBCD.

Des différences entre les espèces sont évidentes en termes de voies de métabolisation des différents isomères et de capacité de métabolisation de l'HBCD. La production de métabolites après exposition à un mélange d'HBCD était plusieurs fois plus élevée chez le rat que chez le poisson.

Une plus grande persistance, due à une faible métabolisation, de l'isomère α- par rapport aux isomères γ- et β-HBCD a été mise en évidence chez des rongeurs, ce qui est cohérent avec des voies de métabolisation plus diversifiées des isomères γ- et β- en comparaison avec l'α-HBCD. Précisément, les voies d'hydroxylation, débromination et conjugaison avec des groupements complexes ont été mises en évidence pour les trois isomères chez des mammifères et/ou des poissons. Les voies d'oxydation et d'isomérisation ont également été confirmées pour le β- et le γ-HBCD chez ces espèces, ainsi qu'une faible isomérisation du γ- en α-HBCD chez la poule pondeuse.

2.2.3.3.4 Modifications du profil en isomères de l'HBCD

En lien avec la capacité de bioisomérisation des β- et γ-HBCD en les autres isomères, dont l'α-HBCD, et la persistance plus élevée de ce dernier, plusieurs études ont montré, après exposition des animaux à un mélange d'HBCD total, une diminution du ratio γ-/α-HBCD chez l'animal en fonction de la durée d'expérimentation. Ces résultats sont présentés dans le Tableau 13.

Tableau 13 : ratio des proportions des isomères γ- et α-HBCD dans certains tissus et dans le corps entier (ratio γ/α, sans unités ou %) mesuré par plusieurs études suite à une exposition de l'animal à l'HBCD

Espèce	Voie d'exposition	Dose(s)	Durée	Isomère	Unités	Tissus	Résultats	Référence
Rat	Orale	30 mg kg^{-1} PV	Période d'exposition de 28-33 jours	Mélange technique (81% de γ-HBCD)	sans unités	Foie	Le ratio γ/α est passé de 8 dans la matrice ingérée à 3 et 2 respectivement dans le foie chez les femelles et les mâles. Diminution du ratio γ/α avec l'augmentation de la dose d'exposition	(Van der Ven et al., 2006)
Poisson (Astronotus ocellatus)	Orale	Non spécifiée, prédominance du γ-HBCD	16 j d'exposition et 20 j de décontamination	Mélange (70% de γ-HBCD, 20% d'α- et 10% de β-HBCD)	%	Corps	La proportion d'α- et de γ-HBCD passe de 20 et 70% dans la proie à 30 et 63% dans le prédateur en fin d'exposition et à 63 et 33% dans le prédateur en fin de décontamination	(Luo et al., 2013)
Poisson (Rainbow trout)	Orale	6 mg kg^{-1} PV	15 j	Mélange technique	%	Corps	Les isomères α-, β- et γ-HBCD représentant 1, 4 et 95% de l'HBCD total dans l'aliment, ils représentent respectivement 2, 12 et 86% dans le corps quatre jours après exposition	(Haukås et al., 2009)
Oiseau (Crécerelle)	Orale	51 µg j^{-1}	21 jours d'exposition et 25 jours de décontamination	Mélange technique (13, 11 et 76% respectivement d'α-, de β- et de γ-HBCD)	%	Tissu adipeux, foie, plasma	La proportion d'α-, β- et γ-HBCD passe de 13, 11 et 76% dans la matrice contaminée à 29, 7 et 64% dans le plasma en fin d'exposition et à (71-81), (1-3) et (18-26)% respectivement dans le plasma en fin de décontamination	(Letcher et al., 2015)

Ainsi, chez des rats mâles et femelles exposés à un mélange d'HBCD, (Van der Ven et al., 2006) une inversion du ratio γ/α dans les tissus par rapport à la source d'exposition a été observée. Précisément, ce ratio est passé d'environ 8 dans la matrice ingérée, à environ 3 et 2 respectivement dans les tissus chez les femelles et les mâles exposés à 30 mg kg^{-1} PV j^{-1}. Ce ratio diminue avec l'augmentation de la dose d'exposition et est inférieur à 1 pour la dose la plus élevée d'exposition (0,4 et 0,9 respectivement chez les femelles et les mâles exposés à 200 mg kg^{-1} PV j^{-1}). Les auteurs ont suggéré que la variation de ce ratio avec la dose est due à une activation du métabolisme chez le rat aux doses testées les plus élevées provoquant une biotransformation plus élevée de l'isomère γ- en augmentant la dose.

Dans une chaîne trophique aquatique, la contribution de l'α-HBCD à l'HBCD total a augmenté en détriment notamment de l'isomère γ-HBCD au long de cette chaîne. Ainsi, l'isomère γ- représente environ 70% et l'isomère α- entre 15 et 20% de l'HBCD total dans l'aliment ingéré par les proies et dans l'organisme des poissons proies. Chez le poisson prédateur en fin d'exposition, le γ-HBCD reste l'isomère majoritaire (63% de l'HBCD total), l'α-HBCD γ représentant environ 30%. Le ratio γ/α a diminué également avec le temps de décontamination. Ainsi en fin de décontamination, les contributions du γ- et de l'α-HBCD à l'HBCD total chez le poisson prédateur se sont inversées (environ 33 et 63% respectivement). Ce changement du profil γ/α a été attribué à la bioisomérisation du γ-HBCD en α-HBCD. Les auteurs ont estimé qu'environ 26% de l'HBCD total éliminé pendant la décontamination, était éliminé par métabolisation dans l'organisme.

Chez le poisson également, Haukås et al. (2009) ont observé une légère modification du profil des isomères avec une augmentation de la contribution des isomères α- et β- à l'HBCD total en détriment du γ-HBCD ; ainsi dans l'aliment contaminé les isomères α-, β- et γ-HBCD représentaient 1, 4 et 95% de l'HBCD total, tandis qu'ils représentaient respectivement 2, 12 et 86% dans le corps quatre jours après exposition.

Enfin cette inversion des proportion des isomères a été confirmée aussi chez la crécerelle (Letcher et al., 2015). Les proportions d'α-, de β- et de γ-HBCD dans l'aliment étant respectivement de 13, 11 et 76%, les proportions respectives dans le plasma à la fin de la période d'exposition ont été de 29, 7 et 64% respectivement. La proportion d'α-HBCD a augmenté par ailleurs avec la durée de l'expérimentation au détriment notamment du γ-HBCD. Ainsi, après la décontamination, les proportions de ces isomères dans l'ensemble des tissus ont été comprises entre 71 et 81% pour l'α-HBCD, entre 1 et 3% pour le β- et entre 18 et 26% pour le γ-HBCD.

Après exposition de différentes espèces (rongeur, poisson, oiseau) à des mélanges d'isomères d'HBCD, une inversion du ratio γ/α a été constatée en montant le niveau dans la chaîne alimentaire et au sein d'un animal avec le temps d'expérimentation. Chez le rat, une influence de la dose d'exposition sur la valeur de ce ratio a été montrée. Ces résultats ont été principalement attribués à la bioisomérisation du γ- en α-HBCD et à la persistance plus élevée de l'α-HBCD que du γ-HBCD. Chez le rat, un effet du sexe sur ce ratio a été également constaté, ce qui peut être expliqué par des différences de métabolisme selon le sexe.

2.2.3.3.5 Efficacité d'assimilation, facteurs de biomagnification et de bioconcentration (BCF) de l'α-, le β- et le γ-HBCD.

Les Tableaux 14 et 15 présentent respectivement les valeurs d'efficacité d'assimilation (EA, %) et de facteur de biomagnification (BMF, sans unités) ou de facteur de bioconcentration cinétique (BCF, L kg^{-1}) estimés par différentes études chez le poisson et chez la poule pondeuse.

Tableau 14 : efficacité d'assimilation (%) des isomères α-, β- et γ-HBCD chez le poisson

Espèce	Voie d'exposition	Dose(s)	Durée	Isomère	Tissus	Résultats	D'autres résultats	Référence
Poisson (Danio rerio)	Orale	0,1 ou 1 µg kg^{-1} PV j^{-1}	42 j d'exposition et 21 j de décontamination	α-HBCD	Corps	41 et 55% respectivement pour les doses élevée et basse	Influence de la dose : AE et BMF plus élevés pour les doses basses. Pas d'influence du sexe. Comparaison des isomères : α- > β- > γ-HBCD	(Du et al., 2013; Du et al., 2012)
				β-HBCD		34 et 48% respectivement pour les doses élevée et basse		
				γ-HBCD		30 et 41% respectivement pour les doses élevée et basse		
Poisson (Oncorhynchus mykiss)	Orale	0,13 µg kg PV^{-1} j^{-1}	56 j d'exposition et 112 j de décontamination	α-HBCD	Muscle	EA de 31%	-	(Law et al., 2006)
		0,05 µg kg PV^{-1} j^{-1}		β-HBCD		EA de 41%		
		0,10 µg kg PV^{-1} j^{-1}		γ-HBCD		EA de 46%		
Poisson (Salmo salar)	Orale	1,96 µg kg PV^{-1} j^{-1}	56 j d'exposition et 84 j de décontamination	α-HBCD	Muscle	EA de 31%	-	(Berntssen et al., 2011)

Tableau 15 : facteurs de bioaccumulation (BMF, sans unités) et facteurs de bioconcentration (BCF, L kg^{-1}) des isomères α-, β- et γ-HBCD chez le poisson

Espèce	Voie d'exposition	Dose(s)	Durée	Isomère	Tissus	Résultats	D'autres résultats	Référence
Poule pondeuse	Orale	70 ng kg^{-1} PV j^{-1}	21 j d'exposition et 18 j de décontamination	γ-HBCD	Jaune d'œuf, foie	BMF de 0,4 et de 0,3 respectivement dans le jaune d'œuf et dans le foie	-	(Fournier et al., 2012a)
Poisson (Danio rerio)	Orale	0,1 ou 1 µg kg^{-1} PV j^{-1}	42 j d'exposition et 21 j de décontamination	α-HBCD	Corps	BMF de 30 et 12 respectivement pour les doses élevée et basse	Influence de la dose : AE et BMF plus élevés pour les doses basses. Pas d'influence du sexe. Comparaison des isomères : α- > β- > γ-HBCD	(Du et al., 2013; Du et al., 2012)
				β-HBCD		BMF de 12 et 7 respectivement pour les doses élevée et basse		
				γ-HBCD		BMF d'environ 8 pour les deux doses		
Poisson (Cyprinus carpio)	Exposition dans l'eau (milieu)	(1 ng de chaque isomère) mL^{-1}	30 jours d'exposition et 30 jours de décontamination	α-, β- et γ-HBCD	Muscle et peau	BCF cinétique de l'α-HBCD entre 25 et 31 fois plus élevé que celui des β- et γ-HBCD	-	(Zhang et al., 2014)

Ces résultats mettent en évidence des différences d'accumulation des différents isomères entre eux, une influence de l'espèce animale et de la dose dans certains cas. Ils seront analysés par groupe d'espèces.

Ainsi, chez des poissons en croissance, Du et al. (2012 et 2013) rapportent des EA et des BMF plus élevés pour l'α-HBCD que pour les isomères β- et γ-HBCD, qui présentent pour chaque isomère des valeurs différentes selon la dose d'exposition. Précisément, aux doses élevée et basse respectivement, les EA ont été estimées à environ 41 et 55% pour l'α-HBCD, 34 et 48% pour le β-HBCD, 30% et 41% pour le γ-HBCD. Les facteurs de biomagnification ont été estimés respectivement pour les doses élevée et basse à environ 30 et 12 pour l'α-HBCD, 12 et 7 pour le β-HBCD, environ 8 aux deux doses pour le γ-HBCD (Du et al., 2012). Le sexe ne présente pas d'influence significative sur l'accumulation des trois isomères selon ces auteurs. Ces auteurs ont comparé d'ailleurs les EA des énantiomères (+) et (-) de chaque isomère. Les énantiomères sont des molécules qui présentent la même formule chimique, mais une configuration spatiale différente qui leur donne des propriétés optiques différentes. Des différences entre les énantiomères (+) et (–) de chaque isomère ont été rapportées, l'énantiomère (+)α-HBCD présentant les efficacités d'assimilation les plus élevées (Du et al., 2013). L'étude de Law et al. (2006) arrive à des conclusions différentes. Les EA selon cette étude ont été plus bas pour l'isomère α- que pour les isomères β- et γ-HBCD. Précisément, ces EA ont été estimées à environ 31, 41 et 46% respectivement pour l'α-, le β- et le γ-HBCD. Une EA de 31% a été estimée également par Berntssen et al. (2011) chez des saumons en croissance. Enfin l'étude de Zhang et al. (2014) chez des poissons présente la particularité d'avoir réalisé l'exposition à la molécule par l'eau, par le milieu environnant, ce qui fait qu'on utilise le concept de bioconcentration au lieu de biomagnification, réservé ce dernier aux expositions par ingestion. A différence du facteur de bioconcentration à l'équilibre dont le mode de calcul a été abordé en introduction de cette partie (Eq. 2), cette étude utilise un facteur de bioconcentration cinétique, estimé comme le rapport de la constante de contamination et la constante de décontamination (k_u k_d^{-1}, L kg^{-1}). Selon cette étude, les BCF cinétiques de l'α-HBCD dans la peau et dans le muscle étaient entre 25 et 31 fois plus élevés que les facteurs de bioconcentration des isomères β- et γ-HBCD pour ces mêmes tissus. Ces résultats vont dans le même sens que ceux obtenus par Du et al. (2012 ; 2013). Les résultats contradictoires obtenus par Law et al. (2006) pourraient s'expliquer par des différences inter-espèces.

Chez la poule pondeuse exposée au γ-HBCD, les BMF de la molécule ont été estimés à environ 0,4 et 0,3 respectivement dans le jaune d'œuf et dans le foie, ce qui reflète une biomagnification faible de cet isomère dans ces matrices.

Chez les mammifères, les résultats de Szabo et al. (2010, 2011a, 2011b) rapportent une charge corporelle totale plus élevée pour l'α- que pour le γ-HBCD, et plus élevée chez la souris en croissance que chez l'adulte pour les deux isomères sur tous les points cinétiques considérés. Cette charge au bout de 4 jours pour la souris en croissance et pour l'adulte est équivalente respectivement à 23 et 17% de la dose ingérée pour l'α-HBCD et de 7 et 1% pour le γ-HBCD.

La plupart des études réalisées chez le poisson et chez le rongeur montrent une accumulation plus élevée de l'isomère α- en comparaison avec les isomères β- et γ-HBCD. Cela est cohérent avec les résultats décrits sur les points précédents, qui montrent généralement une persistance plus élevée et une capacité de métabolisation plus faible de l'isomère α-HBCD que des autres isomères chez les différentes espèces.

Chez la poule pondeuse, des BMF du γ-HBCD dans le jaune d'œuf et dans le foie ont été estimés à 0,4 et 0,3 respectivement, ce qui reflète une faible accumulation de cet isomère.

Une influence de la dose (dose faible>dose élevée) et l'absence d'influence du sexe sur les valeurs d'EA et de BMF ont été rapportées chez le poisson.

Une influence du stade physiologique (croissance>adulte) a été rapportée sur la charge corporelle de l'HBCD chez la souris.

2.2.3.3.6 Décontamination

Plusieurs auteurs ont étudié la cinétique de décontamination des différents isomères de l'HBCD chez le poisson, des mammifères et l'oiseau. Les résultats de temps de demi-vie ($t_{1/2}$) et de cinétique de décontamination rapportés chez le poisson sont présentés dans les Tableaux 16 et 17.

Tableau 16 : résultats de temps de demi-vie de l'α-, le β- et le γ-HBCD estimés chez le poisson dans la littérature (1ère partie)

Espèce	Voie d'exposition	Dose(s)	Durée	Isomère	Unités	Tissus	Résultats	D'autres résultats	Référence
Poisson (Danio rerio)	Orale	0,1 ou 1 µg kg^{-1} PV j^{-1}	42 j d'exposition et 21 j de décontamination	α-HBCD	jours (j)	Corps	17,3 et 9,8 j respectivement pour les doses basse et haute	Cinétique de décontamination de 1er ordre. Influence de la dose sur le $t_{1/2}$.	(Du et al., 2013; Du et al., 2012)
				β-HBCD			7,8 et 6,9 j respectivement pour les doses basse et haute		
				γ-HBCD			6,1 et 8,4 j respectivement pour les doses basse et haute		
Poisson (Astronotus ocellatus)	Orale	Non spécifiée	16 j d'exposition et 20 j de décontamination	Mélange (70% de γ-HBCD, 20% d'α- et 10% de β-HBCD)	j	Corps	Pas d'estimation possible du $t_{1/2}$ de l'α-HBCD	Concentration stable pendant la décontamination	(Luo et al., 2013)
							12,4 j pour le β-HBCD	Cinétique de décontamination de 1er ordre.	
							11,2 j pour le γ-HBCD		
Poisson (Cyprinus carpio)	Exposition dans l'eau (milieu)	1 ng mL^{-1}	30 jours d'exposition et 30 jours de décontamination	α-HBCD	j	Viscères, muscles, peau, branchies	Le $t_{1/2}$ dans les viscères, la peau et le muscle est estimé à 11,6 ; 27,7 et 30,1 j. Pour les branchies, ce $t_{1/2}$ est estimé à 57,8 j.	Cinétique de décontamination de 1er ordre	(Zhang et al., 2014)
				β-HBCD			Entre 3,4 et 5 j dans tous les tissus		
				γ-HBCD			Entre 4,8 et 5,5 j dans tous les tissus		

Tableau 17 : résultats de temps de demi-vie de l'α-, le β- et le γ-HBCD estimés chez le poisson dans la littérature (2ème partie)

Espèce	Voie d'exposition	Dose(s)	Durée	Isomère	Unités	Tissus	Résultats	D'autres résultats	Référence
Poisson (Salmo salar)	Orale	1,96 µg kg PV^{-1} j^{-1}	56 j d'exposition et 84 j de décontamination	α-HBCD	j	Muscle	$t_{1/2}$ estimé à 160 jours pour le saumon adulte	Cinétique de décontamination de 1er ordre.	(Berntssen et al., 2011)
Poisson (Oncorhynchus mykiss)	Orale	0,13 µg kg PV^{-1} j^{-1}	56 j d'exposition et 112 j de décontamination	α-HBCD	j	Muscle	Pas d'estimation du $t_{1/2}$ de l'α-HBCD	Cinétique de décontamination de 2ème ordre	(Law et al., 2006)
		0,05 µg kg PV^{-1} j^{-1}		β-HBCD			157 j	Cinétique de décontamination considérée de 1er ordre	
		0,10 µg kg PV^{-1} j^{-1}		γ-HBCD			144 j		
Fractions hépatiques S9 de poisson	Incubation	1 et 10 µM de chaque isomère	60 min	α-HBCD	minutes (min)	Foie	135 min.	Cinétique de décontamination de 1er ordre. Pas d'influence de la dose d'exposition aux doses testées.	(Abdallah et al., 2014)
				β-HBCD			38,1 min.		
				γ-HBCD			89,5 min.		

Chez le poisson, l'étude *in vivo* de Du et al. (2012, 2013) décrit une cinétique de décontamination de 1er ordre dans la concentration des trois isomères dans le corps (ng g^{-1} MG). Les résultats corrigés par la croissance ont permis aux auteurs d'estimer des temps de demi-vie des trois isomères, ces $t_{1/2}$ étant significativement affectés par la dose d'exposition. Ce $t_{1/2}$ oscille entre 6 et 10 jours pour les isomères β- et γ-HBCD. Le $t_{1/2}$ de l'α-HBCD est plus élevé, estimé à environ 17 et 10 jours respectivement pour les doses basse et haute d'α-HBCD. Par ailleurs des différences entre les énantiomères (+) et (-) de l'α-HBCD ont été mises en évidence (Du et al., 2013). Luo et al. (2013) décrivent également une cinétique de décontamination de 1er ordre pour les isomères β- et γ-HBCD, pour lesquels la demi-vie a été estimée à environ 12 et 11 jours respectivement. La concentration d'α-HBCD (ng g^{-1} MS) n'a pas diminué pendant la décontamination, ce qui a empêché à ces auteurs d'estimer le $t_{1/2}$ de cet isomère. Zhang et al. (2014) ont estimé le temps de demi-vie ($t_{1/2}$) des trois isomères dans les viscères, la peau, le muscle et les branchies. Le $t_{1/2}$ des isomères β- et γ-HBCD était estimé entre 3 à 5,5 jours dans tous ces tissus. Pour l'α-HBCD, le $t_{1/2}$ a été estimé dans ces matrices à environ 12, 28, 30 et 58 jours respectivement. Ces résultats confirment une persistance plus élevée de l'isomère α-HBCD que des isomères β- et γ-HBCD. Des études chez d'autres espèces de poisson rapportent des $t_{1/2}$ plusieurs fois plus longs que ceux décrits jusqu'à présent. Ainsi, Berntssen et al. (2011) ont estimé un $t_{1/2}$ de l'α-HBCD de l'ordre de 160 j dans le muscle chez le saumon adulte. L'étude de Law et al. (2006) chez des truites juvéniles décrit une cinétique de décontamination dans le muscle de 1er ordre pour les isomères β- et γ-, pour lesquels les $t_{1/2}$ ont été estimés respectivement à environ 157 et 144 jours. La courbe de décontamination de l'α-HBCD présentant deux phases (2ème ordre), la demi-vie n'a pas été estimée pour cet isomère. La différence dans le type de courbe cinétique de décontamination de l'α-HBCD, de 2ème ordre dans cette étude en comparaison avec le 1er ordre observé dans d'autres études comme celle de Berntssen et al. (2011), était attribuée par ces derniers au contenu lipidique dans le muscle, certainement plus élevé chez les saumons plus âgés et avec un poids vif plus élevé chez Berntssen et al. (2011) par comparaison aux truites étudiées par Law et al. (2006). On surlignera ici la valeur très élevée des $t_{1/2}$ estimés par Law et al. (2006), en comparaison avec les résultats des autres études réalisées chez le poisson. A part l'effet de la dose observé précédemment (Du et al., 2013; Du et al., 2012) et qui pourrait expliquer certaines de ces différences, il semble que ces différences sont plutôt dues à l'espèce étudiée.

L'étude *in vitro* d'Abdallah et al. (2014) sur des fractions hépatiques S9 de truite suggère une courbe de décontamination de 1er ordre pour les trois isomères. L'isomère α- est le plus persistant, suivi par le γ- puis par le β-HBCD. Le $t_{1/2}$ de l'α-, le β- et le γ-HBCD a été estimé respectivement à 135, 38 et 90 minutes chez la truite. Celle-ci est la seule étude *in vitro*

parmi celles réalisées chez le poisson, ce qui explique des ordres de grandeur différents vis-à-vis des résultats *in vivo* obtenus par d'autres études. En effet, pour pouvoir comparer des résultats *in vitro* et *in vivo*, il est nécessaire de vérifier que la concentration de la molécule testée *in vitro* dans le milieu d'incubation avec les fractions hépatiques en étude (hépatocytes, microsomes, cytochromes…) corresponde à la concentration retrouvée *in vivo* pour ces mêmes fractions. Des facteurs dépendants de la physiologie de l'animal comme le poids du foie et la concentration dans le foie des fractions hépatiques en étude sont à considérer également (Kilford et al., 2008; Pelkonen and Turpeinen, 2007).

D'autres études de cinétique de décontamination des différents isomères de l'HBCD ont été réalisées *in vivo* chez des mammifères. Ces résultats sont présentés dans les Tableaux 18 et 19.

Tableau 18 : résultats de temps de demi-vie et de cinétique de décontamination de l'α-, le β- et le γ-HBCD estimés chez les mammifères dans la littérature (1ère partie)

Espèce	Voie d'exposition	Dose(s)	Durée	Isomère	Variable étudiée	Unités	Tissus	Résultats	D'autres résultats	Référence
Souris	Orale	3 mg kg^{-1} PV	1 administration unique, 14 j de décontamination	α-HBCD	$t_{1/2}$	j	Foie, sang, tissu adipeux, muscle et d'autres	0,5 ; 3 ; 8 et 17 jours respectivement dans le sang, le foie, le muscle et le tissu adipeux	Cinétique de décontamination de 2ème ordre ordre, $t_{1/2}$ estimé sur la deuxième phase de la courbe de décontamination.	(Szabo et al., 2011a)
			1 administration unique	β-HBCD				1,3; 2,1; 2,5 et 5,3 jours respectivement dans le le foie, le sang, le tissu adipeux et le muscle		(Sanders et al., 2013)
			1 administration unique, 14 j de décontamination	γ-HBCD				2,3 j dans le foie; environ 3,6 j dans le muscle, le tissu adipeux et le sang		(Szabo et al., 2010)
Fractions hépatiques S9 de rat	Incubation	1 et 10 µM de chaque isomère	60 min	α-HBCD	$t_{1/2}$	min	Foie (fractions hépatiques S9)	17,1 min.	Cinétique de décontamination de 1er ordre. Pas d'influence de la dose d'exposition aux doses testées.	(Abdallah et al., 2014)
				β-HBCD				6,4 min.		
				γ-HBCD				11,9 min.		
Microsomes hépatiques de rat	Incubation	0,06 à 0,95 µM de chaque isomère	50 min	α-HBCD, (-) et (+)	$t_{1/2}$	min	Foie (microsomes)	24,4 et 14,1 min. pour les énantiomères (-) et (+)-α-HBCD	Cinétique de décontamination de 1er ordre.	(Esslinger et al., 2011)
				β-HBCD, (-) et (+)				Environ 6,3 min. pour les deux énatiomères		
				γ-HBCD, (-) et (+)				32,3 et 11,6 min. pour les énantiomères (-) et (+)-γ-HBCD		

Tableau 19 : résultats de temps de demi-vie et de cinétique de décontamination de l'α-, le β- et le γ-HBCD estimés chez les mammifères dans la littérature (2ème partie)

Espèce	Voie d'exposition	Dose(s)	Durée	Isomère	Variable étudiée	Unités	Tissus	Résultats	D'autres résultats	Référence
Microsomes hépatiques de rat	Incubation	2 µM de chaque isomère	90 min	α-HBCD	$t_{1/2}$	min	Foie (microsomes)	170 min.		(Harju et al., 2007)
				β-HBCD				7 min.		
				γ-HBCD				25 min.		
Microsomes hépatiques de rat	Incubation	2 µM de chaque isomère	90 min	α-HBCD	Quantité d'isomère dans le milieu	pmol	Foie (microsomes)	Pas de diminution significative de la quantité d'α-HBCD dans le milieu en 90 min d'incubation		(Zegers et al., 2005)
Microsomes hépatiques de phoque	Incubation	2 µM de chaque isomère	90 min	α-HBCD	Quantité d'isomère dans le milieu	pmol	Foie (microsomes)	Diminution de 17% dans la quantité de cet isomère en 90 min d'incubation		(Zegers et al., 2005)
				β-HBCD				Diminution de 69% dans la quantité de cet isomère en 90 min d'incubation		
				γ-HBCD				Diminution de 60% dans la quantité de cet isomère en 90 min d'incubation		

Ainsi, les travaux de Szabo et al. (2010, 2011) et de Sanders et al. (2013) ont permis de décrire la décontamination et d'estimer le $t_{1/2}$ de l'α-, le β- et le γ-HBCD chez la souris adulte. Ces études décrivent une cinétique de décontamination de 2ème ordre pour les trois isomères, le $t_{1/2}$ de chacun d'entre eux étant estimé sur la deuxième phase de sa courbe de décontamination. Pour l'α-HBCD, le $t_{1/2}$ était estimé à 0,5 ; 3 ; 8 et 17 jours respectivement pour le sang, le foie, le muscle et le tissu adipeux. Pour le β-HBCD, le $t_{1/2}$ dans ces matrices était respectivement de 2,1 ; 1,3 ; 5,3 et 2,5 j. Pour le γ-HBCD, le $t_{1/2}$ oscillait entre 2,3 et 3,6 j dans ces tissus. Les $t_{1/2}$ sont en effet différents selon la matrice analysée, ce qui est cohérent avec des différences d'irrigation, de partition de la molécule voire de capacité métabolique des tissus (2.2.3.2, 2.2.3.3.1). Ces résultats montrent une persistance plus élevée de l'α-HBCD que des autres isomères dans des tissus comme le muscle et le tissu adipeux. Les différences dans l'aspect de la courbe cinétique observée entre les rongeurs et les poissons peuvent être expliquées par des différences inter-espèces mises en évidence sur les différentes étapes dont la distribution, le métabolisme et l'excrétion (Abdallah et al., 2014) et des différences dans la dose appliquée (Du et al., 2013; Du et al., 2012), cette dose étant très élevée chez Szabo et al. (2010 ; 2011a) en comparaison avec les autres études.

La plupart des études chez les mammifères ont toutefois été réalisées *in vitro* et expriment le $t_{1/2}$ en minutes. Ainsi les résultats d'Abdallah et al. (2014) sur des fractions hépatiques S9 de rat rapportent des $t_{1/2}$ de l'α-, le β- et le γ-HBCD d'environ 17, 6 et 12 minutes respectivement. En comparant les résultats obtenus par ces auteurs sur des fractions hépatiques de rat et de truite, des différences inter-espèces sont évidentes, la demi-vie de chaque isomère étant de l'ordre de 6-8 fois moins longue chez le rat que chez le poisson. Esslinger et al. (2011) ont estimé les $t_{1/2}$ des énantiomères (-) et (+) de chaque isomère. La dégradation des six isomères suivait une cinétique de 1er ordre. Le $t_{1/2}$ pour les énantiomères (-) et (+) était respectivement d'environ 24 et 14 minutes pour l'α-HBCD, de 6 minutes pour les deux énantiomères du β- et de 32 et 12 minutes pour le γ-HBCD. Ainsi selon les résultats de ces études, les isomères α- et γ- sont plus persistants que le β-HBCD. Les résultats de Harju et al. (2007) sur des microsomes hépatiques de rat sont flagrants quant à la persistance plus élevée de l'α-HBCD en comparaison avec les autres isomères. Ces auteurs ont estimé des $t_{1/2}$ de 170, 7 et 25 min respectivement pour les isomères α-, β- et γ-HBCD. Enfin Zegers et al. (2005) confirment une persistance plus importante de l'α- que du β- et du γ-HBCD par incubation des trois isomères avec des microsomes de rat et de phoque. Ainsi, chez le phoque après 90 minutes d'incubation, la quantité de molécule originelle diminuait de 69 et de 60% respectivement pour le β- et pour le γ-HBCD respectivement, tandis que la concentration d'α-HBCD ne diminuait que de 17%. Chez le rat, une diminution significative

(pas précisée) de la quantité de molécule originelle était observée pour les isomères β- et γ-HBCD tandis que la quantité d'α-HBCD ne diminuait pas pendant le temps d'incubation.

Les résultats de deux études réalisées chez l'oiseau sur la cinétique de décontamination des différents isomères de l'HBCD sont présentés dans le Tableau 20.

Tableau 20 : résultats de la littérature de temps de demi-vie (j) de l'α-, le β- et le γ-HBCD estimés chez l'oiseau exposé oralement à ces molécules

Espèce	Voie d'exposition	Dose(s)	Durée	Isomère	Tissus	Résultats	D'autres résultats	Référence
Oiseau (Crécerelle)	Orale	51 µg j^{-1} d'un mélange technique	21 jours d'exposition et 25 jours de décontamination	α-HBCD	Plasma	18 j		Letcher et al., 2015
				β-HBCD		21 j		
				γ-HBCD		6 j		
Poule pondeuse	Orale	70 ng kg^{-1} PV j^{-1}	21 j d'exposition et 18 j de décontamination	γ-HBCD	Foie, jaune d'œuf, gras abdominal	0,4; 3 et 13 j respectivement dans le foie, le jaune d'œuf et le gras abdominal	Cinétique de décontamination de 1er ordre pour le γ-HBCD dans les trois matrices.	Fournier et al., 2012

Ainsi, Letcher et al. (2015) ont estimé le $t_{1/2}$ des trois isomères à partir des seuls résultats en fin d'exposition et de décontamination dans le plasma. Le $t_{1/2}$ était ainsi estimé approximativement à 18, 21 et 6 j respectivement pour l'α-, le β- et le γ-HBCD. Chez la poule pondeuse exposée au γ-HBCD (Fournier et al., 2012a), les concentrations de γ-HBCD dans les différents tissus (pg g^{-1} MG) suivent par rapport au temps une cinétique de décontamination de 1^{er} ordre. Dans le foie et dans le jaune d'œuf, ces concentrations passaient du niveau plateau (respectivement 0,2 et 0,36 ng g^{-1} MG) à des niveaux proches du bruit de fond après 3 et 8 jours de décontamination respectivement. Le $t_{1/2}$ dans le foie et dans le jaune a été estimé à 0,4 et 3 jours, respectivement. Pour le gras abdominal, la concentration de γ-HBCD a diminué progressivement pendant la décontamination, passant d'environ 0,5 ng g^{-1} MG en fin d'exposition à 0,23 ng g MG^{-1} en fin de décontamination. Le $t_{1/2}$ du γ-HBCD dans le gras abdominal est ainsi proche de la durée de décontamination appliquée, ce $t_{1/2}$ étant estimé à 13 jours. Pour l'α-HBCD néoformé par bioisomérisation, sa concentration dans le jaune d'œuf a diminué progressivement pendant la décontamination ; dans le foie, cette concentration a subi une diminution rapide pendant les 3 premiers jours de décontamination, se maintenant en dessus de la concentration de γ-HBCD tout au long de la

décontamination ; dans le gras abdominal, la concentration d'α-HBCD s'est maintenue stable tout au long de la décontamination. Ces résultats suggèrent chez la volaille la persistance plus élevée de l'α- que du γ-HBCD.

En résumé sur les résultats obtenus chez les différentes espèces, une cinétique de décontamination de 1er ordre a été généralement décrite pour les trois isomères α-, β- et γ-HBCD. Le $t_{1/2}$ de l'isomère α- est généralement plus élevé que celui des autres isomères, ce qui est cohérent avec une persistance élevée de cet isomère. Ce $t_{1/2}$ varie selon la matrice analysée. Des différences inter-espèces sont évidentes. Une influence de la dose d'exposition est rapportée chez le poisson.

Chez l'oiseau, les $t_{1/2}$ estimés dans le plasma des isomères α- et β- sont plus élevés (18 et 21 j) que celui du γ-HBCD (6 j). Chez la poule pondeuse, des $t_{1/2}$ du γ-HBCD de 0,4 ; 3 et 13 jours ont été estimés respectivement dans le foie, le jaune d'œuf et le gras abdominal. Une persistance plus élevée de l'α- que du γ-HBCD est suggérée chez la volaille.

2.2.3.3.7 Excrétion dans les fèces et l'urine

L'excrétion des xénobiotiques lipophiles se produit majoritairement par les voies fécale (composés lipophiles non modifiés, ou métabolites lipophiles) et urinaire (métabolites polaires) (Jandacek and Tso, 2001). Dans le cas de l'élimination des molécules par voie fécale, une partie des molécules absorbées peuvent se retrouver dans les fèces après avoir subi une métabolisation dans le foie, puis une élimination sous forme de métabolites dans la bile vers l'intestin. Une voie complémentaire d'élimination vers l'intestin peut exister pour des composés lipophiles, qui pourrait s'expliquer par diffusion des molécules voie les cellules constituant la paroi du tube digestif ou par desquamation de ces cellules vers la lumière intestinale (Drouillard et al., 2001; Jandacek and Tso, 2001). Les composés lipophiles éliminés vers l'intestin par l'organisme (soit par la bile, soit par diffusion) peuvent dans certains cas être réabsorbés via le cycle enterohépatique (Jandacek and Tso, 2001).

Différentes stratégies ont été testées pour réduire l'absorption des xénobiotiques lipophiles ou pour augmenter l'élimination de ceux déjà présents dans l'organisme, tel l'apport par voie orale d'huiles minérales non absorbables ou d'adsorbants, apportés pendant le repas (pour réduire l'absorption) ou pour faciliter la décontamination (en limitant la circulation entéro-hépatique) chez des animaux contaminés (Jandacek and Tso, 2001). D'ailleurs, pendant les périodes de décontamination et pendant les périodes de mobilisation des réserves lipidiques de l'organisme, les xénobiotiques lipophiles contenus dans les tissus de

stockage sont mobilisés vers la circulation sanguine. Les xénobiotiques lipophiles libérés dans la circulation sanguine peuvent alors suivre les voies suivantes : accumulation dans d'autres tissus, augmentation du métabolisme quand ils sont prélevés par le foie et diminution de la quantité de contaminant dans l'organisme du fait d'une plus grande élimination (Jandacek and Tso, 2001). Chez des volailles exposées à des RFB de type polybromobiphényles (PBB) puis décontaminées, l'apport soit de chlorhydrate de colestipol (résine) soit d'une huile non absorbable en combinaison avec une restriction alimentaire a augmenté l'élimination de ces RFB de l'organisme (Polin et al., 1985, cité par Jandacek and Tso, 2001).

Pour les isomères α-, β- et γ-HBCD, des études chez des rongeurs ont permis de caractériser leur élimination dans les fèces et l'urine. Ces résultats sont présentés dans le Tableau 21.

Tableau 21 : résultats de la littérature sur la proportion de la dose de l'α-, le β- ou le γ-HBCD éliminée en 4 jours (% dose) dans les fèces et l'urine chez des rongeurs.

Espèce	Voie d'exposition	Dose(s)	Durée	Isomère	Résultats	D'autres résultats	Référence
Rat	Orale	3 mg de l'un des isomères kg^{-1} PV	1 administration unique, 4 jours de décontamination	α-HBCD	42% dans les fèces et 13% dans l'urine	-	(Hakk, 2016)
				β-HBCD	59% dans les fèces et 30% dans l'urine		
				γ-HBCD	53% dans les fèces et 21% dans l'urine		
Souris	Orale	3 mg de l'un des isomères kg^{-1} PV	1 administration unique, 4 jours de décontamination	α-HBCD	48% dans les fèces et 19% dans l'urine	-	(Hakk et al., 2012)
				γ-HBCD	60% dans les fèces et 28% dans l'urine		
Souris	Orale	3 mg kg^{-1} PV	1 administration unique, 14 j de décontamination	α-HBCD	49% dans les fèces et 15% dans l'urine	Pas d'influence de la dose d'exposition sur l'élimination dans l'urine, influence sur l'élimination dans les fèces	(Szabo et al., 2011a)
		3, 30 et 100 mg kg^{-1} PV	1 administration unique, 4 jours de décontamination	β-HBCD	>50% dans les fèces et >40% dans l'urine	24 h après l'exposition, le % de la dose éliminé est inversement proportionnel à la dose dans les fèces et l'urine. Quatre jours après exposition, presque 100% de la dose a été éliminée dans ces excrétions indépendamment de la dose.	(Sanders et al., 2013)
		3 mg kg^{-1} PV	1 administration unique, 14 j de décontamination	γ-HBCD	55% dans les fèces et 26% dans l'urine	Pas d'influence de la dose d'exposition sur l'élimination dans l'urine, influence sur l'élimination dans les fèces	(Szabo et al., 2010)

Tous ces résultats convergent vers une élimination plus importante de la molécule dans les fèces que dans l'urine. Il y a par ailleurs des différences dans le taux d'élimination selon les isomères. Ainsi, les résultats de Hakk (2016) chez le rat montrent une élimination plus importante dans les deux matrices du β-HBCD (environ 59 et 30% de la dose éliminée respectivement dans les fèces et l'urine pendant les 4 jours suivant l'exposition). Dans le même temps, 42 et 13% de la dose d'α-HBCD était éliminée dans les fèces et l'urine. Le taux d'élimination du γ-HBCD était intermédiaire, d'environ 53 et 21% dans les fèces et l'urine. Ces résultats sont cohérents avec ceux de Hakk et al. (2012) chez la souris. Précisément, dans les 24 h suivant l'exposition, l'élimination du γ- et de l'α-HBCD ingérés dans l'urine représente selon cette étude 25 et 15% de la dose respectivement, 52 et 42% des doses étant éliminées dans les fèces. Ces résultats mettant en évidence une élimination plus élevée du β-HBCD, suivi du γ- et une élimination moins importante de l'α-HBCD. Cela confirme une persistance plus élevée de l'isomère α- dans l'organisme. D'autres résultats chez la souris confirment ces conclusions. Ainsi, l'élimination des isomères α-, β- et γ-HBCD a été rapportée dans les fèces et dans l'urine chez des souris, quatre jours après l'exposition (Sanders et al., 2013; Szabo et al., 2010; Szabo et al., 2011a). Pendant ce temps, pour le γ-HBCD, les fèces permettaient l'élimination de 55% de la dose administrée et l'urine permettait l'élimination de 26% de la dose. Le niveau d'exposition n'influençait pas l'élimination du γ-HBCD (en % de la dose) dans les fèces et dans l'urine. Pour l'α-HBCD, les fèces ont permis d'éliminer environ 49% de la dose administrée, l'urine permettant d'éliminer autour de 15%. Pour cet isomère, l'élimination fécale était influencée de façon significative par la dose d'exposition. Pour le β-HBCD, en 24 h, environ 90% du β-HBCD était éliminé dans les excréments, les proportions étant proches de 50 et 40% de la dose respectivement dans les fèces et l'urine. La quantité de β-HBCD éliminée dans les excrétions (% dose) dans les 24 heures était inférieure pour les doses supérieures (30 et 100 mg kg^{-1} PV) que pour la dose de 3 mg kg^{-1} PV. Quatre jours après exposition, la presque totalité de la dose administrée était éliminée dans ces excrétions et cela indépendamment de la dose administrée. Dans les fèces, une grande partie de la molécule administrée s'y retrouve sous forme de métabolites (66, 39 et 85% de la molécule administrée dans le cas respectivement à de l'α-, le β- ou le γ-HBCD). Cette excrétion majoritaire dans les fèces sous forme de métabolites est en accord avec une élimination de la molécule ayant lieu principalement par métabolisme dans le foie, depuis lequel la molécule est dirigée dans la bile vers l'intestin.

Chez des rongeurs, la voie fécale représente la voie principale d'élimination des isomères α-, β- et γ-HBCD, suivie de la voie urinaire. Le taux d'élimination dans les excréments est plus élevé pour le β-HBCD, suivi du γ-HBCD et en dernier lieu par l'α-HBCD.

2.2.3.3.8 Elimination dans l'œuf

Chez la poule en ponte, une partie des molécules présentes dans la circulation sanguine est déposée progressivement dans les follicules en croissance et éliminée de l'organisme quand le jaune est ovulé (Donoghue, 2001). Comme abordé précédemment, le transfert de lipides du sang vers le follicule en formation se produit grâce à des lipoprotéines VLDL contenant une apoprotéine spécifique, l'apo-VLDL-II, synthétisée dans le foie chez la poule en ponte (2.2.3.2). Les POP, de par leur lipophilicité, sont déposés avec les lipides dans le jaune et non pas dans le blanc d'œuf (Drouillard and Norstrom, 2001; Rawn et al., 2011). Le transfert de différents composés vers le jaune est ainsi lié au dépôt de jaune, ce dépôt étant quantitativement différent selon le stade de maturité du follicule (Donoghue et al., 1996).

Cette voie d'élimination a été abordée précédemment pour comparer le transfert de l'HBCD vers cette matrice en comparaison avec le transfert de l'HBCD vers différents tissus de l'oiseau. Ainsi, la hiérarchie des tissus dans l'accumulation de l'HBCD total (majorité ou exclusivité de γ-HBCD) suit l'ordre : tissu adipeux > œuf > foie > plasma (Fournier et al., 2012a; Letcher et al., 2015).

Le $t_{1/2}$ du γ-HBCD dans le jaune d'œuf est estimé à environ 3 jours, intermédiaire entre le $t_{1/2}$ de cet isomère dans le foie (0,4 j) et dans le gras abdominal (13 j).

Les facteurs de biomagnification du γ-HBCD dans le jaune d'œuf et dans le foie ont été estimés à 0,4 et 0,3 respectivement, ce qui illustre une biomagnification faible de cet isomère chez la poule pondeuse en comparaison avec d'autres espèces (Tableau 15).

Le taux de transfert vers l'œuf a été estimé à environ 1,2% (Fournier et al., 2012a), ce qui signifie qu'une fois atteint l'équilibre dans le transfert de la molécule vers l'œuf, environ 1,2% du γ-HBCD ingéré est transféré au quotidien vers l'œuf.

Par ailleurs, une faible isomérisation du γ-HBCD ingéré en α-HBCD a été mise en évidence, ce dernier isomère étant détectable dans toutes les matrices dont l'œuf. Précisément tout au long de l'exposition, 0,2% du γ-HBCD ingéré a été éliminé dans l'œuf sous forme d'isomère α-HBCD et 0,2 et 0,03% du γ-HBCD ingéré a été dosé comme α-HBCD respectivement dans le gras abdominal et dans le foie. En définitive chez des poules pondeuses exposées au γ-HBCD, la molécule originelle reste majoritaire dans les œufs.

Aucune étude n'a été réalisée à cette date permettant de définir l'ensemble des caractéristiques et des paramètres cinétiques du devenir de l'α-HBCD chez la poule pondeuse. L'intérêt de mettre en place une expérimentation cinétique de transfert de l'α-HBCD chez la poule pondeuse pour estimer certains de ces paramètres cinétiques sera évoqué dans la conclusion de cette synthèse et expliqué dans le chapitre 3. L'intérêt de

développer un modèle qui permette de répondre à des questions qui échappent à la démarche expérimentale est également abordé en conclusion de la synthèse (2.4).

Chez l'oiseau exposé exclusivement ou majoritairement à l'isomère γ-HBCD, l'œuf représente l'une des matrices présentant les concentrations de la molécule les plus élevées. Chez la poule pondeuse, le taux de transfert vers l'œuf du γ-HBCD est estimé à environ 1,2%. Le $t_{1/2}$ de cet isomère est estimé à environ 3 jours dans le jaune d'œuf. Une faible bioisomérisation du γ-HBCD en α-HBCD a été mise en évidence chez la poule pondeuse, qui ne provoque pas une prédominance de l'α-HBCD dans les œufs. Les paramètres cinétiques de transfert de l'isomère α-HBCD chez la poule pondeuse ne sont pas connus à cette date.

2.3 Démarche de modélisation et types de modèles existants

2.3.1 Généralités

Un modèle peut être défini de façon simple comme la représentation simplifiée d'un système réel complexe. En effet, un modèle est construit avec l'objectif de répondre à une question scientifique sur un système réel, tout en représentant ce système de façon aussi simple que possible. Supposons que le système réel à étudier est un être vivant, dans notre cas un animal. L'animal est un système complexe composé de molécules, de cellules, qui constituent des tissus, et ceux-ci constituent des organes tels que le foie, le cœur, le muscle, le cerveau, la thyroïde… Chez l'animal, ces organes sont rassemblés de par leur fonction dans des systèmes organiques (systèmes digestif, circulatoire, locomoteur, nerveux, endocrine…). Toutes ces composantes représentent autant de « niveaux » possibles d'étude de l'animal. Ces composantes sont imbriquées chez l'animal et leur fonctionnement et composition régulée et contrôlée continuellement afin de garantir l'homéostasie de l'organisme, c'est-à-dire l'état d'équilibre qui permet de maintenir les fonctions vitales. Dans cette homéostasie sont également nécessaires des échanges avec le milieu environnant. Sans entrer dans des aspects sociaux (importants quand il s'agit de représenter un regroupement d'individus : une société, un troupeau…), depuis un point de vue strictement physiologique, l'animal est en interaction continue avec le milieu environnant avec lequel il échange de l'énergie, de l'air et des nutriments.

Dans la simplification inhérente à la modélisation, le terme « d'agrégation » est généralement utilisé pour faire référence au rassemblement de certains composants de l'animal dont l'étude individualisé n'est pas nécessaire pour répondre à la question scientifique, des composants de l'animal qui présentent une même composition ou fonction, des nutriments qui présentent une même voie métabolique… (Sauvant, 1992). Ainsi par exemple, le modèle de transfert du médicament midazolam chez différentes espèces

d'oiseaux en croissance développé par Cortright et al. (2009) représente par des compartiments individuels certains tissus importants du point de vue du devenir de la molécule dans l'organisme ou de la consommation humaine (plasma, foie, tissu adipeux, muscles, reins), et agrège le reste des tissus dans un compartiment « autres ». De la même façon, la simplification implique normalement « l'omission » de certains phénomènes (régulation, voies métaboliques non limitantes…) ou de composants considérés mineurs pour répondre à la question posée (Sauvant, 1992). Ainsi, dans le modèle de transfert des polluants lipophiles de type PCB chez la poule pondeuse développé par Fournier et al. (2015), ce sont les lipides de l'organisme et non pas les protéines ou les carbohydrates qui ont été représentés. Par la même raison, c'est le jaune (qui contient les lipides de l'œuf et vers lequel les polluants lipophiles sont transférés) et non pas le blanc d'œuf qui a été modélisé par ces auteurs.

2.3.2 Types de modèles existants

- Plusieurs classifications et par conséquence plusieurs classes de modèles existent, parmi lesquels, notamment (Sauvant, 1992) :
    - Des modèles statiques, où leurs composants n'évoluent pas avec le temps vs. des modèles dynamiques, qui évoluent avec le temps. L'animal étant un système dynamique, la représentation de certains processus chez l'animal n'exige cependant pas toujours des modèles dynamiques. Ainsi, par exemple, la représentation de la variation de l'ingestion en fonction du poids vif et du niveau de production par une équation de régression représente en soi un modèle empirique statique. Cela n'empêche pas le poids vif et le niveau de production de varier avec le temps (ex. dans une équation de régression ou dans un modèle mécaniste), ces dernières seront en effet représentées généralement comme des variables dynamiques.
    - Des modèles déterministes, dans lesquels les paramètres sont fixés par le chercheur vs. des modèles stochastiques, dont le fonctionnement dépend non seulement de paramètres fixes mais aussi de variables aléatoires, dont la valeur est tirée mathématiquement de façon aléatoire à partir d'une distribution de valeurs donnée. La stochasticité est plus fréquente dans des modèles qui représentent un troupeau (Kudahl et al., 2007) que dans des modèles où l'on représente un individu. Dans ce dernier cas on représente généralement un « animal-type » représentatif de l'espèce animale étudiée (Cortright et al., 2009).

- Des modèles empiriques, dans lesquels on représente les échanges du système avec l'extérieur. On s'intéresse aux entrées et sorties du système sans entrer dans les caractéristiques de fonctionnement du système, vs. des modèles mécanistes, où l'on s'intéresse à des mécanismes internes de fonctionnement du système. De façon résumée, les modèles mécanistes se composent généralement de plusieurs composants en interaction mutuelle : des compartiments (des « box » représentant des quantités de matière), des flux de matière (des échanges de matière par unité de temps entre les différents compartiments), des variables de calcul (des équations de calcul, avec différentes unités possibles), des paramètres (valeurs numériques préfixés par le concepteur du modèle), des flux d'information qui font dépendre certains éléments de la valeur d'autres composants du système, des délais qui retardent une action dans le temps… Une hiérarchie peut être appliquée entre ces composants. Par exemple, l'ensemble du modèle peut dépendre d'un même compartiment ou variable du modèle, tel que le poids vif, qui constituerait ainsi l'une des forces motrices du modèle.

2.3.3 Etapes de construction et d'évaluation d'un modèle

L'élaboration et l'évaluation d'un modèle se réalise en plusieurs étapes (Sauvant, 1992) :

- En base à la question de recherche posée, définition du système à modéliser et du type de modèle choisi.
- Développement du modèle conceptuel (structure générale du modèle).
- Détermination des lois mathématiques régissant le modèle, les interactions entre ses composants.
- Détermination de la valeur des paramètres des équations mathématiques, ou « calibration » du modèle. Dans les modèles mécanistes, la valeur de la plupart ou de la totalité des paramètres devrait pouvoir être renseignée à partir de données retrouvées dans la bibliographie, ou à partir d'expérimentations réalisées avec cet objectif. Sur les paramètres dont la valeur est méconnue ou incertaine, il est nécessaire de leur donner une valeur de départ aussi réaliste que possible. En effet l'augmentation du nombre de paramètres dont la valeur est méconnue ou incertaine est négative car elle introduit de l'imprécision dans le modèle.
- Simulation, lors de laquelle on applique des données d'entrée (intrants) et le modèle ressort des données de sortie (résultats simulés). Pour ajuster certains paramètres dont la valeur est incertaine, les logiciels de modélisation permettent d'ajuster la valeur d'un nombre limité de paramètres par ajustement des résultats simulés sur

des résultats observés. Sur certains logiciels de modélisation, la valeur initiale du paramètre a une influence sur la valeur ajustée finale. C'est pour cela qu'il convient de connaître ou du moins d'avoir une idée approximative de la valeur des paramètres avant l'ajustement de ceux-ci.

- Dans le cas où l'on dispose de jeux de données expérimentales non utilisées dans les étapes précédentes, la confrontation des données simulées à ces valeurs observées permet, dans l'idéal, la validation du modèle.
- La remise en question et la modification de certains composants du modèle, sa complexification progressive... ce sont des démarches fréquentes en modélisation où l'on cherche toujours à améliorer le modèle. Il convient de refaire l'étape de validation après les modifications apportées au modèle.

Un modèle est construit pour répondre à une question scientifique sur un système réel complexe, tout en représentant ce système de façon aussi simple que possible. Différents types de modèles existent, parmi lesquels des modèles empiriques, dans lesquels on s'intéresse aux échanges du système avec l'extérieur, sans détailler le fonctionnement interne du système, et des modèles mécanistes dans lesquels, en plus des échanges du système avec l'extérieur, on représente différents composants du système qui interviennent dans son fonctionnement interne et interagissent entre eux. En modélisation, les étapes suivantes sont généralement suivies : développement du modèle conceptuel en fonction de la question de recherche posée, détermination des lois mathématiques régissant son comportement, calibration du modèle, simulation, ajustement de certains paramètres, validation, remise en question et modifications sur le modèle.

2.3.4 Caractéristiques des modèles mécanistes : modèle à compartiments et modèle pharmacocinétique basé sur la physiologie (PBPK)

En général dans les modèles mécanistes, plusieurs hypothèses simplificatrices sont généralement considérées (Barron et al., 1990; Sauvant, 1992) :

- Distribution instantanée et homogène de la molécule étudiée dans chaque compartiment.
- Distribution linéaire de la molécule : la concentration de la molécule dans les tissus agrégés par ressemblance dans un compartiment est directement proportionnelle à la quantité de la molécule dans le compartiment. Chacun de ces tissus « similaires » pouvant être rassemblés dans un modèle, présente dans la réalité des caractéristiques qui lui sont propres.

- Cinétique de transfert de 1er ordre, c'est-à-dire le flux de transfert d'une molécule depuis un compartiment d'origine vers un compartiment de destination est directement lié à la quantité de molécule dans le compartiment d'origine (loi d'action de masse). Ainsi, considérons un modèle simple constitué des compartiments QA et QB, qui représentent des quantités (kg) de matière (Figure 3).

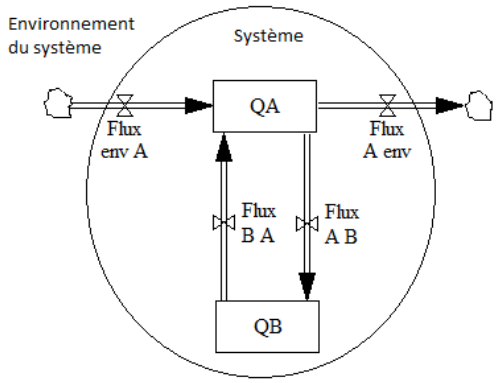


Figure 3 : exemple de modèle mécaniste bicompartimental simple. QA=quantité de matière dans le compartiment A (kg) ; QB : quantité de matière (kg) dans le compartiment B ; Flux B A : flux de matière depuis B vers A (kg j^{-1}) ; Flux A B : flux de matière depuis A vers B (kg j^{-1}) ; Flux env A : flux de transfert de matière depuis l'environnement vers A (kg j^{-1}) ; Flux A env : flux de transfert de matière depuis A vers l'environnement (kg j^{-1}).

Dans cette figure, si on se focalise sur le compartiment A, il présente un flux d'entrée de matière depuis B et un flux de sortie de matière vers B (respectivement « Flux B A » et « Flux A B », kg j^{-1}), un flux d'entrée de matière depuis l'environnement et un flux de sortie vers l'environnement (respectivement « Flux env A » et « Flux A env », kg j^{-1}). Les composants « Flux B A » et « Flux A B » sont calculés selon les Eq. 11 et Eq. 12, où k_{BA} et k_{AB} représentent des taux relatifs (j^{-1}) de transfert des compartiments B vers A et A vers B respectivement.

Eq. 11 $$\text{Flux B A} = k_{BA} \times QB$$

Eq. 12 $$\text{Flux A B} = k_{AB} \times QA$$

On considère que pendant un court intervalle de temps (dt, j), la variation de la quantité de matière dans A (dQA, kg) est égale à la différence entre les sommes des flux entrants et sortants, selon la structure des Eq. 13 et Eq. 14

Eq. 13 $$\frac{dQA}{dt} = \text{Flux env A} + \text{Flux B A} - \text{Flux A env} - \text{Flux A B}$$

Eq. 14 $$\frac{dQA}{dt} = \text{Flux env A} + (k_{BA} \times QB) - \text{Flux A env} - (k_{AB} \times QA)$$

En pharmacocinétique, la modélisation mécaniste a été très développée et utilisée notamment pour contribuer à l'évaluation dose-effet lors des évaluations de risques de médicaments. Deux types de modèles mécanistes ont été utilisés : 1) des modèles

pharmacocinétiques basés sur la physiologie (PBPK) et 2) des modèles à compartiments (Andersen, 1995). Les modèles PBPK renseignent en détail les caractéristiques anatomiques et physiologiques de l'animal en question, ces caractéristiques étant choisies de par leur influence sur le transfert d'un type de molécule donné et comprennent parmi d'autres le poids des tissus, leur composition et leur débit sanguin, ainsi que quelques caractéristiques de la molécule (ex. clairance). Des paramètres biochimiques spécifiques à la molécule sont également renseignés dans ces modèles. L'hypothèse de base est que les caractéristiques physiologiques représentées et les paramètres de la molécule gèrent le transfert de la molécule dans l'organisme. Ainsi, en simulant une exposition à la molécule, le modèle peut permettre de « prédire » la concentration de la molécule dans les tissus. Ces modèles présentent l'avantage qu'ils peuvent être utilisés sur différentes espèces et sur d'autres molécules à comportement similaire, après modification de la valeur des paramètres physiologiques et biochimiques correspondants. Ces modèles doivent être aisément interprétables, les composants anatomiques de l'animal et les paramètres liés à la molécule étant clairement différenciés. Ainsi, si un paramètre biochimique clé dans le transfert de la molécule chez l'animal n'est pas connu ou difficilement mesurable expérimentalement, l'ajustement du modèle sur des données expérimentales d'exposition et de concentration de la molécule dans les tissus peut donner une idée de la valeur de ce paramètre biochimique.

Dans les modèles à compartiments, certaines caractéristiques physiologiques et de la molécule sont également considérées, mais ils ne représentent pas l'ensemble des caractéristiques physiologiques de l'animal, telle l'irrigation sanguine. Ainsi, la valeur de certains paramètres rassemble des caractéristiques propres à la molécule et à l'espèce. Ces paramètres devront être ajustés nécessairement sur des jeux de données expérimentales et l'interprétation de leur valeur d'un point de vue biochimique ou physiologique est difficile. Par conséquence, il est difficile d'extrapoler ces modèles à d'autres espèces ou molécules. En général sur ces modèles il sera nécessaire de réajuster les paramètres sur de nouvelles données expérimentales lors des extrapolations du modèle. Il est possible d'indexer certains paramètres sur des caractéristiques physiologiques (ex. le PV), de façon à les corriger automatiquement selon certaines caractéristiques physiologiques de l'espèce étudiée. Cela facilite une extrapolation et une comparaison inter-espèces de ces modèles, utile comme première approche dans le cas d'espèces pour lesquelles peu de données bibliographiques existent au niveau physiologique et biochimique.

Les principales caractéristiques de deux modèles mécanistes de référence qui représentent le transfert de contaminants lipophiles chez la poule pondeuse sont présentées dans les Tableaux 22 et 23.

Tableau 22 : principales caractéristiques des modèles de transfert de polluants lipophiles développés par MacLachlan (2010) et Fournier et al. (2015), 1ère partie

Auteurs		**(MacLachlan, 2010)**	**(Fournier et al., 2015)**
Type de modèle		**PBPK**	**A compartiments**
Animal		Poule pondeuse en ponte, poulet à croissance rapide, poulet à croissance lente, d'autres oiseaux	Poules pondeuse à différents stades physiologiques (3 cycles de ponte, 2 mues)
Molécule		Plusieurs molécules lipophiles (Kow>3)	PCB
Objectifs principaux		Extrapolation du modèle à d'autres oiseaux et molécules	Etude de l'impact du stade physiologique et hiérarchisation de certaines caractéristiques physiologiques de la poule pondeuse (poids vif et taux de ponte) selon leur influence sur le transfert de la molécule et sa concentration dans les tissus et dans l'œuf
		Etude de l'influence de certaines caractéristiques physiologiques et de la molécule sur le transfert de la molécule : species, fraction lipidique dans le sang, ratio des coefficients de partition œuf-sang et tissu adipeux-sang, taux de croissance, coefficients de partition, clairance hépatique, fraction absorbée de la molécule	
Force motrice du modèle		Poids vif et gain de poids vif chez tous les oiseaux considérés, et aussi poids de l'œuf chez la poule pondeuse	Poids vif, durée de la série de ponte
Compartiments représentés		Sang, foie, tissu adipeux, muscles, follicules en croissance, "autres"	Tissu adipeux, compartiment "central" (qui agrège le plasma, le foie et les muscles), follicules en croissance
Type d'information sur chaque compartiment		Poids, quantité de lipides totaux, débit sanguin et quantité de molécule	Quantité de lipides totaux et quantité de molécule
Hypothèses structurelles	**Echanges de molécule entre les matrices**	Partition de la molécule entre les tissus ou l'œuf et le sang, fonction de : coefficient de partition entre chaque tissu ou l'œuf et le sang, débit sanguin vers chaque matrice	Echanges de la molécule entre les tissus : fonction de la concentration de la molécule dans les tissus : diffusion passive du compartiment le plus concentré à celui le moins concentré (ng g^{-1} MG). Le transfert de la molécule vers le follicule est déterminé par le dépôt de lipides dans le jaune et la concentration de la molécule (ng g^{-1} MG) dans le compartiment "central".
		Partition instantannée de la molécule du sang vers les tissus, et homogène au sein de ceux-ci	
		Coefficients de partition (Kp) équivalents au ratio des concentrations de lipides totaux dans chaque tissu et dans le sang.	
	Clairance hépatique	Calculée en fonction du débit sanguin du foie et du ratio d'extraction de la molécule dans le foie à l'équilibre	Calculée en fonction de la quantité de molécule dans le compartiment "central"
	Ingestion	Ingestion : fonction du PV métabolique, du poids de l'œuf et de la température ambiante chez la poule / fonction du poids vif métabolique et du gain de poids vif chez le poulet et d'autres oiseaux	Ingestion fixe
	Taux de ponte	Non représenté. Taux de ponte considéré de 100% tout au long de la simulation	Taux de ponte dépendant de la durée de la série de ponte
			Durée minimale de la série de ponte: 1 jour, durée fixe d'1 jour pour les périodes de pause entre séries

Tableau 23 : principales caractéristiques des modèles de transfert de polluants lipophiles développés par MacLachlan (2010) et Fournier et al. (2015), 2ème partie

<table>
<tr><th colspan="2">Auteurs</th><th>(MacLachlan, 2010)</th><th>(Fournier et al., 2015)</th></tr>
<tr><td rowspan="2">Hypothèses structurelles</td><td rowspan="2">D'autres</td><td>Compartiment additionnel de tissu adipeux à flux sanguin réduit pour des molécules présentant une décontamination de 2ème ordre</td><td></td></tr>
<tr><td>Débit sanguin fonction du poids de chaque tissu</td><td></td></tr>
<tr><td colspan="2" rowspan="7">Principales simplifications</td><td>Valeurs des Kp fixés de façon arbitraire pour les différents tissus.</td><td rowspan="3">Les "coefficients de partition" et le "taux de clairance hépatique" sont obtenus par ajustement sur des données expérimentales. Ils intègrent des caractéristiques de la molécule ainsi que certaines caractéristiques de l'animal, précisément l'irrigation des tissus</td></tr>
<tr><td>Facteurs d'échelle pour modifier les coefficients de partition lors de l'utilisation du modèle sur différentes molécules</td></tr>
<tr><td>En l'absence de données pour paramétrer le taux d'élimination hépatique chez la volaille, les différentes valeurs testées ont été estimées de façon indirecte sur des données de $t_{1/2}$ chez le rongeur</td></tr>
<tr><td colspan="2">Seul le métabolisme hépatique est considéré.
Pas de processus de saturation ou d'induction du métabolisme considérés</td></tr>
<tr><td colspan="2">Pas de représentation d’une possible circulation entérohépatique de la molécule</td></tr>
<tr><td>PV fixe chez la poule</td><td rowspan="2">Agrégation du sang, du foie et des muscles dans un compartiment "central"</td></tr>
<tr><td>Considération d'une croissance allométrique uniquement pour foie et le tissu adipeux chez le poulet et d'autres oiseaux. Le poids des autres tissus est calculé comme une fraction fixe du PV.</td></tr>
<tr><td>1 œuf pondu par jour (ce qui équivaut à un taux de ponte de 100%)</td><td>Taux d'ingestion constant tout au long de la simulation : même niveau d'exposition à tous les stades physiologiques</td></tr>
<tr><td colspan="2">Validation du modèle</td><td>non</td><td>oui</td></tr>
<tr><td colspan="2" rowspan="3">Principaux résultats</td><td>Les caractéristiques physiologiques et de la molécule étudiées ont une influence sur la concentration de la molécule dans les matrices animales et notamment : la fraction lipidique sanguine, les coefficients de partition, la fraction absorbée de la dose, la clairance hépatique.</td><td rowspan="2">Le taux de ponte est le principal facteur physiologique influençant la concentration de la molécule dans les tissus au stade d'équilibre pendant la ponte. Le niveau d’engraissement (lié au PV) est le principal facteur influençant le taux de décontamination (temps de demi-vie) de la molécule dans les tissus</td></tr>
<tr><td>Une augmentation de l'élimination dans les œufs par augmentation du ratio Pegg/Pfat réduit la concentration de la molécule dans les tissus</td></tr>
<tr><td>En général, la concentration des molécules dans le tissu adipeux : poule pondeuse < d'autres oiseaux <= poulet à croissance rapide <= poulet à croissance lente</td><td>Augmentation considérable de la concentration de la molécule dans le gras abdominal et dans l'œuf pendant la mue en comparaison avec la ponte, la concentration plus élevée après la mue en comparaison avec les résultats avant la mue diminue progressivement pendant la ponte</td></tr>
</table>

Les différences entre les deux modèles se justifient par leurs objectifs spécifiques. Ainsi, le modèle de MacLachlan (2010) développé chez la poule en ponte doit permettre notamment une extrapolation de son utilisation pour d'autres oiseaux, ce qui explique le choix d'un modèle PBPK très détaillé sur la composition tissulaire et pas très détaillé au niveau de la ponte. Le modèle de Fournier et al. (2015) a pour objectif principal d'étudier l'influence des principales caractéristiques physiologiques de la poule pondeuse dont le stade physiologique sur la concentration de la molécule dans les tissus et dans l'œuf, ce qui explique le choix d'un modèle à compartiments, moins détaillé que le premier au niveau de la composition corporelle (pas de débits sanguins, moins de compartiments) et très détaillé sur les caractéristiques de ponte. Chacun de ces modèles est capable de répondre à ses objectifs. Le modèle de MacLachlan (2010) montre une influence de plusieurs caractéristiques physiologiques et de la molécule sur la concentration des molécules dans les tissus et en particulier il met en évidence l'influence de la fraction lipidique dans le sang. Il suggère que l'augmentation de lipides sanguins dans les tissus pendant la ponte provoque chez la poule une diminution de la concentration de la molécule dans les tissus à cause d'une diminution des coefficients de partition de la molécule entre les tissus et le sang. Il montre également qu'une augmentation du ratio des coefficients de partition dans l'œuf et dans le tissu adipeux, c'est-à-dire une augmentation de l'importance de l'élimination de la molécule avec la ponte en comparaison avec son stockage dans le tissu adipeux, permet une diminution de la concentration de la molécule dans les tissus. Cela suggère un effet du taux de ponte sur la concentration de la molécule dans les tissus. Cependant MacLachlan (2010) considère une poule à PV et taux de ponte fixes. Ce modèle ne permet pas de comparer l'influence des différentes caractéristiques physiologiques sur le transfert des molécules étudiées chez la poule pondeuse. Au contraire, le modèle de Fournier et al. (2015) permet de répondre à cette question pour les PCB. Ce modèle met en évidence l'augmentation considérable de la concentration de molécule dans les tissus lors d'une mue, bien que les résultats pendant la mue doivent être considérés avec précaution du fait que l'une des simplifications de ce modèle est de considérer un taux d'ingestion constant et par conséquence une exposition constante à la molécule tout au long de la vie de la poule, tandis qu'en général le taux d'ingestion est fortement réduit en début de mue. Ce modèle montre que le taux de ponte (modifié indirectement par modification de la longueur des séries de ponte) présente une influence notable sur la concentration de la molécule dans les tissus lors d'une exposition aux PCB, avec une concentration moins élevée pour des taux de ponte plus importants. Leur analyse en décontamination a montré que l'état d'engraissement (lié au PV) présente une plus grande influence sur le temps de demi-vie de ces molécules dans les tissus, avec un $t_{1/2}$ moins long et par conséquence une diminution de la concentration dans les tissus plus

importante chez des poules légères peu grasses en comparaison avec des poules lourdes plus grasses. Le modèle de Fournier et al. (2015) étant très utile dans la recherche sur le transfert de molécules chez la poule pondeuse, il est difficile à extrapoler du fait que les coefficients déterminant la partition de la molécule entre les tissus sont dépendants d'une part de la molécule même, d'autre part de caractéristiques physiologiques non renseignées par le modèle et précisément de l'irrigation. Le modèle PBPK de MacLachlan (2010) permet une extrapolation simple vers d'autres oiseaux et molécules, en modifiant les paramètres correspondants.

En général dans les modèles mécanistes, il est considéré une distribution instantanée et homogène de la molécule dans chaque compartiment et une cinétique de transfert de 1er ordre. En pharmacocinétique, deux types de modèles mécanistes ont été très développés : les « modèles pharmacocinétiques basés sur la physiologie (PBPK) » et des « modèles à compartiments ». Les premiers renseignent en détail les caractéristiques anatomiques et physiologiques de l'animal pouvant présenter une influence sur le devenir de la molécule en étude, parmi lesquelles le poids des tissus, leur composition, débit sanguin et des caractéristiques de la molécule. Ils différencient totalement les paramètres dépendant de la molécule de ceux dépendants de la physiologie. Ils sont ainsi plus facilement extrapolables à d'autres animaux ou molécules en comparaison avec les modèles « à compartiments », dans lesquels certains paramètres dépendent à la fois de la molécule et de la physiologie. Deux modèles de référence de transfert de molécules lipophiles chez la poule pondeuse ont été analysés, l'un de type PBPK (MacLachlan, 2010) et l'autre « à compartiments » (Fournier et al., 2015). Chacun permet de répondre à des objectifs différents.

2.4 Conclusion

Cette synthèse bibliographique constitue un état de lieux sur les usages et caractéristiques principales de l'HBCD. Cette molécule a été incluse à l'annexe A de la Convention de Stockholm des POP en 2013. L'ingestion représente la voie principale d'exposition à cette molécule et les denrées alimentaires d'origine animale les principales sources d'exposition chez la population générale. Plusieurs études concluent que les niveaux d'exposition à l'HBCD ne constituent pas un danger pour la santé des consommateurs, la concentration de la molécule dans ces denrées étant généralement faible (de l'ordre de 1 ng g^{-1} MG). Cependant certains études et plans de surveillance et de contrôle des aliments ont permis

de mettre en évidence des cas isolés d'échantillons présentant des concentrations maximales de l'ordre de 300 et jusqu'à 2000 ng g^{-1} MG dans certains échantillons de denrées d'origine animale, dont des œufs.

Les résultats de dosage d'HBCD dans les œufs montrent généralement une prédominance de l'isomère α-HBCD (2.1.4.4). L'étude détaillée du devenir (étapes ADME) de l'HBCD chez l'animal a mis en évidence la bioisomérisation du γ- en α-HBCD dans différentes espèces dont la poule pondeuse. Cependant le degré de bioisomérisation chez la poule exposée au γ-HBCD est faible et l'isomère γ- reste prédominant dans les œufs. L'hypothèse d'une exposition majoritaire des poules à l'isomère α-HBCD semble ainsi s'imposer sur l'hypothèse d'une exposition majoritaire au γ-HBCD (isomère majoritaire dans le mélange technique), d'autant plus que l'exposition des poules par accès direct et ingestion de matériaux contaminés (polystyrènes) dans certains élevages est plausible (Hiebl and Vetter, 2007) et que l'isomère α-HBCD est majoritaire dans la plupart de ces matériaux (2.1.3).

L'analyse bibliographique met en évidence l'absence d'informations sur le transfert vers les œufs et l'accumulation dans les tissus de l'α-HBCD ingéré chez la poule pondeuse. Il est pourtant nécessaire d'étudier la persistance, l'accumulation dans les tissus et le transfert vers les œufs de l'α-HBCD chez la poule pondeuse exposée à la molécule par voie orale. Une expérimentation *in vivo* a été mise en place pour répondre à cette question. Elle est présentée dans le chapitre 3 de ce manuscrit. Les résultats cinétiques obtenus dans cette expérimentation doivent également servir comme source de données pour évaluer le comportement d'un modèle pharmacocinétique basé sur la physiologie, modèle également créé au cours de cette thèse (chapitre 4). En effet, la démarche d'expérimentation sur un type de poules pondeuses donné n'est pas suffisante pour étudier l'influence des différentes caractéristiques physiologiques de la poule pondeuse sur le transfert de l'α-HBCD vers les tissus et vers l'œuf. Or, ces informations sont importantes pour la filière avicole, qui se retrouve confrontée à ce contaminant environnemental et a besoin de réponses sur les facteurs de risque de contamination par l'α-HBCD chez la poule exposée à la molécule.

Deux modèles qui représentent le transfert de contaminants lipophiles chez la poule pondeuse, l'un de type PBPK (MacLachlan, 2010) et l'autre à compartiments (Fournier et al., 2015) ont été comparés et permettent de mettre en évidence les avantages et inconvénients des deux types de modèles. De façon résumée, en comparaison avec le modèle de MacLachlan (2010), le modèle de Fournier et al. (2015) sur le transfert de PCB présente l'atout de représenter la poule pondeuse à différents stades physiologiques (trois cycles de ponte et deux mues), de représenter les modifications du taux de ponte pendant ces phases et de permettre la hiérarchisation de certaines caractéristiques physiologiques de la poule

pondeuse (état d'engraissement et taux de ponte) sur le transfert de PCB chez la poule. Il met en évidence que l'arrêt de la ponte et la perte de poids vif pendant la mue provoquent une augmentation considérable de la concentration de la molécule dans les tissus. Ce modèle considère que l'exposition se produit au travers d'une ingestion de sol contaminé et représente un niveau d'exposition constant en ponte et en mue. La généralisation de ce modèle détaillé au niveau de la ponte vers d'autres espèces et molécules est difficile car les coefficients en charge de la partition de la molécule entre les tissus englobent des caractéristiques de la molécule et également des caractéristiques d'irrigation des tissus, non spécifiés dans ce modèle. En effet les valeurs de ces coefficients ont été obtenues par ajustement sur des jeux de données expérimentales d'exposition et de décontamination chez des poules en ponte et requièrent un nouvel ajustement quand l'objectif est d'extrapoler le modèle. La structure du modèle de MacLachlan (2010) est plus complexe, il présente plus de compartiments tissulaires et renseigne davantage sur chacun de ces tissus, parmi lesquelles le débit sanguin. Ce modèle permet de séparer nettement les paramètres correspondants à des caractéristiques physiologiques de ceux dépendants de la molécule et de ce fait ces auteurs ont pu réaliser son extrapolation à d'autres espèces avicoles. Cependant concernant la poule pondeuse, ce modèle représente uniquement le stade de ponte et présente un taux de ponte fixe, de 100%, tout au long de la simulation. Or, la ponte étant une voie d'élimination des POP, il est attendu qu'elle présente une influence sur la concentration de ces molécules dans les tissus et dans l'œuf.

Sur la base de ces deux modèles de référence (MacLachlan, 2010 ; Fournier, 2011), **nous avons choisi de bâtir un modèle mécaniste représentant en détail différentes caractéristiques physiologiques de la poule pondeuse (2 cycles de ponte et une mue) afin de pouvoir hiérarchiser ces caractéristiques selon leur influence sur le transfert de l'α-HBCD vers les différents tissus et produits.** Le choix d'un modèle PBPK a été effectué afin de pouvoir extrapoler le modèle vers d'autres animaux et molécules. Ce travail de modélisation est présenté dans le chapitre 4 du manuscrit.

3 Distribution, transfert vers l'œuf et élimination de l'alpha-HBCD ingéré chez la poule pondeuse lors d'une exposition suivie d'une décontamination. Expérimentation *in vivo*

3.1 Introduction

Une expérimentation *in vivo* a été réalisée afin d'étudier le devenir de l'α-HBCD chez la poule pondeuse exposée oralement à la molécule pendant une période de contamination suivie d'une période de décontamination. Des poules pondeuses sélectionnées (Novo brown) sont choisies, à 30 semaines d'âge en début d'expérimentation. A cet âge, il est attendu un taux de croissance faible et un taux de ponte élevé (Novogen, 2016).

La voie orale d'exposition est choisie car toutes les sources potentielles d'exposition des poules pondeuses à l'HBCD évoquées dans la synthèse bibliographique (sol, plantes, aliments contaminés, accès direct à des polystyrènes) font référence à une exposition par ingestion (2.1.3). Des aliments expérimentalement contaminés sont choisis comme source de contamination, ce qui facilite l'application d'un niveau constant d'exposition (en ng kg^{-1} PV j^{-1}) et le contrôle de celui-ci. Une distribution quotidienne d'aliment contaminé constante par rapport au PV (équivalente à 7,5% du PV tout au long de l'expérimentation) est appliquée. Le taux réel d'ingestion quotidienne est calculé individuellement en considérant les quantités d'aliment apportées et les refus quotidiens. D'autres caractéristiques zootechniques sont contrôlées tout au long de l'expérimentation pour étudier leur possible influence sur les paramètres cinétiques et vérifier l'absence d'effets toxiques évidents aux doses utilisées. Il s'agit notamment du poids vif, le taux de ponte, le poids et le contenu lipidique des tissus. Certaines de ces variables (précisément le taux d'ingestion et le taux d'exportation de lipides dans l'œuf) sont par ailleurs nécessaires pour le calcul du taux de transfert vers l'œuf. Les doses et durées d'exposition sont choisies de façon à obtenir une concentration d'HBCD dans l'œuf de plusieurs dizaines de ng g^{-1} lipides au plateau, de l'ordre de grandeur des valeurs maximales reportées par différentes études dans cette matrice (Tableaux 3 et 4).

Quant aux doses d'exposition dans les aliments, l'exposition au γ-HBCD chez des poules pondeuses par le moyen d'aliments contenant environ 1 ng de γ-HBCD g^{-1} a donné lieu à des concentrations de γ-HBCD dans l'œuf d'environ 0,4 ng g^{-1} MG au plateau (Fournier et al.,

2012a). En considérant des résultats chez la souris qui montrent que pour un même niveau d'exposition des concentrations dans les tissus quelques dizaines de fois plus élevées pour l'α- que pour le γ-HBCD (Szabo et al., 2010; Szabo et al., 2011a), une concentration dans l'aliment de l'ordre de 50 ng d'α-HBCD g^{-1} est ciblée. Cela représente environ 3,85 µg d'α-HBCD kg^{-1} PV j^{-1}. Un deuxième niveau d'exposition est testé pour évaluer un possible effet niveau sur le devenir de l'α-HBCD chez la poule pondeuse, tel qu'observé chez la souris, le rat et le poisson (2.2.3.3.2). Un facteur dix entre les deux niveaux est établi, le deuxième niveau étant fixé à 5 ng d'α-HBCD g^{-1}.

Le temps nécessaire pour rapprocher l'équilibre (97% de la concentration plateau) peut être estimé en multipliant par 5 le $t_{1/2}$ d'une molécule (OECD, 2012). Le $t_{1/2}$ de l'α-HBCD ayant été estimé à environ 30 jours dans les tissus à partir d'un travail expérimental (non publié) réalisé chez des poules pondeuses (Jondreville et al., 2011), le temps d'exposition nécessaire pour atteindre le plateau est estimé à environ 150 j. Une durée d'exposition de 18 semaines pour les deux niveaux (50 et 5 ng g^{-1}) devrait permettre de rapprocher ce plateau. Afin d'estimer le $t_{1/2}$, un autre traitement expérimental consiste en l'exposition à des aliments contaminés à 50 ng g^{-1} pendant 11 semaines suivies de 7 semaines de décontamination.

Des abattages sériés tout au long de l'expérimentation et l'échantillonnage des tissus doivent permettre de suivre la concentration de l'α-HBCD dans les tissus tout au long de l'expérimentation. Les tissus choisis sont ceux pour lesquels Fournier et al. (2012) ont estimé les paramètres cinétiques du γ-HBCD, c'est-à-dire le jaune d'œuf, le gras abdominal et le foie. Cela permettra la comparaison des paramètres cinétiques des deux isomères. D'autres tissus sont prélevés (sang et muscles d'une cuisse) et une analyse effectuée de façon complémentaire sur certains points de cinétique. Ces résultats servent au calcul des paramètres cinétiques, précisément le taux de transfert vers l'œuf, les « ratios d'accumulation » (facteurs de biomagnification) dans les tissus et le temps de demi-vie de l'α-HBCD dans différents tissus. Des adaptations des équations générales proposées par l'OCDE (2012) peuvent être réalisées en fonction des résultats cinétiques obtenus.

Enfin, les trois isomères principaux (α-, β- et γ-HBCD) sont dosés dans les échantillons, afin de vérifier chez la poule pondeuse l'absence d'isomérisation de l'α-HBCD en β- et γ-HBCD (Tableau 9). Une analyse des métabolites présents dans les différentes matrices permet d'identifier des voies de métabolisme de l'α-HBCD chez la poule pondeuse.

Cette expérimentation a été publiée dans le Journal of Agricultural and Food Chemistry sous le titre : *« Tissue Distribution and Transfer to Eggs of Ingested α-Hexabromocyclododecane (α-HBCDD) in Laying Hens (Gallus domesticus) »* et l'article est présenté ci-dessous.

JOURNAL OF AGRICULTURAL AND FOOD CHEMISTRY

Article

pubs.acs.org/JAFC

Tissue Distribution and Transfer to Eggs of Ingested α-Hexabromocyclododecane (α-HBCDD) in Laying Hens (*Gallus domesticus*)

Elena Dominguez-Romero,[†,#,⊥] Ronan Cariou,[§] Elsa Omer,[§] Philippe Marchand,[§] Gaud Dervilly-Pinel,[§] Bruno Le Bizec,[§] Angélique Travel,[⊥] and Catherine Jondreville*[,†]

[†]INRA, Université de Lorraine, URAFPA, USC 340, 54500 Vandoeuvre-lès-Nancy, France

[§]LUNAM Université, Oniris, LABERCA, INRA, USC 1329, 44307 Nantes Cedex, France

[#]INRA, UR 83 Recherches Avicoles, 37380 Nouzilly, France

[⊥]ITAVI, Centre INRA de Tours, 37380 Nouzilly, France

Supporting Information

ABSTRACT: The aim of the current study was to describe the fate of ingested α-hexabromocyclododecane (α-HBCDD) in laying hens. Individuals were exposed to two dietary concentrations of α-HBCDD (50 and 5 ng g^{-1} feed) for 18 or 11 weeks followed by a 7-week decontamination period. The results show that no isomerization of α- to β- or γ-HBCDD forms occurred, whereas OH-HBCDD was identified as a product of α-HBCDD metabolism. Irrespective of the level of feed contamination, estimates of steady-state accumulation ratios were 5.2, 3.6, and 9.2 and half-lives were estimated at 17.4, 22.8, and 35.3 days in egg yolk, liver tissue, and abdominal fat, respectively. The steady-state carry-over rate to eggs was 22.9%. Thus, α-HBCDD ingested by laying hens is readily transferred to eggs and significantly accumulates in adipose tissue.

KEYWORDS: *hexabromocyclododecane, laying hen, egg, transfer, accumulation*

INTRODUCTION

Hexabromocyclododecane (HBCDD) is a brominated aliphatic cyclic hydrocarbon used as a flame-retardant additive in thermal insulation foams and in textile coatings. It has been produced since the 1960s, with approximately half of the market volume being used in Europe, mainly for extruded (XPS) and expanded (EPS) polystyrene production.[1] Due to its bioaccumulative, persistent, and toxic characteristics, HBCDD is subject to international actions toward regulation and was listed in Annex A of the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POP) in November 2014, resulting in a midterm ban on its manufacture and use. Nevertheless, as most of the HBCDD added to building insulation materials has a service lifespan of >30 years, release into the environment is expected to continue for a long time.[1]

In addition to indoor dust, food and, especially, fatty food of animal origin are the main reported routes of human exposure.[2,3] Estimates of dietary exposure of human adults to HBCDD depend on the geographical area and on food consumption habits. Nevertheless, reported values are deemed to be of no public health concern (0.22, 0.43, and 0.21 ng kg^{-1} BW day^{-1} in the United States,[4] Europe,[5] and France,[6] respectively). However, although the average levels of HBCDD concentrations in animal-derived food products are generally below 1 ng g^{-1} lipid weight (lw),[5] levels are greatly variable as illustrated hereafter. Home-produced hen eggs collected in the vicinity of e-waste recycling sites in China contained 44−350 ng HBCDD g^{-1} lw.[7] In surveys conducted in Belgium on home-produced eggs[8] and in Canada on commercial eggs,[9] concentrations as high as 60−70 ng HBCDD g^{-1} lw were reported. National monitoring plans conducted in Germany[10] and in France[11] revealed concentrations in eggs even reaching 2000−3000 ng g^{-1} lw. The ingestion of a single egg containing 3000 ng HBCDD g^{-1} lw by an adult weighing 70 kg would correspond to around 1000 times the French exposure of 0.21 ng kg^{-1} BW day^{-1}. Thus, the assessment of the risk related to the presence of HBCDD in food is still ongoing, and the European Union (EU) has requested additional data by recommending monitoring of HBCDD in animal-derived products.[12]

Technical HBCDD consists of 70−95% of γ-HBCDD and 5−30% of α- and β-HBCDD. Although the γ-isomer is the main component in technical mixtures and in sediments, the α-isomer predominates in wildlife as well as in animal-derived products,[2,3] including hen eggs.[7,9,13] This shift is generally ascribed to a rapid degradation of β- and γ-HBCDD compared to α-HBCDD, which has been observed in vivo in the mouse[14−16] and in the zebrafish[17] and also in vitro in rat, harbor seal, and trout liver microsomes.[18,19] Indeed, HBCDD isomers undergo metabolism through debromination and hydroxylation,[20,21] with identified metabolites being tissue- and isomer-specific,[21] at least in mice. Moreover, γ-HBCDD undergoes bioisomerization into β- and mostly α-HBCDD in mammals,[14] fishes,[17,20,22] and birds,[23] including the laying hen.[24] In contrast, α-HBCDD has been shown to be

Received: November 24, 2015
Revised: February 2, 2016
Accepted: February 18, 2016
Published: February 18, 2016

ACS Publications © 2016 American Chemical Society

DOI: 10.1021/acs.jafc.5b05574
J. Agric. Food Chem. 2016, 64, 2112−2119

recalcitrant to bioisomerization in mammals and fishes.[15,17] However, to our knowledge this has not been demonstrated in birds yet, although it was strongly suggested by the results of Letcher et al.[23] Nevertheless, the extent to which γ-HBCDD is bioisomerized to α-HBCDD does not exceed 10−15%.[14,24] Therefore, it is unlikely that this phenomenon is responsible for the predominance of α-HBCDD in eggs laid by hens when they are exposed to a technical mixture. It is more probable that the profile to which animals are exposed is dominated by the α-isomer. A study by Cariou et al.[25] found that XPS used for insulating hen houses contained up to 3.9% HBCDD, of which 75−80% was the α-isomer. Thus, as previously hypothesized,[7,10] the ingestion of fragments of insulating material may be a source of on-farm exposure of hens.

By assuming that hens are mainly exposed to α-HBCDD orally during rearing, the carry-over and accumulation of this particular isomer should be characterized to accurately assess the risk of egg contamination. Thus, the current experiment aimed to assess in orally exposed laying hens levels of α-HBCDD accumulated in tissues and carried over to eggs and the depuration half-life through an exposure−depuration experiment. As these parameters have been reported to be dose-dependent in mice[15] and fish,[17] the current study tested two levels. In addition, an attempt was made to identify metabolites of α-HBCDD in several tissues. The current study contributes to filling the gaps in the knowledge of HBCDD metabolism in birds highlighted by Law et al.[26]

MATERIALS AND METHODS

Chemicals. Reference solutions of HBCDD isomers were purchased from Wellington Laboratories (Guelph, ON, Canada). Working solutions were prepared in toluene. Toluene, acetone, *n*-hexane, acetonitrile, and methanol (Picograde) and magnesium silicate (Florisil) were purchased from LGC Promochem (Wesel, Germany). Dichloromethane was provided by Biosolve (Valkenswaard, The Netherlands) and acetonitrile by Carlo Erba (Val-de-Reuil, France). Silica gel (70/230 mesh) and technical HBCDD (98%) were obtained from Fluka (Buchs, Switzerland). Sulfuric acid (98%) was purchased from Panreac (Barcelona, Spain) and 1 N sodium hydroxide from Reagecon (Clare, Ireland). Sodium sulfate and ammonium acetate were from Merck (Darmstadt, Germany). Ultrapure water was purified using a Milli-Q-osmosis system from Millipore (Milford, MA, USA).

Experimental Feeds. Technical HBCDD, containing 1, 5, and 93% of α-, β-, and γ-HBCDD, respectively, was enriched in α-isomer by thermal rearrangement (172 ± 0.4 °C, 6 h), according to a method adapted from that described by Szabo et al.[15] Purification was performed on neutral silica gel and magnesium silicate manually packed solid phase extraction (SPE) columns and also by preferential precipitation at −20 °C, using dichloromethane and *n*-hexane. The resulting crystals (99.3% α-HBCDD and traces of η-HBCDD) were dissolved in acetone used to spike soy oil at 50 mg kg^{-1}.

Three experimental feeds were prepared from the same maize and soybean meal basal feed including all of the nutrient requirements of laying hens (Table S1). The two target concentrations of α-HBCCD in the contaminated feeds were chosen to obtain eggs containing several tens to hundreds of nanograms of HBCDD per gram of lipid weight.[7−9] Thus, knowing that hens orally given feeds containing 1 ng γ-HBCDD g^{-1} lay eggs containing 0.4 ng of γ-HBCDD g^{-1} lw[24] and also that α-HBCDD is around 15−20 times more bioaccumulative than γ-HBCDD in mice,[14,15] concentrations of 50 and 5 ng α-HBCDD g^{-1} feed were chosen. Similar environmentally relevant dietary concentrations have been tested in fish.[17] To achieve these two target concentrations, 5 mg of soy oil spiked with α-HBCDD at appropriate levels was introduced per gram of basal diet. The control feed was obtained by mixing the same amount of clean soy oil in the basal feed. Although feed is usually presented as mash to laying hens, feeds were presented as pellets (2.5 mm) to avoid as far as possible contaminated dust being emitted in the room where hens were raised.

Birds and Experimental Design. The experiment was approved by the relevant ethics committee (Agreement CELMEA-2012-0015). It was conducted in an appropriate facility (Agreement B54-547-15) with cages allowing feed ingestion and egg production of individual hens to be monitored. Fifty-one laying hens (Novo Brown, 30 weeks old, weighing 1541 ± 13 g, mean ± SE) were placed in individual cages for 19 weeks. After a one-week adaptation period during which all hens were given the control feed, 45 hens were divided into three blocks of 15 birds each according to body weight (BW) and the remaining 6 birds were kept as controls. Control hens continued to be fed control feed and were slaughtered in groups of two at the beginning of the experiment, after 11 weeks, and at the end of the experiment (18 weeks). Thirty-six hens received the feed containing 50 ng of α-HBCDD g^{-1} either for 18 or for 11 weeks followed by 7 weeks of depuration with the control feed. In each of the three BW blocks, one hen was slaughtered after 1, 2, 4, 7, 11, 14, or 18 weeks of exposure or after 11 weeks of exposure followed by 1, 2, 3, 4, or 7 weeks of depuration. Nine hens received the feed containing 5 ng α-HBCDD g^{-1} for 18 weeks and were slaughtered (n = 3) after 7, 11, or 18 weeks of exposure.

The daily feed allowance was adjusted to 7.5% of BW and given once each morning. Hens were individually weighed after 5 and 11 weeks of the experiment, and the amount of feed distributed was readjusted accordingly. Water was freely available. Lighting was set to a 16 h light/8 h dark cycle. Temperature was maintained at 22 °C.

The number and weight of eggs laid per individual were recorded daily, as was feed intake by weighing feed allowance and refusal. Feeds were sampled weekly and stored in the dark at 4 °C. A composite sample of each feed was used for analyses.

Hens were slaughtered after a 12 h fast, by electrical stunning followed by bleeding. At slaughter, each hen was weighed, and abdominal fat, the liver, and muscles from one thigh (without skin and bone) were removed and weighed. The egg laid the day before slaughter was weighed and removed from its shell before separating and weighing the white and yolk. All samples except livers were stored at −20 °C. Liver samples were also used for metabolomics studies, which do not enter the scope of the current paper. Therefore, the livers were immersed in liquid nitrogen, wrapped in aluminum foil, vacuum packed, and stored at −80 °C before being ground in liquid nitrogen.

Quantification of HBCDD in Samples. HBCDD isomers (α, β, and γ) were analyzed in feed, abdominal fat, liver tissue, thigh muscle, and egg yolk, according to ISO/IEC 17025:2005 accredited methods. Prior to use, all glassware and Na_2SO_4 were baked at 400 °C for 4 h or at 650 °C for 6 h, respectively. Feed was dried in an oven at 80 °C. Other matrices were lyophilized and ground prior to extraction. Lipids were extracted by pressurized liquid extraction (PLE) over three successive static cycles (100 bar, 120 °C) (SpeedExtractor, Büchi, Switzerland) with a toluene/acetone mixture (70:30, v/v), evaporated to dryness, and weighed. Purification steps were conducted on a SPE column manually packed with Na_2SO_4, neutral, and acidic (H_2SO_4) silica gel using hexane and dichloromethane, followed by partitioning between *n*-hexane and 1 N NaOH. Final extracts were reconstituted into a mixture of methanol/water 80:20 (v/v). HBCDD isomers were analyzed by LC-ESI(−)-MS/MS (6410, Agilent Technologies). Separation was achieved on a Hypersil Gold column (100 mm × 2.1 mm, 1.9 μm) (Thermo Scientific, San Jose, CA, USA) fitted to a 1260 series HPLC pump. The mobile phase was constituted of 20 mM ammonium acetate (A) and a mixture of acetonitrile/methanol 1:1 (v/v) (B) in isocratic conditions (A/B 30:70, v/v). The transitions monitored through the triple-quadrupole mass filter corresponded to $[M - H]^- \rightarrow [Br]^-$. Each analytical series comprised a procedural blank and a quality control sample. Quantification was achieved according to the isotopic dilution principle (^{13}C-labeled isomers as internal standards and $^2H_{18}$-β-HCBDD as external standard). Limits of quantification (LOQ) were determined individually for each sample and isomer. A reporting limit (LoR) higher than each LOQ was established by matrix at 0.04 ng g^{-1} feed (at 12% moisture) and at 0.1,

DOI: 10.1021/acs.jafc.5b05574
J. Agric. Food Chem. 2016, 64, 2112−2119

0.1, 0.2, and 0.4 ng g^{-1} lw for egg yolk, abdominal fat, thigh muscle, and liver tissue, respectively.

Screening for Brominated Impurities and Metabolites. Highly contaminated and control feeds and matrix pools of samples collected at 18 weeks from hens exposed throughout the experiment to highly contaminated feed (egg yolk, thigh muscle, abdominal fat, liver tissue) and from controls (egg yolk, abdominal fat, liver tissue) were analyzed using LC-HRMS to screen for brominated compounds. Lipids of sample pools were extracted using PLE as described above, suspended in hexane (8 mL), and treated by successive liquid−liquid partitioning with concentrated sulfuric acid (4 × 8 mL) to remove lipids. The organic layers were neutralized with 10 mL of ultrapure water, dried with anhydrous sodium sulfate, and reconstituted into a mixture of methanol/water (80:20, v/v). Extracts were analyzed with an UltiMate 3000 UHPLC pumping system coupled to an Orbitrap Q-Exactive mass spectrometer fitted with a heated electrospray ionization (HESI) source (Thermo Scientific). Solvents for mobile phases (water, acetonitrile, and methanol) were provided by Sigma-Aldrich (LC-MS ChromaSolv grade, St. Louis, MO, USA). Chromatographic conditions were as described above, except that the gradient began with A/B 95:5 for 2.4 min (v/v) and was ramped to 0:100 (v/v) in 11.6 min. Samples were ionized in negative mode with HESI parameters as follows: sheath gas flow, 50 arbitrary units (AU); auxiliary gas flow, 5 AU; capillary temperature, 300 °C; source heater temperature, 150 °C; spray voltage, 2.5 kV; S-lens radio frequency, 50 AU. HRMS data were acquired in full scan mode over the m/z range 400−750 at a resolving power of 70,000 full width at half-maximum (fwhm) at m/z 200. The automatic gain control (AGC Target) was set at high dynamic range (5×10^5), and the maximum injection time was set to 500 ms. Data treatment and interpretation are described in the Supporting Information. Briefly, chromatographic peaks were automatically integrated through the centWave algorithm of the xcms package in the open source programming R environment after conversion of data into the open format mzXML (msConvert software, ProteWizard). Features obtained were graphically represented on an H/Cl mass defect plot[27] for visual location (Figure S1) and further characterization of brominated clusters.

Calculations and Statistical Analyses. Feed ingested (FI, g day^{-1}) and the number and weight of eggs laid daily (g day^{-1}) were calculated individually for the periods of exposure and depuration. Daily feed intake relative to BW (g kg^{-1} BW) was derived from the mean BW over each experimental period. The amount of lipid secreted daily through eggs (LE, g day^{-1}) was estimated by considering that egg yolk accounts for 26% of the total egg weight and contains 35% of lipids.[28]

All of the data were analyzed using SAS statistical software (SAS, version 9.1, SAS Institute, Cary, NC, USA), with models appropriate for a randomized complete block design and using the hen as the experimental unit. Differences were considered significant when $P < 0.05$. Control hens were excluded from this analysis.

Hen characteristics (FI, BW, egg production, organ weight, and lipid content) were analyzed using the GLM procedure. The model included the block and 15 levels of treatment corresponding to the exposure and decontamination durations combined with the two levels of feed contamination.

To facilitate the comparison between the two levels of feed contamination, concentrations of α-HBCDD in tissues and in egg yolk (ng g^{-1} lw) were divided by the assayed α-HBCDD concentration in the contaminated feed (ng g^{-1} fw).[14,15] The resulting normalized concentrations were analyzed as repeated measures using the MIXED procedure. The tissue was introduced in the model using the "repeated" statement, to account for the correlation between the tissues collected from the same hen. In addition to the block ($n = 3$), the model included the combined exposure and depuration durations (treatment, $n = 15$), the tissue (egg yolk, abdominal fat, liver), and their interaction. Thigh muscle was excluded from this analysis due to a lack of sampling points. To account for the variable contribution of abdominal fat to BW, the ratio of abdominal fat weight to BW was introduced as a covariate in the model. To fit the model, compound symmetry was used as covariance structure; thus, measurements on the same hen were considered to be similarly correlated. A Tukey−Kramer test was used to compare adjusted means. The two levels of feed contamination were compared by means of orthogonal contrasts for each exposure duration (7, 11, or 18 weeks).

Within each tissue, the previously adjusted means were then used to estimate the kinetic parameters of α-HBCDD by iterative nonlinear regression using the NLIN procedure of SAS. On the basis of visual examination of the data, first-order kinetics models were adjusted simultaneously to the exposure and depuration data as described in OECD guidelines.[29] For each tissue, the model was of the form $C_{t_e,t_d} = AR \times (e^{-k \times t_d} - e^{-k \times (t_e + t_d)})$, with C_{t_e,t_d}, the normalized concentration of α-HBCDD in the animal tissue (ng g^{-1} lw relative to the concentration in feed expressed in ng g^{-1} fw) after an exposure period of t_e days ($0 \leq t_e \leq 126$) followed by a depuration period of t_d days (for $t_e < 77$, $t_d = 0$; for $t_e = 77$, $0 \leq t_d \leq 49$; for $t_e > 77$, $t_d = 0$), k is the depuration rate constant (day^{-1}), and AR (accumulation ratio) is an estimate of the normalized concentration of α-HBCDD in the tissue at steady state (ng g^{-1} lw relative to the concentration in feed expressed in ng g^{-1} fw). Half-life ($t_{1/2}$, days) was estimated as $\ln(2)/k$. The steady-state carry-over rate (COR) of α-HBCDD to egg was estimated using the model $C_{t_e,t_d} = (FI/LE) \times COR \times (e^{-k \times t_d} - e^{-k \times (t_e + t_d)})$, with FI the amount of feed ingested daily (g day^{-1}) and LE the amount of lipids excreted daily through egg (g day^{-1}).

For each tissue, the time required to reach 95% of the concentration at steady state (t_{ss}, days) was estimated by means of the equation $C_{t_e,0} = AR \times (1 - e^{-k \times t_e})$, where $C_{t_e,0}$ and AR are the normalized concentrations of α-HBCDD in the tissue after a t_e-day exposure period and at steady state, respectively. t_{ss} was estimated by replacing AR by 0.95 AR and solving for t_e.

RESULTS

Body Weight, Feed Ingested, and Laying and Tissue Characteristics. Results are presented as the mean ± SE for exposed and control hens in the Supporting Information (Table S2). Body weight at slaughter in exposed hens was 1655 ± 26 g. It tended to increase with the age of the animal, being 109 g lower in hens slaughtered before 7 weeks of experimentation compared to hens slaughtered between 11 and 18 weeks (1582 ± 32 vs 1691 ± 35, $P = 0.08$). Feed ingested daily was independent of the treatment ($P > 0.1$) and reached 71.4 ± 0.7 g kg^{-1} BW, so that hens were exposed daily to 2843 and 257 ng of α-HBCDD kg^{-1} BW for the high and low levels, respectively. The number and weight of eggs produced daily (0.967 ± 0.005 and 34.8 ± 0.4 g kg^{-1} BW day^{-1}, respectively) were independent ($P > 0.1$) of the experimental treatment. In contrast, the contribution of the liver and of abdominal fat weight to BW differed between treatments ($P < 0.01$). Hens slaughtered after 1 week of exposure to 50 ng α-HBCDD g^{-1} feed displayed the highest liver weight (25.2 ± 2.9 g kg^{-1} BW), whereas the lowest were observed in hens exposed to the same feed during 11 weeks followed by 1, 2, or 4 weeks of depuration (14.7−16.4 g kg^{-1} BW). There was a tendency for contribution of abdominal fat to BW to rise as the duration of the experiment increased, abdominal fat being below 20 g kg^{-1} BW for the first 7 weeks of the experiment and between 28 and 43 g kg^{-1} BW from the 11th week, irrespective of the level of feed contamination and of the exposure or depuration status of the animal. The lipid concentration in egg yolk, liver tissue, abdominal fat, and thigh muscle was independent of the treatment ($P > 0.1$) and reached 318 ± 2.1, 94 ± 5.7, 907 ± 7.7, and 78.7 ± 6.8 g kg^{-1} fw, respectively. All of these characteristics were very similar to those observed in control hens.

DOI: 10.1021/acs.jafc.5b05574
J. Agric. Food Chem. 2016, 64, 2112−2119

Concentrations of HBCDD in Feeds and in Egg Yolk and Tissues from Control Hens. The control feed was devoid of any of the three HBCDD isomers (<0.04 ng g^{-1}). In spiked feed, the assayed concentrations of α-HBCDD were 40.0 and 3.62 ng g^{-1} fw for the target concentrations of 50 and 5 ng g^{-1} fw, respectively. No β-HBCDD was detected in any spiked feed, whereas some γ-HBCDD was quantified at levels of 0.181 and 0.138 ng g^{-1} fw, representing 0.45 and 3.7% of the total HBCDD in the high- and low-level feeds, respectively.

In control hens, egg yolk was devoid of any of the three isomers of HBCDD (<0.1 ng g^{-1} lw). No β-HBCDD (<0.1 ng g^{-1} lw) was detected in abdominal fat, whereas α- and γ-HBCDD were quantified in all control samples at levels of 0.25 ± 0.06 and 0.32 ± 0.10 ng g^{-1} lw, respectively. Liver tissue contained HBCDD at levels as high as 3.2 ± 0.8 ng α-, 0.96 ± 0.31 ng β-, and 9.0 ± 2.8 ng γ-HBCDD g^{-1} lw. This profile, which was fairly constant among liver samples and dominated by the γ-isomer (25.4 ± 1.3, 7.0 ± 0.5, and 67.6 ± 1.4% of α-, β-, and γ-HBCDD, respectively), was close to that of a technical mixture. These levels of HBCDD were ascribed to an accidental contamination from a polystyrene box, in which liquid nitrogen used for grinding liver samples was stored.

Concentrations of HBCDD in Egg Yolk and in Tissues from Exposed Hens. In exposed hens, no β- or γ-HBCDD was detected in egg yolk (<0.1 ng g^{-1} lw) or in thigh muscle (<0.2 ng g^{-1} lw). Abdominal fat was devoid of β-HBCDD (<0.1 ng g^{-1} lw), but contained γ-HBCDD at a concentration of 0.48 ± 0.05 ng g^{-1} lw, close to that recorded in control hens, suggesting a slight procedural contamination of abdominal fat with both α- and γ-HBCDD. Nevertheless, considering that the minimal concentration of α-HBCDD in abdominal fat of exposed hens was 21 ng g^{-1} lw (see below), that is, on the order of 100 times the concentration measured in controls, no correction for this procedural contamination was performed. The concentrations of β- and γ-HBCDD in liver tissue of exposed hens were very similar to those in controls (0.83 ± 0.15 and 7.8 ± 1.2 ng g^{-1} lw, respectively). Thus, liver α-HBCDD concentrations in exposed hens were individually corrected considering that β- and γ-HBCDD originated from an overall contamination due to the polystyrene box, using the HBCDD profile observed in control hens.

The resulting normalized concentrations of α-HBCDD in egg yolk, liver tissue, abdominal fat, and thigh muscle are presented in Table S3 and in Figure 1. They increased over time during the 18-week exposure period and decreased over time during the 7-week depuration period (treatment, $P < 0.001$). Overall, α-HBCDD was 2.5 times more concentrated in abdominal fat than in liver tissue (matrix, $P < 0.001$), whereas egg yolk displayed intermediate concentrations, close to those of abdominal fat at the beginning of the exposure period and close to those of liver tissue at the end of the depuration period (treatment × matrix, $P < 0.01$). Thigh muscle was not included in this statistical analysis due to lack of sampling points. Nevertheless, its normalized concentration in α-HBCDD analyzed after 11 and 18 weeks of exposure to 50 ng α-HBCDD g^{-1} feed was close to that of abdominal fat (6.95 ± 0.18 vs 6.62 ± 0.16 and 9.45 ± 1.02 vs 7.55 ± 0.16, respectively).

After 7 and 18 weeks of exposure, the two levels of α-HBCDD in feed resulted in very similar normalized concentrations of α-HBCDD in all animal matrices (contrasts 5 vs 50, $P > 0.1$) (Table S3). However, hens exposed to 5 ng α-HBCDD g^{-1} feed during 11 weeks displayed normalized

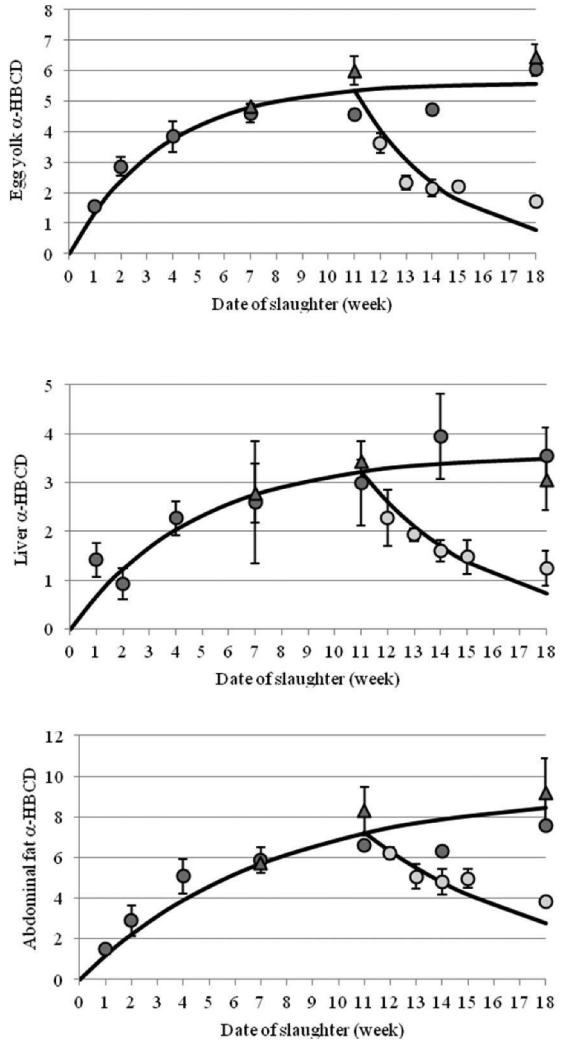


Figure 1. Time- and level-dependent normalized concentration[a] of α-HBCDD in egg yolk, liver tissue, and abdominal fat of laying hens. Data points are adjusted means ± standard error ($n = 3$) as presented in Table S3 for hens exposed to 50 ng α-HBCD g^{-1} feed throughout the experiment (dark gray cirles), exposed to 50 ng α-HBCDD g^{-1} feed during 11 weeks and depurated thereafter (light gray circles), and exposed to 5 ng α-HBCDD g^{-1} feed throughout the experiment (dark gray triangles). Within each tissue, the continuous line represents the fitted first-order kinetics model presented in Table 1. [a]The assayed concentrations of α-HBCDD in animal matrices (ng g^{-1} lw) are divided by the assayed concentration of α-HBCDD in the contaminated feed (i.e. 40.0 and 3.62 ng g^{-1} fw for the 50 and 5 levels, respectively

concentrations in animal matrices 24% higher than those of hens exposed to 50 ng α-HBCDD g^{-1} feed (contrasts 5 vs 50, $P < 0.05$). Nevertheless, when these contrast analyses were conducted matrix by matrix (results not shown), they revealed that this significant difference was due to egg yolk only ($P < 0.01$), whereas the two levels of feed contamination could not be differentiated for abdominal fat or liver tissue ($P > 0.1$). This being the only difference, the two levels of exposure were combined to estimate the kinetics parameters of α-HBCDD.

First-order kinetics models were adjusted with coefficients of determination of 0.98 (Table 1). Depuration rate constants were estimated at 0.0398 ± 0.0052, 0.0304 ± 0.0043, and 0.0197 ± 0.0034 day^{-1} for egg yolk, liver tissue, and abdominal fat, respectively, representing depuration half-lives of 17.4 ±

DOI: 10.1021/acs.jafc.5b05574
J. Agric. Food Chem. 2016, 64, 2112−2119

Table 1. Parameters of the Kinetics of α-HBCDD in Egg Yolk, Liver Tissue, and Abdominal Fat of Laying Hens[a]

animal matrix	egg yolk	liver	abdominal fat
$k \times 10^{-3}$ (day^{-1})	39.8 ± 5.2	30.4 ± 4.3	19.7 ± 3.4
AR	5.2 ± 0.2	3.6 ± 0.2	9.2 ± 0.6
COR	0.229 ± 0.010		
R^2	0.98	0.98	0.98
$t_{1/2}$ (days)	17.4 ± 2.3	22.8 ± 3.2	35.2 ± 6.0
t_{ss} (weeks)	11	14	22
steady-state α-HBCDD concentration (ng g^{-1} lw)			
level 50	207 ± 9	142 ± 6	370 ± 24
level 5	18.8 ± 0.9	12.9 ± 0.6	33.5 ± 2.2

[a]Estimates (±standard error) of the depuration rate constant (k), the steady-state accumulation ratio (AR, expressed as the ratio of the concentration of α-HBCDD in the animal matrix on a lw basis to its concentration in feed on a fw basis), and carry-over rate (COR) to egg; R^2, coefficient of determination; $t_{1/2}$, depuration half-life, calculated as $\ln(2)/k$; t_{ss}, estimated time required to achieve steady state, i.e., 95% of AR; steady-state α-HBCDD concentration in animal matrices (ng g^{-1} lw) calculated as AR multiplied by the assayed concentration in feed (i.e., 40.0 and 3.62 ng g^{-1} fw for the 50 and 5 levels, respectively).

2.3, 22.8 ± 3.2, and 35.2 ± 6.0 days, respectively. The adjusted steady-state AR of α-HBCDD in abdominal fat was 9.2 ± 0.6, corresponding to steady-state concentrations of 370 ± 24 and 33.5 ± 2.2 ng g^{-1} lw for 50 and 5 ng α-HBCDD g^{-1} feed, respectively. Estimates of AR and of steady-state normalized concentrations in egg yolk and in liver tissue were 1.8 and 2.6 times lower than in abdominal fat (5.2 ± 0.2 and 3.6 ± 0.2, respectively), with steady-state concentrations in egg yolk of 207 ± 9 and 18.8 ± 0.9 ng g^{-1} lw for the 50 and 5 ng g^{-1} feed, respectively and in liver tissue of 142 ± 6 and 12.9 ± 2.2 ng g^{-1} lw, respectively. In eggs, this steady state corresponded to an elimination through eggs of 22.9% of α-HBCDD ingested daily (COR = 0.229 ± 0.010). With t_{ss} values of 11 and 14 weeks, it was reached before the end of the present 18-week exposure experiment in eggs and in liver tissue, whereas an additional 4 weeks would have been required for a maximized α-HBCDD concentration in abdominal fat (t_{ss} = 22 weeks).

Detection of Other Brominated Compounds in Feed and in Egg Yolk and Tissues. The screening for brominated impurities and metabolites was performed in the control and the highly contaminated feeds and also in pooled samples of egg yolk and tissues collected in hens after 18 weeks on these two feeds. No brominated compound was detected in the control feed, whereas three pentabrominated compounds were detected in the contaminated feed. The tentative chemical formulas were $C_{12}H_{19}Br_5$ (pentabromocyclododecane, PeBCDD), $C_{12}H_{17}Br_5$ (pentabromocyclododecene, PeBCDDe), and $C_{12}H_{18}Br_5Cl$ (pentabromochlorocyclododecane, PeBClCDD), with relative signal areas representing 0.08, 0.04, and 0.23% of that of α-HBCDD, respectively.

With regard to egg yolk and tissues, no polybrominated compounds other than HBCDD (procedural contamination) were detected in pooled control samples. However, signals corresponding to the three above-mentioned pentabrominated compounds were detected in all pooled samples from individuals after exposure to 50 ng α-HBCDD g^{-1} feed for 18 weeks, with relative signal areas representing 0.05, 0.6, and 0.25% of that of α-HBCDD, respectively. Additionally, signals matching monohydroxylated HBCDD (OH-HBCDD) were detected in abdominal fat and muscle pools, with relative signal areas representing 0.6% of that of α-HBCDD. Theoretically, OH-HBCDD shows six isomers, but only one chromatographic peak was detected.

DISCUSSION

Tissue and egg weights as well as their lipid concentrations are in line with data in the literature.[28,30] The increase in abdominal fat contribution to BW is expected in laying hens before they have completed their growth.[32] The origin of variations in liver weights between treatments is unclear, but does not seem to be linked to the level or duration of exposure. Neither the incorporation of HBCDD in feed nor the level of feed contamination influenced feed ingested, laying rate, BW, or lipid concentrations in tissues. Similarly, exposure of zebrafish[17] to diets containing up to 50 ng α-HBCDD g^{-1} for 42 days or of Atlantic salmon[31] to diets containing 280 ng α-HBCDD g^{-1} did not cause any disturbance in growth or lipid deposition. In American kestrels, exposure levels of 510 μg technical HBCDD kg^{-1} BW for 75 days, that is, around 180 times the highest exposure level in this study, did not affect body characteristics, but reproductive performance of birds was disturbed with more numerous but smaller eggs laid and an increased eggshell porosity.[33] In this latter study, the average egg HBCDD concentration was 3800 ng g^{-1} lw, that is, 16 times the maximal concentration of 242 ng g^{-1} lw observed in the current study.

The absence of β-HBCDD in any samples, the absence of γ-HBCDD in egg yolk or muscle, and the similar abdominal fat γ-HBCDD concentration in control and exposed hens suggest that no isomerization of α- to γ- or β-HBCDD occurred. Although less reliable because of the accidental contamination of the samples, this observation seems to be confirmed by the data obtained in liver tissue. The recalcitrance of α-HBCDD to isomerization has been reported in vitro and in vivo in mammals[15,18,19] and in fishes.[17,19,20,31] To our knowledge, this is the first time it has been demonstrated directly in birds, although it was previously strongly suggested by the α-HBCDD-enriched tissues of American kestrels that had been exposed to a technical mixture of HBCDD.[23] In contrast, the isomerization of γ-HBCDD into α-HBCDD and in some instances into β-HBCDD is well documented,[3] including in laying hens.[24]

Overall, the normalized concentration of α-HBCDD in tissues and eggs after a 7−18-week exposure to 5 ng α-HBCDD g^{-1} feed was 10% higher than that of hens exposed to 50 ng α-HBCDD g^{-1} feed. Nevertheless, the current study did not evidence any significant influence of the level of exposure at these environmental levels on the resulting normalized concentration of α-HBCDD in tissues or eggs. In contrast, in zebrafish orally exposed to feeds containing 2.5 and 25[34] or 5 and 50 ng α-HBCDD g^{-1},[17] the assimilation efficiency was shown to be dose-dependent, with a 34% higher efficiency for the low than for the high dose. Concomitantly, the half-life was multiplied by 1.8−2.6 and the biomagnification factor by 2.4−3.4. Nevertheless, with mice orally exposed to far higher doses ranging between 3 and 100 mg kg^{-1} BW[15] and with rats orally exposed to 0.3−200 mg technical HBCDD kg^{-1} BW for 28 days,[35] an opposite trend was observed with a nonlinear increase in tissue concentration with increasing levels of exposure. Thus, the impact of the dose on the accumulation of α-HBCDD is still controversial and may depend on the animal species and the range of exposure levels.

At the end of the exposure period, the highest concentration of α-HBCDD, expressed relative to lw, was recorded in

DOI: 10.1021/acs.jafc.5b05574
J. Agric. Food Chem. 2016, 64, 2112−2119

abdominal fat and in thigh muscle, whereas liver was the least concentrated tissue and egg yolk was intermediate. A similar ranking of tissues was observed for γ-HBCDD in laying hens given feed spiked with this isomer[24] and also in American kestrels exposed to a technical mixture of HBCDD.[23] Fatty tissues were also reported to be the major tissue depot for α-HBCDD in mice[15,36] and in mirror carp.[20] Thus, as pointed out by Letcher et al.,[23] lipids are not the only factor driving tissue levels. Hence, the affinity of highly lipophilic organic chemicals such as HBCDD for lipids refers to neutral rather than total lipids.[37] The higher proportion of neutral lipids in total lipids in abdominal fat (almost 100% triglycerides[30]) than in egg yolk and in liver (70 and 65% for the sum of triglycerides and cholesterol, respectively[28,38]) may therefore partly explain the higher concentration of α-HBCDD in abdominal fat than in other matrices.

Another aspect of tissue distribution is the dynamics of the compound once it has been absorbed. Indeed, it is directed to the liver, where it undergoes metabolism and is then distributed to tissues through blood circulation. As observed in other experiments dealing with α- or γ-HBCDD,[14,15,20,24] the current experiment displayed an initial distribution to highly perfused organs such as the liver and then to poorly perfused tissues such as abdominal fat. The adjustment of first-order kinetics models to the current data is in accordance with the results obtained with fish exposed to environmental levels of α-HBCDD.[17,31,34] The estimated depuration half-life was longer in abdominal fat (35 days) than in liver tissue and in egg yolk (23 and 17 days, respectively). Similar differences between highly and poorly perfused tissues were observed in fish, with depuration half-lives of 12 days in viscera and 28−30 days in muscle and in skin of mirror carp exposed to α-HBCDD through water.[20] In mice given a single oral dose of 3 mg α-HBCDD kg^{-1} BW, the terminal depuration half-lives of α-HBCDD were estimated to be 3 and 17 days in liver and in fat, respectively.[15]

In the current study, the accumulation ratios of α-HBCDD in egg, liver, and abdominal fat were estimated at 5.2, 3.6, and 9.2, respectively, and the estimate of COR to egg was 0.23, whereas the half-life ranged between 17 and 35 days. In laying hens exposed to γ-HBCDD values were far lower, with ARs of 0.3−0.6, COR to egg of 0.012, and half-lives of 0.41, 2.9, and 13 days in liver, egg, and abdominal fat, respectively.[24] Thus, as previously observed in mammals[14,15] and in fishes,[17,20,34] α-HBCDD seems far more accumulative and persistent than γ-HBCDD in birds. More generally, α-HBCDD may be compared to other persistent organic pollutants possibly transferred to animal-derived food, classified as highly and moderately cumulative by Kan and Meijer.[41] The former, such as DDT, display a long half-life of 50−70 days, an AR from feed to body fat around 10, and a COR in egg of around 0.5. Compounds such as lindane, with a half-life of 7−14 days, an AR in body fat of around 2, and a COR to egg of 0.1 are classified as moderately cumulative. Thus, α-HBCDD would be classified between these two categories with a high capacity of accumulation in body fat and intermediate COR to egg and half-life.

The steady-state concentration of α-HBCDD in eggs of the hens exposed to 50 ng α-HBCDD g^{-1} feed was 207 ng g^{-1} lw. This is in line with the several tens or hundreds reported for some eggs in the literature and within the framework of monitoring plans.[7−11] On the basis of a steady-state COR to egg of 0.229 and the daily secretion of 5.5 g lipid through egg,[28] this concentration would be achieved in a hen ingesting 4.97 μg of α-HBCDD daily. Assuming that exposure arises through the ingestion of XPS containing 3.0% HBCDD, of which 80% is α-HBCDD,[25] this concentration in eggs would be achieved through the daily ingestion of a quantity as small as 207 μg of XPS, that is, 0.217 mm^3, accounting for a density of 1.05 g cm^{-3}. For eggs containing 3000 ng α-HBCDD g^{-1} as recorded in French monitoring surveys,[11] this amount would not exceed 3.2 mm^3 of this XPS.

Metabolic products of HBCDD from debromination and hydroxylation pathways have previously been observed. The presence of debromination products in animal tissues such as PeBCDDe was reported in fishes and rats,[19,39] as well as tetrabromocyclododecene (TeBCDDe) and tetra-, tri-, and dibromocyclododecadienes in fishes.[20] In addition, several hydoxylated products such as hexa-, penta-, and tetrabromocyclododecanols (OH-HBCDD, OH-PeBCDDe, and OH-TeBCDDe) were identified in tissues of rats and mice.[21,39] In the current study, although three pentabrominated compounds were detected in both feed and animal tissues, OH-HBCDD was detected in animal matrices only and at very low levels (<0.6% relative area, assumed to be stable during sample preparation according to the literature[21]). This suggests that the latter would be the only product detected from α-HBCDD metabolism by hens. This compound is commonly identified in tissues from wild animals including mammals,[18,39] fishes,[40] and birds.[39,40] Similarly, Hakk et al.[21] reported OH-HBCDD as the only metabolic product in tissues of mice exposed to α-HBCDD, whereas several other products were detected in mice exposed to γ-HBCDD.

To conclude, α-HBCDD ingested by laying hens is readily transferred to eggs and accumulates significantly in adipose tissue, without any isomerization into γ- or β-HBCDD. The accidental ingestion of XPS used for insulating rearing buildings seems to be a possible pathway of hen exposure to α-HBCDD and, in turn, corresponding egg contamination.

■ ASSOCIATED CONTENT

Supporting Information

The Supporting Information is available free of charge on the ACS Publications website at DOI: 10.1021/acs.jafc.5b05574.

Screening for brominated impurities, degradation products, and metabolites, including Figure S1; feed composition (Table S1); body weight, feed ingested, and egg and tissue characteristics of hens (Table S2); α-HBCDD concentration in animal tissues (Table S3) (PDF)

■ AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

*(C.J.) E-mail: catherine.jondreville@univ-lorraine.fr.

Funding

This work was cofunded by the French Ministry for Agriculture and Fisheries within the framework of the Compte d'Affectation Spéciale Développement Agricole et Rural (CASDAR Project 1256). The Agence Nationale de la Recherche et de la Technologie (ANRT) cofunded the Ph.D. of E. Dominguez-Romero through a Convention Industrielle de Formation par la Recherche (CIFRE) fellowship.

Notes

The authors declare no competing financial interest.

DOI: 10.1021/acs.jafc.5b05574
J. Agric. Food Chem. 2016, 64, 2112−2119

■ ACKNOWLEDGMENTS

The authors are grateful to N. Besne (INRA, PEAT) for manufacturing experimental feed, to P. Hartmeyer and C. Grandclaudon (INRA, Université de Lorraine, URAFPA) and to D. Marion (INRA, URBIA) for technical support, and to J. Huwe (USDA ARS) for providing information for α-HBCDD synthesis.

■ ABBREVIATIONS USED

AR, accumulation ratio; BW, body weight; COR, carry-over rate; FI, feed ingested; fw, fresh weight; LE, lipid excreted through egg; lw, lipid weight

■ REFERENCES

(1) ECHA (European Chemicals Agency). Background document for hexabromocyclododecane and all major diastereomers identified (HBCDD); http://echa.europa.eu/documents/10162/13640/hbcdd_en.pdf) (accessed September 2015).

(2) Marvin, C. H.; Tomy, G. T.; Armitage, J. M.; Arnot, J. A.; McCarty, L.; Covaci, A.; Palace, V. Hexabromocyclododecane: current understanding of chemistry, environmental fate and toxicology and implications for global management. *Environ. Sci. Technol.* **2011**, *45*, 8613−8623.

(3) Koch, C.; Schmidt-Kötters, T.; Rupp, R.; Sures, B. Review of hexabromocyclododecane (HBCD) with a focus on legislation and recent publications concerning toxicokinetics and -dynamics. *Environ. Pollut.* **2015**, *199*, 26−34.

(4) Schecter, A.; Haffner, D.; Colacino, J.; Patel, K.; Papke, O.; Opel, M.; Birnbaum, L. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and hexabromocyclodecane (HBCD) in composite US food samples. *Environ. Health Perspect.* **2010**, *118*, 357−362.

(5) EFSA. Scientific opinion on hexabromocyclododecanes (HBCDDs) in food. *EFSA J.* **2011**, *9*, 2296−2414.

(6) Riviere, G.; Sirot, V.; Tard, A.; Jean, J.; Marchand, P.; Veyrand, B.; Le Bizec, B.; Leblanc, J. C. Food risk assessment for perfluoroalkyl acids and brominated flame retardants in the French population: results from the second French total diet study. *Sci. Total Environ.* **2014**, *491*−*492*, 176−183.

(7) Zheng, X. B.; Wu, J. P.; Luo, X. J.; Zeng, Y. H.; She, Y. Z.; Mai, B. X. Halogenated flame retardants in home-produced eggs from an electronic waste recycling region in South China: levels, composition profiles, and human dietary exposure assessment. *Environ. Int.* **2012**, *45*, 122−128.

(8) Covaci, A.; Roosens, L.; Dirtu, A. C.; Waegeneers, N.; Van Overmeire, I.; Neels, H.; Goeyens, L. Brominated flame retardants in Belgian home-produced eggs: levels and contamination sources. *Sci. Total Environ.* **2009**, *407*, 4387−4396.

(9) Rawn, D. F. K.; Sadler, A.; Quade, S. C.; Sun, W. F.; Lau, B. P. Y.; Kosarac, I.; Hayward, S.; Ryan, J. J. Brominated flame retardants in Canadian chicken egg yolks. *Food Addit. Contam., Part A* **2011**, *28*, 807−815.

(10) Hiebl, J.; Vetter, W. Detection of hexabromocyclododecane and its metabolite pentabromocyclododecene in chicken egg and fish from the official food control. *J. Agric. Food Chem.* **2007**, *55*, 3319−3324.

(11) DGAL (Direction Générale de l'Alimentation, Ministère de l'Alimentation de l'Agriculture et de la Pêche). Bilan des plans de surveillance et de contrôle mis en œuvre par la DGAL en 2008 dans le domaine de la sécurité sanitaire des aliments; http://agriculture.gouv.fr/sites/minagri/files/documents/pdf/recueil2008_tt_public-_PSPC.pdf (accessed September 2015).

(12) Commission Recommendation of 3 March 2014 on the monitoring of traces of brominated flame retardants in food (2014/118/EU). *Off. J. Eur. Commission* **2014**, *L65*, 39−40.

(13) Hu, X.; Hu, D.; Song, Q.; Li, J.; Wang, P. Determinations of hexabromocyclododecane (HBCD) isomers in channel catfish, crayfish, hen eggs and fish feeds from China by isotopic dilution LC-MS/MS. *Chemosphere* **2011**, *82*, 698−707.

(14) Szabo, D. T.; Diliberto, J. J.; Hakk, H.; Huwe, J. K.; Birnbaum, L. S. Toxicokinetics of the flame retardant hexabromocyclododecane gamma: effect of dose, timing, route, repeated exposure, and metabolism. *Toxicol. Sci.* **2010**, *117*, 282−293.

(15) Szabo, D. T.; Diliberto, J. J.; Hakk, H.; Huwe, J. K.; Birnbaum, L. S. Toxicokinetics of the flame retardant hexabromocyclododecane alpha: effect of dose, timing, route, repeated exposure, and metabolism. *Toxicol. Sci.* **2011**, *121*, 234−244.

(16) Sanders, J. M.; Knudsen, G. A.; Birnbaum, L. S. The fate of beta-hexabromocyclododecane in female C57BL/6 mice. *Toxicol. Sci.* **2013**, *134*, 251−257.

(17) Du, M. M.; Lin, L. F.; Yan, C. Z.; Zhang, X. Diastereoisomer- and enantiomer-specific accumulation, depuration, and bioisomerization of hexabromocyclododecanes in zebrafish (*Danio rerio*). *Environ. Sci. Technol.* **2012**, *46*, 11040−11046.

(18) Zegers, B. N.; Mets, A.; Van Bommel, R.; Minkenberg, C.; Hamers, T.; Kamstra, J. H.; Pierce, G. J.; Boon, J. P. Levels of hexabromocyclododecane in harbor porpoises and common dolphins from western European seas, with evidence for stereoisomer-specific biotransformation by cytochrome P450. *Environ. Sci. Technol.* **2005**, *39*, 2095−2100.

(19) Abdallah, M. A.-E.; Uchea, C.; Chipman, J. K.; Harrad, S. Enantioselective biotransformation of hexabromocyclododecane by in vitro rat and trout hepatic sub-cellular fractions. *Environ. Sci. Technol.* **2014**, *48*, 2732−2740.

(20) Zhang, Y.; Sun, H.; Ruan, Y. Enantiomer-specific accumulation, depuration, metabolization and isomerization of hexabromocyclododecane (HBCD) diastereomers in mirror carp from water. *J. Hazard. Mater.* **2014**, *264*, 8−15.

(21) Hakk, H.; Szabo, D. T.; Huwe, J.; Diliberto, J.; Birnbaum, L. S. Novel and distinct metabolites identified following a single oral dose of alpha- or gamma-hexabromocyclododecane in mice. *Environ. Sci. Technol.* **2012**, *46*, 13494−13503.

(22) Law, K.; Palace, V. P.; Halldorson, T.; Danell, R.; Wautier, K.; Evans, B.; Alaee, M.; Marvin, C.; Tomy, G. T. Dietary accumulation of hexabromocyclododecane diastereoisomers in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) I: bioaccumulation parameters and evidence of bioisomerization. *Environ. Toxicol. Chem.* **2006**, *25*, 1757−1761.

(23) Letcher, R. J.; Mattioli, L. C.; Marteinson, S. C.; Bird, D.; Ritchie, I. J.; Fernie, K. J. Uptake, distribution, depletion, and in ovo transfer of isomers of hexabromocyclododecane flame retardant in diet-exposed American kestrels (*Falco sparverius*). *Environ. Toxicol. Chem.* **2015**, *34*, 1103−1112.

(24) Fournier, A.; Feidt, C.; Marchand, P.; Venisseau, A.; Le Bizec, B.; Sellier, N.; Engel, E.; Ratel, J.; Travel, A.; Jondreville, C. Kinetic study of γ-hexabromocyclododecane orally given to laying hens (*Gallus domesticus*). *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2012**, *19*, 440−447.

(25) Cariou, R.; Venisseau, A.; Amand, G.; Marchand, P.; Marcon, M.; Huneau, A.; Le Bouquin, S.; Dervilly-Pinel, G.; Travel, A.; Le Bizec, B. Identification of hexabromocyclododecane in building material. *Organohalogen Compd.* **2014**, *76*, 1521−1524.

(26) Law, R. J.; Covaci, A.; Harrad, S.; Herzke, D.; Abdallah, M. A. E.; Femie, K.; Toms, L.-M. L.; Takigami, H. Levels and trends of PBDEs and HBCDs in the global environment: status at the end of 2012. *Environ. Int.* **2014**, *65*, 147−158.

(27) Taguchi, V. Y.; Nieckarz, R. J.; Clement, R. E.; Krolik, S.; Williams, R. Dioxin analysis by gas chromatography-Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry (GC-FTICRMS). *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* **2010**, *21*, 1918−1921.

(28) Nys, Y.; Guyot, N. Egg formation and chemistry. In *Improving the Safety and Quality of Eggs and Egg Products*; Nys, Y., Bain, M., Van Immerseel, F., Eds.; Woodhead: Cambridge, UK, 2011; Vol. 1: Egg Chemistry, Production and Consumption, pp 83−132.

(29) OECD guidelines for the testing of chemicals, section 3: degradation and accumulation; test 305: bioaccumulation in fish: aqueous and dietary exposure. 2012; pp 1−72; http://www.oecd.org/env/test-no-305-bioaccumulation-in-fish-aqueous-and-dietary-exposure-9789264185296-en.htm (accessed December 2015).

DOI: 10.1021/acs.jafc.5b05574
J. Agric. Food Chem. 2016, 64, 2112−2119

(30) Lee, J. S.; Takai, J.; Takahasi, K.; Endo, Y.; Fujimoto, K.; Koike, S.; Matsumoto, W. Effect of dietary tung oil on the growth and lipid metabolism of laying hens. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* **2002**, *48*, 142−148.
(31) Berntssen, M. H. G.; Valdersnes, S.; Rosenlund, G.; Torstensen, B. E.; Zeilmaker, M. J.; van Eijkeren, J. C. H. Toxicokinetics and carry-over model of alpha-hexabromocyclododecane (HBCD) from feed to consumption-sized Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Food Addit. Contam., Part A* **2011**, *28*, 1274−1286.
(32) Robinson, F. E.; Renema, R. A.; Oosterhoff, H. H.; Zuidhof, M. J.; Wilson, J. L. Carcass traits, ovarian morphology and egg laying characteristics in early versus late maturing strains of commercial egg-type hens. *Poult. Sci.* **2001**, *80*, 37−46.
(33) Fernie, K. J.; Marteinson, S. C.; Bird, D. M.; Ritchie, I. J.; Letcher, R. J. Reproductive changes in American kestrels (*Falco sparverius*) in relation to exposure to technical hexabromocyclododecane flame retardant. *Environ. Toxicol. Chem.* **2011**, *30*, 2570−2575.
(34) Du, M. M.; Lin, L. F.; Yan, C. Z.; Wang, C.; Zhang, X. Enantiomer-specific bioaccumulation and depuration of hexabromocyclododecanes in zebrafish (*Danio rerio*). *J. Hazard. Mater.* **2013**, *248*, 167−171.
(35) van der Ven, L. T. M.; Verhoef, A.; van de Kuil, T.; Slob, W.; Leonards, P. E. G.; Visser, T. J.; Hamers, T.; Herlin, M.; Håkansson, H.; Olausson, H.; Piersma, A. H.; Vos, J. G. A 28-day oral dose toxicity study enhanced to detect endocrine effects of hexabromocyclododecane in Wistar rats. *Toxicol. Sci.* **2006**, *94*, 281−292.
(36) Szabo, D. T.; Diliberto, J. J.; Huwe, J. K.; Birnbaum, L. S. Differences in tissue distribution of HBCD alpha and gamma between adult and developing mice. *Toxicol. Sci.* **2011**, *123*, 256−263.
(37) Poulin, P.; Haddad, S. Advancing prediction of tissue distribution and volume of distribution of highly lipophilic compounds from a simplified tissue-composition-based model as a mechanistic animal alternative method. *J. Pharm. Sci.* **2012**, *101*, 2250−2261.
(38) Thayer, R. H.; Nelson, E. C.; Clemens, E. T.; Johnson, R. R.; Malle, A. L. Lipid composition of livers from laying hens. *Poult. Sci.* **1973**, *52*, 2270−2275.
(39) Brandsma, S. H.; Van Der Ven, L. T. M.; De Boer, J.; Leonards, P. E. G. Identification of hydroxylated metabolites of hexabromocyclododecane in wildlife and 28-days exposed Wistar rats. *Environ. Sci. Technol.* **2009**, *43*, 6058−6063.
(40) Esslinger, S.; Becker, R.; Maul, R.; Nehls, I. Hexabromocyclododecane enantiomers: microsomal degradation and patterns of hydroxylated metabolites. *Environ. Sci. Technol.* **2011**, *45*, 3938−3944.
(41) Kan, C. A.; Meijer, G. A. L. The risk of contamination of food with toxic substances present in animal feed. *Anim. Feed Sci. Technol.* **2007**, *133*, 84−108.

DOI: 10.1021/acs.jafc.5b05574
J. Agric. Food Chem. 2016, 64, 2112−2119

4 Influence des caractéristiques physiologiques sur le devenir de l'alpha-HBCD chez la poule pondeuse. Modèle pharmacocinétique basé sur la physiologie (PBPK)

4.1 Introduction

L'expérimentation *in vivo* décrite dans le chapitre précédent, a permis de confirmer le transfert de l'α-HBCD ingéré vers les tissus et produits et de caractériser les paramètres cinétiques de la molécule ingérée chez la poule pondeuse. Ces résultats constituent une base *in vivo* des concentrations d'α-HBCD mesurables dans les tissus et dans l'œuf suivant un niveau d'exposition donné chez des poules pondeuses aux caractéristiques physiologiques propres. Cependant certaines caractéristiques physiologiques de l'animal peuvent influencer la cinétique de transfert des POP chez l'animal. Ainsi, un modèle de transfert de PCB développé chez la poule pondeuse a mis en évidence l'influence du poids vif et du taux de ponte sur le transfert de ces POP chez la poule pondeuse (Fournier, 2011; Fournier et al., 2015). Les souches de poules pondeuses utilisées dans différents systèmes d'élevage (élevage en cages, plein air, élevages familiaux…) présentent des différences dans leurs traits physiologiques, et leur étude permettra de mettre en évidence les caractéristiques liées à chaque système d'élevage qui peuvent influencer le niveau de contamination des œufs dans le cas d'une exposition à cette molécule. L'objectif majeur de ce travail de thèse est de développer un modèle de transfert de POP (α-HBCD) chez la poule pondeuse qui permette de hiérarchiser l'ensemble des caractéristiques physiologiques de la poule pondeuse selon leur influence sur le transfert de l'α-HBCD vers les tissus et les produits. Sur la base conceptuelle du modèle à compartiments développé dans le cadre de la thèse d'A. Fournier (2011) au sein de l'UR AFPA en collaboration avec l'ITAVI, un nouveau modèle a été développé, celui-ci de type PBPK (modèle pharmacocinétique basé sur la physiologie) pour représenter les étapes ADME (absorption, distribution, métabolisme, excrétion) de l'α-HBCD chez la poule pondeuse (CASDAR, 2012). Le choix d'un modèle mécaniste de type PBPK vise à pouvoir extrapoler chaque modèle à d'autres animaux et à d'autres molécules lipophiles.

Ce modèle incorpore des informations sur des facteurs physiologiques pouvant influencer le transfert du contaminant vers les tissus et les produits, notamment sa distribution, via la circulation sanguine et son métabolisme, ainsi que la composition corporelle. Ce renseignement détaillé de la physiologie de l'animal qui gère le transfert de la molécule facilitera l'extrapolation du modèle vers d'autres animaux et molécules lipophiles. D'ailleurs le modèle représentant fidèlement la composition corporelle, cela permettra une hiérarchisation des caractéristiques de l'animal selon leur influence sur l'accumulation de la molécule dans les tissus et son transfert vers les œufs, dans un premier temps par une analyse de sensibilité approfondie et dans un deuxième temps par modification de certains paramètres pour représenter des poules-type représentatives de différents systèmes d'élevage réalistes. Les caractéristiques physiologiques étudiées pour un type de poule représentatif de chaque système d'élevage comprennent le poids vif final et l'âge d'atteinte de ce poids pour la souche correspondante, le taux de ponte et le poids maximal de l'œuf. La mise en place ou non d'une mue selon le système d'élevage et les répercussions de cette pratique sur la contamination des produits chez la poule exposée au contaminant seront également analysées.

Le modèle est constitué de deux sous-modèles, le premier représentant la physiologie de la poule pondeuse et le second représentant les étapes ADME subies par la molécule chez l'animal. La physiologie de la poule est représentée sur une période de 560 jours intégrant la fin de sa croissance, un cycle de ponte puis une mue suivie de la reprise de la ponte. Le choix des tissus représentés repose sur leur destination pour la consommation humaine (œuf, filet, muscles des cuisses) ou leur implication dans les étapes ADME du devenir de la molécule, comme le foie, le plasma, l'œuf et le gras abdominal. Le reste des tissus est regroupé dans un compartiment « other ». La structure du modèle physiologique est présentée en deux parties, l'une pour les composants du modèle liés à la croissance et les poids corporel et des tissus, à la quantité et au profil des lipides dans le corps et dans les tissus (Figure 4), et l'autre pour les composants du modèle liés à la ponte (Figure 5). Un diagramme du sous-modèle de transfert est présenté dans la Figure 6.

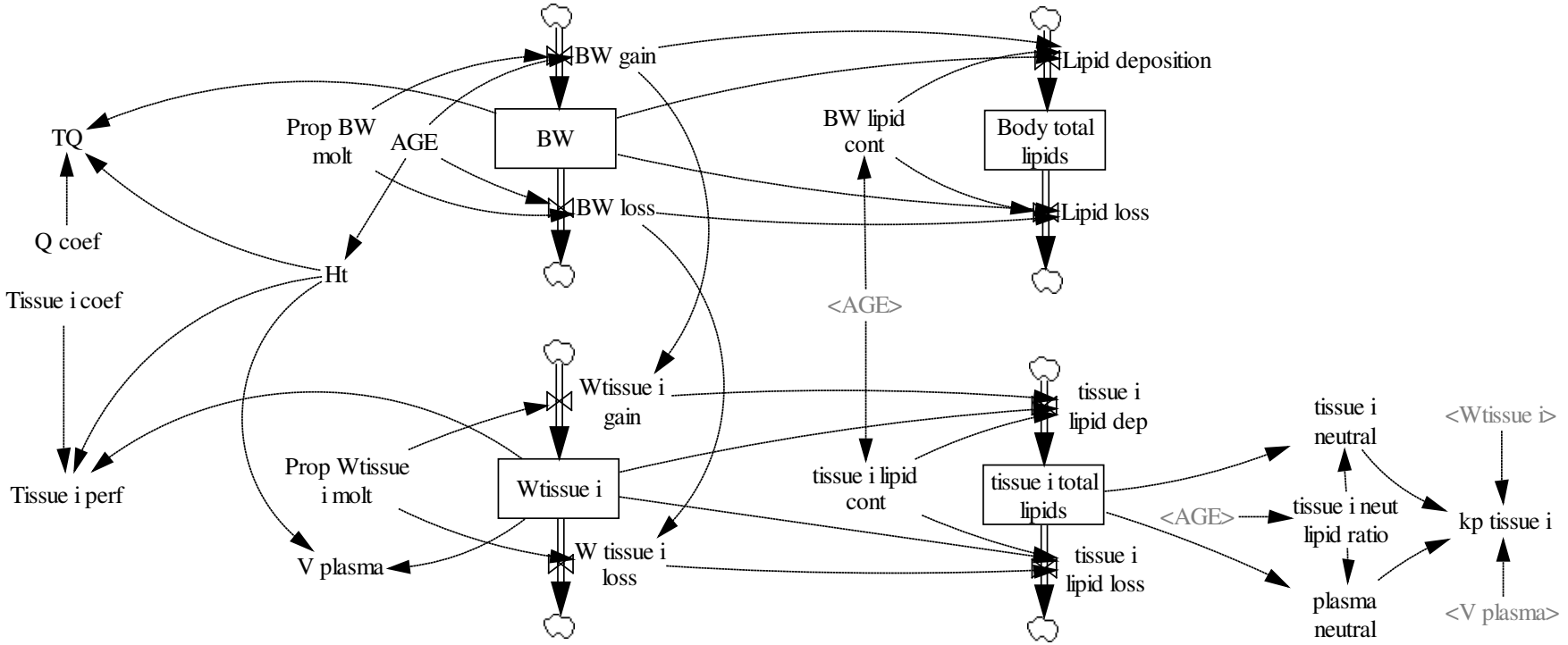


Figure 4 : schéma du sous-modèle physiologique, 1ère partie : composants du modèle liés à la croissance et poids corporel et des tissus, à la quantité et au profil des lipides dans le corps et dans les tissus et à l'irrigation. Doubles flèches : flux de matière (kg j^{-1}) ; compartiments (carrés) : quantités de matière (kg) ; flèches discontinues : flux d'information (pas d'unités) ; reste de composants : variables de calcul ou paramètres du modèle. Gris : duplication de certains composants du modèle représentés ailleurs. L'ensemble des paramètres du modèle sont décrits dans la liste d'abréviations. « Tissue i » est une dénomination générique de chacun des tissus représentés dans le modèle et remplace sur ce diagramme leurs noms spécifiés dans la liste d'abréviations, c'est-à-dire : storagefat, mA, mB, liver, blood, plasma, other.

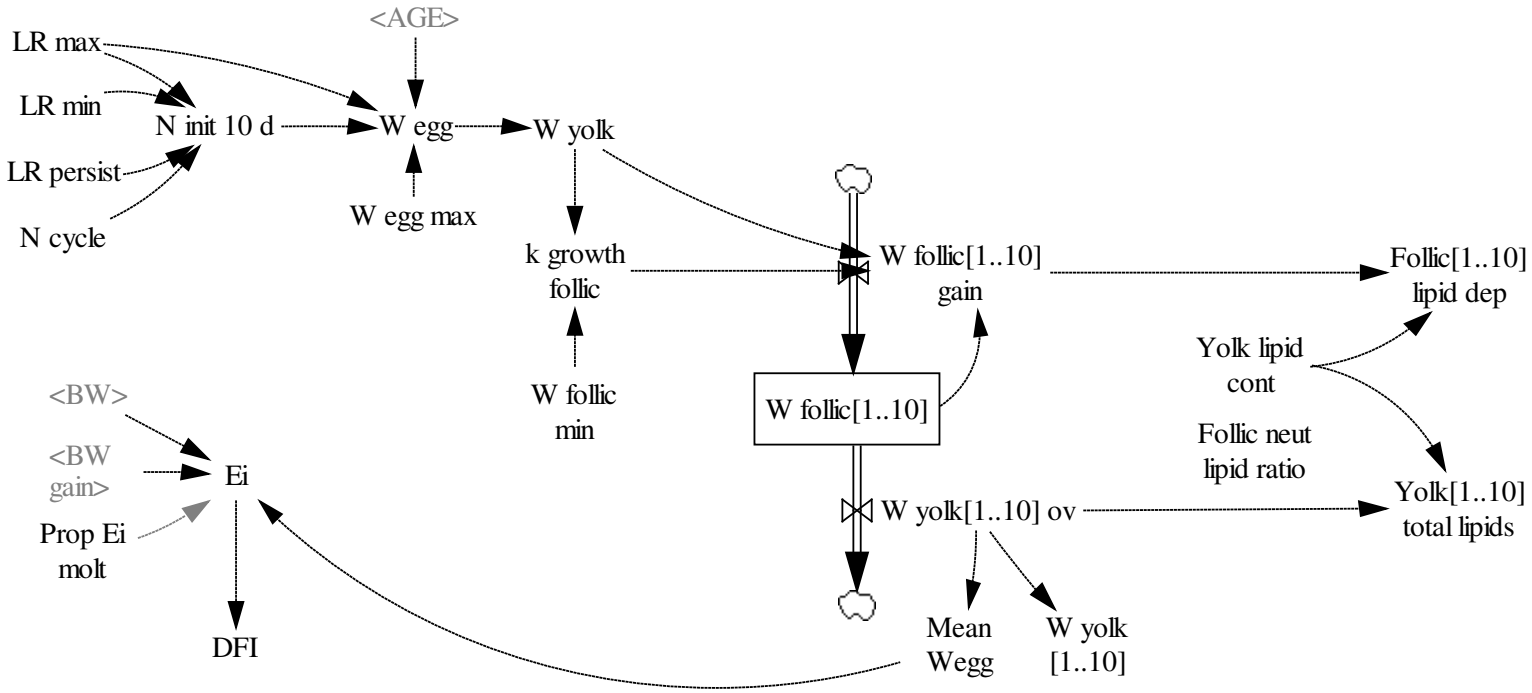


Figure 5 : schéma du sous-modèle physiologique, 2ème partie : composants du modèle liés à la ponte et à l'ingestion. Doubles flèches : flux de matière (kg j^{-1}) ; compartiments (carrés) : quantités de matière (kg) ; flèches discontinues : flux d'information (pas d'unités) ; reste de composants : variables de calcul ou paramètres du modèle. Gris : duplication de certains composants du modèle représentés ailleurs. L'ensemble des paramètres du modèle sont décrits dans la liste d'abréviations.

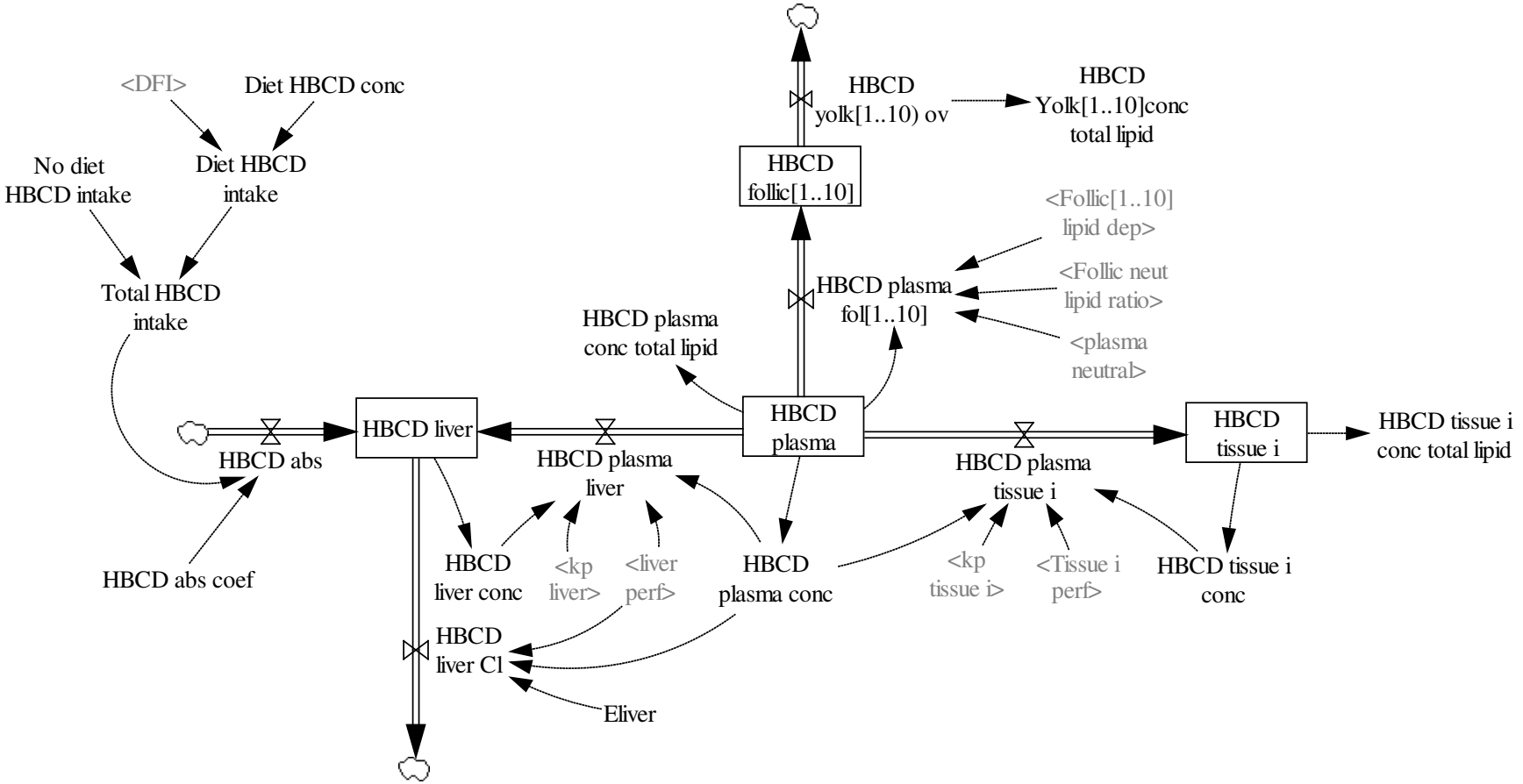


Figure 6 : schéma du sous-modèle de transfert. Doubles flèches : flux de matière (kg j^{-1}) ; compartiments (carrés) : quantités de matière (kg) ; flèches discontinues : flux d'information (pas d'unités) ; reste de composants : variables de calcul ou paramètres du modèle. Gris : duplication de certains composants du modèle représentés ailleurs. L'ensemble des paramètres du modèle sont décrits dans la liste d'abréviations. « Tissue i » est une dénomination générique de différents tissus représentés dans le modèle et remplace sur ce diagramme leurs noms spécifiés dans la liste d'abréviations, précisément : storagefat, mA, mB, other.

4.2 Calibration

4.2.1 Sous-modèle physiologique

La poule est représentée de 84 (*AGE1*) à 644 (*AGE5*) jours d'âge, c'est-à-dire une période de 560 jours qui débute par la fin de la croissance puis le premier cycle de ponte (Figure 7). La ponte débute à 126 jours d'âge (Nys et Guyot, 2011) et l'initialisation du premier jaune, 10 jours plus tôt, à 116 jours (*AGE maturity*). La mue, d'une durée de 42 jours, intervient à l'âge de 476 j (*AGE2*). Pendant cette période, aucun jaune d'œuf n'est initialisé. La mue consiste en une phase de perte de poids de 12 jours (jusqu'à 488 jours d'âge, c'est-à-dire « *AGE3* ») suivie d'une période de 30 jours pendant laquelle le poids de la poule ré-augmente pour retrouver sa valeur initiale à 518 jours d'âge (*AGE4*). L'initialisation du premier jaune du deuxième cycle de ponte intervient à cette même date et la ponte reprend 10 jours plus tard, à 528 jours d'âge (Bell, 2003; Fournier et al., 2015; Sauveur, 1988).

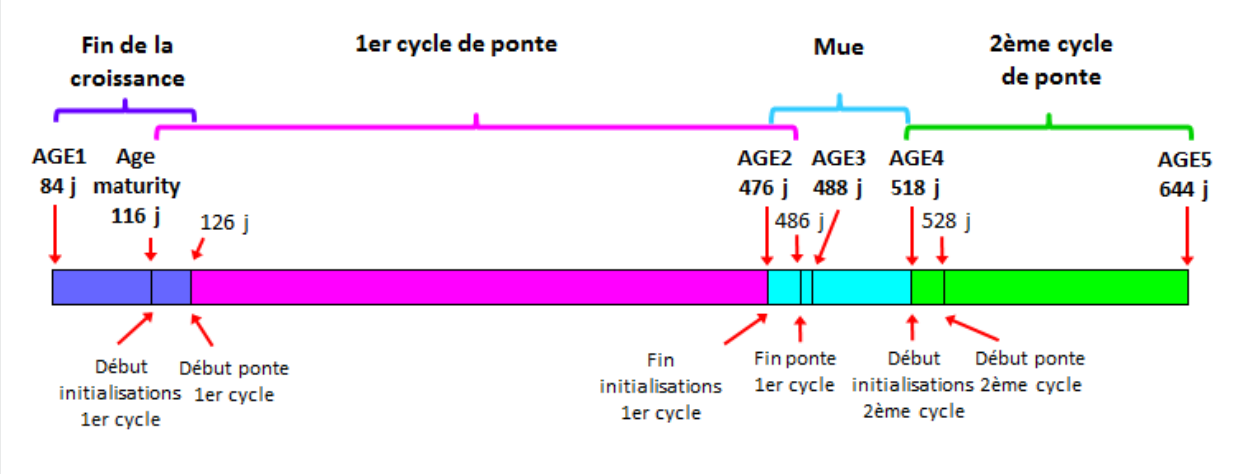


Figure 7 : schéma général des âges et stades physiologiques représentés dans le modèle

Pour renseigner les paramètres relatifs au poids vif et à l'ingestion, des données de sélectionneur (ISApoultry) ont été utilisées, à l'exception des informations concernant la période de mue. Les paramètres relatifs au poids des tissus et à leur composition, au débit cardiaque et à l'irrigation des tissus ont été renseignés au moyen de données issues de la littérature. Deux bases de données ont été créées contenant les informations nécessaires pour déterminer la valeur des paramètres d'intérêt lors de la calibration ainsi que des informations complémentaires pouvant influencer ces paramètres (exemple : identification du traitement expérimental (les témoins ont été privilégiés ; d'autres traitements

expérimentaux ont été considérés dans certains cas quand ces traitements ne présentaient pas d'influence sur la caractéristique d'intérêt pour le modèle), caractéristiques de l'animal). D'autres publications complémentaires à celles contenues dans ces bases de données ont permis le choix de certaines équations dont notamment celles liées à la ponte. Les références retenues pour chaque paramètre sont spécifiées dans les tableaux où les valeurs de ces paramètres sont présentées (Tableaux 24, 26, 28, 29, 31 et 32).

4.2.1.1 Croissance et poids corporels

Trois périodes sont distinguées :

1. la fin de la croissance et le premier cycle de ponte,
2. la mue, elle-même subdivisée en une période de perte de poids, puis de reprise de poids,
3. le début du second cycle de ponte.

Les acronymes et la description des paramètres d'une part et des variables et compartiments d'autre part ainsi que les références de littérature retenues pour la calibration des paramètres relatifs à la croissance et au poids corporel sont présentés respectivement dans les Tableaux 24 et 25. L'évolution du poids vif au cours du temps et selon la période de production de la poule est présentée à la Figure 8.

Tableau 24 : acronyme, description et valeur des paramètres relatifs à la croissance et au poids corporels et tissulaires

Acronyme	Description	Valeur	Unité	Références
Age, croissance et poids corporels				
AGE1	Âge auquel la simulation débute	84	j	
AGE2	Âge auquel le PV est maximisé et la mue débute	476	j	(Bell, 2003; Fournier et al., 2015; Sauveur, 1988)
AGE maturity	Âge auquel l'initialisation des follicules commence	116	j	(Nys and Guyot, 2011)
AGE3	Âge auquel la perte de poids durant la mue se termine	488	j	(Bell, 2003)
AGE4	Âge auquel la mue se termine et la réinitialisation reprend	518	j	(Bell, 2003)
AGE5	Âge auquel la simulation se termine	644	j	Choix
BW1	Poids vif (PV) à AGE1	1,077	kg	(ISApoultry)
BW2	PV à AGE2	1,962	kg	(ISApoultry)
Bgomp	Taux d'augmentation du poids vif au point d'inflexion de la courbe de croissance	0,0216	j^{-1}	(ISApoultry)
Prop BW molt	Fraction maximale de perte de PV pendant la mue	25	%	(Sauveur, 1988)
Croissance et poids tissulaires				
a_{mA}	Pente de l'allométrie de la croissance des muscles pectoraux	0,512		(Robinson et al., 2001)
b_{mA}	Ordonnée à l'origine de l'allométrie de croissance des muscles pectoraux	-1,847		
a_{mB}	Pente de l'allométrie de la croissance des muscles des cuisses	0,055		(Domínguez-Romero et al., 2016)
b_{mB}	Ordonnée à l'origine de l'allométrie de croissance des muscles des cuisses	0		
a_{liver}	Pente de l'allométrie de la croissance du foie	1,649		(Akiba et al., 1982) ; (Lee et al., 2002) ; (Mumma et al., 2006) ; (Robinson et al., 2001) ; (Umar Faruk et al., 2010) ; (Wolfenson et al., 1978; Yang et al., 2003)
b_{liver}	Ordonnée à l'origine de l'allométrie de croissance du foie	-4,123		
a_{blood}	Pente de l'équation quasi isométrique de poids du sang en fonction du PV	0,842		(Medway and Kare, 1959)
b_{blood}	Ordonnée à l'origine de l'équation de croissance du poids du sang en fonction du PV	-2,6		
$a_{storagefat}$	Pente de l'allométrie de la croissance du gras abdominal	0,117		(Mumma et al., 2006; Robinson et al., 2001)
$b_{storagefat}$	Ordonnée à l'origine de l'allométrie de croissance du gras abdominal	-0,124		
Prop W_{mA} molt	Fraction maximale de perte de poids des muscles pectoraux pendant la mue	20	%	Hypothèse
Prop W_{mB} molt	Fraction maximale de perte de poids des muscles des cuisses pendant la mue	20	%	Hypothèse
Prop W_{liver} molt	Fraction maximale de perte de poids du foie pendant la mue	50	%	(Sauveur, 1988)
Prop $W_{storagefat}$ molt	Fraction maximale de perte de poids du gras abdominal pendant la mue	70	%	(Park and Ks, 2002)
Prop W_{blood} molt	Fraction maximale de perte de poids du sang pendant la mue	25	%	Hypothèse

Tableau 25 : acronyme, description et valeur initiale des variables et compartiments relatifs à la croissance et au poids corporels et tissulaires

Acronyme	Description	Valeur initale	Unité
Croissance et poids corporels			
BW	Poids corporel	1,077	kg
Croissance et poids tissulaires			
W_{mA}	Poids des muscles pectoraux	0,164	kg
W_{mB}	Poids des muscles des cuisses	0,059	kg
W_{liver}	Poids du foie	0,018	kg
W_{blood}	Poids du sang	0,079	kg
$W_{storagefat}$	Poids du gras abdominal	0,002	kg
W_{other}	Poids du compartiment "other"	0,755	kg
V_{plasma}	Volume du plasma	0,056	L

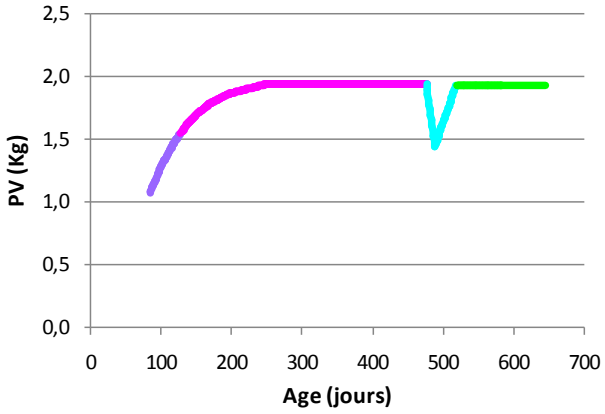


Figure 8 : évolution du poids vif de la poule au cours de la fin de la croissance, le 1er cycle de ponte, la mue et le 2ème cycle de ponte (simulation du modèle).
Le stade physiologique est identifié par les mêmes couleurs que sur la Figure 7, c'est-à-dire : fin de la croissance (mauve), 1er cycle de ponte (violet), mue (bleu), 2ème cycle de ponte (vert).

4.2.1.1.1 Fin de croissance et premier cycle de ponte

Cette période débute lorsque la poule a atteint l'âge de 84 jours (*AGE1*, j) et se termine lorsque la poule débute sa mue à l'âge de 476 jours (*AGE2*, j). Le calcul du poids vif (*BW*) en fonction de l'âge suit une fonction de Gompertz (Aubry et al., 2004) (Eq. 15). A la différence d'autres équations de Gompertz à structure plus simple (Porter et al., 2010; Zuidhof, 2005), l'équation choisie permet de s'affranchir du poids vif maximal (asymptote). Le choix de cette équation s'est ainsi imposé lors du développement du modèle conceptuel commun pour des animaux en croissance (porc et poulet) pour lesquels l'âge d'abattage se produit avant

l'atteinte de leur poids vif maximal. Le paramètre « *Bgomp* » (j^{-1}) a été ajusté à partir de données de sélectionneur pour des poules ISA Brown qui fournissent le poids des animaux toutes les semaines entre 7 et 630 jours d'âge. Le gain de PV (*BW gain*, kg j^{-1}) est calculé comme la dérivée du PV (*BW*, kg) par rapport à l'âge (*AGE*, j) (Eq. 16).

Eq. 15	$\mathbf{BW} = \mathbf{BW2} \times \frac{\mathbf{BW2}}{\mathbf{BW1}}^{\frac{-\left(\mathbf{e}^{-\mathbf{Bgomp}\times(\mathbf{AGE2}-\mathbf{AGE1})}-\mathbf{e}^{-\mathbf{Bgomp}\times(\mathbf{AGE}-\mathbf{AGE1})}\right)}{-1+\mathbf{e}^{-\mathbf{Bgomp}\times(\mathbf{AGE2}-\mathbf{AGE1})}}}$
Eq. 16	$\mathbf{BW\ gain} = -\mathbf{BW} \times \ln\frac{\mathbf{BW_2}}{\mathbf{BW_1}} \times \mathbf{Bgomp} \times \frac{\mathbf{e}^{-\mathbf{Bgomp}\times(\mathbf{AGE}-\mathbf{AGE1})}}{-1+\mathbf{e}^{-\mathbf{Bgomp}\times(\mathbf{AGE2}-\mathbf{AGE1})}}$

4.2.1.1.2 Mue – perte de PV

La mue est mise en place à 476 j d'âge (*AGE2*) pour une durée totale de 42 j (Bell, 2003; Fournier et al., 2015; Sauveur, 1988). Pendant les 12 premiers jours de mue (jusqu'à 488 j d'âge, *AGE3*), le PV diminue linéairement de 25% (*Prop BW molt*) (Sauveur, 1988) par rapport à sa valeur en début de mue (*BW AGE2*). Le flux de perte de PV pendant ces 12 jours (*BW loss*, kg j^{-1}) est calculé selon l'Eq. 17. Le flux de gain de PV (*BW gain*, kg j^{-1}) est fixé à la valeur zéro pendant cette période.

Eq. 17	$\mathbf{BW\ loss} = \frac{\mathbf{Prop\ BW\ molt}\times\mathbf{BW\ AGE2}}{(\mathbf{AGE3}-\mathbf{AGE2})}$

4.2.1.1.3 Mue – reprise de PV

A partir de 488 jours d'âge (*AGE3*, j), le poids augmente linéairement pendant les 30 jours restants de la mue, pour retrouver sa valeur initiale à 518 jours d'âge (*AGE4*, j). Pendant cette période, le gain de PV (*BW gain*, kg j^{-1}) s'exprime comme indiqué ci-dessous (Eq. 18) :

Eq. 18	$\mathbf{BW\ gain} = \frac{\mathbf{Prop\ BW\ molt}\times\mathbf{BW\ AGE2}}{(\mathbf{AGE4}-\mathbf{AGE3})}$

4.2.1.1.4 Deuxième cycle de ponte

A partir de la reprise de l'initialisation, à 518 jours d'âge (*AGE4*, j), le PV reste constant et égal au poids vif atteint avant le début de la mue (*BW AGE2*, kg) jusqu'à la fin de la simulation à 644 jours (*AGE 5*, j).

4.2.1.2 Croissance et poids tissulaires

La contribution des différents tissus au poids vif varie pendant la croissance de l'animal, pendant la phase de ponte puis la mue. Les acronymes et la description des paramètres d'une part et des variables et compartiments d'autre part tout comme les références de

littérature retenues pour la calibration des paramètres relatifs à la croissance et au poids tissulaires sont présentés respectivement dans les Tableaux 24 et 25. La Figure 9 présente l'évolution du poids des différents tissus en fonction du PV.

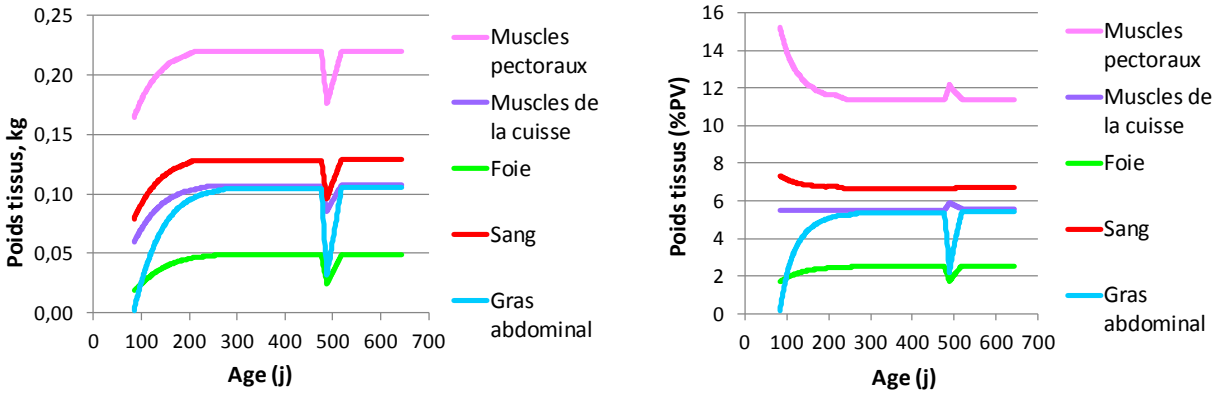


Figure 9: évolution du poids des tissus (kg et pourcentage du poids vif) en fonction de l'âge de la poule (simulation du modèle)

4.2.1.2.1 Fin de croissance et premier cycle de ponte

Pendant la croissance et jusqu'à la mue, le poids de chaque tissu (W_{tissue}, kg) est décrit en fonction du PV (*BW*, kg) selon des équations allométriques (Eq. 19, Eq. 20) ajustées à partir de données de la bibliographie. Le poids initial des tissus est calculé à partir de ces équations en considérant une valeur de PV égale à la valeur initiale du poids vif (*BW1*). Le poids initial du compartiment « other » est calculé par différence entre le poids vif initial (*BW1*) et le poids initial des autres tissus.

Eq. 19	$\mathbf{\ln W_{tissue} = a_{tissue} \times \ln BW + b_{tissue}}$	muscles pectoraux, foie, sang
Eq. 20	$\mathbf{W_{tissue} = a_{tissue} \times BW + b_{tissue}}$	gras abdominal, muscles des cuisses

Le gain de poids des tissus par rapport au temps (W_{tissue} *gain*, kg j^{-1}) est calculé comme le produit de la dérivée du poids des tissus par rapport au PV et du gain de PV (*BW gain*, kg j^{-1}), selon l'Eq. 21 pour les muscles pectoraux (*mA*), le foie (*liver*) et le sang (*blood*) et l'Eq. 22 pour le gras abdominal (*storagefat*) et les muscles des cuisses (*mB*).

Eq. 21	$\mathbf{W_{tissue}\ gain = a_{tissue} \times e^{b_{tissue}} \times BW^{a_{tissue}-1} \times BW\ gain}$	muscles pectoraux, foie, sang
Eq. 22	$\mathbf{W_{tissue}\ gain = a_{tissue} \times BW\ gain}$	gras abdominal, muscles des cuisses
Eq. 23	$\mathbf{W_{other}\ gain = BW\ gain - (W_{blood}\ gain + W_{storagefat}\ gain + W_{liver}\ gain + W_{mA}\ gain + W_{mB}\ gain)}$	« other » (i.e. reste de l'animal)

Le gain de poids du compartiment « other » (W_{other} *gain*, kg j^{-1}) est calculé par différence entre le gain de PV et le gain de poids du reste des compartiments (Eq. 23). Pendant la période de croissance et jusqu'à la mue, la contribution du poids des tissus au PV est cohérente par rapport aux données rapportées dans des références autres que celles sélectionnées pour le paramétrage : environ 11% pour les muscles pectoraux chez des poules reproductrices en fin de ponte (Puchała et al., 2014) ; 1,5 à 2,3% du PV pour le foie chez des poules reproductrices en début de ponte (Renema et al., 1999) ; 5 à 8% du PV pour le sang dans le modèle de MacLachlan (2010) et selon Balnave (1971). Le compartiment « other » n'est pas présenté sur la Figure 9. Il représente environ 70% du PV tout au long de la simulation. L'intérêt du compartiment « other » est central, vu que c'est le compartiment le plus volumineux. D'ailleurs, à la différence du corps entier qui est représenté uniquement dans le sous-modèle physiologique, le compartiment « other » est représenté dans les deux sous-modèles et complète, avec les autres tissus, la représentation du corps entier dans le sous-modèle ADME.

4.2.1.2.2 Mue – Perte de PV

Pendant cette période, le flux de gain de poids de chaque tissu (W_{tissue} *gain*, kg j^{-1}) est fixé à 0. Le flux de perte de poids de chaque tissu pendant les 12 premiers jours de mue (W_{tissue} *loss*, kg j^{-1}) est proportionnel au poids de chaque tissu en début de mue (W_{tissue} *AGE2*, kg), selon des coefficients de proportionnalité (*Prop* W_{tissue} *molt*, %) atteignant 70% pour le gras abdominal (Park and Ks, 2002) et 50% pour le foie (Sauveur, 1988) (Eq. 24). En l'absence de données de la littérature, ces coefficients sont fixés à 20% pour les muscles et 25% pour le sang.

Eq. 24	$\mathbf{W\ tissue\ loss} = \frac{(\mathbf{Prop\ W_{tissue}\ molt}) \times \mathbf{W_{tissue}\ AGE2}}{(\mathbf{AGE3 - AGE2})}$
Eq. 25	$\mathbf{W_{other}\ loss} = \mathbf{BW\ loss} - (\mathbf{W_{blood}\ loss} + \mathbf{W_{storagefat}\ loss} + \mathbf{W_{liver}\ loss} + \mathbf{W_{mA}\ loss} + \mathbf{W_{mB}\ loss})$

La perte de poids du compartiment « other » (W_{other} *loss*, kg j^{-1}), qui contient les tissus reproducteurs, est obtenue par différence entre la perte de PV (*BW loss*, kg j^{-1}) et la somme des pertes de poids des tissus identifiés (W_{tissue} *loss*, kg j^{-1}) (Eq. 25). Cette perte représente 22% du poids du compartiment en début de mue.

4.2.1.2.3 Mue – Récupération du PV

Le poids de chaque tissu (W_{tissue}, kg) augmente linéairement pendant les 30 jours restants de la mue (entre *AGE3* et *AGE4*) pour retrouver, en fin de mue, la valeur observée avant la mue

(W_{tissue} *AGE2*, kg). Le gain de poids de chaque tissu (W_{tissue} *gain*, kg j^{-1}) est proportionnel au poids de chaque tissu en début de mue (W_{tissue} *AGE2*, kg), selon des coefficients de proportionnalité (*Prop* W_{tissue} *molt*, %) (Eq. 26). Le gain de poids du compartiment « other » est obtenu par différence entre le gain de PV et le gain de poids du reste des compartiments (Eq. 23).

Eq. 26	$\mathbf{W_{tissue}\ gain} = \frac{\mathbf{propW_{tissue}\ molt \times W_{tissue}\ AGE2}}{(\mathbf{AGE4 - AGE3})}$

4.2.1.2.4 Deuxième cycle de ponte

Le poids de chaque tissu (W_{tissue}, kg) reste constant à sa valeur au début de la mue (W_{tissue} *AGE2*, kg). Le gain et la perte de poids des tissus sont fixés à la valeur nulle.

4.2.1.2.5 Quantité et profil de lipides corporels et tissulaires

Les acronymes et la description des paramètres d'une part et des variables et compartiments d'autre part ainsi que les références de littérature retenues pour la calibration des paramètres relatifs à la quantité et au profil de lipides tissulaires et à l'irrigation sanguine sont présentés dans les Tableaux 26, 27 et 28.

Tableau 26 : acronymes, description et valeur des paramètres relatifs à la quantité et au profil de lipides tissulaires

Acronyme	Description	Valeur	Unité	Références
Lipides corporels et tissulaires				
BW lipid cont AGE1	Proportion de lipides corporels à l'AGE1	0,060	kg kg^{-1}	(Hoyle and Garlich, 1987; Robinson et al., 2001)
BW lipid cont AGE2	Proportion de lipides corporels à l'AGE2	0,200	kg kg^{-1}	(Hoyle and Garlich, 1987)
BW lipid cont AGE3	Proportion de lipides corporels à l'AGE3	0,130	kg kg^{-1}	(Hoyle and Garlich, 1987)
mA lipid cont	Proportion de lipides dans les muscles pectoraux hors mue	0,014	kg kg^{-1}	(Cherian et al., 2002; Lee et al., 2002; Yang et al., 2003)
mB lipid cont	Proportion de lipides dans les muscles des cuisses hors mue	0,060	kg kg^{-1}	(Cherian et al., 2002; Puchała et al., 2014)
Liver lipid cont	Pente de la relation linéaire entre la quantité de lipides hépatiques et le poids du foie hors mue	0,17	kg kg^{-1}	(Akiba et al., 1982; El-Kazzi et al., 1995; Harms et al., 1977; Lee et al., 2002; Robinson et al., 2001; Schumann et al., 2003; Thayer et al., 1973; Umar Faruk et al., 2010)
b lip liver	Ordonnée à l'origine de la relation linéaire entre la quantité de lipides hépatiques et le poids du foie hors mue	-0,0026	kg	
Storagefat lipid cont	Proportion de lipides dans le gras abdominal	0,87	kg kg^{-1}	(Cherian et al., 2002; El-Kazzi et al., 1995; Lee et al., 2002)
Plasma lipid cont	Concentration de lipides dans le plasma hors ponte	0,007	kg L^{-1}	(Entenman et al., 1940; Robinson et al., 2001; Yu et al., 1976)
Plasma lipid cont lay	Concentration de lipides dans le plasma pendant la ponte	0,026	kg L^{-1}	(Akiba et al., 1982; Balnave, 1971; Robinson et al., 2001; Walzem et al., 1994; Weiss and Fisher, 1957; Yu et al., 1976)
mA lipid cont AGE3	Proportion minimale de lipides dans les muscles pectoraux pendant la mue	0,011	kg kg^{-1}	(Cherian et al., 2002; Javaid et al., 2011; Lee et al., 2002; Yang et al., 2003)
mB lipid cont AGE3	Proportion minimale de lipides dans les muscles des cuisses pendant la mue	0,048	kg kg^{-1}	(Cherian et al., 2002; Javaid et al., 2011; Puchała et al., 2014)
Liver lipid cont AGE3	Proportion minimale de lipides hépatiques pendant la mue	0,060	kg kg^{-1}	(Garlich et al., 1984)
mA neut lipid ratio	Proportion de lipides neutres dans les lipides totaux des muscles pectoraux	0,55	kg kg^{-1}	(Lee et al., 2002)
mB neut lipid ratio	Proportion des lipides neutres dans les lipides totaux des muscles des cuisses	0,86	kg kg^{-1}	Données sur poulet de chair, en l'absence de données sur poule : (Hulan et al., 1989; Marion, 1965; Rabot, 1998; Sahasrabudhe et al., 1985)
Liver neut lipid ratio	Proportion de lipides neutres dans les lipides totaux du foie	0,76	kg kg^{-1}	(Entenman et al., 1940; Ivy and Nesheim, 1973; Lee et al., 2010; Lee et al., 2002; Thayer et al., 1973; Zhang et al., 2011a; Zhang et al., 2011b)
Plasma neut lipid ratio	Proportion de lipides neutres dans les lipides totaux du plasma hors ponte	0,69	kg kg^{-1}	(Yu et al., 1976)
Plasma neut lipid ratio lay	Proportion de lipides neutres dans les lipides totaux du plasma pendant la ponte	0,79	kg kg^{-1}	(Walzem et al., 1994; Yu et al., 1976)
Storagefat neut lipid ratio	Proportion de lipides neutres dans les lipides totaux du gras abdominal	0,98	kg kg^{-1}	(Lee et al., 2002)
Other neut lipid ratio	Proportion de lipides neutres dans les lipides totaux du compartiment "other"	0,96	kg kg^{-1}	(Santoso et al., 1995)

Tableau 27 : acronyme, description et valeur initiale des variables et compartiments relatifs à la quantité et au profil des lipides tissulaires et à l'irrigation sanguine

Acronyme	Description	Valeur initiale	Unité
Lipides corporels et tissulaires			
Body total lipids	Poids des lipides corporels totaux	0,065	kg
mA total lipids	Poids des lipides totaux dans les muscles pectoraux	0,002	kg
mB total lipids	Poids des lipides totaux dans les muscles des cuisses	0,004	kg
Liver total lipids	Poids des lipides totaux dans le foie	0,0006	kg
Plasma total lipids	Poids des lipides totaux dans le plasma	0,0004	kg
Storagefat total lipids	Poids des lipides totaux dans le gras abdominal	0,0020	kg
Other total lipids	Poids des lipides totaux dans le compartiment « other »	0,056	kg
mA neutral	Poids des lipides neutres dans les muscles pectoraux	0,0013	kg
mB neutral	Poids des lipides neutres dans les muscles des cuisses	0,0031	kg
Liver neutral	Poids des lipides neutres dans le foie	0,0004	kg
Plasma neutral	Poids des lipides neutres dans le plasma	0,0003	kg
Storagefat neutral	Poids des lipides neutres dans le gras abdominal	0,0017	kg
Other neutral	Poids des lipides neutres dans le compartiment "other"	0,054	kg
Vplasma	Volume du plasma	0,056	L
TQ	Débit plasmatique	224	$L\ j^{-1}$
mA perf	Débit plasmatique vers les muscles pectoraux	25,3	$L\ j^{-1}$
mB perf	Débit plasmatique vers les muscles des cuisses	7,10	$L\ j^{-1}$
Liver perf	Débit plasmatique vers le foie	16,1	$L\ j^{-1}$
Storagefat perf	Débit plasmatique vers le gras abdominal	0,14	$L\ j^{-1}$
Other perf	Débit plasmatique vers le compartiment « other »	175	$L\ j^{-1}$

Tableau 28 : acronyme, description et valeur des paramètres relatifs à l'irrigation sanguine

Acronyme	Description	Valeur	Unité	Références
Irrigation				
Ht growth or lay	Valeur d'hématocrite pendant la croissance et la ponte	26,5	%	(Bell et al., 1965; Burnham et al., 2002; Burnham et al., 2003; Medway and Kare, 1959; Peebles et al., 2004)
Ht molt	Valeur d'hématocrite pendant la mue	31	%	(Bell et al., 1965; Brake and Thaxton, 1979)
mV_{blood}	Masse volumique du sang	1,044	$kg\ L^{-1}$	(Medway and Kare, 1959)
Q coef	Débit cardiaque	283	$L\ kg\ PV^{-1}\ j^{-1}$	(Niezgoda et al., 1982; Sapirstein and Hartman, 1959; Wideman, 1999)
mA coef	Débit sanguin vers les muscles pectoraux	210	$L\ kg\ tissu^{-1}\ j^{-1}$	(Wolfenson, 1986; Wolfenson et al., 1978)
mB coef	Débit sanguin vers les muscles des cuisses	163	$L\ kg\ tissu^{-1}\ j^{-1}$	(Sapirstein and Hartman, 1959; Wolfenson, 1986)
Liver coef	Débit sanguin vers le foie	1200	$L\ kg\ tissu^{-1}\ j^{-1}$	(Boelkins et al., 1973; Merrill et al., 1981; Sapirstein and Hartman, 1959; Weidner et al., 1982; Wolfenson, 1986; Wolfenson et al., 1978)
Storagefat coef	Débit sanguin vers le gras abdominal	95	$L\ kg\ tissu^{-1}\ j^{-1}$	(MacLachlan, 2010)

4.2.1.3 Quantité de lipides corporels

4.2.1.3.1 Fin de croissance et premier cycle de ponte

Selon Robinson et al. (2001), la concentration de lipides corporels augmente de 6-8% du PV en début de ponte à 18-20% au pic de ponte. Ainsi dans le modèle, la contribution des lipides corporels au PV augmente linéairement avec le poids corporel, de 6% au début de la simulation (*BW lipid cont AGE1*) à 20% au moment de la mue (*BW lipid cont AGE2*), comme indiqué sur l'Eq. 27. La quantité totale de lipides corporels (*body total lipids*, kg) est calculée par le produit de la contribution des lipides totaux au poids vif (Proportion of Body total lipids, kg kg^{-1}, Eq. 27) et du PV, ce qui donne l'Eq. 28. Le gain de lipides corporels (*Lipid deposition*, kg j^{-1}) est calculé en dérivant le contenu de lipides dans le corps (Eq. 28) en fonction du PV, et en multipliant cette dérivée par le gain de PV, selon l'Eq. 29.

Eq. 27	$$\textbf{Proportion of Body total lipids} = \textbf{BW lipid cont AGE1} + (\textbf{BW} - \textbf{BW1}) \times \frac{(\textbf{BW lipid cont AGE2} - \textbf{BW lipid cont AGE1})}{(\textbf{BW2} - \textbf{BW1})}$$
Eq. 28	$$\textbf{Body total lipids} = \textbf{BW} \times \textbf{BW lipid cont AGE1} + \textbf{BW}^2 \times \frac{(\textbf{BW lipid cont AGE2} - \textbf{BW lipid cont AGE1})}{(\textbf{BW2} - \textbf{BW1})} - \textbf{BW} \times \textbf{BW1} \times \frac{(\textbf{BW lipid cont AGE2} - \textbf{BW lipid cont AGE1})}{(\textbf{BW2} - \textbf{BW1})}$$
Eq. 29	$$\textbf{Lipid deposition} = [\textbf{BW lipid cont AGE1} + 2 \times \frac{(\textbf{BW lipid cont AGE2} - \textbf{BW lipid cont AGE1})}{(\textbf{BW2} - \textbf{BW1})} \times \textbf{BW} - \textbf{BW1} \times \frac{(\textbf{BW lipid cont AGE2} - \textbf{BW lipid cont AGE1})}{(\textbf{BW2} - \textbf{BW1})}] \times \textbf{BW gain}$$

4.2.1.3.2 Mue – Perte de PV

Pendant la mue, la concentration de lipides corporels est de 13% lorsque le poids corporel est le plus faible (Hoyle and Garlich, 1987). La contribution des lipides corporels au PV diminue linéairement avec le poids corporel, de 20% au début de la mue (*BW lipid cont AGE2*) (Robinson et al., 2001) à 13% lorsque le poids corporel est minimisé (*BW lipid cont AGE3*). Selon la même structure que les Eq. 28 et Eq. 29 respectivement et de façon simplifiée, les lipides corporels (*body total lipids*, kg) s'expriment alors selon l'Eq. 30 et la perte de lipides corporels (*Lipid loss*, kg j^{-1}), selon l'Eq. 31 où *BW loss* est calculé selon l'Eq. 17.

Eq. 30	$$\textbf{Body total lipids} = \textbf{BW} \times [\textbf{BW lipid cont AGE2} + (\textbf{BW} - \textbf{BW2}) \times \frac{(\textbf{BW lipid cont AGE3} - \textbf{BW lipid cont AGE2})}{(\textbf{BW3} - \textbf{BW2})}]$$
Eq. 31	$$\textbf{Lipid loss} = [\textbf{BW lipid cont AGE2} + \frac{(\textbf{BW lipid cont AGE3} - \textbf{BW lipid cont AGE2})}{(\textbf{BW3} - \textbf{BW2})} \times (2 \times \textbf{BW} - \textbf{BW2})] \times \textbf{BW loss}$$

4.2.1.3.3 Mue – Récupération du PV

Après la mue, la concentration de lipides corporels est de 19% lorsque la ponte reprend (Hoyle and Garlich, 1987). Dans le modèle, la contribution des lipides corporels au poids vif ré-augmente linéairement avec le poids corporel, de 13% (*BW lipid cont AGE3*) à 20% lorsque le poids corporel retrouve sa valeur avant la mue (*BW lipid cont AGE2*). Les lipides corporels (*body total lipids*, kg) s'expriment alors selon l'Eq. 32 et le gain de lipides corporels (*Lipid deposition*, kg j^{-1}), selon l'Eq. 33 où BW gain est calculé selon l'Eq. 18.

Eq. 32	$$\textbf{Body total lipids} = \textbf{BW} \times [\textbf{BW lipid cont AGE3} + (\textbf{BW} - \textbf{BW3}) \times \frac{(\textbf{BW lipid cont AGE2} - \textbf{BW lipid cont AGE3})}{(\textbf{BW2} - \textbf{BW3})}]$$
Eq. 33	$$\textbf{Lipid deposition} = [\textbf{BW lipid cont AGE3} + \frac{(\textbf{BW lipid cont AGE2} - \textbf{BW lipid cont AGE3})}{(\textbf{BW2} - \textbf{BW3})} \times (2 \times \textbf{BW} - \textbf{BW3})] \times \textbf{BW gain}$$

4.2.1.3.4 Deuxième cycle de ponte

Le poids des lipides corporels reste stable à sa valeur à *AGE2* et le dépôt de lipides est nul.

4.2.1.4 Quantité de lipides tissulaires

L'évolution de la quantité et celle de la concentration de lipides dans les différents tissus en fonction de l'âge de la poule sont présentées respectivement sur les Figures 10 et 11.

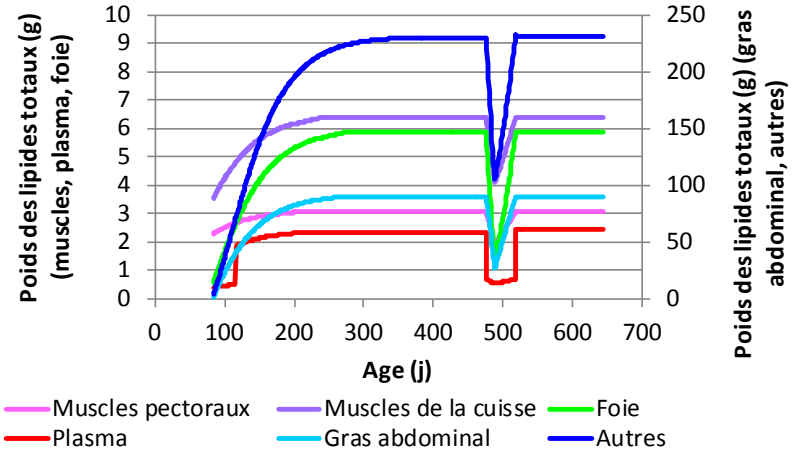


Figure 10 : évolution du poids des lipides dans les tissus (g) avec l'âge (simulation du modèle)

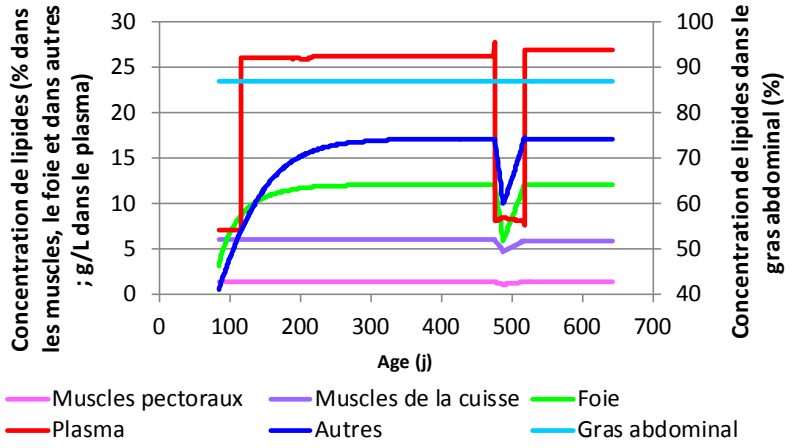


Figure 11 : évolution de la concentration de lipides dans les tissus (pourcentage ou g L^{-1}) avec l'âge (simulation du modèle)

4.2.1.4.1 Tissus autres que le sang et que le compartiment « other »

4.2.1.4.1.1 Fin de croissance et premier cycle de ponte

Pour chaque tissu identifié, une relation linéaire est établie entre la quantité de lipides totaux contenue dans le tissu (*Tissue total lipids*, kg) et le poids du tissu (W_{tissue}, kg), à partir de données de la littérature (Eq. 34, Eq. 35). Le dépôt de lipides dans chaque tissu (*Tissue lipid dep*, kg j^{-1}) est calculé comme le produit de la dérivée de la quantité de lipides dans le tissu (*Tissue total lipids*, kg) par rapport au poids du tissu (W_{tissue}, kg) et du gain de poids du tissu (W_{tissue} *gain*, kg j^{-1}) (Eq. 36).

Eq. 34	$\mathbf{Tissue\ total\ lipids} = \mathbf{Tissue\ lipid\ cont} \times \mathbf{W_{tissue}} + \mathbf{b_{lip\ tissue}}$	Foie
Eq. 35	$\mathbf{Tissue\ total\ lipids} = \mathbf{Tissue\ lipid\ cont} \times \mathbf{W_{tissue}}$	Muscles pectoraux et des cuisses, gras abdominal
Eq. 36	$\mathbf{Tissue\ lipid\ dep} = \mathbf{Tissue\ lipid\ cont} \times \mathbf{W_{tissue}\ gain}$	Tous les tissus

Les paramètres correspondent à une teneur en lipides constante pendant cette période pour les muscles et le gras abdominal (*mA lipid cont* = 0,014 kg kg^{-1}, (Cherian et al., 2002; Lee et al., 2002; Yang et al., 2003); *mB lipid cont* = 0,060 kg kg^{-1} (Cherian et al., 2002; Puchała et al., 2014); *Storagefat lipid cont* = 0,87 kg kg^{-1} (Cherian et al., 2002; El-Kazzi et al., 1995; Lee et al., 2002)). La contribution des lipides au poids du foie augmente de 0,032 kg kg^{-1} à l'âge de 84 jours à 0,12 kg kg^{-1} à l'âge de 476 jours (Akiba et al., 1982; El-Kazzi et al., 1995; Harms et al., 1977; Lee et al., 2002; Robinson et al., 2001; Schumann et al., 2003; Thayer et al., 1973; Umar Faruk et al., 2010).

4.2.1.4.1.2 Mue – Perte de PV

Pendant la mue, la proportion de lipides dans le gras abdominal reste inchangée (*Storagefat lipid cont*, 0,87 kg kg^{-1}) et la perte de lipides dans ce tissu est calculée selon l'Eq. 37.

Eq. 37	$\mathbf{Storagefat\ lipid\ loss} = \mathbf{Storagefat\ lipid\ cont} \times \mathbf{W_{storagefat}\ loss}$

La contribution des lipides au poids des muscles diminue linéairement avec le poids du tissu passant de la valeur « *tissue lipid cont* » à une valeur diminuée de 20% au bout de 12 jours de mue (*Tissue lipid cont AGE3*) (Javaid et al., 2011), précisément 0 ,011 kg kg^{-1} et 0,048 kg kg^{-1} pour respectivement le muscle pectoral et les muscles des cuisses. Les lipides tissulaires (*Tissue total lipids*, kg) s'expriment selon l'Eq. 38 et la perte de lipides tissulaires (*Tissue lipid loss*, kg j^{-1}), selon l'Eq. 39. La contribution des lipides au poids du foie diminue linéairement avec le poids du tissu de 0,12 kg kg^{-1} en début de mue (*Liver lipid cont AGE2*) pour atteindre une valeur de 0,060 kg kg^{-1} (*liver lipid cont AGE3*) au bout de 12 jours (Garlich et al., 1984). Les lipides hépatiques (*liver total lipids*, kg) s'expriment selon l'Eq. 40 et la perte de lipides hépatiques (*Liver lipid loss*, kg j^{-1}), selon l'Eq. 41.

Eq. 38	$\mathbf{Tissue\ total\ lipids} = \mathbf{W_{tissue}} \times \left[\mathbf{Tissue\ lipid\ cont} + (\mathbf{W_{tissue}} - \mathbf{W_{tissue}AGE2}) \times \frac{(\mathbf{Tissue\ lipid\ cont\ AGE3} - \mathbf{Tissue\ lipid\ cont})}{(\mathbf{W_{tissue}AGE3} - \mathbf{W_{tissue}AGE2})}\right]$
Eq. 39	$\mathbf{Tissue\ lipid\ loss} = [\mathbf{Tissue\ lipid\ cont} + \frac{(\mathbf{tissue\ lipid\ cont\ AGE3} - \mathbf{tissue\ lipid\ cont})}{(\mathbf{W_{tissue}AGE3} - \mathbf{W_{tissue}AGE2})} \times (\mathbf{2} \times \mathbf{W_{tissue}} - \mathbf{W_{tissue}AGE2})] \times \mathbf{W_{tissue}\ loss}$
Eq. 40	$\mathbf{Liver\ total\ lipids} = \mathbf{W_{liver}} \times [\mathbf{Liver\ lipid\ cont\ AGE2} + (\mathbf{W_{liver}} - \mathbf{W_{liver}\ AGE2}) \times \frac{(\mathbf{Liver\ lipid\ cont\ AGE3} - \mathbf{Liver\ lipid\ cont\ AGE2})}{(\mathbf{W_{liver}AGE3} - \mathbf{W_{liver}AGE2})}]$
Eq. 41	$\mathbf{Liver\ lipid\ loss} = [\mathbf{Liver\ lipid\ cont\ AGE2} + \frac{(\mathbf{Liver\ lipid\ cont\ AGE3} - \mathbf{Liver\ lipid\ cont\ AGE2})}{(\mathbf{W_{liver}AGE3} - \mathbf{W_{liver}AGE2})} \times (\mathbf{2} \times \mathbf{W_{liver}} - \mathbf{W_{liver}AGE2})] \times \mathbf{W_{liver}\ loss}$

4.2.1.4.1.3 Mue – Récupération du PV

Le dépôt de lipides dans le gras abdominal (*Storagefat lipid dep*, kg j^{-1}) reste proportionnel au gain de poids de ce tissu ($W_{storagefat}$ *gain*, kg j^{-1}) (Eq. 42).

Eq. 42	$\mathbf{Storagefat\ lipid\ dep} = \mathbf{Storagefat\ lipid\ cont} \times \mathbf{W_{storagefat}\ gain}$

La contribution des lipides au poids des muscles ré-augmente linéairement avec leur poids pour retrouver la valeur « *Tissue lipid cont* » en fin de mue. La quantité de lipides tissulaires (*Tissue total lipids*, kg) s'exprime selon l'Eq. 43 et le dépôt de lipides tissulaires (*Tissue lipid dep*, kg j^{-1}), selon l'Eq. 44. La contribution des lipides au poids du foie ré-augmente linéairement avec son poids pour retrouver sa valeur en début de mue (*Liver lipid cont AGE2*) 30 jours plus tard. La quantité de lipides hépatiques (*Liver total lipids*, kg) s'exprime selon l'Eq. 45 et le dépôt de lipides hépatiques (*Liver lipid dep*, kg j^{-1}), selon l'Eq. 46.

Eq. 43	$\mathbf{Tissue\ total\ lipids} = \mathbf{W_{tissue}} \times [\mathbf{Tissue\ lipid\ cont\ AGE3} + (\mathbf{W_{tissue}} - \mathbf{W_{tissue}AGE3}) \times \frac{(\mathbf{Tissue\ lipid\ cont - Tissue\ lipid\ cont\ AGE3})}{(\mathbf{W_{tissue}AGE2 - W_{tissue}AGE3})}]$
Eq. 44	$\mathbf{Tissue\ lipid\ dep} = [\mathbf{Tissue\ lipid\ cont\ AGE3} + \frac{(\mathbf{tissue\ lipid\ cont - tissue\ lipid\ cont\ AGE3})}{(\mathbf{W_{tissue}AGE2 - W_{tissue}AGE3})} \times (\mathbf{2} \times \mathbf{W_{tissue}} - \mathbf{W_{tissue}AGE3})] \times \mathbf{W_{tissue}\ gain}$
Eq. 45	$\mathbf{Liver\ total\ lipids} = \mathbf{W_{liver}} \times [\mathbf{Liver\ lipid\ cont\ AGE3} + (\mathbf{W_{liver}} - \mathbf{W_{liver}AGE3}) \times \frac{(\mathbf{Liver\ lipid\ cont\ AGE2 - Liver\ lipid\ cont\ AGE3})}{(\mathbf{W_{liver}AGE2 - W_{liver}AGE3})}]$
Eq. 46	$\mathbf{Liver\ lipid\ dep} = [\mathbf{Liver\ lipid\ cont\ AGE3} + \frac{(\mathbf{Liver\ lipid\ cont\ AGE2 - Liver\ lipid\ cont\ AGE3})}{(\mathbf{W_{liver}AGE2 - W_{liver}AGE3})} \times (\mathbf{2} \times \mathbf{W_{liver}} - \mathbf{W_{liver}AGE3})] \times \mathbf{W_{liver}\ gain}$

4.2.1.4.1.4 Deuxième cycle de ponte

La quantité de lipides présente dans chaque tissu reste fixe et le gain et la perte de lipides sont fixés à la valeur nulle.

4.2.1.4.2 Sang

Les concentrations de lipides dans ce tissu sont exprimées par litre de plasma. Il est donc nécessaire de transformer le poids de sang (W_{blood}, kg) en volume de sang (V_{blood}, L) en le divisant par sa masse volumique (mV_{blood}, 1,044 kg L^{-1}) (Medway and Kare, 1959). Le volume de sang est ensuite converti en volume de plasma (V_{plasma}, L) en le multipliant par (1-Ht) (Eq. 47, Eq. 48). L'hématocrite (*Ht*) se situe à 26,5% chez les poules en croissance et en ponte (*Ht growth or lay*, jusqu'à l'entrée en mue à l'AGE2) (Bell et al., 1965; Burnham et al., 2002; Burnham et al., 2003; Medway and Kare, 1959; Peebles et al., 2004). Dès que la mue débute, l'Ht est augmenté de 17% (Bell et al., 1965; Brake and Thaxton, 1979) c'est-à-dire une valeur Ht molt de 31% qui restera constante jusqu'à la fin de la mue (*AGE4*). Lors du deuxième cycle de ponte, l'Ht est fixé à 26,5% (*Ht growth or lay*). Le gain de volume de plasma s'exprime selon les équations Eq. 49, Eq. 50 et Eq. 51. La perte de volume de plasma pendant la mue s'exprime selon l'Eq. 52.

Eq. 47	$\mathbf{V_{plasma} = W_{blood} \times \frac{(1-Ht\ growth\ or\ lay)}{mV_{blood}}}$	Croissance et premier cycle de ponte (AGE1 à AGE2, puis à partir d'AGE4)
Eq. 48	$\mathbf{V_{plasma} = W_{blood} \times \frac{(1 - Ht\ molt)}{mV_{blood}}}$	Mue (AGE2 à AGE4)
Eq. 49	$\mathbf{V_{plasma}\ gain = W_{blood}\ gain \times \frac{(1 - Ht\ growth\ or\ lay)}{mV_{blood}}}$	Croissance et premier cycle de ponte (AGE1 à AGE2, puis à partir d'AGE4)
Eq. 50	$\mathbf{V_{plasma}\ gain = W_{blood}\ gain \times \frac{(1 - Ht\ molt)}{mV_{blood}}}$	De AGE3 à AGE4
Eq. 51	$\mathbf{V_{plasma}\ gain = 0}$	De AGE2 à AGE3
Eq. 52	$\mathbf{V_{plasma}\ loss = W_{blood}\ loss \times \frac{(1-Ht\ molt)}{mV_{blood}}}$	De AGE2 à AGE3

La concentration de lipides dans le plasma est fixée à 0,007 kg L^{-1} (*Plasma lipid cont*) hors période de ponte (entre AGE1 et AGE maturity puis entre AGE2 et AGE4) (Entenman et al., 1940; Robinson et al., 2001; Yu et al., 1976) et à 0,026 kg L^{-1} (*Plasma lipid cont lay*) en période de ponte (de AGE maturity à AGE2 puis à partir de AGE4) (Akiba et al., 1982; Balnave, 1971; Robinson et al., 2001; Walzem et al., 1994; Weiss and Fisher, 1957; Yu et al., 1976). La quantité de lipides présente dans le plasma (*Plasma total lipids*, kg) et le dépôt ou la perte de lipides dans le plasma (*Plasma lipid dep* ou *Plasma lipid loss*, kg j^{-1}) s'expriment selon les Eq. 53, Eq. 54, Eq. 55, Eq. 56, Eq. 57. Les gains ou pertes de lipides dans le plasma aux âges de transition d'un stade physiologique à l'autre sont présentés dans les Eq. 58, Eq. 59 et Eq. 60, dans lesquelles « W_{blood} *AGE maturity* » (kg) et « W_{blood} *AGE2* » (kg) représentent respectivement les poids du sang observés en simulation respectivement à l'âge de début d'initialisation des follicules et à l'âge auquel la mue débute.

Eq. 53	$\mathbf{Plasma\ total\ lipid = Plasma\ lipid\ cont \times V_{plasma}}$	Entre AGE1 et AGE maturity puis entre AGE2 et AGE4 (croissance et mue)
Eq. 54	$\mathbf{Plasma\ total\ lipid = Plasma\ lipid\ cont\ lay \times V_{plasma}}$	De AGE maturity à AGE2 puis à partir d'AGE4 (premier et deuxième cycles de ponte)
Eq. 55	$\mathbf{Plasma\ lipid\ dep = Plasma\ lipid\ cont \times V_{plasma}\ gain}$	Entre AGE1 et AGE maturity puis entre AGE3 et AGE4 (croissance et mue)

Eq. 56	$\mathbf{Plasma\ lipid\ dep} = \mathbf{Plasma\ lipid\ cont\ lay} \times \mathbf{V_{plasma}\ gain}$	De AGE maturity à AGE2 puis à partir d'AGE4 (premier et deuxième cycles de ponte)
Eq. 57	$\mathbf{Plasma\ lipid\ loss} = \mathbf{Plasma\ lipid\ cont} \times \mathbf{V_{plasma}\ loss}$	De AGE2 à AGE3
Eq. 58	$\mathbf{Plasma\ lipid\ dep} = (\mathbf{Plasma\ lipid\ cont\ lay} - \mathbf{Plasma\ lipid\ cont}) \times \mathbf{W_{blood} AGE\ maturity} \times \frac{(1-\mathbf{Ht\ growth\ or\ lay})}{\mathbf{mV\ blood}}$	AGE maturity
Eq. 59	$\mathbf{Plasma\ lipid\ loss} = (\mathbf{Plasma\ lipid\ cont\ lay} - \mathbf{Plasma\ lipid\ cont}) \times \mathbf{W_{blood} AGE2} \times \frac{(1-\mathbf{Ht\ growth\ or\ lay})}{\mathbf{mV\ blood}} + \mathbf{Plasma\ lipid\ cont} \times \mathbf{W_{blood} AGE2} \times \frac{((1-\mathbf{Ht\ molt})-(1-\mathbf{Ht\ growth\ or\ lay}))}{\mathbf{mV\ blood}}$	AGE 2
Eq. 60	$\mathbf{Plasma\ lipid\ dep} = (\mathbf{Plasma\ lipid\ cont\ lay} - \mathbf{Plasma\ lipid\ cont}) \times \mathbf{W_{blood} AGE2} \times \frac{(1-\mathbf{Ht\ molt})}{\mathbf{mV\ blood}} + \mathbf{Plasma\ lipid\ cont\ lay} \times \mathbf{W_{blood} AGE2} \times \frac{((1-\mathbf{Ht\ growth\ or\ lay})-(1-\mathbf{Ht\ molt}))}{\mathbf{mV\ blood}}$	AGE 4

4.2.1.4.3 Compartiment « other »

Le dépôt et la perte de lipides dans le compartiment « other » *(Other lipid dep* et *Other lipid loss*, kg j^{-1}) sont calculés par différence entre le dépôt ou la perte de lipides corporels et la somme des dépôts et ou pertes dans les compartiments identifiés (Eq. 61, Eq. 62).

Eq. 61	$\mathbf{Other\ lipid\ dep} = \mathbf{Lipid\ deposition} - (\mathbf{Liver\ lipid\ dep} + \mathbf{mA\ lipid\ dep} + \mathbf{mB\ lipid\ dep} + \mathbf{Plasma\ lipid\ dep} + \mathbf{Storagefat\ lipid\ dep})$
Eq. 62	$\mathbf{Other\ lipid\ loss} = \mathbf{Lipid\ loss} - (\mathbf{Liver\ lipid\ loss} + \mathbf{mA\ lipid\ loss} + \mathbf{mB\ lipid\ loss} + \mathbf{Plasma\ lipid\ loss} + \mathbf{Storagefat\ lipid\ loss})$

4.2.1.5 Profil de lipides tissulaires

Il est considéré que 100% des triglycérides (TG) et du cholestérol (CH) total et 30% des phospholipides (PH) sont apolaires (Haddad et al., 2000). La proportion de lipides neutres dans les lipides totaux (*Tissue neut lipid ratio*) est alors calculée pour toutes les matrices comme la somme des proportions de TG, de CH total et 30% de la proportion des PH dans les lipides totaux.

4.2.1.5.1 Gras abdominal, muscles, foie et compartiment « other »

Pour le gras abdominal, les muscles pectoraux et des cuisses, ainsi que pour le compartiment « other », la proportion de lipides neutres dans les lipides totaux est ainsi fixée à respectivement 98% (Lee et al., 2002), 55% (Lee et al., 2002), 86% (Hulan et al., 1989; Marion, 1965; Rabot, 1998; Sahasrabudhe et al., 1985) et 96% (Santoso et al., 1995). Dans le foie, les TG, le CH et les PH représentent respectivement 35, 30 et 35% des lipides totaux chez la poule non en ponte (Entenman et al., 1940). Lorsque la poule est en ponte, les TG, le CH et les PH représentent respectivement 55, 10 et 35% des lipides totaux (Ivy and Nesheim, 1973; Lee et al., 2010; Lee et al., 2002; Thayer et al., 1973; Zhang et al., 2011a). Bien que le profil de lipides varie substantiellement entre ces deux stades, la proportion de lipides neutres dans les lipides totaux (Liver neut lipid ratio) reste inchangée et prend la valeur de 76%. La quantité de lipides neutres dans chaque tissu (Tissue neutral, kg) est proportionnelle à la quantité de lipides totaux (Tissue total lipids, kg) (Eq. 63).

Eq. 63	$\mathbf{Tissue\ neutral} = \mathbf{Tissue\ neut\ lipid\ ratio} \times \mathbf{Tissue\ total\ lipids}$

4.2.1.5.2 Plasma

La proportion de lipides neutres dans les lipides totaux du plasma varie en même temps que sa teneur en lipides totaux. Cette proportion est fixée à 69% (*Plasma neut lipid ratio*) hors période de ponte (entre AGE1 et AGE maturity puis entre AGE2 et AGE4) (Yu et al., 1976) et à 79% (*Plasma neut lipid ratio lay*) en période de ponte (de AGE maturity à AGE2 puis à partir de AGE4) (Walzem et al., 1994; Yu et al., 1976). La quantité de lipides neutres présente dans le plasma (*Plasma neutral*, kg) s'exprime selon les Eq. 64 et Eq. 65 où « *Plasma total lipids* » (kg) est la quantité de lipides présente dans le plasma.

Eq. 64	$\mathbf{Plasma\ neutral} = \mathbf{Plasma\ neut\ lipid\ ratio} \times \mathbf{Plasma\ total\ lipids}$	entre AGE1 et AGE maturity puis entre AGE2 et AGE4 (croissance et mue)
Eq. 65	$\mathbf{Plasma\ neutral} = \mathbf{Plasma\ neut\ lipid\ ratio\ lay} \times \mathbf{Plasma\ total\ lipids}$	de AGE maturity à AGE2 puis à partir d'AGE4 (premier et deuxième cycles de ponte)

4.2.1.6 Irrigation sanguine

Les acronymes et la description des paramètres et les références de littérature retenues pour la calibration des paramètres ainsi que les variables et compartiments relatifs à l'irrigation sanguine sont présentés dans les Tableaux 27 et 28.

4.2.1.6.1 Débit cardiaque

Pour établir la relation entre le débit cardiaque et le poids vif des animaux, des informations contenues dans 22 traitements expérimentaux en provenance de 13 publications, ont été utilisées (Merrill et al., 1981; Niezgoda et al., 1982; Sapirstein and Hartman, 1959; Scanes et al., 1982; Stebel and Wideman, 2008; Vogel and Sturkie, 1963; Weidner et al., 1982; West et al., 2010; Wideman, 1999; Wideman et al., 2005; Wideman et al., 1998; Wideman and Tackett, 2000; Wolfenson et al., 1981). Un examen graphique de ces données indique qu'elles ne peuvent être distinguées selon la souche, le stade physiologique ou le sexe (Annexe 2). Seules les expérimentations au sein desquelles le PV des animaux variait ont été retenues, exactement 9 valeurs de Sapirstein et Hartman (1959) sur des poules pondeuses de PV compris entre 1,6 et 2,8 kg, 4 valeurs de Niezgoda et al. (1982) sur des poules pondeuses en croissance et en ponte de poids compris entre 1,3 et 1,7 kg et 3 valeurs de Wideman (1999) sur des poulets reproducteurs typés chair d'entre 1,2 et 2,3 kg. Ainsi, dans un intervalle de PV compris entre 1,2 et 2,8 kg, le débit cardiaque (*TBQ,* L j^{-1}) est proportionnel au poids vif (*BW*, kg) le coefficient de proportionnalité (*Q coef*) étant exprimé en L kg^{-1} j^{-1} (Eq. 66). Pour convertir le « *TBQ* » (sang, L j^{-1}) en débit plasmatique (plasma, *TQ*, L j^{-1}), TBQ est multiplié par (1-Ht), Ht prenant la valeur Ht growth or lay ou Ht molt selon le stade de l'animal (Eq. 67).

Eq. 66	$\mathbf{TBQ} = \mathbf{Q\ coef} \times \mathbf{BW}$
Eq. 67	$\mathbf{TQ} = \mathbf{Q\ coef} \times \mathbf{BW} \times (\mathbf{1} - \mathbf{Ht})$

4.2.1.6.2 Débit plasmatique vers les tissus

Le débit sanguin vers les différents tissus (L j^{-1}) est proportionnel au poids des tissus (W_{tissue}, kg) selon un coefficient appelé « *Tissue coef »* (L kg^{-1} tissu j^{-1}). Le débit plasmatique quotidien vers chaque tissu (*Tissue perf*, L j^{-1}) est calculé en multipliant le débit sanguin vers le tissu par (1-Ht) selon l'Eq. 68.

Eq. 68	$\mathbf{Tissue\ perf} = \mathbf{W_{tissue}} \times \mathbf{Tissue\ coef} \times (\mathbf{1} - \mathbf{Ht})$

Les coefficients des débits sanguins vers les muscles pectoraux et ceux des cuisses, ainsi que le débit artériel vers le foie (*Tissue coef*, L kg^{-1} tissu j^{-1}) sont fixés respectivement à 210 (Wolfenson, 1986; Wolfenson et al., 1978), 163 (Sapirstein and Hartman, 1959; Wolfenson, 1986) et 1200 (Boelkins et al., 1973; Merrill et al., 1981; Sapirstein and Hartman, 1959; Weidner et al., 1982; Wolfenson, 1986; Wolfenson et al., 1978). Faute de données bibliographiques disponibles, le coefficient du débit sanguin vers le gras abdominal est

estimé comme équivalent à la moitié du débit vers les muscles (MacLachlan, 2010) c'est-à-dire environ 95 L kg^{-1} tissu j^{-1}

Le débit plasmatique vers le compartiment « other » (*Other perf*, L j^{-1}) est calculé par différence entre le débit plasmatique (*TQ*, L j^{-1}) et la somme des débits plasmatiques vers les autres tissus (L j^{-1}) (Eq. 69).

Eq. 69	$\mathbf{Other\ perf} = \mathbf{TQ} - (\mathbf{mA\ perf} + \mathbf{mB\ perf} + \mathbf{Liver\ perf} + \mathbf{Storagefat\ perf})$

4.2.1.7 Ponte

En ce qui concerne la représentation de la ponte, les acronymes et la description des paramètres d'une part et des variables et compartiments d'autre part ainsi que les références de littérature retenues pour la calibration de ces paramètres sont présentés dans les Tableaux 29 et 30.

Tableau 29 : acronyme, description et valeur des paramètres relatifs à la ponte et l'ingestion d'aliment

Acronyme	Description	Valeur	Unité	Références
Ponte				
W_{follic} min	Poids minimal du follicule, au début de la phase de croissance rapide de celui-ci	0,0002	kg	(Fournier et al., 2015)
Yolk lipid cont	Concentration de lipides dans le follicule ou le jaune	0,35	kg kg^{-1}	(Nys and Guyot, 2011)
Follic neut lipid ratio	Proportion de lipides neutres dans les lipides totaux du follicule ou du jaune	0,78	kg kg^{-1}	(Nys and Guyot, 2011)
LR max	Taux de ponte maximal	90	%	(Grossman and Koops, 2001; ISApoultry)
LR min	Taux de ponte minimal pendant la phase décroissante du taux de ponte	76	%	(Grossman and Koops, 2001; ISApoultry)
LR persist	Persistance de la ponte	32,9	semaines	(Grossman and Koops, 2001; ISApoultry)
W_{egg} max	Poids maximal de l'œuf	0,065	kg	(Adams and Bell, 1998; ISApoultry)
k_{Wegg}	Constante de calcul du taux de variation du poids de l'œuf en fonction de l'âge	0,012	j^{-1}	(Adams and Bell, 1998; ISApoultry)
a_{yolk}	Pente de la relation linéaire entre le poids du jaune et le poids de l'œuf	0,402	kg kg^{-1}	(Lee et al., 2002; Pištěková et al., 2006; Rizzi and Chiericato, 2005; Silversides and Scott, 2001; Suk and Park, 2001)
b_{yolk}	Ordonnée à l'origine de la relation linéaire entre le poids du jaune et le poids de l'œuf	-0,0089	kg	
Ingestion				
E_{diet}	Valeur énergétique métabolisable de l'aliment	11,6	MJ kg^{-1}	(ISApoultry)
Prop Ei molt	Restriction énergétique pendant la mue	60	%	(Souza et al., 2010)

Tableau 30 : acronyme, description et valeur des variables et compartiments relatifs à la ponte

Acronyme	Description	Valeur initale*	Unité
Ponte			
W_{egg}	Poids de l'œuf en fonction de l'âge ou du taux de ponte	0,044	kg
W_{yolk}	Poids maximal du follicule en fin de croissance rapide	0,009	kg
$W_{Follic(1..10)}$	Poids de chaque follicule en croissance rapide	0	kg
$W_{Yolk(1..10)}$	Poids du jaune d'œuf ovulé	0	kg
$W_{all\ yolks}$ 10 d	Somme du poids des jaunes ovulés pendant 10 jours	0	kg
Mean W_{egg}	Poids moyen d'œuf pondu par jour pendant 10 j	0	kg j^{-1}
$N_{init10d}$	Nombre de jaunes initialisés par intervalle de temps de 10 jours, entre AGE maturity et AGE2, puis entre AGE4 et AGE5	4,17	
k $growth_{follic}$	Variable de calcul du taux de croissance du follicule	58,09	kg^{-1} j^{-1}
Follic(1..10) lipid dep	Dépôt quotidien de lipides dans le follicule	0	kg j^{-1}
N_{cycle}	Nombre de cycles de 10 jours depuis le début de la ponte	1	

*Valeur à AGE maturity

4.2.1.7.1 Croissance des follicules et ovulation.

4.2.1.7.1.1 De l'initialisation du premier jaune à la mue

La durée de la croissance rapide de chaque follicule est fixée à 10 jours. L'initialisation de chaque follicule se produit de façon décalée (Nys and Guyot, 2011; Sauveur, 1988). Le début des initialisations est prévu à AGE maturity c'est-à-dire à 116 j d'âge pour le premier follicule, à 117 j d'âge pour le follicule 2… à 125 j d'âge pour le follicule 10. Chaque compartiment « $W_{follic[1..10]}$ » peut être réinitialisé tous les 10 jours. Le terme [1..10] sert à l'identification individuelle de chaque follicule dans la grappe folliculaire de l'ovaire.

Chaque follicule est initialisé au poids de 0,200 g (W_{follic} *min*) (Fournier et al., 2015). La croissance du follicule est décrite selon un modèle logistique (Fournier et al., 2010), avec un poids maximal de follicule (W_{yolk}, kg) et une variable de calcul du taux de croissance du follicule ($k\ growth_{follic}$, kg^{-1} j^{-1}). Sur la base de l'équation proposée par ces auteurs et afin de pouvoir faire varier le poids du jaune au moment de l'ovulation ($W_{follic[1..10]}$, kg) à 10 jours tout en gardant constante sa durée de croissance de 10 jours, il est considéré que l'ovulation se produit lorsque le poids du follicule ($W_{follic[1..10]}$, kg) atteint 93% de « W_{yolk} ». Le modèle logistique permet ainsi de calculer « $k\ growth_{follic}$ » (Eq. 70). La croissance de chaque follicule à chaque pas de temps ($W_{follic[1..10]}\ gain$, kg j^{-1}) est calculée selon l'Eq. 71.

Eq. 70	$$\mathbf{k\ growth_{follic}} = \frac{-\ln\left(\frac{1-0{,}93}{0{,}93}\times\frac{1}{\mathbf{W_{yolk}}}\right)}{\frac{1}{0{,}93\times\mathbf{W_{follic}^{min}}^{-1}}}\times\mathbf{10}$$
Eq. 71	$$\mathbf{W_{follic[1..10]}\ gain} = \mathbf{k\ growth_{follic}} \times \mathbf{W_{follic[1..10]}} \times \left(\frac{\mathbf{W_{yolk}}}{\mathbf{0{,}93}} - \mathbf{W_{follic[1..10]}}\right)$$

Dans ce modèle, le poids du jaune (W_{yolk}, kg) est piloté par le poids de l'œuf (W_{egg}, kg), selon une relation linéaire dont les paramètres (a_{yolk}, b_{yolk}) ont été ajustés à partir des données obtenues sur des poules de souches pondeuses issues de 5 publications pour des œufs pesant entre 50 et 68 g (Lee et al., 2002; Pištěková et al., 2006; Rizzi and Chiericato, 2005; Silversides and Scott, 2001; Suk and Park, 2001) (Eq. 72 et Annexe 3). Le poids de l'œuf (W_{egg}, kg) augmente avec l'âge de la poule selon une équation exponentielle de premier ordre, fonction du poids maximum de l'œuf (W_{egg} *max*, kg) et d'une constante de temps ($k_{Wegg,}$ j^{-1}) (Adams and Bell, 1998). Ces paramètres ont été ajustés sur des données de sélectionneur (ISApoultry) reliant le poids de l'œuf à l'âge de la poule (Eq. 73). Pour des taux de ponte maximaux (*LR max*, %) inférieurs à 60%, ce qui équivaut à un nombre d'initialisations en 10 jours inférieur à 6 au pic de ponte, il est considéré que le poids de l'œuf dépend du taux de ponte selon l'Eq. 74, ajustée sur des données expérimentales (Jondreville et al., 2010; Rizzi and Chiericato, 2005). Le poids de l'œuf en fonction de l'âge est représenté sur la Figure 12. Le poids d'œuf présente un délai d'un jour sur le poids de jaune afin de tenir compte du temps de formation du blanc d'œuf et de la coquille.

Eq. 72	$\mathbf{W_{yolk} = b_{yolk} + a_{yolk} \times W_{egg}}$	
Eq. 73	$\mathbf{W_{egg} = Wegg\,max \times (1 - e^{-k_{Wegg} \times AGE})}$	LR max supérieur ou égal à 60%
Eq. 74	$\mathbf{W_{egg} = 0,001 \times N_{init10d} + 0,040}$	LR max inférieur à 60%



Figure 12 : poids de l'œuf (kg) en fonction de l'âge de la poule (j) (simulation du modèle)

4.2.1.7.1.2 Pendant la mue et le deuxième cycle de ponte

Du début à la fin de la mue (AGE2 à AGE4), aucun follicule n'est initialisé. Néanmoins, les follicules initialisés avant AGE2 sont ovulés au début de la mue, au plus tard 10 jours après le début de la mue.

A AGE4, l'initialisation reprend et la croissance des jaunes se produit comme décrit ci-dessus (4.2.1.7.1.1).

4.2.1.7.2 Quantité et classes de lipides

Les lipides représentent environ 35% (*Yolk lipid cont*, kg kg^{-1}) du poids frais du jaune (Nys and Guyot, 2011). Le dépôt quotidien de lipides dans les follicules (*Follic lipid dep*, kg j^{-1}) est proportionnel au dépôt de jaune ($W_{follic[1..10]}$ *gain*, kg j^{-1}) (Eq. 75). Les triglycérides en constituent plus des deux tiers (65%), le reste étant constitué de phospholipides et de cholestérol (31 et 4% respectivement) (Nys and Guyot, 2011). La proportion de lipides neutres dans les lipides totaux (*Follic neut lipid ratio*) est donc fixée à 78%.

Eq. 75	$\mathbf{Follic_{[1..10]}lipid\ dep = W_{follic[1..10]}\ gain \times Yolk\ lipid\ cont}$

4.2.1.7.3 Modulation du taux de ponte

La courbe de ponte suit le modèle proposé par Grossman et Koops (2001) (Eq. 76). Le modèle contenant 10 follicules, des intervalles de temps de 10 jours sont fixés. Le nombre d'initialisations totales en 10 jours ($N_{init10d}$) est calculé à partir du nombre de cycles de 10 jours écoulés depuis le début de la ponte (N_{cycle}), des paramètres « *LR max* » et « *LR min* » correspondant respectivement aux taux de ponte maximum atteint au pic de ponte et juste avant la mue et de la persistance de la ponte (*LR persist*, semaines). Les paramètres *« LR max », « LR min »* et *« LR persist »* ont été estimés à partir de données de sélectionneur (ISApoultry) présentant simultanément l'âge des poules et le taux de ponte (%) jusqu'à 630 j d'âge.

Eq. 76	$\mathbf{N_{init10d} = 10 \times LR\ max \times \frac{1 - e^{-N_{cycle}}}{1 + e^{-N_{cycle}}} - 10 \times (LR\ max - LR\ min) \times \frac{1 - e^{-N_{cycle}}}{1 + e^{-(N_{cycle} - LR\ persist)}}}$

Le nombre follicules initialisés en 10 jours obtenu (Eq. 76) est arrondi au nombre entier le plus proche. La date à laquelle chaque follicule est initialisé est déterminée de façon à ce que le nombre de jours de pauses consécutifs soit court (Annexe 4). Par exemple si le nombre d'initialisations en 10 jours ($N_{init10d}$) calculé par l'Eq. 76 est de 7 (ce qui équivaut à un taux de ponte de 70%), 7 des 10 follicules représentés seront initialisés, précisément les follicules 1, 3, 4, 5, 7, 9 et 10 tel qu'indiqué sur l'Annexe 4. Les paramètres *« LR max », « LR min »* et *« LR persist »* permettent de moduler le taux de ponte (Figure 13).

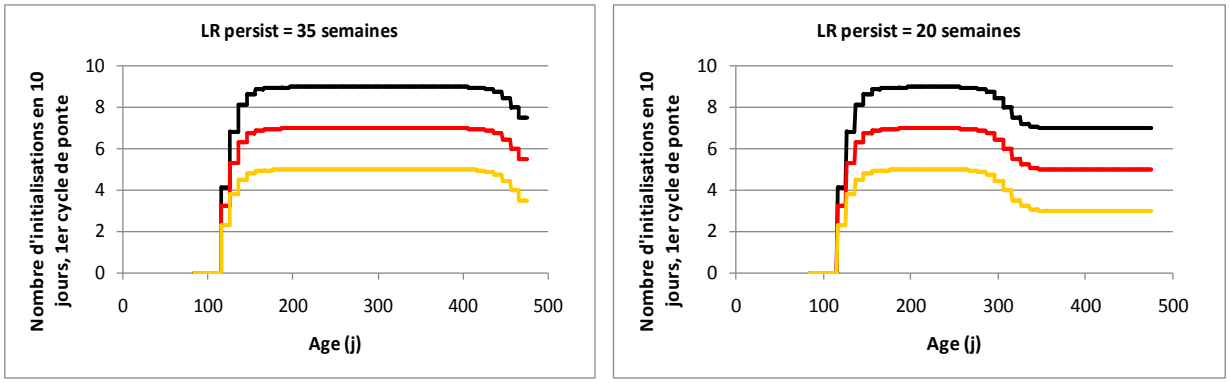


Figure 13 : nombre de follicules initialisés par période de 10 jours pendant le 1er cycle de ponte, en fonction de LR persist, de LR max et de LR min (simulations du modèle)

LR persist : 35 semaines, gauche ; 20 semaines, droite. LR max et LR min : respectivement 90 et 70%, tracé noir ; 70 et 50%, tracé rouge ; 50 et 30%, tracé jaune.

4.2.1.8 Ingestion d'aliment

Les acronymes et la description des paramètres d'une part et des variables et compartiments d'autre part et les références de littérature retenues pour la calibration des paramètres relatifs à l'ingestion d'aliment sont présentés respectivement dans les Tableaux 29 et 30. L'ingestion quotidienne d'aliment (*DFI*, kg j^{-1}) est calculée comme la quantité d'énergie métabolisable ingérée (*Ei*, MJ j^{-1}) divisée par la valeur d'énergie métabolisable de l'aliment (E_{diet}, MJ kg^{-1}) (Eq. 77). Son évolution avec l'âge de la poule est présentée sur la Figure 14. Le calcul de l'Ei sera abordé ci-dessous.

Eq. 77	$\mathbf{DFI} = \frac{\mathbf{Ei}}{\mathbf{E_{diet}}}$

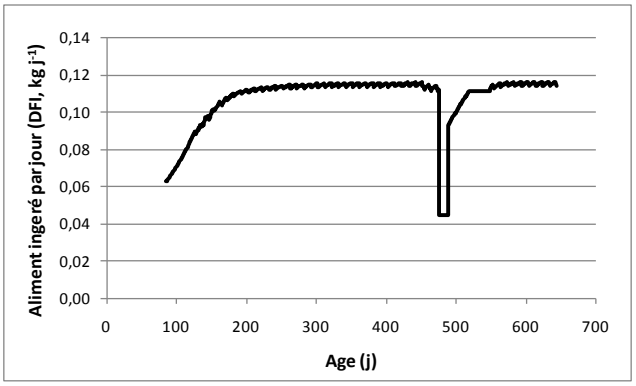


Figure 14: évolution de la consommation quotidienne d'aliment en fonction de l'âge de la poule (simulation du modèle)

4.2.1.8.1 Croissance

La quantité d'énergie métabolisable ingérée quotidiennement via l'aliment (*Ei*, MJ j^{-1}) est estimée jusqu'à la première ponte (AGE maturity+10), au moyen d'une fonction polynomiale

d'ordre 3 sur le PV (*BW*, kg) (Eq. 78) appliquée sur des données de sélectionneur correspondantes à des poules pondeuses Isa brown (ISApoultry).

Eq. 78	$\mathbf{Ei} = \mathbf{0,5676} \times \mathbf{BW^3} - \mathbf{1,4554} \times \mathbf{BW^2} + \mathbf{1,5389} \times \mathbf{BW} + \mathbf{0,0525}$	De AGE1 à AGEmaturity+10

4.2.1.8.2 Premier cycle de ponte

Dès que la ponte débute (AGE maturity+10), la quantité d'énergie ingérée (*Ei*, MJ j^{-1}) est estimée comme une fonction du poids métabolique ($BW^{0,75}$), du gain de poids vif (*BW gain*, kg j^{-1}) et du poids moyen d'œuf pondu par jour (*Mean* W_{egg}, kg j^{-1}) selon la structure proposée par le NRC (1994), appliquée sur des données de sélectionneur correspondantes à des poules pondeuses Isa brown (Eq. 79). Afin d'éviter que le terme lié à la ponte prenne la valeur nulle les jours de pause, « *Mean W egg* » est calculé comme la moyenne du poids d'œuf pondu par jour au cours des 10 jours précédents. Il s'agit de la somme des poids de jaune ovulé pendant 10 jours (*W all yolks 10 d*, kg), divisée par 10, puis par la proportion de jaune dans le poids d'œuf (Eq. 80), en considérant un délai d'un jour entre l'ovulation du jaune et la ponte de l'œuf (Nys and Guyot, 2011).

Eq. 79	$\mathbf{Ei} = \mathbf{0,662} \times \mathbf{BW^{0,75}} + \mathbf{12} \times \mathbf{BW\ gain} + \mathbf{4} \times \mathbf{Mean\ W_{egg}}$	De AGEmaturity+10 à AGE2
Eq. 80	$\mathbf{Mean\ W_{egg}} = \frac{\mathbf{W\ all\ yolks\ 10\ d}}{\mathbf{10}} \times \frac{\mathbf{W_{egg}}}{\mathbf{W_{yolk}}}$	Ponte

4.2.1.8.3 Mue – Perte de poids vif

Souza et al. (2010) ont rapporté une diminution du poids vif d'environ 25% en 10 jours de mue quand le niveau de restriction alimentaire a été de 75% pendant cette période et en 20 jours de mue quand le niveau de restriction alimentaire a été de 50%. Dans le modèle, une restriction énergétique de 60% (*Prop Ei molt*) par rapport à l'énergie ingérée à l'AGE2 (*Ei AGE2*, MJ j^{-1}) est appliquée entre *AGE2* et *AGE3*. Pendant ces 12 jours, l'énergie ingérée (*Ei*, MJ j^{-1}) est calculée selon l'Eq. 81.

Eq. 81	$\mathbf{Ei} = (\mathbf{1} - \mathbf{Prop\ Ei\ molt}) \times \mathbf{Ei\ AGE2}$	De AGE2 à AGE3

4.2.1.8.4 Mue – Récupération du PV

Pendant le reste de la mue, au cours de laquelle aucun œuf n'est pondu, la quantité d'énergie ingérée est calculée en fonction du poids métabolique ($BW^{0,75}$) et du gain de poids vif (*BW gain*, kg j^{-1}) selon l'Eq. 79.

4.2.1.8.5 Deuxième cycle de ponte

La quantité d'énergie ingérée est maintenue à la valeur simulée atteinte à l'AGE4 (*Ei AGE4*, MJ j^{-1}) pendant encore 30 jours jusqu'à stabilisation de « *Mean* W_{egg} », puis est calculée selon l'Eq. 79.

4.2.2 Sous-modèle de transfert de l'α-HBCD ingéré

Les acronymes et la description des paramètres et les références de littérature retenues pour la calibration des paramètres relatifs à l'ingestion et l'absorption de l'α-HBCD sont présentés dans le Tableau 31.

Tableau 31 : acronyme, description et valeur des paramètres relatifs à l'ingestion et l'absorption d'α-HBCD

Acronyme	Description	Valeur	Unité	Références
Ingestion d'α-HBCD				
Diet HBCD conc	Concentration d'α-HBCD dans l'aliment	40	µg kg^{-1}	
Absorption d'α-HBCD				
HBCD abs coef	Coefficient d'absorption de l'α-HBCD ingéré dans le tube digestif	90	%	(Szabo et al., 2011a)

4.2.2.1 Ingestion et absorption d'α-HBCD

Deux voies d'exposition sont représentées, l'une consistante en l'ingestion d'aliment contaminé et l'autre en l'ingestion accidentelle de matériau contaminé. Dans le premier cas, la quantité d'α-HBCD ingérée (*Diet HBCD intake*, µg j^{-1}) est proportionnelle à la quantité d'aliment ingéré (*DFI*, kg j^{-1}) selon un coefficient de proportionnalité correspondant à la concentration d'α-HBCD dans l'aliment (*Diet HBCD conc*, µg kg^{-1}) (Eq. 82). La possibilité d'ingestion d'α-HBCD via un matériau (*No diet HBCD intake*, µg j^{-1}) est également représentée, bien qu'elle soit considérée nulle en principe. La quantité totale d'α-HBCD ingéré (*Total HBCD intake*, µg j^{-1}) est calculée comme la somme de ces deux voies d'exposition selon l'Eq. 83.

Eq. 82	$\mathbf{Diet\ HBCD\ intake} = \mathbf{DFI} \times \mathbf{Diet\ HBCD\ conc}$
Eq. 83	$\mathbf{Total\ HBCD\ intake} = \mathbf{Diet\ HBCD\ intake} + \mathbf{No\ diet\ HBCD\ intake}$
Eq. 84	$\mathbf{HBCD\ abs} = \mathbf{Total\ HBCD\ intake} \times \mathbf{HBCD\ abs\ coef}$

Les phénomènes digestifs et de bioaccessibilité ne sont pas représentés en raison de la faible influence du type de matrice ingérée et de la teneur en lipides des aliments sur l'accessibilité de différents polluants organiques persistants chez l'oiseau (2.2.3.1). Dans le modèle, la quantité d'α-HBCD absorbée (*HBCD abs*, µg j^{-1}) est considérée comme proportionnelle à la

quantité ingérée selon un coefficient d'absorption (*HBCD abs coef*) de 90% mesuré chez la souris par Szabo et al. (2011) (Eq. 84).

4.2.2.2 Distribution

Les acronymes et la description des paramètres d'une part et des variables et compartiments d'autre part en relation avec la distribution, la métabolisation et l'élimination de l'α-HBCD sont présentés respectivement dans les Tableaux 32 et 33.

Tableau 32 : acronyme, description et valeur des paramètres relatifs à la métabolisation d'α-HBCD

Acronyme	Description	Valeur	Unité	Références
Métabolisation de l'α-HBCD				
E_{liver}	Taux d'extraction de l'α-HBCD dans le foie	1,3%	%	Ajustement sur données expérimentales (aliment contaminé à 40 µg kg^{-1} pendant 18 semaines) (Domínguez-Romero et al., 2016)

Tableau 33 : acronyme, description et valeur initiale des variables et compartiments relatifs à la distribution et l'élimination d'α-HBCD

Acronyme	Description	Valeur initale	Unité
Distribution d'HBCD			
$HBCD_{liver}$	Quantité d'α-HBCD dans le foie	0	µg
$HBCD_{mA}$	Quantité d'α-HBCD dans les muscles pectoraux	0	µg
$HBCD_{mB}$	Quantité d'α-HBCD dans les muscles des cuisses	0	µg
$HBCD_{plasma}$	Quantité d'α-HBCD dans le plasma	0	µg
$HBCD_{storagefat}$	Quantité d'α-HBCD dans le gras abdominal	0	µg
$HBCD_{other}$	Quantité d'α-HBCD dans le reste des tissus	0	µg
Elimination d'HBCD			
$HBCD_{Foll[1..10]}$	Quantité d'α-HBCD dans le follicule en formation	0	µg
$HBCD_{Yolk[1..10]}$	Quantité d'α-HBCD dans le jaune d'œuf pondu	0	µg

Une fois absorbé, l'α-HBCD est transporté vers le foie, d'où la molécule passe au plasma où elle est distribuée vers l'ensemble des tissus ainsi que vers l'œuf lors de la ponte. Comme indiqué précédemment (2.2.3.2), la cinétique de distribution est régie par l'irrigation du tissu et le coefficient de partition entre le plasma et le tissu (Benet et al., 1996). Le coefficient de partition (Kp_{tissue}, L kg^{-1}) est exprimé comme le ratio des teneurs en lipides neutres dans le tissu (*Tissue neutral*/*W tissue*, kg kg^{-1}) et dans le plasma (*Plasma neutral*/*V plasma*, kg L^{-1}) (Eq. 85).

Eq. 85	$\mathbf{Kp_{tissue}} = \frac{\mathbf{Tissue\ neutral}}{\mathbf{W_{tissue}}} \times \frac{\mathbf{V_{plasma}}}{\mathbf{Plasma\ neutral}}$

Le flux artériel d'α-HBCD vers chaque tissu (*$HBCD_{tissue}$ arterial*, µg j^{-1}, Eq. 86) peut être calculé comme le produit du débit artériel de plasma vers le tissu (*Tissue perf*, L j^{-1}) et de la concentration d'α-HBCD dans le plasma (*$HBCD_{plasma}$ conc*, µg L^{-1}).

Eq. 86	$\mathbf{HBCD_{tissue}\ arterial = Tissue\ perf \times HBCD_{plasma} conc}$

Le flux veineux d'α-HBCD en provenance de chaque tissu (*$HBCD_{tissue}$ venous*, µg j^{-1}, Eq. 87) est le produit du débit veineux de plasma en provenance du tissu (*Tissue perf*, L j^{-1}), de la concentration d'α-HBCD dans le tissu (*$HBCD_{tissue}$ conc*, µg kg^{-1}) et de l'inverse du coefficient de partition entre le tissu et le plasma (*Kp_{tissue}*, L kg^{-1}).

Eq. 87	$\mathbf{HBCD_{tissue}\ venous = Tissue\ perf \times HBCD_{tissue} conc \times \frac{1}{Kp_{tissue}}}$

Dans le modèle, c'est le flux net d'α-HBCD vers chaque tissu (*$HBCD_{Plasma\ tissue}$*, µg j^{-1}) qui est représenté, celui-ci étant calculé par différence entre le flux artériel et le flux veineux, selon l'Eq. 88.

Eq. 88	$\mathbf{HBCD_{Plasma\ tissue} = Tissue\ perf \times (HBCD_{plasma} conc - \frac{HBCD_{tissue} conc}{Kp_{tissue}})}$

La concentration d'α-HBCD dans le tissu sur la base des lipides totaux (*$HBCD_{tissue}$ conc total lipids*, µg kg^{-1} lipides totaux) est le rapport de la quantité d'α-HBCD dans le tissu (*$HBCD_{tissue}$*, µg) et le poids des lipides totaux dans le tissu (*Tissue total lipids*, kg) (Eq. 89).

Eq. 89	$\mathbf{HBCD_{tissue}\ conc\ total\ lipids = \frac{HBCD_{tissue}}{Tissue\ total\ lipids}}$

4.2.2.3 Métabolisme

Le métabolisme hépatique est supposé être la voie principale d'élimination des polluants organiques persistants (en dehors de la production d'œufs), ce que pour l'HBCD a été confirmé (2.2.3.3.1). Généralement, l'élimination est décrite selon une cinétique de 1er ordre, ce qui revient à considérer que ces phénomènes sont non saturables et à ne pas prendre en compte de possibles phénomènes d'induction d'enzymes. Cette hypothèse est acceptable compte tenu des doses d'intérêt pour notre modèle. En effet, chez la poule pondeuse exposée à l'α-HBCD par de l'aliment contaminé à 40 ou à 3,62 µg kg^{-1} d'aliment pendant 18 semaines, des modèles cinétiques de décontamination de 1er ordre ont pu être

ajustés aux données de concentration de la molécule (µg kg^{-1} lipides) dans le jaune d'œuf, le foie et le gras abdominal pendant la décontamination (Domínguez-Romero et al., 2016).

La vitesse à laquelle l'α-HBCD est éliminé via le foie ($HBCD_{liver}$ *Cl*, µg j^{-1}) est considérée proportionnelle au débit sanguin vers le foie (*Liver perf*, L j^{-1}), à sa capacité d'extraction (E_{Liver}, %) et à la concentration d'α-HBCD dans le plasma ($HBCD_{plasma}$*conc*, µg L^{-1}) (Eq. 90) (Benet et al., 1996; MacLachlan, 2009, 2010). En l'absence de données de la littérature, « E_{liver} » est ajusté à partir des données expérimentales (Domínguez-Romero et al., 2016) (Tableau 32).

Eq. 90	$\mathbf{HBCD_{liver}\ Cl = Liver\ perf\ \times\ E_{liver} \times HBCD_{plasma}\ conc}$

4.2.2.4 Elimination

Il est considéré que les lipides neutres déposés au quotidien dans chaque follicule en formation présentent une concentration d'α-HBCD égale à celle des lipides neutres du plasma. Le flux quotidien d'α-HBCD du plasma vers le follicule en formation ($HBCD_{plasma\ foll[1..10]}$, µg j^{-1}) est calculé comme le produit du flux de lipides totaux déposés dans le follicule (*Follic*$_{[1..10]}$ *lipid dep*, kg j^{-1}), de la contribution des lipides neutres aux lipides totaux dans le follicule (*Follic neut lipid ratio*, kg kg^{-1}) et de la concentration d'α-HBCD dans les lipides neutres du plasma ($HBCD_{plasma}$/*Plasma neutral*, µg kg^{-1}), selon l'Eq. 91.

Eq. 91	$\mathbf{HBCD_{plasma\ foll[1..10]} = Follic_{[1..10]} lipid\ dep \times Follic\ neut\ lipid\ ratio \times \frac{HBCD_{plasma}}{Plasma\ neutral}}$

L'α-HBCD déposé progressivement dans le follicule en croissance ($HBCD_{Foll[1..10]}$, µg) est éliminé dans le jaune ovulé ($HBCD_{Yolk[1..10]}$, µg). Un jour plus tard l'œuf est pondu et la concentration d'α-HBCD dans le jaune d'œuf pondu ($HBCD_{Yolk[1..10]}$*conc total lipid*, µg kg^{-1}) est calculée comme le rapport de la concentration d'α-HBCD dans le jaune d'œuf pondu ($HBCD_{Yolk[1..10]}$/$W_{Yolk[1..10]}$, µg kg^{-1}) et de la concentration de lipides dans le jaune (*Yolk lipid cont*, kg kg^{-1}) (Eq. 92).

Eq. 92	$\mathbf{HBCD_{Yolk[1..10]} conc\ total\ lipid = \frac{HBCD_{Yolk[1..10]}}{Yolk[1..10] total\ lipids}}$

4.3 Simulations du modèle de base et modifications testées sur la structure du modèle.

4.3.1 Modèle de base

La poule représentée par le modèle est exposée à de l'α-HBCD par la voie d'un aliment contaminé à une concentration d'α-HBCD (*Diet HBCD conc*, µg kg^{-1}) équivalente à celle appliquée lors de l'expérimentation sur poule pondeuse (Domínguez-Romero et al., 2016) précisément 40 µg kg^{-1} d'aliment. L'exposition commence à 30 semaines d'âge pour des durées d'exposition égales à celles appliquées expérimentalement, c'est-à-dire : a) 18 semaines d'exposition et b) 11 semaines d'exposition suivies de 7 semaines de décontamination. L'objectif est de compiler les concentrations d'α-HBCD dans les tissus et dans l'œuf simulées par le modèle suite à un même patron d'exposition que celui appliqué pendant l'expérimentation *in vivo* et de les comparer aux données obtenus expérimentalement. Ainsi, les concentrations simulées d'α-HBCD dans les tissus et produits sont comparées à celles observées expérimentalement (Figures 15 et 16). Les valeurs observées correspondent à N=3 échantillons issus de 3 poules différentes par date pour toutes les matrices sauf le plasma. Pour cette dernière matrice, un pool d'échantillons a été constitué par date et les valeurs observées sur le plasma ne présentent donc pas de variabilité. De plus, le nombre de points de cinétique observés pour les muscles des cuisses et le plasma étant limité, ces matrices sont utilisées à titre indicatif.

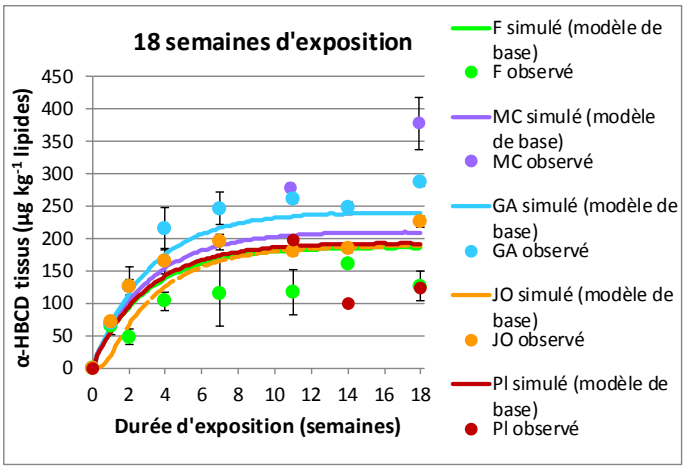


Figure 15 : concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans les différentes matrices, observées expérimentalement (« observé ») et simulées (« simulé, modèle de base ») après 18 semaines d'exposition à 40 µg d'α-HBCD kg^{-1} d'aliment

Matrices : jaune d'œuf, JO ; foie, F ; gras abdominal, GA ; muscles des cuisses, MC ; et plasma, Pl

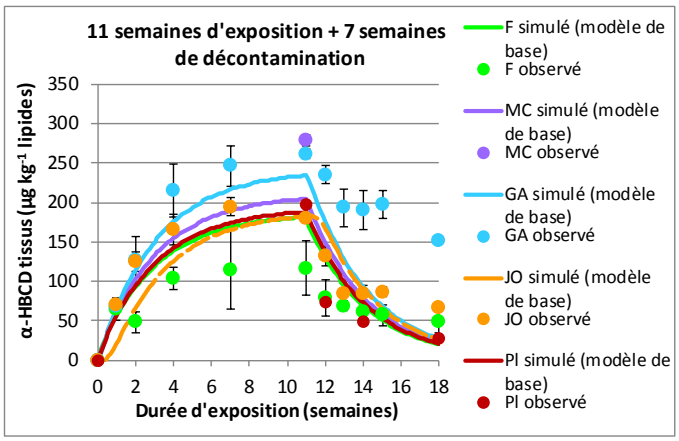


Figure 16 : concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans les différentes matrices, observées expérimentalement (« observé ») et simulées (« simulé, modèle de base ») pendant 11 semaines d'exposition à 40 µg d'α-HBCD kg^{-1} d'aliment suivies de 7 semaines de décontamination

Matrices : jaune d'œuf, JO ; foie, F ; gras abdominal, GA ; muscles des cuisses, MC et plasma, Pl

Pendant l'exposition (Figure 15), les valeurs simulées sont proches de celles observées dans le gras abdominal. Les concentrations d'α-HBCD dans le jaune d'œuf sont sous-estimées par rapport aux concentrations observées pendant les premières semaines d'exposition, et atteignent par la suite des valeurs proches de celles observées. En effet pour cette matrice, un léger retard dans l'augmentation de la concentration de la molécule avec le temps d'exposition est observé en comparaison avec les autres matrices. Cela est dû au fait qu'un follicule est contaminé au long de ses 10 jours de croissance rapide, en fonction de la concentration de la molécule dans les lipides neutres du plasma à cette période, et pondu ensuite. C'est-à-dire que la concentration dans l'œuf qui commence à être contaminé au temps t (j) n'est observable qu'au temps t + 10. Les valeurs simulées sont surestimées par

rapport aux valeurs observées dans le foie et dans le plasma et sous-estimées dans les muscles des cuisses.

Lors de la décontamination (Figure 16, semaines 11 à 18), la courbe de concentration d'α-HBCD dans le plasma est proche des valeurs observées. Dans les autres matrices, les concentrations simulées d'α-HBCD décroissent trop rapidement pour se trouver autour de 20-25 μg kg^{-1} de lipides en fin de décontamination, ces concentrations finales étant trop réduites vis-à-vis des concentrations observées. Cette concentration finale est particulièrement incohérente pour le gras abdominal, où la concentration observée en fin de décontamination était de l'ordre de 150 μg kg^{-1} de lipides.

Pour optimiser le modèle d'origine, trois modifications structurelles ont été testées pour tenter un rapprochement des résultats simulés vis-à-vis de ceux observés sur l'ensemble des matrices. En résumé, ces modifications consistent respectivement en a) la distribution de la quantité d'HBCD contenue dans le gras abdominal (HBCD storagefat, μg) en deux compartiments à débit sanguin différent, b) limitation du flux veineux d'HBCD en provenance du gras abdominal et des muscles des cuisses et c) modification de l'équation de la clairance hépatique. Ces modifications n'ont pas permis une amélioration des résultats du modèle de base et ne seront pas conservées par la suite. La conception de ces modifications ultérieurement à l'analyse de sensibilité aurait été souhaitable pour mieux cibler les composants du modèle à modifier. Ce type de conclusions fait partie de l'apprentissage en modélisation. C'est pour cela que les modifications ayant été testées sont présentées ci-dessous.

4.3.2 Modifications testées sur le modèle de base

Trois types de modifications ont été testés sur le modèle de base. Chaque modification est appliquée indépendamment des autres afin d'évaluer son influence propre. Avec l'objectif de rapprocher les résultats simulés de ceux observés, les deux premières modifications visent la distribution de la molécule et ont pour but de retenir la molécule entrée par voie artérielle dans le tissu adipeux avant qu'elle ne ressorte dans le sang veineux. La troisième modification vise le métabolisme de la molécule et consiste en une modification du calcul de la clairance hépatique.

Les acronymes et la description des paramètres et des variables et compartiments relatifs aux modifications testées sont présentés respectivement dans les Tableaux 34 et 35.

Tableau 34 : acronyme, description et valeur des paramètres relatifs aux modifications du modèle de base

Référence de la modification sur le texte	Acronyme	Description	Unité
4.3.2.1	ratio$W_{storagefat}$	Contribution de $W_{storagefat}2$ au poids total du gras abdominal ($W_{storagefat}$)	%
4.3.2.1	ratio$_{storagefat}$coef	Dénominateur sur storagefat1 coef permettant de calculer storagefat2 coef	-
4.3.2.2	storagefat venous limit	Proportion de l'α-HBCD présent dans le gras abdominal qui peut sortir de ce compartiment dans le flux veineux	%
4.3.2.2	mB venous limit	Proportion de l'α-HBCD présent dans les muscles des cuisses qui peut sortir de ce compartiment dans le flux veineux	%
4.3.2.3	E_{liver}mod	Taux d'extraction d'α-HBCD dans le foie correspondant à une clairance hépatique modifiée	j^{-1}

Tableau 35 : acronyme, description et valeur des variables et compartiments relatifs aux modifications du modèle de base

Référence de la modification sur le texte	Acronyme	Description	Unité
4.3.2.1	$W_{storagefat}1$	Poids du sous-compartiment storagefat1	kg
4.3.2.1	$W_{storagefat}2$	Poids du sous-compartiment storagefat2	kg
4.3.2.1	storagefat1 coef	Débit sanguin vers $W_{storagefat}1$	$L\ kg^{-1}\ tissu\ j^{-1}$
4.3.2.1	storagefat2 coef	Débit sanguin vers $W_{storagefat}2$	$L\ kg^{-1}\ tissu\ j^{-1}$
4.3.2.1	HBCD storagefat1	Quantité d'α-HBCD dans le compartiment storagefat1	µg
4.3.2.1	HBCD storagefat2	Quantité d'α-HBCD dans le compartiment storagefat2	µg

4.3.2.1 Différenciation de deux compartiments de quantité d'HBCD dans le gras abdominal, caractérisés par des débits sanguins différents

L'objectif est de limiter les échanges d'α-HBCD entre le gras abdominal et le plasma. Cette opération doit ralentir les vitesses de contamination et de décontamination du gras abdominal. Comme proposé précédemment par d'autres auteurs (Levitt, 2007; MacLachlan, 2009), le poids du gras abdominal ($W_{storagefat}$, kg) est réparti entre deux sous-compartiments ($W_{storagefat}1$ et $W_{storagefat}2$, kg), selon les Eq. 93 et Eq. 94 où $ratioW_{storagefat}$ représente la contribution de $W_{storagefat}2$ au poids total du gras abdominal ($W_{storagefat}$).

Eq. 93	$\mathbf{W_{storagefat}1 = W_{storagefat} \times (1 - ratioW_{storagefat})}$
Eq. 94	$\mathbf{W_{storagefat}2 = W_{storagefat} \times ratioW_{storagefat}}$

Comme indiqué précédemment (4.2.1.6.2), le débit sanguin vers les différents tissus (L j^{-1}) est proportionnel au poids des tissus (W_{tissue}, kg) selon un coefficient appelé Tissue coef (L kg^{-1} tissu j^{-1}). La valeur de storagefat1 coef est maintenue inchangée sur storagefat coef (Tableau 28). Storagefat2 coef est calculé selon l'Eq. 95, où $ratio_{storagefat}coef$ est une valeur numérique qui réduit storagefat2 coef par rapport à storagefat1 coef (L kg^{-1} tissu j^{-1}).

Eq. 95	$\mathbf{storagefat2\ coef} = \frac{\mathbf{storagefat1\ coef}}{\mathbf{ratio_{storagefat}coef}}$

Dans le sous-modèle de transfert, des compartiments de quantité d'α-HBCD (µg) HBCD storagefat1 et HBCD storagefat2 sont représentés, avec des flux de transfert de la molécule du plasma vers ces compartiments calculés selon l'Eq. 88. La concentration d'α-HBCD dans l'ensemble du gras abdominal ($HBCD_{storagefat}$ conc total lipid, µg kg^{-1} lipides) est calculée selon l'Eq. 96.

Eq. 96	$\mathbf{HBCD_{storagefat}\ conc\ total\ lipid} = \frac{\mathbf{HBCD\ storagefat1 + HBCD\ storagefat2}}{\mathbf{Storagefat\ total\ lipids}}$

4.3.2.2 Limitation du flux de sortie d'α-HBCD en provenance du gras abdominal et du muscle des cuisses

Dans ce cas, pour retenir l'α-HBCD arrivé dans certains compartiments, une modification est appliquée sur l'Eq. 88, en limitant le flux veineux de sortie d'α-HBCD depuis certains tissus. Cette équation devient l'Eq. 97, où tissue venous limit (%) est la proportion de l'α-HBCD présent dans le tissu qui peut sortir du compartiment dans le flux veineux.

Eq. 97	$\mathbf{HBCD_{Plasma\ tissue} = Tissue\ perf \times (HBCD_{plasma}conc - tissue\ venous\ limit \times \frac{HBCD_{tissue}conc}{Kp_{tissue}})}$

Cette modification est appliquée au gras abdominal et aux muscles des cuisses, des tissus pour lesquels des données expérimentales sont disponibles et montrent une concentration élevée. Le choix de ces matrices vise à retenir la molécule dans ces tissus, ce qui devrait idéalement permettre une décontamination moins rapide du gras abdominal et plus réaliste par rapport aux données observées et faciliter l'augmentation de la concentration d'α-HBCD dans les muscles des cuisses pendant l'exposition.

4.3.2.3 Calcul de la clairance hépatique en fonction de la quantité d'α-HBCD présente dans le foie.

Cette modification vise le métabolisme de la molécule. L'Eq. 90 est transformée en l'Eq. 98, ce qui revient à considérer que le taux de clairance hépatique serait non pas fonction de la concentration d'α-HBCD dans le plasma et du flux sanguin vers le foie mais de la concentration d'α-HBCD dans le foie. Le paramètre E_{liver}mod est le taux d'extraction d'α-HBCD dans le foie (j^{-1}) dans l'Eq. 98.

Eq. 98	$\mathbf{HBCD_{liver}Cl = E_{liver}mod \times HBCD_{liver}}$

4.3.3 Simulations du modèle modifié.

Les résultats de chacune des modifications expliquées précédemment sont comparés aux résultats observés et aux résultats simulés par le modèle non modifié (« modèle de base »), sur les données comprenant une période d'exposition de 11 semaines suivies de 7 semaines de décontamination.

4.3.3.1 Division du gras abdominal en deux compartiments à débits plasmatiques différents.

Des simulations ont été réalisées en fixant des valeurs hypothétiques différentes de ratio$W_{storagefat}$ et de ratio$_{storagefat}$coef. Des valeurs respectives de a) 0,5 et 2 ; et b) 0,8 et 5 sont utilisées, les concentrations d'α-HBCD simulées par le modèle modifié étant comparées à celles simulées par le modèle base par des modèles linéaires généralisés (GLM) (Annexe 5). Seulement la modification b, c'est-à-dire l'établissement des paramètres Ratio $W_{storagefat}$=0,8 ; ratio$_{storagefat}$ coef=5 modifie légèrement les résultats de concentration d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans le gras abdominal vis-à-vis des résultats du modèle de base, avec une pente de 0,972 ± 0,008 (***) et une ordonnée à l'origine de 2,84 ± 0,05 (*) (ETR=7,51, R^2=0,99). Ces modifications dans les concentrations simulées dans l'ensemble des matrices par rapport aux résultats simulés du modèle de base restent dans tous les cas très légères (pente proche de 1 et ordonnée à l'origine proche de 0) et n'améliorent pas les résultats du modèle de

base. L'absence d'effet de ces modifications est montrée graphiquement sur la Figure 17 pour le gras abdominal.

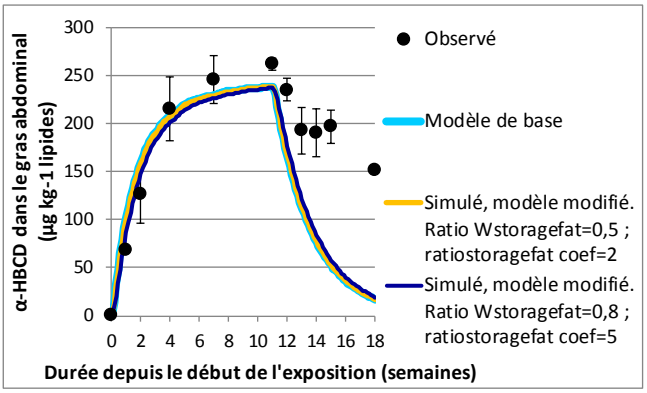


Figure 17 : comparaison des concentrations d'α-HBCD dans le gras abdominal (µg kg^{-1} lipides) simulées par le modèle modifié vis-à-vis du modèle de base et des données observées. Les modifications consistent en une division du gras abdominal en deux compartiments à débit plasmatique différent (tracé jaune : ratio Wstoragefat=0,5 ; ratiostoragefat coef=2 ; tracé bleu foncé : ratio Wstoragefat=0,8 ; ratiostoragefat coef=5)

4.3.3.2 Limitation du flux de sortie d'α-HBCD en provenance du gras abdominal et du muscle des cuisses.

Des simulations ont été réalisées en modifiant la proportion de la molécule présente dans le tissu qui peut sortir du compartiment dans le flux veineux (tissue venous limit, %). Sur les Figures 18 à 21 sont présentées les concentrations d'α-HBCD dans le jaune d'œuf, le foie, le gras abdominal, les muscles des cuisses et le plasma simulées après application de cette modification sur le modèle, ainsi que celles correspondantes à la modification de la clairance hépatique qui sera analysée par la suite (4.3.3.3).

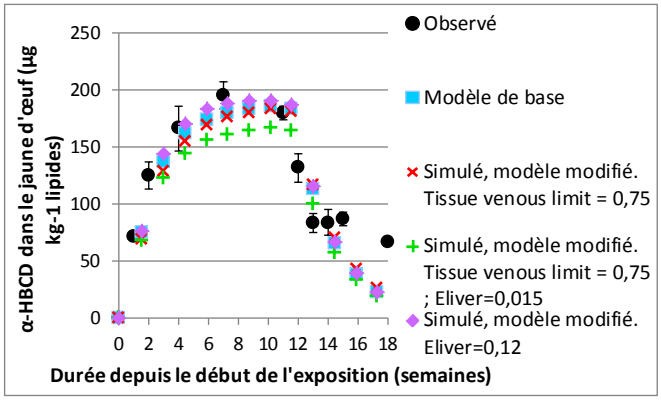


Figure 18 : concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans le jaune d'œuf pendant 11 semaines d'exposition à 40 µg d'α-HBCD kg^{-1} d'aliment et 7 semaines de décontamination, a) mesurées expérimentalement (« observé »), b) simulée par le modèle de base, c) simulées après limitation du flux de sortie d'HBCD en provenance du gras abdominal et du muscle des cuisses (croix rouges et vertes) et d) simulée après modification du calcul de la clairance hépatique (losanges violets)

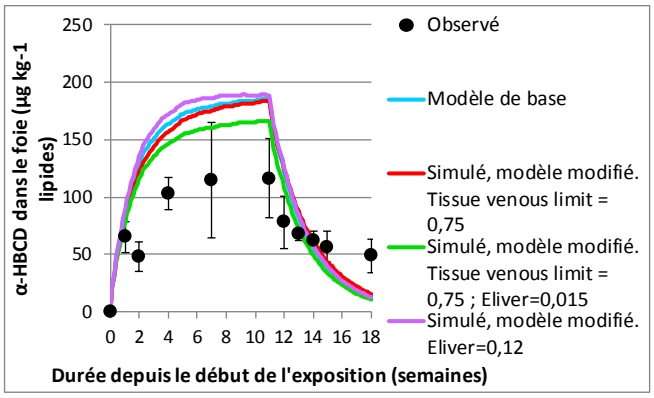


Figure 19 : concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans le foie pendant 11 semaines d'exposition à 40 µg d'α-HBCD kg^{-1} d'aliment suivies de 7 semaines de décontamination, a) mesurées expérimentalement (« observé »), b) simulées par le modèle de base, c) simulées après limitation du flux de sortie d'HBCD en provenance du gras abdominal et du muscle des cuisses (tracés rouge et vert) et d) simulées après modification du calcul de la clairance hépatique (tracé violet)

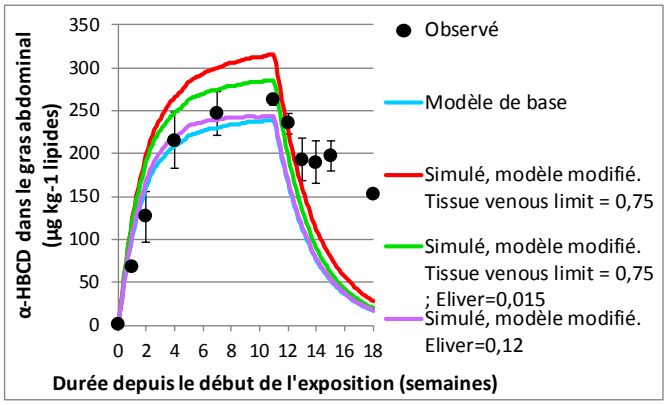


Figure 20 : concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans le gras abdominal pendant 11 semaines d'exposition à 40 µg d'α-HBCD kg^{-1} d'aliment suivies de 7 semaines de décontamination, a) mesurées expérimentalement (« observé »), b) simulée par le modèle de base, c) simulées après limitation du flux de sortie d'HBCD en provenance du gras abdominal et du muscle des cuisses (tracés rouge et vert) et d) simulée après modification du calcul de la clairance hépatique (tracé violet)

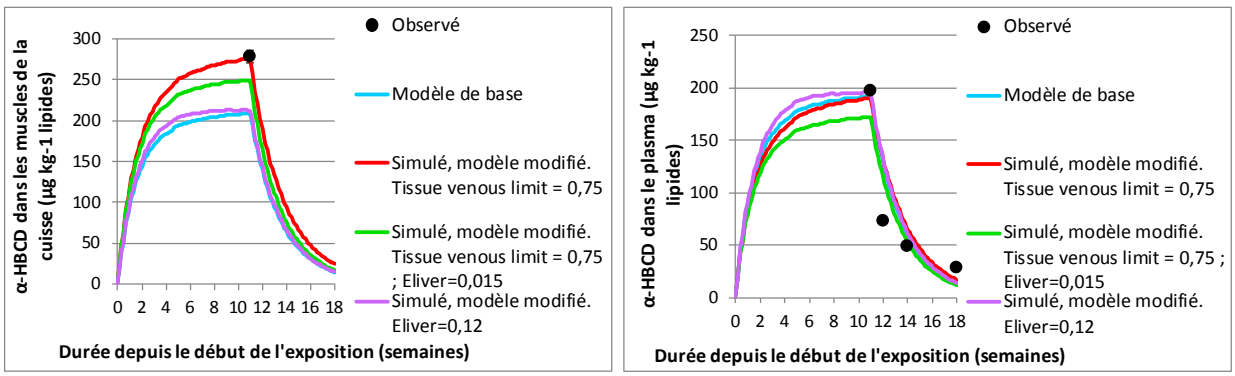


Figure 21 : concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans les muscles des cuisses et dans le plasma pendant 11 semaines d'exposition à 40 µg d'α-HBCD kg^{-1} d'aliment et 7 semaines de décontamination, a) mesurées expérimentalement (« observé »), b) simulées par le modèle de base, c) simulées après limitation du flux de sortie d'HBCD en provenance du gras abdominal et du muscle des cuisses (tracés rouge et vert) et d) simulées après modification du calcul de la clairance hépatique (tracé violet)

En rouge sur ces figures sont identifiés les résultats des simulations du modèle modifié en incluant une valeur de tissue venous limit de 0,75, ce qui revient à réduire le flux veineux de 75% en provoquant une rétention de la molécule dans les compartiments d'origine ($HBCD_{storagefat}$ et $HBCD_{mB}$). Les résultats simulés après cette modification (rouge) sont proches de ceux simulés par le modèle de base (bleu) dans toutes les matrices à l'exception du gras abdominal et des muscles des cuisses. Dans les muscles des cuisses, la concentration d'α-HBCD devient maintenant très proche de la seule valeur expérimentale disponible. Pour le gras abdominal, cependant, une surestimation de la concentration simulée est rapportée. En partant de cette modification et pour limiter la surestimation observée dans le gras abdominal et dans le foie, tissue venous limit est ensuite maintenu à 0,75, tout en augmentant le paramètre E_{liver} (taux d'extraction d'α-HBCD dans le foie, %) de 1,3 à 1,5%. En vert sur ces figures, on observe que cette deuxième modification permet de rapprocher la concentration d'α-HBCD simulée par rapport à celle observée pour le foie, les résultats de cette modification restant surestimés par rapport aux valeurs observées. Pour le gras abdominal les résultats sont légèrement surestimés en exposition et légèrement sous-estimés pour les muscles des cuisses. Pour le jaune d'œuf et le plasma les résultats simulés sont sous-estimés par rapport aux valeurs observées.

4.3.3.3 Calcul de la clairance hépatique en fonction de la quantité d'α-HBCD présente dans le foie.

Des simulations ont été réalisées en fixant différentes valeurs de E_{liver}mod sur l'équation modifiée de clairance hépatique (Eq. 98), les meilleurs résultats étant obtenus par une valeur de E_{liver}mod de 0,12. Sur les Figures 18 à 21 sont présentées en violet les concentrations simulées d'α-HBCD dans le jaune d'œuf, le foie, le gras abdominal, les muscles des cuisses et le plasma. Les courbes de concentration d'α-HBCD dans les différentes matrices sont très proches de celles simulées par le modèle de base. Le temps plateau de contamination est atteint légèrement plus tôt suite à cette modification.

4.3.4 Conclusions sur les modifications testées

En reprenant les trois modifications étudiées, ni la division du gras abdominal en deux compartiments à débit plasmatique différent ni le calcul de la clairance hépatique en fonction de la quantité d'α-HBCD dans le foie ne permettent de rapprocher les résultats simulés de ceux observés. La limitation du flux de sortie d'α-HBCD en provenance du gras abdominal et des muscles des cuisses permet d'augmenter la concentration d'α-HBCD dans ces deux matrices, ce qui rapproche les résultats des muscles des cuisses des valeurs

observées et peut éloigner les concentrations d'α-HBCD dans le gras abdominal qui sont désormais surestimées par rapport aux valeurs observées. La réduction de la concentration dans le foie n'est faisable qu'en augmentant la clairance hépatique, cependant cela produit une sous-estimation des concentrations d'α-HBCD dans d'autres matrices dont le jaune d'œuf. Aucune des modifications étudiées n'a permis de rapprocher la courbe de concentration d'α-HBCD dans le gras abdominal simulée vis-à-vis de celle observée pendant la décontamination. En définitive, aucune de ces modifications ne permet d'améliorer nettement les résultats du modèle de base. Pendant l'exposition, les concentrations simulées d'α-HBCD dans certains tissus peuvent dans certains cas être améliorés, mais cela se produit en dépit d'autres matrices pour lesquelles les concentrations simulées s'éloignent de celles observées. Aucune de ces modifications n'a permis d'améliorer les courbes de décontamination des tissus. Ces modifications ne sont donc pas retenues par la suite.

4.3.5 Simulation du modèle de base sur l'ensemble des stades physiologiques représentés

Le modèle de base est ainsi retenu (4.3.1). Toutes les fonctionnalités n'ont pas été exploitées jusqu'à présent et notamment l'analyse de l'influence du stade physiologique sur le transfert de la molécule. En effet, jusqu'ici les différentes simulations n'ont été réalisées que pendant la ponte, c'est-à-dire au stade physiologique des poules utilisées expérimentalement. La poule est maintenant exposée à l'α-HBCD par un aliment contaminé à 40 µg kg^{-1} d'aliment depuis le début jusqu'à la fin de la simulation, précisément pendant les stades physiologiques de fin de croissance, 1^{er} cycle de ponte, mue et $2^{ème}$ cycle de ponte. Pendant les 12 premiers jours de mue, l'exposition à la molécule est fortement restreinte du fait que l'ingestion quotidienne d'aliment est réduite de 60% pendant cette période (Eq. 81). Les concentrations d'α-HBCD dans les tissus et dans l'œuf tout au long de la simulation sont reportées sur la Figure 22.

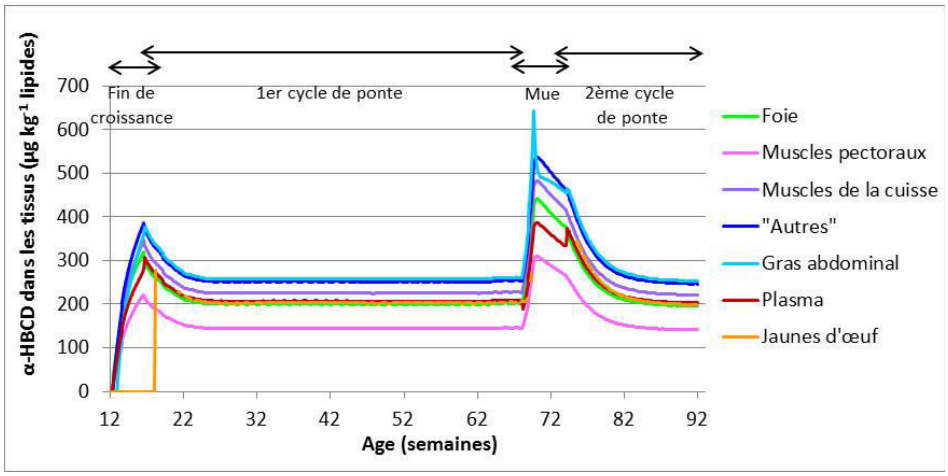


Figure 22 : concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) simulées par le modèle de base dans les différentes matrices lors d'une exposition à un aliment contaminé (40 µg d'α-HBCD kg^{-1} d'aliment) depuis 12 jusqu'à 92 semaines d'âge. Le niveau d'exposition est réduit de 60% en début de mue du fait d'une réduction de la quantité d'aliment ingérée pendant cette période.

Ces résultats montrent que les concentrations maximales en fin de croissance, avant début d'initialisation de la croissance des jaunes d'œuf, sont de l'ordre de 1,5±0,05 fois plus élevées dans tous les tissus (à l'exception de l'œuf) en comparaison avec les concentrations stables dans ces tissus retrouvées lors du 1er cycle de ponte. La diminution de la concentration d'α-HBCD dans les tissus après le pic maximal atteint en fin de croissance, observée à partir d'Age maturity, est due principalement à une voie supplémentaire d'élimination d'α-HBCD constituée par la croissance des jaunes d'œuf, dont l'initialisation débute à cet âge. Un niveau stable de concentration d'α-HBCD est retrouvé dans les tissus pendant la ponte, quand la physiologie de l'animal finit par se stabiliser, permettant l'atteinte de l'équilibre dans le transfert de la molécule entre le plasma et les tissus. Pendant la mue, les concentrations d'α-HBCD dans les tissus augmentent notamment par la diminution du poids des tissus (diminution du volume de distribution de la molécule et augmentation de la concentration de celle-ci dans l'organisme) qui se produit parallèlement à un arrêt progressif des initialisations de jaunes. Autour du pic de PV minimum atteint pendant la mue, des concentrations maximales d'α-HBCD de l'ordre de 2,1±0,01 fois plus élevées que pendant le 1er cycle de ponte sont rapportées dans la plupart des tissus (foie, muscles pectoraux, muscles des cuisses, « other »). Le rapport des concentrations au pic de mue et en ponte est de l'ordre de 1,8 dans le plasma et atteint jusqu'à 2,5 dans le gras abdominal. En effet, le gras abdominal est le tissu présentant la perte de poids la plus importante, de 70% en mue, ce qui explique une augmentation de la concentration spécialement élevée dans ce tissu. Par ailleurs, chez la poule hors ponte, la lipémie (concentration de lipides dans le sang) atteint des valeurs environ 3,7 fois plus bas que pendant la ponte (4.2.1.4.2), ce qui influence la partition de la molécule entre les tissus et le plasma. La proportion de lipides neutres dans le plasma est plus basse pendant les périodes

hors ponte. Ces modifications provoquent une augmentation des coefficients de partition de la molécule entre les tissus et le plasma chez la poule hors période de ponte en comparaison avec les valeurs de ces coefficients pendant la ponte, comme le montre la Figure 23.

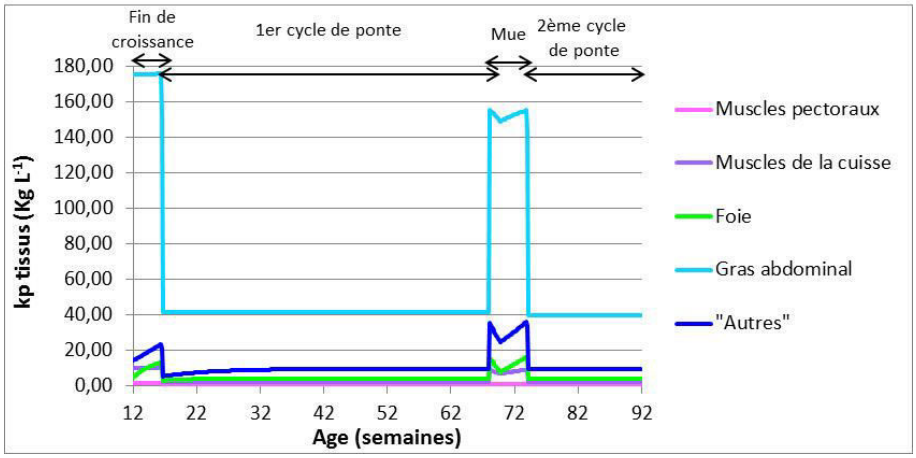


Figure 23 : évolution des coefficients de partition (Kp, L kg^{-1}) de l'α-HBCD entre les tissus et le sang en fonction du stade physiologique et de l'âge de l'animal

En effet pendant la mue, la valeur maximale du Kp de la molécule entre chaque tissu et le plasma est environ 3,7 fois plus élevée que la valeur du Kp de la molécule entre le même tissu et le plasma pendant la ponte. L'augmentation des Kp de l'α-HBCD entre chaque tissu et le plasma pendant la mue explique une augmentation légèrement moins élevée de la concentration d'α-HBCD dans le plasma que dans les autres tissus à ce stade physiologique. Avec l'augmentation du poids des tissus en 2ème partie de la mue, les concentrations d'α-HBCD diminuent, mais elles restent plus élevées qu'avant la mue. A la reprise des initialisations après la mue, la concentration d'α-HBCD diminue progressivement pour atteindre en 2ème cycle de ponte des concentrations d'α-HBCD dans tous les tissus (incluant le jaune d'œuf dans ce cas) équivalentes (de l'ordre de 0,98±0,001) à celles simulées pendant le 1er cycle de ponte.

4.4 Analyse de sensibilité

4.4.1 Valeurs testées des paramètres

L'analyse de sensibilité est réalisée sur le modèle de base sur l'ensemble des stades physiologiques (4.3.5), avec l'objectif d'identifier les paramètres du modèle présentant la plus grande influence sur les sorties du modèle. Chaque paramètre est étudié individuellement (méthode « one at a time »). Pour chaque paramètre, une valeur minimale et maximale seront étudiées à partir de la valeur de base (Tableaux 36 à 41). Ces valeurs sont fixées selon les critères suivants :

-Pour les paramètres dont on connaît l'écart-type (ET), c'est-à-dire ceux dont la valeur basale a été estimée de façon simple par calcul de la moyenne (± l'ET) d'un certain nombre de données de la littérature, les bornes de variation de l'analyse de sensibilité sont calculées à partir de la valeur de base ±2 x ET.

-Pour le reste des paramètres, les bornes sont déterminées en modifiant la valeur de base d'entre ±10 et ±25%, le pourcentage de variation visant à rester proches de la réalité physiologique tout en permettant une plage de variation suffisamment large. Pour le débit sanguin vers le gras abdominal (storagefat coef, L kg^{-1} tissu j^{-1}), la plage de variation considérée est de 50%, à cause du manque de données bibliographiques à leur égard permettant d'être plus précis sur la valeur de ce paramètre.

Tableau 36 : valeurs minimale et maximale établies pour l'analyse de sensibilité des paramètres relatifs à la croissance et aux poids corporel et tissulaires.

Croissance	Valeur de base	Valeur minimale	Valeur maximale	Calcul valeurs extrêmes
BW1	1,077	0,969	1,185	+/- 10% de la valeur de base
BW2	1,962	1,668	2,256	+/- 15% de la valeur de base
Age1 day	84	71	97	+/- 15% de la valeur de base
Age2 day	476	357	595	+/- 25% de la valeur de base
Bgomp	0,0216	0,0184	0,0248	+/- 15% de la valeur de base
a_mA	0,512	0,435	0,589	+/- 15% de la valeur de base
b_mA	-1,847	-2,124	-1,570	+/- 15% de la valeur de base
a_mB	0,055	0,047	0,063	+/- 15% de la valeur de base
a_liver	1,649	1,402	1,896	+/- 15% de la valeur de base
b_liver	-4,123	-4,329	-3,505	-15% de la valeur de base / +5% valeur de base
a_blood	0,842	0,716	0,968	+/- 15% de la valeur de base
b_blood	-2,60	-2,73	-2,21	- 15% de la valeur de base / +5% valeur de base
a_storagefat	0,117	0,099	0,135	+/- 15% de la valeur de base
b_storagefat	-0,124	-0,143	-0,105	+/- 15% de la valeur de base
Prop BW molt	0,25	0,20	0,30	+/- 20% de la valeur de base
Prop WmA molt	0,20	0,16	0,24	+/- 20% de la valeur de base
Prop WmB molt	0,20	0,16	0,24	+/- 20% de la valeur de base
Prop Wliver molt	0,50	0,40	0,60	+/- 20% de la valeur de base
Prop Wstoragefat molt	0,70	0,56	0,84	+/- 20% de la valeur de base
Prop Wblood molt	0,25	0,20	0,30	+/- 20% de la valeur de base

Tableau 37 : valeurs minimale et maximale établies pour l'analyse de sensibilité des paramètres relatifs à la quantité de lipides corporels et tissulaires

Lipides	Valeur de base	Valeur minimale	Valeur maximale	Calcul valeurs extrêmes
BW lipid cont AGE1	0,060	0,051	0,069	+/- 15% de la valeur de base
BW lipid cont AGE2	0,200	0,170	0,230	+/- 15% de la valeur de base
mA_lipid_cont	0,014	0,010	0,018	+/- 2 ET
mB_lipid_cont	0,060	0,051	0,069	+/- 15% de la valeur de base
Liver_lipid_cont	0,174	0,148	0,200	+/- 15% de la valeur de base
b lipid liver	-0,0026	-0,0030	-0,0022	+/- 15% de la valeur de base
Storagefat_lipid_cont	0,870	0,790	0,950	+/- 2 ET
Plasma lipid cont laying	0,026	0,022	0,030	+/- 15% de la valeur de base
plasma_lipid_cont	0,007	0,006	0,008	+/- 20% de la valeur de base

Tableau 38 : valeurs minimale et maximale établies pour l'analyse de sensibilité des paramètres relatifs au profil lipidique et à la quantité de lipides corporels et tissulaires pendant la mue

Lipides	Valeur de base	Valeur minimale	Valeur maximale	Calcul valeurs extrêmes
mA_neut_lipid_ratio	0,551	0,468	0,633	+/- 15% de la valeur de base
mB_neut_lipid_ratio	0,860	0,731	0,989	+/- 15% de la valeur de base
Liver_neut_lipid_ratio	0,760	0,646	0,874	+/- 15% de la valeur de base
Storagefat_neut_lipid_ratio	0,985	0,838	1	-15% de la valeur de base/ maximum fixé à 1
plasma_neut_lipid_ratio	0,687	0,584	0,790	+/- 15% de la valeur de base
Plasma neut lipid ratio lay	0,790	0,672	0,909	+/- 15% de la valeur de base
other neut lipid ratio	0,960	0,816	1	- 15% de la valeur de base/ maximum fixé à 1
Liver lipid cont AGE3	0,060	0,048	0,072	+/- 20% de la valeur de base
mA lipid cont AGE3	0,011	0,009	0,013	+/- 20% de la valeur de base
mB lipid cont AGE3	0,048	0,038	0,058	+/- 20% de la valeur de base
BW lipid cont AGE3	0,130	0,104	0,156	+/- 20% de la valeur de base

Tableau 39 : valeurs minimale et maximale établies pour l'analyse de sensibilité des paramètres relatifs à l'irrigation sanguine.

Irrigation sanguine	Valeur de base	Valeur minimale	Valeur maximale	Calcul valeurs extrêmes
Hematocrit growth and laying	0,265	0,219	0,311	+/- 2 ET
mA coef	210	190	230	+/- 2 ET
mB coef	163	70	256	+/- 2 ET
liver coef	1200	532	1868	+/- 2 ET
storagefat coef	95	48	143	+/- 50% de la valeur de base
Q	283	257	309	+/- 2 ET
mV blood kg/L	1,044	1,041	1,047	+/- 2 ET
Hematocrit molting	0,31	0,26	0,36	+/- 15% de la valeur de base

Tableau 40 : valeurs minimale et maximale établies pour l'analyse de sensibilité des paramètres relatifs à la ponte et à l'ingestion.

Ponte et ingestion	Valeur de base	Valeur minimale	Valeur maximale	Calcul valeurs extrêmes
Yolk lipid cont	0,350	0,298	0,403	+/- 15% de la valeur de base
W follic min	0,0002	0,00017	0,00023	+/- 15% de la valeur de base
LR max	0,902	0,767	1	- 15% de la valeur de base/ maximum fixé à 1
LR min	0,761	0,647	0,876	+/- 15% de la valeur de base
LR persist	32,9	28,0	37,9	+/- 15% de la valeur de base
Wegg max	0,065	0,055	0,075	+/- 15% de la valeur de base
k Wegg	0,0118	0,01003	0,01357	+/- 15% de la valeur de base
ayolk	0,402	0,342	0,462	+/- 15% de la valeur de base
byolk	-0,0089	-0,0102	-0,0076	+/- 15% de la valeur de base
Follic_neut_lipid_ratio	0,783	0,666	0,900	+/- 15% de la valeur de base
Ediet	11,6	9,9	13,3	+/- 15% de la valeur de base
Prop Ei molt	0,600	0,510	0,690	+/- 15% de la valeur de base

Tableau 41 : valeurs minimale et maximale établies pour l'analyse de sensibilité des paramètres relatifs au transfert d'α-HBCD.

Transfer d'HBCD	Valeur de base	Valeur minimale	Valeur maximale	Calcul valeurs extrêmes
HBCD_abs_coef	0,900	0,765	1	- 15 / +11% de la valeur de base
E_{liver}	0,013	0,010	0,016	+/- 20% de la valeur de base

4.4.2 *Calcul du « ratio de variation réponse/paramètre » par stade physiologique*

L'analyse de sensibilité du modèle (modèle de base, cf. 4.3.1) aux différents paramètres est réalisée aux différents stades physiologiques de la poule sur l'ensemble des âges représentés (depuis AGE1 jusqu'à AGE5), c'est-à-dire en fin de croissance, pendant le 1er cycle de ponte, pendant la mue et en 2ème cycle de ponte. En premier lieu, les résultats de concentration d'α-HBCD dans les tissus lors d'une exposition de la poule du « modèle de base » à l'α-HBCD, à 40 µg kg^{-1} d'aliment, du début jusqu'à la fin de la simulation sont repris (Figure 22). Ensuite, la valeur d'un seul paramètre est changée tout en maintenant inchangés le reste des paramètres et les caractéristiques d'exposition. En effet, lors de l'analyse sur la valeur minimale ou maximale d'un paramètre, tous les autres paramètres sont maintenus à leurs valeurs de base. Pour chaque valeur testée par paramètre, les concentrations d'α-HBCD dans les tissus tout au long de la simulation et dans les œufs pendant la ponte sont compilées. Ces concentrations sont comparées à celles résultantes de la simulation du « modèle de base ». Les comparaisons se réalisent à certains âges représentant chacun un stade physiologique :

-Fin de croissance : l'âge d'étude est fixé à 110 jours, c'est-à-dire en fin de croissance et avant atteinte de l'âge de maturité sexuelle (116 j).

-Premier cycle de ponte : étude des concentrations d'α-HBCD dans les tissus à 350 jours d'âge.

-Mue, perte de PV : étude à 488 jours, c'est-à-dire l'âge auquel le poids vif atteint son minimum pendant cette période.

-Mue, récupération de PV : étude à 517 j, juste avant la reprise des initialisations.

-Deuxième cycle de ponte : âge d'étude fixé à 640 jours.

Les âges représentatifs des différents stades pour analyse de sensibilité sont indiqués sur la Figure 24 par des flèches.

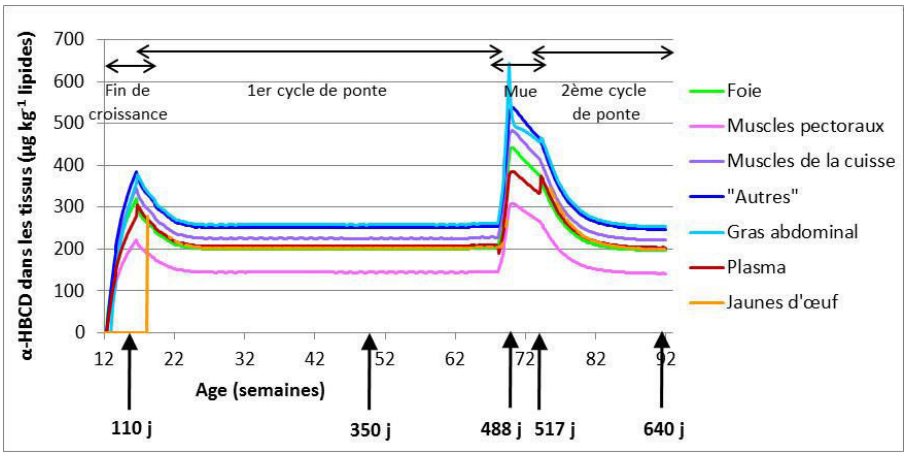


Figure 24 : concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans les différentes matrices simulées par le modèle de base lors d'une exposition continue à l'α-HBCD depuis 12 jusqu'à 92 semaines d'âge à 40 µg d'α-HBCD kg^{-1} d'aliment. Ages d'étude lors de l'analyse de sensibilité (flèches)

Un « pourcentage de variation (PVar) de la concentration d'α-HBCD ([HBCD], µg kg^{-1} lipides) » est calculé pour chaque tissu et valeur d'un paramètre comme le ratio de la différence de concentrations d'α-HBCD dans le tissu après et avant modification du paramètre par la concentration d'α-HBCD dans le tissu selon modèle de base (Eq. 99). L'équation de calcul du « PVar du paramètre » présente la même structure (Eq. 100). Finalement, pour normaliser l'analyse de sensibilité et comparer des paramètres dont la plage de variation est différente, on calcule le « ratio de variation (RV) réponse/paramètre » comme le ratio du PVar de la [HBCD] dans chaque tissu et du « PVar du paramètre » (Eq. 101).

Eq. 99	$\mathbf{PVar\ de\ la\ [HBCD]dans\ un\ tissu} = \frac{\mathbf{[HBCD]\ apr\grave{e}s\ variation\ d'un\ param\grave{e}tre\ du\ mod\grave{e}le - [HBCD]\ simul\acute{e}e\ par\ le\ mod\grave{e}le\ de\ base}}{\mathbf{[HBCD]\ simul\acute{e}e\ par\ le\ mod\grave{e}le\ de\ base}} \times \mathbf{100}$
Eq. 100	$\mathbf{PVar\ d'un\ param\grave{e}tre} = \frac{\mathbf{Valeur\ test\acute{e}e\ du\ param\grave{e}tre - Valeur\ de\ base\ du\ param\grave{e}tre}}{\mathbf{\lvert Valeur\ de\ base\ du\ param\grave{e}tre \rvert}} \times \mathbf{100}$
Eq. 101	$\mathbf{RV\ r\acute{e}ponse/param\grave{e}tre} = \frac{\mathbf{PVar\ dans\ la\ [HBCD]dans\ un\ tissu}}{\mathbf{PVar\ du\ param\grave{e}tre}}$

Le calcul du PVar du paramètre (Eq. 100) spécifie dans le dénominateur la valeur absolue du paramètre. L'objectif est de faciliter l'interprétation des résultats. Ainsi, tant pour des paramètres positifs que négatifs, une valeur positive du ratio de variation indique que la variation de la valeur du paramètre et la variation dans la concentration d'α-HBCD dans les tissus sont directement proportionnelles, en d'autres termes si la valeur d'un paramètre est augmentée les concentrations dans les tissus augmentent, si le premier diminue les concentrations dans les tissus diminuent. Un RV négatif indique une variation inversement proportionnelle de la valeur d'un paramètre et des concentrations d'α-HBCD dans les tissus, c'est-à-dire si la valeur du paramètre augmente, les concentrations dans les tissus diminuent et vice versa. Les paramètres auxquels le modèle est sensible sur l'ensemble ou la plupart des stades physiologiques sont ensuite abordés et analysés.

Le ratio de variation est calculé pour chaque valeur testée d'un paramètre, séparément sur chaque tissu et pour chaque stade physiologique, aux âges précisés ci-dessus.

4.4.3 Résultats de l'analyse de sensibilité et discussion

4.4.3.1 Résultats

Les résultats de l'analyse de sensibilité sont abordés en premier lieu selon une approche globale pour les paramètres ayant une influence tout au long de la simulation, puis séparément pour les paramètres ayant un effet uniquement à certains stades physiologiques. Les résultats de l'analyse de sensibilité sont présentés par groupe de paramètres dans les Tableaux 42 à 49.

Tableau 42 : ratio de variation (RV) réponse / paramètre aux différents stades physiologiques, pour les paramètres liés à la croissance et aux poids corporel et tissulaires

Abréviation	Valeur basale	Valeurs testées	110 j RV réponse / paramètre	110 j Exceptions	350 j RV réponse / paramètre	640 j RV réponse / paramètre	488 j RV réponse / paramètre	488 j Exceptions	517 j RV réponse / paramètre
BW1 kg	1,077	0,969	0		0	0	0		0
		1,185	|1-2|	|0,5-1| dans le foie	0	0	0		0
BW2 kg	1,962	1,668	0		-|0,5-1|	-|0,5-1|	-|0,5-1|		-|0,5-1|
		2,256	0		-|0,5-1|	-|0,5-1|	-|0,5-1|		0
Age1 day	84	71	|0,5-1|		0	0	0		0
		97	**|5-10|**		0	0	0		0
Age2 day	476	357	0		0	0	-|2-5|	-|1-2| dans le GA	-|1-2|
		595	0		0	|2-5|	-|2-5|	-|1-2| dans le Pl	-|1-2|
Bgomp	0,0216	0,0184	-|0,5-1|		0	0	0		0
		0,0248	0		0	0	0		0
a_mA	0,512	0,435	-|0,5-1|		0	0	0		0
		0,589	0		0	0	0		0
b_mA	-1,847	-1,570	0		0	0	0		0
		-2,124	-|0,5-1|		0	0	0		0
a_mB	0,055	0,047	0		0	0	0		0
		0,063	0	-|0,5-1| dans le GA	0	0	0		0
a_liver	1,649	1,402	0		-|0,5-1|	-|0,5-1|	-|0,5-1|		-|0,5-1|
		1,896	0	|0,5-1| dans le GA	-|0,5-1|	-|0,5-1|	-|0,5-1|		-|0,5-1|
b_liver	-4,123	-4,329	**|5-10|**		-|2-5|	-|2-5|	-|2-5|		-|2-5|
		-3,505	-|0,5-1|		-|2-5|	-|2-5|	-|2-5|		-|1-2|
a_blood	0,842	0,716	-|0,5-1|		0	0	0		0
		0,968	0		0	0	0		0
b_blood	-2,6	-2,73	**> |30|**		0	0	0		0
		-2,21	0		0	0	0		0
a_storagefat	0,117	0,099	0		0	0	0		0
		0,135	0	|0,5-1| dans le GA	0	0	0		0
b_storagefat	-0,124	-0,143	0		0	0	0		0
		-0,105	0		0	0	0		0
		0,30	0		0	0	0		0

Ages représentés : 110 j (fin de croissance), 350 et 640 j (respectivement 1er et 2ème cycles de ponte), 488 j (mue, perte de PV), 517 j (mue, récupération de PV). Ratio de variation (RV) réponse/paramètre, calculé comme le ratio du pourcentage de variation dans la concentration d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans chaque tissu divisé par le pourcentage de variation du paramètre. Les RV présentés sur le tableau correspondent à l'ensemble des tissus (foie, muscles pectoraux, muscles des cuisses, gras abdominal, plasma, "other", jaune d'œuf) pour les périodes de ponte et à tous ces tissus excepté le jaune d'œuf en fin de croissance et pendant la mue. Des exceptions sont ajoutées quand le RV dans une matrice est différent du RV moyen estimé sur les autres matrices. GA : gras abdominal ; Pl : plasma

Tableau 43 : ratio de variation (RV) réponse / paramètre aux différents stades physiologiques, pour des paramètres liés à la croissance et aux poids corporel et tissulaires spécifiques au stade de mue

Abréviation	Valeur basale	Valeurs testées	110 j		350 j	640 j	488 j		517 j
			RV réponse / paramètre	Exceptions	RV réponse / paramètre	RV réponse / paramètre	RV réponse / paramètre	Exceptions	RV réponse / paramètre
Prop BW molt	0,25	0,20	0		0	0	0		0
		0,30	0		0	0	0		0
Prop WmA molt	0,20	0,16	0		0	0	0		0
		0,24	0		0	0	0		0
Prop WmB molt	0,20	0,16	0		0	0	0		0
		0,24	0		0	0	0		0
Prop Wliver molt	0,50	0,40	0		0	0	0		0
		0,60	0		0	0	0		0
Prop Wstoragefat molt	0,70	0,56	0		0	0	0	|0,5-1| dans le GA	0
		0,84	0		0	0	0	|1-2| dans le GA	0
Prop Wblood molt	0,25	0,20	0		0	0	0		0
		0,30	0		0	0	0		0

Ages représentés : 110 j (fin de croissance), 350 et 640 j (respectivement 1er et 2ème cycles de ponte), 488 j (mue, perte de PV), 517 j (mue, récupération de PV).
Ratio de variation (RV) réponse/paramètre, calculé comme le ratio du pourcentage de variation dans la concentration d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans chaque tissu divisé par le pourcentage de variation du paramètre. Les RV présentés sur le tableau correspondent à l'ensemble des tissus (foie, muscles pectoraux, muscles des cuisses, gras abdominal, plasma, "other", jaune d'œuf) pour les périodes de ponte et à tous ces tissus excepté le jaune d'œuf en fin de croissance et pendant la mue. Des exceptions sont ajoutées quand le RV dans une matrice est différent du RV moyen estimé sur les autres matrices. GA: gras abdominal.

Tableau 44 : ratio de variation (RV) réponse / paramètre aux différents stades physiologiques, pour les paramètres liés à la quantité de lipides tissulaires

Abréviation	Valeur basale	Valeurs testées	110 j		350 j		640 j		488 j		517 j	
			RV réponse / paramètre	Exceptions	RV réponse / paramètre	Exceptions	RV réponse / paramètre	Exceptions	RV réponse / paramètre	Exceptions	RV réponse / paramètre	Exceptions
BW lipid cont AGE1	0,06	0,051	0		0		0		0		0	
		0,069	0		0		0		0		0	
BW lipid cont AGE2	0,2	0,170	-|0,5-1|		0		0		|0,5-1|		-|0,5-1|	0 dans le GA
		0,230	0		0		0		|0,5-1|		0	
mA_lipid_cont	0,014	0,010	0		0		0		0		0	
		0,018	0		0		0		0		0	
mB_lipid_cont	0,06	0,051	0		0		0		0		0	
		0,069	0		0		0		0		0	
Liver_lipid_cont	0,1741	0,148	|2-5|		0		0		0		0	
		0,200	0		0		0		0		0	
b lipid liver	-0,0026	-0,0030	-|0,5-1|		0		0		0		0	
		-0,0022	0		0		0		0		0	
Storagefat_lipid_cont	0,87	0,790	-|0,5-1|		0		0		0		0	
		0,950	|1-2|		0		0		0		0	
Plasma lipid cont laying	0,026	0,022	0		-|0,5-1|		-|0,5-1|		-|0,5-1|		0	
		0,030	0		-|0,5-1|		-|0,5-1|		-|0,5-1|		0	
plasma_lipid_cont	0,007	0,006	0	-|0,5-1| dans le foie	0		0		0		0	
		0,008	0		0		0		0		0	

Ages représentés : 110 j (fin de croissance), 350 et 640 j (respectivement 1er et 2ème cycles de ponte), 488 j (mue, perte de PV), 517 j (mue, récupération de PV).
Ratio de variation (RV) réponse/paramètre, calculé comme le ratio du pourcentage de variation dans la concentration d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans chaque tissu divisé par le pourcentage de variation du paramètre. Les RV présentés sur le tableau correspondent à l'ensemble des tissus (foie, muscles pectoraux, muscles des cuisses, gras abdominal, plasma, "other", jaune d'œuf) pour les périodes de ponte et à tous ces tissus excepté le jaune d'œuf en fin de croissance et pendant la mue. Des exceptions sont ajoutées quand le RV dans une matrice est différent du RV moyen estimé sur les autres matrices. GA : gras abdominal.

Tableau 45 : ratio de variation (RV) réponse / paramètre aux différents stades physiologiques, pour les paramètres liés au profil de lipides dans les tissus

Abréviation	Valeur basale	Valeurs testées	110 j		350 j		640 j		488 j		517 j	
			RV réponse / paramètre	Exceptions	RV réponse / paramètre	Exceptions	RV réponse / paramètre	Exceptions	RV réponse / paramètre	Exceptions	RV réponse / paramètre	Exceptions
mA_neut_lipid_ratio	0,5506	0,468	0	|0,5-1| dans les MP	0	|1-2| dans les MP	0	|1-2| dans les MP	0	|1-2| dans les MP	0	|0,5-1| dans les MP
		0,633	0	|1-2| dans les MP	0	|0,5-1| dans les MP	0	|0,5-1| dans les MP	0	|0,5-1|dans les MP	0	|0,5-1| dans les MP
mB_neut_lipid_ratio	0,86	0,731	0	|0,5-1| dans les MC	0	|0,5-1| dans les MC	0	|0,5-1| dans les MC	0	|0,5-1|dans les MC	0	|0,5-1| dans les MC
		0,989	0	|0,5-1| dans les MC	0	|1-2| dans les MC	0	|1-2| dans les MC	0	|0,5-1|dans les MC	0	|0,5-1| dans les MC
Liver_neut_lipid_ratio	0,76	0,646	0	+ et -|0,5-1| dans le F et le GA	0	|0,5-1| dans le foie	0	|1-2| dans le foie	0	|1-2| dans le foie	0	|0,5-1| dans le foie
		0,874	0	|0,5-1| dans le foie	0	|1-2| dans le foie	0	|0,5-1| dans le foie	0	|0,5-1|dans le foie	0	|0,5-1| dans le foie
Storagefat_neut_lipid_ratio	0,9853	0,838	-|0,5-1|	0 dans le GA	0	|0,5-1| dans le GA	0	|1-2| dans le GA	0	|1-2| dans le GA	0	|0,5-1| dans le GA
		1,000	**|5-10|**		0	|1-2| dans le GA	0	|0,5-1| dans le GA	0	|1-2| dans le GA	0	|0,5-1| dans le GA
other neut lipid ratio	0,96	0,816	-|1-2|	0 dans "other"	0	|0,5-1| dans "other"	0	|1-2| dans "other"	0	|0,5-1|dans "other"	0	|0,5-1| dans "other"
		1,000	|1-2|	|2-5|dans "other"	0	|0,5-1| dans "other"	0	|1-2| dans "other"	0	|0,5-1|dans "other"	0	|0,5-1| dans "other"

Ages représentés : 110 j (fin de croissance), 350 et 640 j (respectivement 1er et 2ème cycles de ponte), 488 j (mue, perte de PV), 517 j (mue, récupération de PV).

Ratio de variation (RV) réponse/paramètre, calculé comme le ratio du pourcentage de variation dans la concentration d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans chaque tissu divisé par le pourcentage de variation du paramètre. Les RV présentés sur le tableau correspondent à l'ensemble des tissus (foie, muscles pectoraux, muscles des cuisses, gras abdominal, plasma, "other", jaune d'œuf) pour les périodes de ponte et à tous ces tissus excepté le jaune d'œuf en fin de croissance et pendant la mue. Des exceptions sont ajoutées quand le RV dans une matrice est différent du RV moyen estimé sur les autres matrices. MP : muscles pectoraux ; MC : muscles des cuisses ; GA : gras abdominal.

Tableau 46 : ratio de variation (RV) réponse / paramètre aux différents stades physiologiques, pour les paramètres liés au profil de lipides dans le plasma et pour les paramètres liés au contenu lipidique dans les tissus et dans le corps pendant la mue

Abréviation	Valeur basale	Valeurs testées	110 j		350 j		640 j		488 j		517 j	
			RV réponse / paramètre	Exceptions	RV réponse / paramètre	Exceptions	RV réponse / paramètre	Exceptions	RV réponse / paramètre	Exceptions	RV réponse / paramètre	Exceptions
plasma_neut_lipid_ratio	0,687	0,584	0	+ et -|0,5-1| dans le foie et le Pl	0		0		0	|0,5-1|dans le Pl	0	|0,5-1| dans le Pl
		0,790	0	|0,5-1| dans le GA ; |1-2| dans le Pl	0		0		0	|0,5-1|dans le Pl	0	|0,5-1| dans le Pl
Plasma neut lipid ratio lay	0,79	0,672	0		-|0,5-1|	0 dans le Pl	-|0,5-1|	0 dans le Pl	-|0,5-1|		0	
		0,909	0		-|0,5-1|	0 dans le Pl	-|0,5-1|	0 dans le Pl	-|0,5-1|		0	
Liver lipid cont AGE3	0,06	0,048	0		0		0		0		0	
		0,072	0		0		0		0		0	
mA lipid cont AGE3	0,0112	0,0090	0		0		0		0		0	
		0,0134	0		0		0		0		0	
mB lipid cont AGE3	0,048	0,038	0		0		0		0		0	
		0,058	0		0		0		0		0	
plasma_lipid_cont	0,007	0,006	0	-|0,5-1| dans le foie	0		0		0		0	
		0,008	0		0		0		0		0	
BW lipid cont AGE3	0,13	0,104	0		0		0		-|1-2|	|0,5-1|dans le GA	0	
		0,156	0		0		0		-|0,5-1|		0	

Ages représentés : 110 j (fin de croissance), 350 et 640 j (respectivement 1er et 2ème cycles de ponte), 488 j (mue, perte de PV), 517 j (mue, récupération de PV).
Ratio de variation (RV) réponse/paramètre, calculé comme le ratio du pourcentage de variation dans la concentration d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans chaque tissu divisé par le pourcentage de variation du paramètre. Les RV présentés sur le tableau correspondent à l'ensemble des tissus (foie, muscles pectoraux, muscles des cuisses, gras abdominal, plasma, "other", jaune d'œuf) pour les périodes de ponte et à tous ces tissus excepté le jaune d'œuf en fin de croissance et pendant la mue. Des exceptions sont ajoutées quand le RV dans une matrice est différent du RV moyen estimé sur les autres matrices. Pl : plasma ; GA : gras abdominal.

Tableau 47 : ratio de variation (RV) réponse / paramètre aux différents stades physiologiques, pour tous les paramètres liés à l'irrigation sanguine

Abréviation	Valeur de base	Valeurs testées	110 j	350 j	640 j	488 j	517 j
			RV réponse/paramètre				
Hematocrit growth and laying	0,265	0,219	0	0	0	0	0
		0,311	0	0	0	0	0
mA coef	210	190	0	0	0	0	0
		230	|0,5-1|	0	0	0	0
mB coef	163	70	0	0	0	0	0
		256	0	0	0	0	0
liver coef	1200	532	0	-|1-2|	-|1-2|	-|1-2|	-|0,5-1|
		1868	0	-|0,5-1|	-|0,5-1|	-|0,5-1|	0
storagefat coef	95	48	0	0	0	0	0
		143	0	0	0	0	0
Q coef	283	257	0	0	0	0	0
		309	**-|5-10|**	0	0	0	0
mV blood kg/L	1,044	1,041	-|1-2|	0	0	0	0
		1,047	**>|30|**	0	0	0	0
Hematocrit molting	0,31	0,264	0	0	0	0	0
		0,357	0	0	0	0	0

Ages représentés : 110 j (fin de croissance), 350 et 640 j (respectivement 1er et 2ème cycles de ponte), 488 j (mue, perte de PV), 517 j (mue, récupération de PV).
Ratio de variation (RV) réponse/paramètre, calculé comme le ratio du pourcentage de variation dans la concentration d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans chaque tissu divisé par le pourcentage de variation du paramètre. Les RV présentés sur le tableau correspondent à l'ensemble des tissus (foie, muscles pectoraux, muscles des cuisses, gras abdominal, plasma, "other", jaune d'œuf) pour les périodes de ponte et à tous ces tissus excepté le jaune d'œuf en fin de croissance et pendant la mue.

Tableau 48 : ratio de variation (RV) réponse / paramètre aux différents stades physiologiques, pour tous les paramètres liés à la ponte et à l'ingestion

Abréviation	Valeur de base	Valeurs testées	110 j RV réponse / paramètre	350 j RV réponse / paramètre	350 j Exceptions	640 j RV réponse / paramètre	640 j Exceptions	488 j RV réponse / paramètre	517 j RV réponse / paramètre
Yolk lipid cont	0,35	0,298	0	0		0		0	0
		0,403	0	0		0		0	0
W follic min	0,0002	0,00017	0	0		0		0	0
		0,00023	0	0		0		0	0
LR max	0,902	0,767	0	0		0		0	0
		1,000	0	0		0		0	0
LR min	0,761	0,647	0	0		0		0	0
		0,876	0	0		0		0	0
LR persist	32,9	28,0	0	0		0		0	0
		37,9	0	0		0		0	0
Wegg max	0,065	0,055	0	0		0		0	0
		0,075	0	0		0		0	0
k Wegg	0,0118	0,0100	0	0		0		0	0
		0,0136	0	0		0		0	0
ayolk	0,402	0,342	0	0		0		0	0
		0,462	0	0		0		0	0
byolk	-0,0089	-0,0076	0	0		0		0	0
		-0,0102	0	0		0		0	0
Follic_neut_lipid_ratio	0,783	0,666	0	0	|0,5-1| dans le JO	0	|0,5-1| dans le JO	0	0
		0,900	0	0	|0,5-1| dans le JO	0	|0,5-1| dans le JO	0	0
Ediet	11,6	9,9	-|1-2|	-|1-2|		-|1-2|		-|1-2|	-|1-2|
		13,3	-|0,5-1|	-|0,5-1|		-|0,5-1|		-|0,5-1|	-|0,5-1|
Prop Ei molt	0,60	0,51	0	0		0		0	0
		0,69	0	0		0		0	0

Ages représentés : 110 j (fin de croissance), 350 et 640 j (respectivement 1er et 2ème cycles de ponte), 488 j (mue, perte de PV), 517 j (mue, récupération de PV). Ratio de variation (RV) réponse/paramètre, calculé comme le ratio du pourcentage de variation dans la concentration d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans chaque tissu divisé par le pourcentage de variation du paramètre. Les RV présentés sur le tableau correspondent à l'ensemble des tissus (foie, muscles pectoraux, muscles des cuisses, gras abdominal, plasma, "other", jaune d'œuf) pour les périodes de ponte et à tous ces tissus excepté le jaune d'œuf en fin de croissance et pendant la mue. Des exceptions sont ajoutées quand le RV dans une matrice est différent du RV moyen estimé sur les autres matrices. JO : jaune d'œuf

Tableau 49 : ratio de variation (RV) réponse / paramètre aux différents stades physiologiques, pour les paramètres liés à la cinétique de transfert de l'HBCD

Abréviation	Valeur de base	Valeurs testées	110 j	350 j	640 j	488 j	517 j
			RV réponse/paramètre				
HBCD abs coef	0,900	0,765	0	|0,5-1|	|0,5-1|	|1-2|	|0,5-1|
		1,000	|0,5-1|	|1-2|	|0,5-1|	|0,5-1|	|1-2|
E_{liver}	0,013	0,010	-|0,5-1|	-|1-2|	-|1-2|	-|0,5-1|	-|0,5-1|
		0,016	0	-|0,5-1|	-|0,5-1|	-|0,5-1|	0

Ages représentés : 110 j (fin de croissance), 350 et 640 j (respectivement 1er et 2ème cycles de ponte), 488 j (mue, perte de PV), 517 j (mue, récupération de PV). RV réponse/paramètre, calculé comme le ratio du pourcentage de variation dans la concentration d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans chaque tissu divisé par le pourcentage de variation du paramètre. Les RV présentés sur le tableau correspondent à l'ensemble des tissus (foie, muscles pectoraux, muscles des cuisses, gras abdominal, plasma, "other", jaune d'œuf) pour les périodes de ponte et à tous ces tissus excepté le jaune d'œuf en fin de croissance et pendant la mue.

Comme le montrent ces tableaux, pour un même paramètre, le RV réponse/paramètre est dans la plupart des cas différent entre la valeur minimale et la valeur maximale testées, même quand le pourcentage de variation du paramètre a été généralement le même dans les deux sens. Cela signifie que la variation du paramètre ne présente pas une influence linéaire sur la variation de la réponse. Les principaux paramètres ayant une influence sur l'ensemble des stades physiologiques et le degré confiance qu'on peut donner à la valeur du paramètre fixée dans le modèle de base sont expliqués ci-dessous.

4.4.3.2 Paramètres ayant une influence à plusieurs stades physiologiques

L'ordonnée à l'origine de l'allométrie de croissance du foie (***b_{liver}***, sans unités) est un paramètre qui a une influence à tous les stades physiologiques. Une diminution de la valeur de ce paramètre de 5% (PVar paramètre) fait diminuer d'environ 35 fois la concentration d'α-HBCD dans l'ensemble des tissus (PVar concentration d'HBCD dans les tissus). Cela se traduit en un RV réponse / paramètre d'environ 7. Ce paramètre fait partie d'une équation d'allométrie de croissance du foie en fonction du PV (ETR = 0,15 ; R^2 = 0,78), obtenue à partir de 25 données issues de 7 références obtenues chez des poules pondeuses en croissance et chez des poules en ponte, avec des PV compris entre 1,1 et 2 kg (Tableau 24), c'est-à-dire dans la plage de PV représentée dans le modèle. Le poids simulé du foie est cohérent avec d'autres données de la littérature (4.2.1.2). La précision dans l'estimation de la valeur de ce paramètre est considérée comme satisfaisante.

Le débit sanguin du foie (***Liver coef***, L kg^{-1} tissu j^{-1}) a également une influence considérable pendant la ponte et pendant la mue. Une diminution d'environ 55% de sa valeur provoque

des augmentations dans la concentration d'α-HBCD dans les tissus pendant la ponte et la mue, qui se traduisent en des RV réponse/paramètre entre -1,2 et -1,35 en ponte et en mue. Pour les différents tissus dont le foie, un nombre limité de données de **débit sanguin** chez la poule pondeuse a été retrouvé dans la bibliographie, ces données datant des années 60-80. Dans la plupart des cas, les auteurs ont réalisé ces mesures par injection de microsphères marquées radioactivement dans le ventricule gauche du cœur (après ouverture du thorax et cathétérisme), ce qui permet une distribution immédiate de ces microsphères avec la circulation, cette distribution dépendant du flux sanguin vers chaque tissu. La taille des microsphères (15 µm de diamètre) fait qu'elles restent localisées dans les capillaires des différents tissus suite au premier passage du sang. Cette méthode se base sur le principe qu'il n'y ait pas d'échange de microsphères entre les tissus. La mise à mort et le prélèvement des tissus qui suit cette opération permet de mesurer la radioactivité dans chaque tissu et de calculer le débit sanguin vers le tissu. La méthode des microsphères a été prouvée comme adéquate pour des mesures d'irrigation sanguine chez l'oiseau (Boelkins et al., 1973). Cependant une recirculation des microsphères peut se produire dans des anastomoses artério-veineuses d'un diamètre supérieur à celui des microsphères et être stockées ensuite dans certains tissus parmi lesquels le foie, ce qui peut conduire à une surestimation du débit sanguin de ce tissu (Wolfenson et al., 1981). Boelkins et al. (1973) ont par ailleurs mis en évidence chez des poules pondeuses que les étapes d'ouverture du thorax et de cathétérisme peuvent diminuer de 20-25% le débit cardiaque, ce qui se traduit en une diminution des débits sanguins vers les tissus et par conséquence une sous-estimation de ceux-ci dans ce cas. Enfin, certaines de ces expérimentations ont été réalisées avec l'animal sous anesthésie générale, d'autres ayant utilisé une anesthésie locale. L'anesthésie générale influence le débit sanguin vers les tissus (Sturkie et al., 1975). A cause de la rareté des données renseignant sur le débit sanguin vers les tissus chez la poule pondeuse, le tri de ces données a été plus limité que pour le reste de paramètres. Les valeurs retenues sont cohérentes avec celles considérées par d'autres auteurs chez la poule pondeuse (MacLachlan, 2010). Les valeurs des débits sanguins vers les tissus chez la poule pondeuse sont peu précises en comparaison avec la valeur de la plupart des paramètres du modèle. Cependant à l'exception du débit sanguin du foie, le modèle est peu sensible aux autres paramètres de débit sanguin vers les tissus. Un ajustement du débit sanguin du foie sera réalisé suite à ces résultats (4.5.2).

D'autres paramètres ont également une influence sur tous les stades physiologiques. Parmi ceux-ci, il y a une classe de paramètres qui présente un intérêt particulier car ils ont un effet uniquement sur la concentration d'α-HBCD dans un tissu et pas dans d'autres. Il s'agit des

paramètres renseignant sur la proportion de lipides neutres dans les lipides totaux des tissus (***tissue neut lipid ratio***, kg kg^{-1}). Ces paramètres s'avèrent ainsi déterminants pour la partition de la molécule entre chaque tissu et le plasma. Le nombre de données bibliographiques permettant d'estimer ces coefficients peut être considéré adéquat pour le foie et pour le plasma ; cependant un nombre de données limité a été retrouvé pour renseigner le profil de lipides neutres dans les muscles, dans le gras abdominal et dans le reste des tissus (compartiment « other ») chez la poule pondeuse (Tableau 26). D'ailleurs, à partir du profil lipidique, la proportion de lipides neutres est estimée selon une équation qui considère la totalité des triglycérides et du cholestérol et 30% des phospholipides comme des lipides neutres (4.2.1.5). Cette équation est peut-être trop simplificatrice pour le calcul des coefficients de partition de l'α-HBCD entre le plasma et les tissus. Le nombre limité de données retrouvées dans la bibliographie pour donner une valeur à la proportion de lipides neutres dans certains tissus et surtout l'application de cette équation qui est ici mise en question pour gérer le transfert de l'α-HBCD entre les tissus et le plasma, aboutissent au fait que ces paramètres restent un point faible du modèle. Ces paramètres devront être ajustés sur la base des résultats expérimentaux (4.5.2).

Un autre paramètre ayant une influence sur tous les stades physiologiques est la valeur énergétique métabolisable de l'aliment ($\boldsymbol{E_{diet}}$, MJ kg^{-1}). En effet, il permet d'estimer l'ingestion quotidienne d'aliment (Eq. 77) et cette ingestion quotidienne d'un aliment contaminé détermine la quantité d'α-HBCD ingérée au quotidien (Eq. 82), c'est-à-dire le niveau d'exposition. Ce paramètre est adéquatement renseigné par des données de sélectionneur et cohérent avec des données de sélectionneur pour l'ingestion quotidienne d'aliment.

De par son influence directe sur le niveau d'exposition (Eq. 84), le coefficient d'absorption de l'α-HBCD ingéré dans le tube digestif (***HBCD abs coef***, %) présente une certaine influence sur les concentrations d'α-HBCD dans les tissus, à tous les stades physiologiques. Ce paramètre ne présente pas d'influence sur la partition de la molécule entre les tissus mais sur la quantité d'HBCD absorbée pour sa répartition dans l'organisme. La valeur basale correspond à une donnée mesurée chez des souris (Szabo et al., 2011a). L'absorption de l'α-HBCD n'ayant pas été mesurée chez l'oiseau, cette valeur est en tout cas cohérente avec l'absorption mesurée chez d'autres animaux dont des rats et des poissons.

Dans le même sens, le taux d'extraction d'α-HBCD dans le foie ($\boldsymbol{E_{liver}}$, %) présente une influence sur la concentration d'α-HBCD dans tous les tissus aux différents stades physiologiques. En effet, ce paramètre a une influence directe sur la vitesse à laquelle l'HBCD est éliminé de l'organisme par métabolisme hépatique (Eq. 90). Aucune donnée

bibliographique n'a pu être retrouvée permettant d'estimer ce paramètre, dont la valeur a dû être fixée sur la base d'une hypothèse. Par conséquent, ce paramètre sera repris lors du nouvel ajustement de paramètres (4.5.2).

4.4.3.3 Paramètres ayant une influence en fin de croissance

Les paramètres ayant un effet en fin de croissance sont présentés dans le Tableau 50.

Tableau 50 : paramètres présentant le plus d'influence sur la concentration d'α-HBCD dans l'ensemble des tissus (foie, muscles pectoraux, muscles des cuisses, gras abdominal, plasma, "other") pendant la fin de croissance

	Valeur de base	**Valeurs testées**	**110 jours (fin de croissance)** RV réponse / paramètre	Exceptions
mV blood kg/L	1,044	1,047	**>|30|**	
		1,041	-|1-2|	
b_blood	-2,6	-2,73	**>|30|**	
		-2,21	0	
Q coef	283	309	**-|5-10|**	
		257	0	
b_liver	-4,123	-4,329	**|5-10|**	
		-3,505	-|0,5-1|	
Age1 day	84	97	**|5-10|**	
		71	|0,5-1|	
Storagefat_neut_lipid_ratio	0,9853	1,000	**|5-10|**	
		0,838	-|0,5-1|	0 dans le gras abdominal
Liver_lipid_cont	0,1741	0,148	**|2-5|**	
		0,200	0	

Le modèle est particulièrement sensible à certains paramètres (précisément ceux concernant le poids des tissus, leur contenu et profil lipidique et l'irrigation sanguine) pendant la fin de croissance. En effet, les « ratios de variation (RV) réponse/paramètre » les plus élevés, plusieurs d'entre eux supérieurs à une valeur absolue de 5 sont rapportés pendant ce stade. Certains de ces paramètres ont un effet pendant la croissance mais pas pendant les deux cycles de ponte. La croissance n'étant pas un stade d'intérêt principal de cette thèse, l'ajustement des paramètres ayant un effet exclusivement sur ce stade n'est pas envisagé en principe. Ils sont cependant analysés :

Les RV réponse/paramètre de $\boldsymbol{mV_{blood}}$ (masse volumique du sang, kg L^{-1}) et $\boldsymbol{b_{blood}}$ (ordonnée à l'origine de la croissance du sang, sans unités) atteignent à ce stade des valeurs respectives

de 35±2,4 et de 50±3,4 dans les différents tissus. La valeur basale de ces paramètres a été calculée à partir des données mesurées par Medway et Care (1959), sur des poules pondeuses en croissance et en ponte, à des âges allant de 7 à 224 jours. Ces données bibliographiques présentent l'avantage d'avoir été mesurées et non pas estimées ou calculées, chez des poules pondeuses aux stades de croissance et de ponte. La valeur du paramètre mV_{blood} est cohérente avec celle de 1,05 kg L^{-1} estimée par Wolfenson et al. (1986) chez la poule pondeuse. Egalement concernant b_{blood}, l'équation d'allométrie de la croissance du sang par rapport au PV obtenue à partir des données de Medway et Care (1959), donne lieu à un poids du sang représentant 7 et 6,6% du PV pour des poules dont le PV oscille entre 1,2 et 2 kg de PV, ce qui est cohérent avec d'autres données de la littérature (4.2.1.2.1). La valeur de ces paramètres est ainsi considérée comme adéquate.

En fin de croissance, le débit cardiaque (***Q coef***, L kg^{-1} PV j^{-1}) présente un RV réponse/paramètre inférieur à -|5-10|, tandis que trois paramètres présentent un RV réponse/paramètre supérieur à |5-10| : l'ordonnée à l'origine de l'allométrie de croissance du foie (***b*** $_{liver}$, sans unités), la proportion de lipides neutres dans les lipides totaux du gras abdominal (***Storagefat neut lipid ratio***, kg kg^{-1}) et l'âge de début de la simulation (AGE1, j). Ce dernier ne présente pas grand intérêt. En effet, on peut s'attendre à un décalage dans les réponses du modèle quand on modifie AGE1 indépendamment de BW1, ces deux paramètres étant liés et correctement renseignés par des données de sélectionneur. Le paramètre ***Q coef*** a été estimé par régression de plusieurs données bibliographiques de débit cardiaque et de PV mesurées sur les mêmes animaux (4.2.1.6.1, Tableau 28). Cette équation, précisément : « débit cardiaque = 283±13 PV ($P<0,0001$; $R^2=0,79$; ETR=104) » a été validée pour des volailles dont le PV est compris entre 1,2 et 3,3 kg. Ce paramètre est ainsi correctement renseigné.

Storagefat neut lipid ratio présente des RV très élevés en fin de croissance dans tous les tissus. Le nombre de données retrouvées dans la bibliographie pour estimer ce paramètre est très limité et son incertitude est par conséquence élevée. C'est le même cas pour ***other neut lipid ratio***, influant sur la concentration d'α-HBCD dans « other ». Ces paramètres et ***b*** $_{liver}$ ont été abordés précédemment (4.4.3.2).

Parmi les paramètres ayant le plus d'influence pendant la fin de la croissance, le paramètre ***Liver lipid cont*** (kg kg^{-1}) a également été repéré. Une relation linéaire a en effet été établie entre la quantité de lipides hépatiques (kg) et le poids du foie (kg) chez la poule en ponte (4.2.1.4.1.1, Tableau 26). Trente-deux données bibliographiques correspondantes à des poules pondeuses en croissance ou en ponte, avec des PV entre 1,1 et 2,4 kg ont permis

d'obtenir une équation de régression satisfaisante (R^2=0,88 ; ETR=0,0006), qui permet de conclure que la valeur de ce paramètre fixée dans le modèle de base est adéquate.

4.4.3.4 Paramètres ayant un effet lors des 1er et 2ème cycles de ponte

Les paramètres ayant une influence lors des 1er et 2ème cycles de ponte sont présentés dans le Tableau 51.

Tableau 51 : paramètres ayant le plus d'influence sur la concentration d'α-HBCD dans les tissus (foie, muscles pectoraux et des cuisses, gras abdominal, plasma, "other", jaune) pendant les 1er et 2ème cycles de ponte

	Valeur de base	Valeurs testées	350 jours (1er cycle de ponte)		640 jours (2ème cycle de ponte)	
			RV réponse / paramètre	Exceptions	RV réponse / paramètre	Exceptions
b_liver	-4,123	-4,329	|2-5|		|2-5|	
		-3,505	|2-5|		|2-5|	
Age2 day	476	595	0		|2-5|	
		357	0		0	
liver coef	1200	532	-|1-2|		-|1-2|	
		1868	-|0,5-1|		-|0,5-1|	
Ediet	11,6	9,9	-|1-2|		-|1-2|	
		13,3	-|0,5-1|		-|0,5-1|	
E_{liver}	0,013	0,010	-|1-2|		-|1-2|	
		0,016	-|0,5-1|		-|0,5-1|	
HBCD_abs_coef	0,9	1,000	|1-2|		|0,5-1|	
		0,765	|0,5-1|		|0,5-1|	
Liver_neut_lipid_ratio	0,76	0,646	0	|0,5-1| dans le foie	0	|1-2| dans le foie
		0,874	0	|1-2| dans le foie	0	|0,5-1| dans le foie
mA_neut_lipid_ratio	0,5506	0,468	0	|1-2| dans les MP	0	|1-2| dans les MP
		0,633	0	|0,5-1| dans les MP	0	|0,5-1| dans les MP
other neut lipid ratio	0,96	0,816	0	|0,5-1| dans "other"	0	|1-2| dans "other"
		1,000	0	|0,5-1| dans "other"	0	|1-2| dans "other"
mB_neut_lipid_ratio	0,86	0,731	0	|0,5-1| dans les MC	0	|0,5-1| dans les MC
		0,989	0	|1-2| dans les MC	0	|1-2| dans les MC
Storagefat_neut_lipid_ratio	0,9853	1,000	0	|1-2| dans le GA	0	|0,5-1| dans le GA
		0,838	0	|0,5-1| dans le GA	0	|1-2| dans le GA

Parmi les paramètres ayant le plus d'effet pendant la ponte, plusieurs ont été détaillés plus haut (4.4.3.2), il s'agit de b_{liver}, de la ***proportion de lipides neutres*** dans les tissus, E_{diet}, E_{liver} et ***HBCD abs coef*.** En deuxième cycle de ponte, AGE2 a également une influence. Cela s'explique parce que la mue débute à cet âge. Quand on déplace le début de mue sans déplacer parallèlement les âges de PV minimum pendant la mue (AGE3) et de fin de mue (AGE4), le poids des tissus varie par rapport au modèle de base pour tous les pas de temps suivant AGE2. C'est pour cela que ce paramètre a également une influence pendant la mue. Il est correctement renseigné par des données de la bibliographie (Tableau 24).

4.4.3.5 Paramètres ayant un effet pendant la mue (perte puis récupération du PV).

Les paramètres ayant le plus d'influence pendant la mue sont présentés dans le Tableau 52.

Tableau 52 : paramètres ayant le plus d'influence sur la concentration d'α-HBCD dans l'ensemble des tissus (foie, muscles pectoraux, muscles des cuisses, gras abdominal, plasma, "other") pendant la mue

	Valeur basale	**Valeurs testées**	**488 jours**		**517 jours**	
			RV réponse / paramètre	Exceptions	RV réponse / paramètre	Exceptions
b_liver	-4,123	-3,505	|2-5|		|1-2|	
		-4,329	|2-5|		|2-5|	
Age2 day	476	595	-|2-5|	-|1-2| dans le plasma	-|1-2|	
		357	-|2-5|	-|1-2| dans le GA	-|1-2|	
Ediet	11,6	10	-|1-2|		-|1-2|	
		13	-|0,5-1|		-|0,5-1|	
liver coef	1200	532	-|1-2|		-|0,5-1|	
		1868	-|0,5-1|		0	
HBCD_abs_coef	0,90	0,77	|1-2|		|0,5-1|	
		1,00	|0,5-1|		|1-2|	
BW lipid cont AGE3	0,13	0,104	-|1-2|	|0,5-1|dans le GA	0	
		0,156	-|0,5-1|		0	
Storagefat_neut_lipid _ratio	0,99	1,000	0	|1-2| dans le GA	0	|0,5-1| dans le GA
		0,838	0	|1-2| dans le GA	0	|0,5-1| dans le GA
Prop Wstoragefat molt	0,70	0,56	0	|0,5-1| dans le GA	0	
		0,84	0	|1-2| dans le GA	0	
Liver_neut_lipid_ratio	0,760	0,646	0	|1-2| dans le foie	0	|0,5-1| dans le foie
		0,874	0	|0,5-1|dans le foie	0	|0,5-1| dans le foie
mA_neut_lipid_ratio	0,551	0,468	0	|1-2| dans les MP	0	|0,5-1| dans les MP
		0,633	0	|0,5-1|dans les MP	0	|0,5-1| dans les MP

La plupart des paramètres ayant un effet pendant la mue ont été présentés précédemment du fait de leur influence sur d'autres stades physiologiques. Seulement deux paramètres ont un effet exclusivement pendant la perte de PV en début de mue. Il s'agit de la proportion de lipides corporels quand le PV atteint son minimum pendant la mue (***BW lipid cont AGE3***) et de la fraction maximale de perte de poids du gras abdominal pendant la mue (***Prop*** $\boldsymbol{W_{storagefat}}$ ***molt***). La valeur du premier de ces paramètres est précise, ayant été mesurée expérimentalement dans le corps entier de poules en mue (Hoyle and Garlich, 1987). Le deuxième paramètre a également été fixé à partir des données bibliographiques, cependant sa valeur est moins certaine. En effet, il s'agit d'une citation de Park et al. (2002), cette valeur n'étant pas clairement spécifiée sur la publication citée. Dans tous les cas, ne disposant pas de données expérimentales permettant d'ajuster ou de valider le modèle pendant la mue, l'intérêt principal de l'analyse de sensibilité à 488 jours était de repérer des paramètres ayant un effet lors d'une décontamination. Il ne s'agit pas d'une décontamination pure puisque la voie d'élimination par formation du jaune est progressivement mise à l'arrêt. Cependant, au cours de cette 1ère phase de la mue, le niveau d'ingestion est réduit de 60%, ce qui met en place une sorte de décontamination par réduction équivalente de l'exposition. Des paramètres qui ont une influence pendant cette période peuvent l'avoir également pendant la décontamination. Cependant les deux paramètres repérés comme ayant un effet exclusivement pendant la mue n'interviennent dans le modèle qu'au stade de mue. Une modification de la valeur de ces paramètres ne permettrait pas de corriger pendant la ponte la décontamination trop rapide observée du gras abdominal dans le modèle vis-à-vis des données observées (Figure 16).

4.4.3.6 Discussion de l'analyse de sensibilité

L'analyse de sensibilité a permis de bien identifier les paramètres qui ont un effet sur le modèle aux différents stades physiologiques. Les principaux paramètres auxquels le modèle est sensible, les stades physiologiques et matrices affectées par la valeur du paramètre et le niveau de confiance ou précision de la valeur basale du modèle sont présentés de façon résumée dans le Tableau 53.

Tableau 53 : résumé des résultats de l'analyse de sensibilité : principaux paramètres présentant une influence sur la concentration de la molécule dans les tissus/œufs, stades physiologiques et matrices pour lesquels le paramètre a une influence, précision de la valeur basale du paramètre

	Stades physiologiques pendant lesquels le paramètre a une influence					Tissus/œufs sur lesquels le paramètre a une influence	Précision de la valeur basale du paramètre
	Fin de croissance	1er cycle de ponte	Mue, perte de PV	Mue, récupération du PV	2ème cycle de ponte		
Paramètres relatifs au PV et au poids des tissus							
Age2			x	x	x	Tous	Adéquate
b_blood	x					Tous	Adéquate
b_liver	x	x	x	x	x	Tous	Adéquate
Prop Wstoragefat molt			x			Gras abdominal	Suffisante
Paramètres relatifs au contenu et profil lipidiques dans le corps et dans les tissus							
BW lipid cont AGE3			x			Tous	Adéquate
Liver_lipid_cont	x					Tous	Adéquate
Liver_neut_lipid_ratio	x	x	x	x	x	Foie	Adéquate
mA_neut_lipid_ratio	x	x	x	x	x	Muscles pectoraux	Limitée
mB_neut_lipid_ratio	x	x	x	x	x	Muscles des cuisses	Limitée
other neut lipid ratio	x	x	x	x	x	"Other"	Limitée
Plasma neut lipid ratio lay		x	x		x	Plasma	Adéquate
plasma_neut_lipid_ratio	x		x	x		Plasma	Adéquate
Storagefat_neut_lipid_ratio	x	x	x	x	x	Gras abdominal	Limitée
Paramètres liés à l'irrigation sanguine							
liver coef		x	x		x	Tous	Limitée
mV blood	x					Tous	Adéquate
Q coef	x					Tous	Adéquate
Paramètres en lien avec l'ingestion ou l'exposition à la molécule							
Ediet	x	x	x	x	x	Tous	Adéquate
HBCD_abs_coef	x	x	x	x	x	Tous	Suffisante
Paramètres liés au métabolisme de la molécule							
Eliver	x	x	x	x	x	Tous	Aucune donnée retrouvée, ajustement nécessaire

Certains paramètres présentent une influence exclusive ou plus importante pendant la croissance, en comparaison avec d'autres stades physiologiques. Le nombre et la qualité des données utilisées pour estimer la valeur basale de ces paramètres sont considérés appropriés et aucun de ces paramètres ne sera ajusté. Pendant la perte de PV lors de la mue, l'exposition est réduite de 60% du fait d'une réduction équivalente du niveau d'ingestion. Cette diminution de l'exposition n'est pas une décontamination pure du fait que la ponte est progressivement mise à l'arrêt pendant la mue, en tout cas les paramètres auxquels le modèle est sensible pendant la mue donnent une idée des paramètres présentant une influence lors d'une décontamination. Seulement deux paramètres présentent une influence exclusivement pendant la perte de PV lors de la mue (BW lipid cont AGE3, kg kg^{-1} ; Prop Wstoragefat molt, %), les deux intervenant exclusivement pendant la mue. La précision de leurs valeurs basales est considérée suffisante et aucune modification dans la valeur de ces paramètres n'est envisagée.

Parmi les paramètres présentant une influence pendant la ponte, le degré de confiance dans leurs valeurs basales est limité pour certains d'entre eux, du fait d'un nombre limité ou d'une variabilité élevée des données retrouvées dans la littérature pour la calibration de ces paramètres : *liver coef* (L kg^{-1} tissue d^{-1}), *tissue neut lipid ratio* (kg kg^{-1}) et E_{liver} (%). Les paramètres liés au contenu en lipides neutres dans les lipides totaux des tissus présentent la caractéristique que la modification dans la valeur de l'un d'eux présente une influence sur la concentration de la molécule dans un tissu et non pas dans l'ensemble des matrices. Ainsi, on peut conclure que les paramètres « *tissue neut lipid ratio* » déterminent la partition de la molécule entre le sang et les tissus. En plus, pour ces paramètres une équation a été utilisée comme base d'estimation du contenu en lipides neutres à partir du contenu en chaque classe de lipides (4.2.1.5). Cette équation pourrait être trop simplificatrice pour déterminer la partition de l'α-HBCD dans les lipides neutres des tissus. Les paramètres : ***liver coef*** (L kg^{-1} tissu j^{-1}), ***tissue neut lipid ratio*** (kg kg^{-1}) et $\boldsymbol{E_{liver}}$ (%) devront être ajustés sur la base des données expérimentales disponibles chez la poule pondeuse (Domínguez-Romero et al., 2016), conclusion obtenue grâce à cette analyse de sensibilité.

4.5 Ajustement

Avant de procéder à l'ajustement des paramètres ciblés lors de l'analyse de sensibilité, il est nécessaire d'indiquer que l'expérimentation sur poules pondeuses (Domínguez-Romero et al., 2016) a fourni des données physiologiques qui n'ont pas été utilisées jusqu'à présent dans le modèle (excepté celles ayant servi à calculer l'allométrie de la croissance des muscles des cuisses ; Tableau 24). En effet le sous-modèle physiologique a été calibré à partir de

données bibliographiques externes. Les données physiologiques expérimentales comprennent le poids vif en fonction de l'âge, le poids et le contenu lipidique dans certains tissus, le profil lipidique dans le sang, la ponte et ingestion). L'objectif principal du modèle est qu'il permette de hiérarchiser les caractéristiques physiologiques de la poule pondeuse selon leur influence sur l'accumulation de la molécule dans les tissus et son transfert vers l'œuf chez la poule pondeuse. Il serait souhaitable, non pas tant de valider le sous-modèle physiologique qui sera en tout cas modifié pour simuler des animaux aux caractéristiques physiologiques différentes, mais de valider le sous-modèle de transfert de l'α-HBCD pour qu'il permette cette hiérarchisation des caractéristiques physiologiques. Comme le sous-modèle physiologique gère le devenir de la molécule dans le sous-modèle ADME, une représentation la plus proche possible des caractéristiques physiologiques des poules de l'expérimentation permettra de réduire, lors de l'ajustement des paramètres, des biais dus à des différences physiologiques entre la « poule pondeuse » théorique représentée dans le modèle et les poules pondeuses de l'expérimentation (Novo Brown), chez lesquelles il a été observé notamment un PV inférieur à celui attendu selon la courbe de sélectionneur de cette souche. De nouvelles simulations du modèle seront testées après application de ces données physiologiques expérimentales afin d'étudier si elles permettent de rapprocher les concentrations d'α-HBCD dans les tissus et dans l'œuf simulées vis-à-vis de celles observées. Ensuite, les paramètres ciblés par l'analyse de sensibilité seront ajustés.

4.5.1 Introduction des données physiologiques expérimentales dans le sous-modèle physiologique

Après analyse des données physiologiques expérimentales disponibles, certains paramètres, variables et compartiments du modèle ont été ainsi modifiés. Ils sont détaillés ci-après :

4.5.1.1 Croissance et poids corporels.

La courbe de PV par rapport à l'âge est moins élevée chez les poules de l'expérimentation en comparaison avec la courbe de PV représentée dans le modèle. Le paramètre Bgomp a été calculé à nouveau à partir des données expérimentales de PV par âge d'abattage, en suivant la méthodologie expliquée au paragraphe 4.2.1.1.1. La valeur des acronymes et la description des paramètres relatifs à la croissance et au poids corporel, obtenues sur les données expérimentales, sont présentées dans le Tableau 54.

Tableau 54 : acronyme, description et valeur des paramètres du modèle relatifs à la croissance et au poids corporels obtenus lors de l'introduction des données physiologiques expérimentales dans le sous-modèle physiologique

Acronyme	Description	Valeur	Unité
Age, croissance et poids corporels			
AGE1	Âge auquel la simulation débute	199	j
AGE2	Âge auquel le PV est maximisé et la mue débute	336	j
BW1	PV à AGE1	1,541	kg
BW2	PV à AGE2 selon des données de sélectionneur	1,707	kg
Bgomp	Taux d'augmentation du poids vif au point d'inflexion	0,0133	j^{-1}

L'âge des poules en début d'exposition était de 210 jours, ces poules étant en ponte. L'AGE1 est avancé ici à 199 jours afin de permettre au 1er follicule de compléter sa croissance rapide, d'être ovulé et au jaune d'œuf correspondant d'être exporté dans l'œuf pondu un jour après ovulation. De cette façon, la ponte sera totalement mise en place en début d'exposition à 210 jours.

Le PV simulé après application des données expérimentales dans le sous-modèle physiologique et le PV observé expérimentalement sont montrés sur la Figure 25. La régression du PV simulé après application des données expérimentales dans le sous-modèle physiologique vis-à-vis du PV observé présente une pente de 1,017 (Annexe 6).

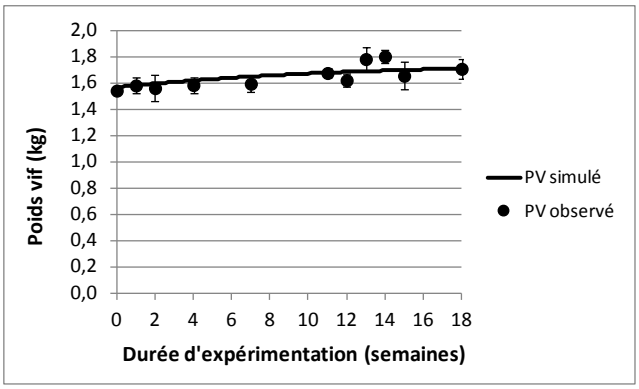


Figure 25: évolution du PV (kg) simulé par le modèle après introduction des données expérimentales physiologiques et du PV observé expérimentalement en fonction de la durée d'expérimentation

4.5.1.2 Croissance et poids des tissus

La valeur des acronymes et la description des paramètres et des compartiments relatifs à la croissance et au poids tissulaires qui ont dû être modifiées après le traitement des données expérimentales, sont présentées dans le Tableau 55.

Tableau 55 : acronyme, description et valeur des paramètres et des compartiments du modèle relatifs à la croissance et au poids tissulaires obtenus lors de l'introduction des données expérimentales dans le sous-modèle physiologique

Acronyme	Description des paramètres	Valeur	Unité
$a_{storagefat}$	Pente de l'allométrie de la croissance du gras abdominal	15,474	
$b_{storagefat}$	Ordonnée à l'origine de l'allométrie de croissance du gras abdominal	-11,029	
Acronyme	**Description du compartiment**	**Valeur initiale**	**Unité**
W_{liver}	Poids du foie	0,030	kg

La pente et l'ordonnée à l'origine de l'allométrie de la croissance du gras abdominal par rapport au poids vif ont dû être recalculées. Ce calcul a été réalisé en première approche en utilisant les données expérimentales de poids vif d'abattage. Les coefficients résultants ne permettant pas de représenter correctement le poids du gras abdominal expérimental, les valeurs retenues (Tableau 55) ont été calculées à partir du poids du gras abdominal expérimental et du PV simulé après introduction des données physiologiques expérimentales dans le sous-modèle physiologique. Les allométries du poids du foie et du poids des muscles des cuisses par rapport au PV n'ont pas été recalculées, ces tissus présentant un poids simulé cohérent avec celui observé tout au long de l'expérimentation. L'évolution du poids de ces tissus simulé et observé en fonction du temps d'expérimentation est montrée sur la Figure 26.

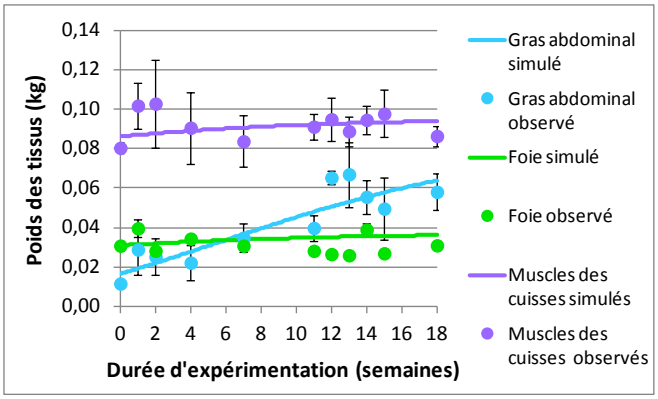


Figure 26 : évolution du poids des tissus simulé par le modèle après introduction des données expérimentales dans le sous-modèle physiologique et du poids des tissus observé expérimentalement, en fonction de la durée d'expérimentation

4.5.1.3 Quantité de lipides tissulaires

La valeur des acronymes et la description des paramètres, variables et compartiments relatifs à la quantité de lipides tissulaires, obtenues sur les données expérimentales, sont présentés dans le Tableau 56.

Tableau 56 : acronyme, description et valeur des paramètres relatifs à la quantité de lipides tissulaires obtenus lors de l'introduction des données physiologiques expérimentales dans le sous-modèle physiologique

Acronyme	Description	Valeur	Unité
Lipides corporels et tissulaires			
mB lipid cont	Proportion de lipides dans les muscles des cuisses hors mue	0,0786	kg kg^{-1}
Liver lipid cont	Pente de la relation linéaire entre la quantité de lipides hépatiques et le poids du foie hors mue	0,0973	kg kg^{-1}
b lip liver	Ordonnée à l'origine de la relation linéaire entre la quantité de lipides hépatiques et le poids du foie hors mue	0	kg
Storagefat lipid cont	Pente de la relation linéaire entre la quantité de lipides dans le gras abdominal et le poids de ce tissu	0,9534	kg kg^{-1}
b lip storagefat	Ordonnée à l'origine de la relation linéaire entre la quantité de lipides dans le gras abdominal et le poids de ce tissu hors mue	-0,0018	kg

Pour les paramètres relatifs à la quantité et au profil de lipides tissulaires présentant des valeurs différenciées selon le stade physiologique (ponte vs. non en ponte, Tableau 26), ce sont les valeurs en ponte qui sont utilisés à ce stade et lors de l'ajustement de paramètres, vu que les poules de l'expérimentation ont été en ponte tout au long de cette expérimentation. Il s'agit plus précisément de la proportion de lipides corporels à AGE2 (BW lipid cont AGE2, kg kg^{-1}), de la concentration de lipides dans le plasma pendant la ponte (Plasma lipid cont lay, kg L^{-1}) et de la proportion de lipides neutres dans les lipides totaux du plasma pendant la ponte (Plasma neut lipid ratio lay, kg kg^{-1}).

4.5.1.4 Ponte et ingestion d'aliment

La contribution des lipides au poids frais du jaune est fixée à 32,1±0,9% (Yolk lipid cont, kg kg^{-1}). Les valeurs de poids de l'œuf comme celles d'aliment ingéré sont fixées dans le modèle en fonction de l'âge (Annexe 7). Le taux de ponte ne présentant pas de relation avec l'âge, il a été fixé pour chaque âge à la valeur expérimentale correspondante, étant dans tous les cas supérieur à 90%. L'initialisation de la croissance rapide des jaunes est ajustée de façon à ce que le taux de ponte simulé corresponde aux données expérimentales de taux de ponte en fonction de l'âge.

4.5.1.5 Simulations du modèle après introduction des données physiologiques expérimentales dans le sous-modèle physiologique

Une simulation du modèle est réalisée entre 199 j et 336 j d'âge. Comme lors de l'expérimentation sur poule pondeuse (Domínguez-Romero et al., 2016), une exposition à de

l'aliment contaminé à 40 µg kg^{-1} est appliquée sur le modèle à partir de 210 jours d'âge, soit pendant 18 semaines, soit pendant 11 semaines suivies de 7 semaines de décontamination.

Les concentrations simulées d'α-HBCD dans les tissus et produits sont comparées à celles observées expérimentalement. Les concentrations simulées d'α-HBCD dans les tissus et produits après introduction des données physiologiques expérimentales sont comparées à celles observées expérimentalement sur les Figures 27 et 28.

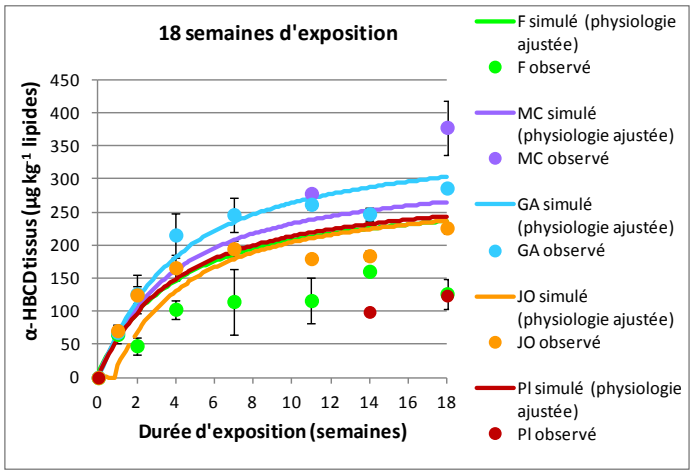


Figure 27 : concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans les matrices, observées expérimentalement (« observé ») et simulées par le modèle après introduction des données physiologiques expérimentales (« simulé, physiologie ajustée ») pendant 18 semaines d'exposition à 40 µg d'α-HBCD kg^{-1} d'aliment

Matrices : foie, F ; muscles des cuisses, MC ; gras abdominal, GA ; jaune d'œuf, JO et plasma, Pl

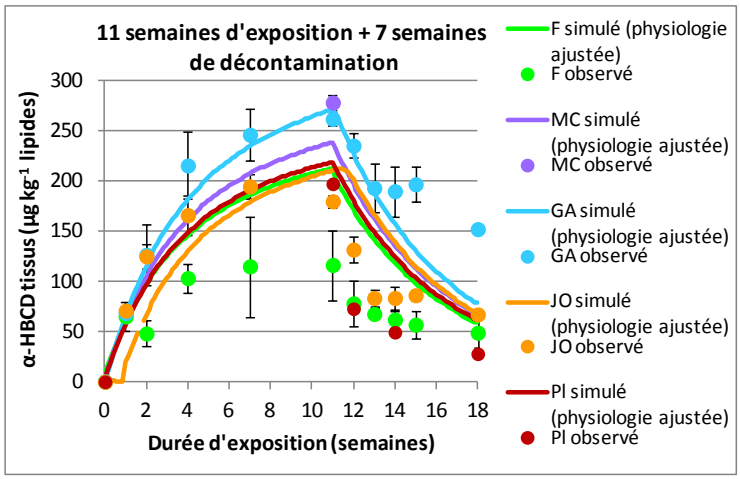


Figure 28 : concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans les matrices, observées expérimentalement (« observé ») et simulées par le modèle après introduction des données physiologiques expérimentales (« simulé, physiologie ajustée ») pendant 11 semaines d'exposition à 40 µg d'α-HBCD kg^{-1} d'aliment suivies de 7 semaines de décontamination

Matrices : foie, F ; muscles des cuisses, MC ; gras abdominal, GA ; jaune d'œuf, JO et plasma, Pl

La différence principale entre les résultats des simulations lors de l'exposition par le modèle après introduction des données physiologiques expérimentales et les résultats du modèle de base (Figures 27 et 28 vs. Figures 15 et 16), c'est que le modèle de base permet une atteinte du plateau en fin de la période d'exposition autour de 11 semaines, laquelle n'est pas atteinte après introduction des données physiologiques de l'expérimentation. Cela peut s'expliquer par le fait que l'augmentation du PV entre 210 et 336 jours d'âge est supérieure dans le modèle ajusté aux données physiologiques (environ 150 g) par rapport à l'augmentation de PV dans le modèle de base (environ 60 g) entre ces âges. Dans le jaune d'œuf, la concentration d'α-HBCD simulée reste sous-estimée par rapport aux données observées pendant les premières semaines d'exposition et atteint ensuite des valeurs proches de celles observées. La concentration de la molécule dans l'ensemble des matrices est plus élevée en fin de décontamination après ajustement du sous-modèle physiologique, et la courbe de décontamination du gras abdominal est améliorée sans corriger totalement la vitesse excessive de décontamination de cette matrice en comparaison avec les données observées.

Globalement l'introduction des données physiologiques expérimentales dans le sous-modèle physiologique ne permet d'améliorer ni la partition de la molécule entre les tissus ni de rapprocher les courbes de décontamination simulées vis-à-vis de celles observées à part celle du gras abdominal qui n'est toutefois pas totalement corrigée. Cela remet en question principalement certains composants qui gèrent dans le modèle la distribution de la molécule vers les tissus (Eq. 88), c'est-à-dire notamment le coefficient de partition de la molécule entre le tissu et le plasma (Kp_{tissue}, L kg^{-1}) et la représentation du métabolisme de la molécule par clairance hépatique (Eq. 90). Un ajustement des paramètres sélectionnés par l'analyse de sensibilité est ensuite abordé.

4.5.2 Ajustement des proportions de lipides neutres dans les lipides totaux des tissus et du plasma (tissue neut lipid ratio, kg kg^{-1}), du débit sanguin vers le foie (Liver coef, L kg $tissu^{-1}$ j^{-1}) et du taux d'extraction d'α-HBCD dans le foie (E_{liver}, %)

L'ajustement des paramètres relatifs à la proportion de lipides neutres dans les lipides totaux des tissus, de débit sanguin du foie et de taux d'extraction d'α-HBCD dans le foie vise à déterminer la valeur de ces paramètres qui permet un meilleur rapprochement de l'ensemble des concentrations d'α-HBCD simulées dans les tissus par rapport aux concentrations d'α-HBCD observées expérimentalement (µg kg^{-1} lipides). Pour cela, les données de concentration d'HBCD dans les tissus et les œufs (µg kg^{-1} lipides) du traitement expérimental correspondant sont importées dans Vensim pour ajustement des paramètres. Les caractéristiques d'exposition appliquées dans le modèle pour l'ajustement des

paramètres sont les mêmes que celles utilisées dans le traitement expérimental correspondant. Des éléments « payoff » sont sélectionnés, il s'agit des variables dont les valeurs doivent être rapprochées des valeur expérimentales aux différents points de cinétique disponibles, c'est-à-dire précisément la concentration d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans les matrices analysées expérimentalement. L'organisation de la calibration finalise avec la sélection des paramètres à ajuster, pour lesquels une plage de variation avec des limites minimale et maximale définies peut être fixée. Un rapport de résultats (« payoff report ») est produit par le logiciel Vensim suite à l'ajustement.

L'ajustement des paramètres suit la chronologie suivante :

-En utilisant les données expérimentales de concentration d'α-HBCD dans les tissus chez des poules exposées à des aliments contaminés à 40 µg kg^{-1} pendant 18 semaines, un premier ajustement d'E_{liver} est réalisé, vu que ce paramètre présente une influence considérable sur le transfert de la molécule vers l'ensemble des tissus. Ensuite, la valeur d'E_{liver} est modifiée à sa valeur ajustée et les proportions de lipides neutres dans les tissus (tissue neut lipid ratio, kg kg^{-1}) et dans le plasma pendant la ponte (plasma neut lipid ratio lay, kg kg^{-1}) sont ajustées sur ces mêmes données expérimentales. Les plages possibles de variation des paramètres de proportion de lipides neutres dans les tissus et dans le plasma pendant la ponte sont limitées à ±20% de leur valeur initiale.

-Sur les données expérimentales des poules exposées à des aliments contaminés à 40 µg kg^{-1} pendant 11 semaines suivies de 7 semaines de décontamination, un nouvel ajustement d'E_{liver}, avec l'ajustement simultané de Liver coef, est réalisé. Pour Liver coef, la plage de variation est limitée aux valeurs minimale (806 L kg^{-1} tissu j^{-1}) (Boelkins et al., 1973) et maximale (1670 L kg^{-1} tissu j^{-1}) (Wolfenson, 1986) retrouvées dans la bibliographie et correspondant à des mesures réalisées chez des poules en ponte.

La valeur de ces paramètres avant et après ajustement est présentée dans le Tableau 57.

Tableau 57 : acronyme, description et valeur des paramètres du modèle relatifs aux proportions de lipides neutres dans les lipides totaux des tissus et du plasma, de débit sanguin vers le foie et de taux d'extraction d'α-HBCD dans le foie avant et après ajustement du modèle

Acronyme	Description	Valeur avant ajustement	Valeur après ajustement	Unité
mA neut lipid ratio	Proportion de lipides neutres dans les lipides totaux des muscles pectoraux	0,55	0,56	kg kg^{-1}
mB neut lipid ratio	Proportion des lipides neutres dans les lipides totaux des muscles des cuisses	0,86	1,00	kg kg^{-1}
Liver neut lipid ratio	Proportion de lipides neutres dans les lipides totaux du foie	0,76	0,61	kg kg^{-1}
Plasma neut lipid ratio lay	Proportion de lipides neutres dans les lipides totaux du plasma pendant la ponte	0,79	0,63	kg kg^{-1}
Storagefat neut lipid ratio	Proportion de lipides neutres dans les lipides totaux du gras abdominal	0,98	0,99	kg kg^{-1}
Other neut lipid ratio	Proportion de lipides neutres dans les lipides totaux du compartiment "other"	0,96	0,96	kg kg^{-1}
Liver coef	Débit sanguin vers le foie	1200	1307,9	L kg $tissu^{-1}$ j^{-1}
E_{liver}	Taux d'extraction d'α-HBCD dans le foie	1,30%	1,70%	%

Pour pouvoir appliquer le modèle également aux stades physiologiques hors ponte (croissance et mue) et vu que dans le plasma deux valeurs existent pour la proportion de lipides neutres dans les lipides totaux (Plasma neut lipid ratio et Plasma neut lipid ratio lay, kg kg^{-1}) une correction de la proportion de lipides neutres dans les lipides totaux du plasma hors ponte (Plasma neut lipid ratio, kg kg^{-1}) est réalisée. Cette correction se fait sur l'hypothèse que la variation de Plasma neut lipid ratio doit être la même que celle subie pendant l'ajustement par Plasma neut lipid ratio lay, précisément une diminution de 20% par rapport à sa valeur basale (Tableau 58).

Tableau 58 : acronyme, description et valeur du paramètre du modèle relatif à la proportion de lipides neutres dans le plasma hors ponte, avant et après correction du paramètre suite à l'ajustement

Acronyme	Description	Valeur avant correction	Valeur après correction	Unité
Plasma neut lipid ratio	Proportion de lipides neutres dans les lipides totaux du plasma hors ponte	0,69	0,552	kg kg^{-1}

Les concentrations simulées d'α-HBCD dans les tissus et produits après ajustement des paramètres indiqués dans le Tableau 57 sont comparées à celles observées expérimentalement sur les Figures 29 et 30.

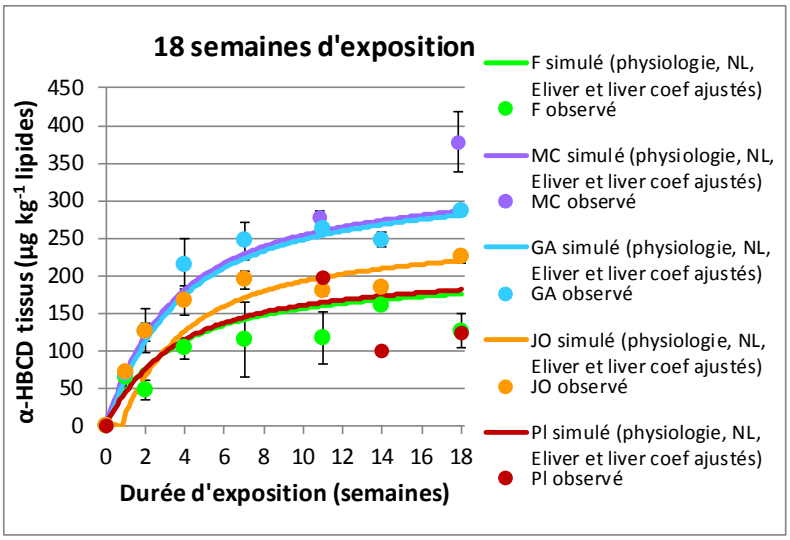


Figure 29 : concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans les différentes matrices, observées expérimentalement (« observé ») et simulées par le modèle après introduction des données physiologiques expérimentales et ajustement des proportions de lipides neutres dans les lipides totaux dans les tissus (NL), de liver coef et de E_{liver} (« simulé (physiologie, NL, E_{liver} et liver coef ajustés) ») pendant 18 semaines d'exposition à 40 µg d'α-HBCD kg^{-1} d'aliment

Matrices : foie, F ; gras abdominal, GA ; jaune d'œuf, JO ; muscles des cuisses, MC et plasma, Pl

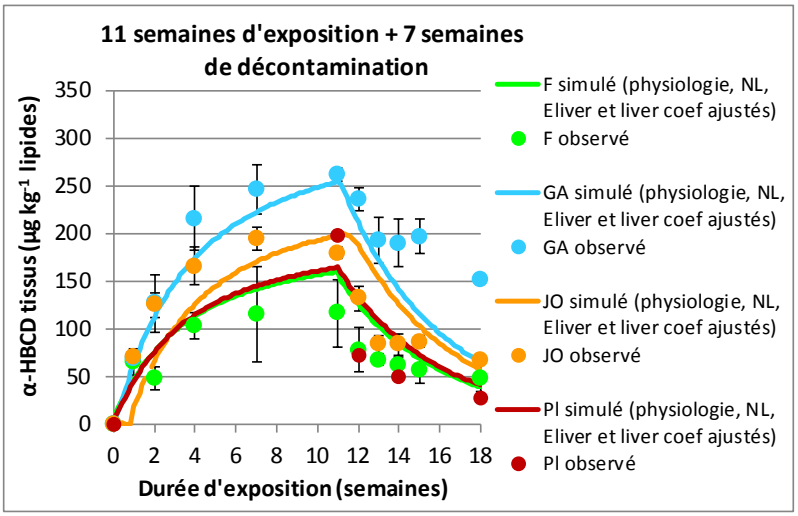


Figure 30 : concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans les différentes matrices, observées expérimentalement (« observé ») et simulées par le modèle après introduction des données physiologiques expérimentales et ajustement des proportions de lipides neutres dans les lipides totaux dans les tissus (NL), de liver coef et de E_{liver} (« simulé (physiologie, NL, E_{liver} et liver coef ajustés) ») pendant 11 semaines d'exposition à 40 µg d'α-HBCD kg^{-1} d'aliment suivies de 7 semaines de décontamination.
Matrices : foie, F ; gras abdominal, GA ; jaune d'œuf, JO et plasma, Pl)

En général pour l'ensemble des matrices, la concentration de la molécule (µg kg^{-1} lipides) s'est approchée des données observées après ajustement des paramètres sélectionnés en comparaison avec les résultats du modèle calibré par la valeur basale de tous les paramètres pendant l'exposition (Figure 29 vs. Figure 15) et la décontamination (Figure 30 vs. Figure 16).

Pendant l'exposition au contaminant (Figure 29), les concentrations simulées du modèle permettent un rapprochement adéquat des données observées pour le gras abdominal, le plasma et le jaune d'œuf. La concentration simulée dans le foie est légèrement surestimée. Pour les muscles des cuisses, la dernière des deux données observées indique une sous-estimation des concentrations simulées par rapport à celles observées, cependant le nombre réduit de données observées ne permet pas de conclure sur cette matrice.

En comparaison avec les valeurs observées en décontamination (Figure 30), la forme de la courbe de décontamination simulée est correcte pour le jaune d'œuf et le plasma. Ces courbes permettent d'atteindre en fin de décontamination des concentrations d'α-HBCD simulées proches des valeurs observées dans le foie, le plasma et le jaune d'œuf. Dans le gras abdominal, la décontamination simulée reste trop importante par rapport aux valeurs observées. Toutefois il convient de signaler que pour cette matrice, une amélioration de la courbe de décontamination est atteinte suite à l'ajustement des paramètres (Tableau 59).

Tableau 59 : concentrations observées, simulées par le modèle de base et simulées par le modèle de base ajusté, d'α-HBCD dans le gras abdominal (µg kg^{-1} lipides) après 11 semaines d'exposition (début de la décontamination) et après 7 semaines de décontamination. Pourcentage de variation dans la concentration de la molécule dans le gras abdominal entre le début et la fin de la décontamination.

Concentration d'HBCD dans le gras abdominal (µg kg^{-1} lipides)	Après 11 semaines d'exposition	Après 11 semaines d'exposition+7 de décontamination	% de variation
Observé	262	152	42
Simulé par le modèle de base	234	26,5	89
Simulé par le modèle de base ajusté	254	65	74

% de variation : pourcentage de variation dans la concentration d'α-HBCD dans le gras abdominal entre le début et la fin de la décontamination

En effet, en comparant les concentrations de la molécule dans le gras abdominal simulées par le modèle de base avec celles simulées après ajustement des paramètres, il est constaté que ce dernier permet l'obtention de valeurs plus proches des données observées, tant en fin d'exposition qu'en fin de décontamination, et une diminution moins rapide de cette concentration pendant la décontamination. En effet, une diminution de concentration de 89% est observée dans le modèle de base contre 74% après ajustement des paramètres. Cette diminution de concentration dans le gras abdominal reste toutefois trop rapide par rapport à la diminution réelle de concentration qui n'est que de 42%.

4.6 Validation du sous-modèle de transfert

Le modèle dans lequel les données physiologiques expérimentales ont été introduites (4.5.1) est repris ici. Les paramètres ajustés (Liver coef, Eliver et proportion de lipides neutres dans les lipides totaux des tissus) prennent pour valeur celle issue de l'ajustement (Tableaux 57 et 58). Une simulation du modèle est réalisée en considérant une exposition de la poule à de l'aliment contaminé à 3,62 µg kg^{-1} pendant 18 semaines. L'objectif est de valider le sous-modèle de transfert sur les données expérimentales disponibles chez des poules soumises à ce niveau d'exposition, différent de celui utilisé pour l'ajustement (Domínguez-Romero et al., 2016).

Les concentrations simulées d'α-HBCD dans les tissus et produits sont comparées en fonction de la durée d'exposition à celles observées expérimentalement sur la Figure 31. La relation entre les concentrations d'α-HBCD prédites et mesurées dans le gras abdominal, dans le jaune et dans le foie est présentée respectivement sur les Figures 32, 33 et 34.

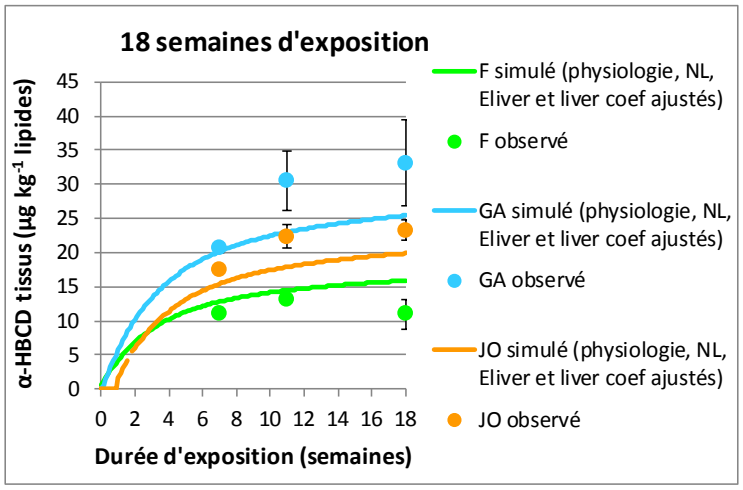


Figure 31 : concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans les différentes matrices, observées expérimentalement (« observé ») et simulées par le modèle après introduction des données physiologiques expérimentales et ajustement des proportions de lipides neutres dans les lipides totaux dans les tissus (NL), de liver coef et de E_{liver} (« simulé (physiologie, NL, E_{liver} et liver coef ajustés) ») pendant 18 semaines d'exposition à 3,62 µg d'α-HBCD kg^{-1} d'aliment

Matrices : foie, F ; gras abdominal, GA et jaune d'œuf, JO

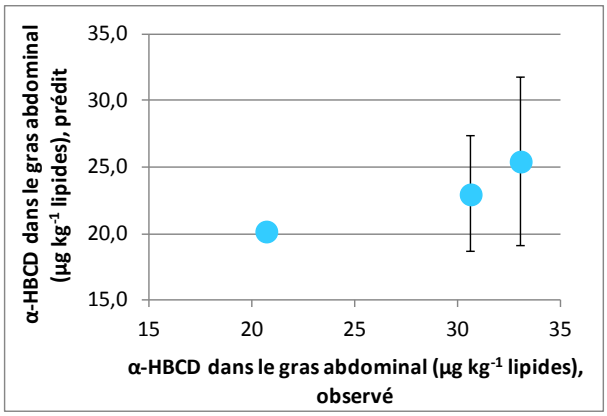


Figure 32 : relation entre les concentrations d'α-HBCD dans le gras abdominal prédites et mesurées chez les poules exposées pendant 18 semaines à un aliment contenant 3,62 µg d'α-HBCD kg^{-1}

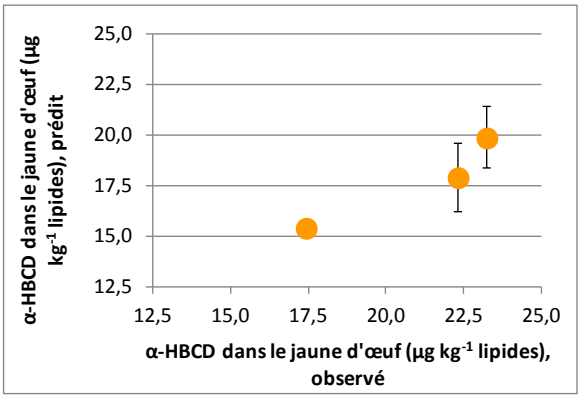


Figure 33 : relation entre les concentrations d'α-HBCD dans le jaune d'œuf prédites et mesurées chez les poules exposées pendant 18 semaines à un aliment contenant 3,62 µg d'α-HBCD kg^{-1}

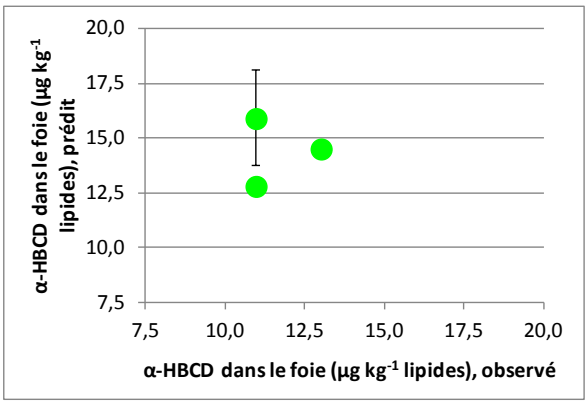


Figure 34 : relation entre les concentrations d'α-HBCD dans le foie prédites et mesurées chez les poules exposées pendant 18 semaines à un aliment contenant 3,62 µg d'α-HBCD kg^{-1}

Ces résultats montrent que les concentrations d'α-HBCD prédites dans le gras abdominal (Figures 31 et 32) et dans le jaune d'œuf (Figures 31 et 33) sont sous-estimées par rapport aux données observées expérimentalement. Dans le cas du foie (Figures 31 et 34), les

concentrations d'α-HBCD prédites par le modèle sont surestimées en comparaison avec les données observées. Ces écarts simulé vs. prédit sont principalement dus à la variabilité des résultats obtenus expérimentalement chez les poules pondeuses exposées au contaminant (Domínguez-Romero et al., 2016). Cela sera analysé en détail dans la discussion générale.

Cette validation est importante car l'ajustement des paramètres de transfert a été réalisé à partir de données obtenues chez des poules contaminées à 40 µg kg^{-1} d'aliment et l'évaluation réalisée à partir de poules soumises à un niveau d'exposition plus de 10 fois moins élevé, précisément 3,62 µg kg^{-1} d'aliment. L'absence d'autres jeux de données expérimentales de transfert de l'α-HBCD chez la poule pondeuse en décontamination ou en mue ne permettent pas d'évaluer le modèle dans ces situations. Bien que l'utilisation du modèle pour représenter une exposition accidentelle unique ou pour estimer le $t_{1/2}$ ne soit pas conseillée, car c'est pendant la décontamination que le modèle présente le plus d'incertitude, l'utilisation pendant la mue pour avoir une idée de l'effet de la mue sur la concentration de la molécule dans l'organisme et dans les œufs est moins contrainte du fait que pendant la mue la décontamination est partielle (l'ingestion est réduite sans être totalement arrêtée) et compensée en bonne partie par un arrêt progressif de la ponte.

4.7 Analyse de l'influence des caractéristiques physiologiques des poules pondeuses, caractéristiques de différents systèmes d'élevage, dans l'accumulation d'α-HBCD dans les tissus et son transfert vers l'œuf.

Le modèle de base (4.3.5) représentant la poule pondeuse sur l'ensemble des stades physiologiques est utilisé pour cette analyse. Les paramètres de proportion de lipides neutres dans les lipides totaux des tissus et du plasma, de débit sanguin vers le foie et de taux d'extraction d'α-HBCD dans le foie sont modifiés à leurs valeurs ajustées (Tableaux 57 et 58). Le modèle sera appelé désormais « modèle théorique », car en dehors des paramètres ajustés, la valeur des paramètres restants correspond aux résultats obtenus par analyse de données bibliographiques.

Comme commenté dans l'introduction du modèle, chaque système d'élevage utilise des souches de poules pondeuses adaptées au système en question. Certaines caractéristiques physiologiques des poules seront différentes selon la souche. A ce stade, le modèle doit permettre de hiérarchiser les caractéristiques physiologiques de plusieurs poules pondeuses « réelles » selon l'influence de ces caractéristiques sur le devenir de l'α-HBCD ingéré chez la poule. Quatre types de poules représentatives de quatre systèmes d'élevage seront représentées ensuite. Les scénarii d'élevage étudiés comprennent : élevage familial, circuit

court, poules en plein air et poules en cages. Pour chaque scénario, certaines caractéristiques physiologiques du modèle sont adaptées à celles d'une poule pondeuse représentative du système d'élevage correspondant. Ainsi, des caractéristiques liées d'un côté au poids vif (PV final et âge d'atteinte de ce PV final) et d'un autre côté à la ponte (taux de ponte, poids de l'œuf) sont modifiées selon chaque scénario. Certains scénarii comprennent la mise en place d'une mue (élevage familial et circuit court) et pas d'autres (plein air et élevage en cages). Les paramètres du modèle qui seront modifiés pour les quatre scénarii étudiés sont présentés dans le Tableau 60 (source des valeurs des paramètres propres aux quatre scénarii d'élevage étudiés : ITAVI).

Tableau 60 : valeur des paramètres du modèle liés au poids vif (PV), taux de ponte, poids de l'œuf et mise en place ou non de mue, correspondants à différents systèmes d'élevage

Variable	Paramètres modèle	Unités	Modèle théorique	*Elevages familiaux	*Circuit court	*Plein air	*Elevage en cages
PV	BW2	Kg	1,96	1,60	1,80	1,85	1,85
	AGE2g	J	476	800	640	485	550
Taux de ponte	LR max	%	90	70	70	70	90
	LR min	%	76	40	60	60	75
	LR persist	semaines	33	80	60	45	50
Poids de l'œuf	Wegg max	Kg	0,065	0,050	0,062	0,065	0,068
Molting	Age en début de mue	J	Mue de 42 j, à partir de 476 j	Mue de 42 j, à partir de 476 j	Mue de 42 j, à partir de 476 j	Pas de mue	Pas de mue

**Source des valeurs des paramètres des quatre scénarii d'élevage : ITAVI*

A noter que, jusqu'à présent le modèle comptait un AGE2 qui représentait l'âge auquel le PV est maximisé et la mue débute. Désormais, ce paramètre est découpé pour pouvoir appliquer les différents scénarii. L'âge auquel le poids vif est maximisé est désormais appelé AGE2g et AGE2 fait référence à l'âge de début de mue. Il a été vérifié que ce découpage ne changeait rien au modèle de base lorsqu'on donne la même valeur aux deux paramètres.

L'analyse des scénarii se fait pendant les stades de ponte et de mue. Une exposition de la poule par des aliments contaminés à 40 µg kg^{-1} est appliquée depuis le début du premier cycle de ponte (126 j) jusqu'à la fin de la simulation, avec ou sans mue selon le scénario. Les résultats de concentration d'α-HBCD dans les différents tissus (µg kg^{-1} lipides) après modification des paramètres par scénarii sont comparés aux concentrations obtenues par le modèle théorique, soumis à une même exposition au contaminant. Le pourcentage de

variation (PVar, %) dans la concentration d'α-HBCD dans les tissus est calculé à partir de ces résultats, comme indiqué à l'Eq. 99, pour deux âges représentatifs de la concentration plateau atteinte pendant les premier et deuxième cycles de ponte, précisément 350 et 640 jours respectivement. Deux âges représentatifs de la phase de perte de PV pendant la mue (488 j) et de récupération de PV en fin de mue (517 j) sont également considérés lors de l'analyse complète des systèmes d'élevage (4.7.1) et pour les systèmes d'élevage appliquant la mue (élevage familial et circuit court) lors de l'analyse par groupe de paramètres (4.7.2.1 et 4.7.2.2).

Un pourcentage de variation (PVar) positif indique une augmentation des concentrations d'α-HBCD dans les tissus selon les paramètres du scénario correspondant, en comparaison avec les valeurs de ces concentrations selon le modèle théorique. Un PVar négatif indique au contraire une diminution de la concentration d'α-HBCD dans les tissus selon les paramètres du scénario, en comparaison avec les concentrations simulées par le modèle de base.

4.7.1 Analyse des scénarii d'élevage complets

Les pourcentages de variation dans la concentration d'α-HBCD dans les tissus pour les différents scénarii sont montrés aux différents stades dans le Tableau 61.

Tableau 61 : pourcentages de variation (PVar) de la concentration d'α-HBCD dans tous les tissus (gras abdominal, foie, plasma, muscles pectoraux, muscles des cuisses, « other » ; aussi le jaune d'œuf pendant la ponte) aux différents âges représentatifs des différents stades physiologiques, après modification de l'ensemble des paramètres propres à quatre systèmes d'élevage différents.

	350 j (1er cycle de ponte)	**640 j (ponte)**	**488 j (mue, perte de PV)**	**517 j (mue, récupération de PV)**
Elevages avec mue				
Familiaux	21,2±0,24	21,7±0,22	21,1±0,10	13,9±0,12
Circuit court	8,1±0,04	8,0±0,06	7,1±0,02	5,2±0,05
Elevages sans mue				
Plein air	5,2±0,06	8,4±0,09	-48,6±4,9	-41,4±3,4
Cages	3,1±0,04	6,7±0,12	-49,7±4,8	-42,6±3,3

Ces données montrent des PVar toujours positifs pour les élevages familiaux et en circuit court, les élevages familiaux présentant les PVar les plus élevés sur l'ensemble des systèmes étudiés. Les élevages en plein air et en cages présentent également des PVar positifs à 350 et 640 jours d'âge (respectivement 1er et 2ème cycles de ponte dans le modèle de base ; les deux âges correspondent au 1er cycle de ponte dans les systèmes en plein air et en cages).

Ces PVar positifs sont dus à une augmentation de la concentration d'α-HBCD dans les tissus dans ces élevages en comparaison avec le modèle théorique, malgré un même niveau d'exposition appliqué. Ces résultats sont montrés sous forme graphique dans la Figure 35.

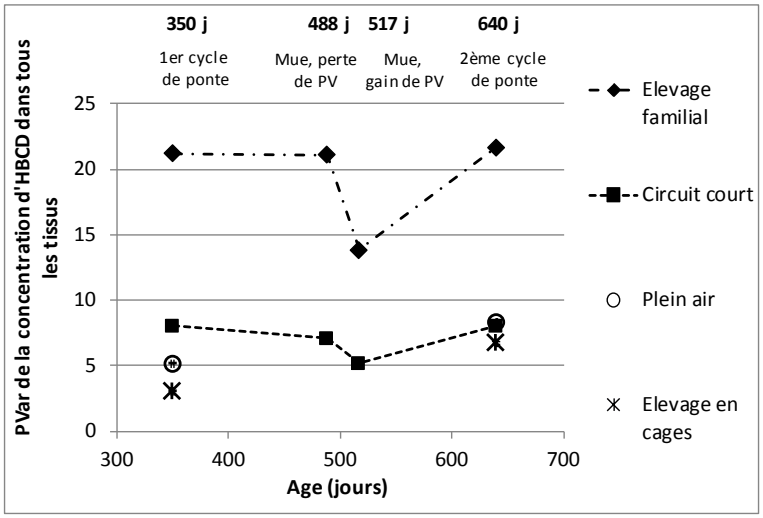


Figure 35 : pourcentages de variation (PVar) de la concentration d'α-HBCD dans tous les tissus (gras abdominal, foie, plasma, muscles pectoraux, muscles des cuisses, « other » ; aussi le jaune d'œuf pendant la ponte) aux différents âges représentatifs des différents stades physiologiques, après modification de l'ensemble des paramètres propres à chaque système d'élevage.
Les symboles représentent la moyenne du PVar dans tous les tissus ± écart-type

Les PVar moyens les plus élevés sont calculés pour les élevages familiaux, avec des valeurs entre 21,1 et 21,7% pendant la ponte (1er et 2ème cycles) et pendant la perte de PV lors de la mue et des PVar de l'ordre de 13,9% pendant la récupération de PV lors de la mue. Des concentrations dans les tissus plus de 20% plus élevées sont simulées pendant la ponte et le début de la mue pour une poule type d'un système d'élevage familial en comparaison avec une poule pondeuse théorique, quand on expose les deux poules au même niveau d'exposition. Des PVar moyens entre 7,1 et 8,1% sont calculés pour les élevages en circuit court pendant la ponte et pendant la perte de PV en mue et de 5,2% pendant la récupération de PV en mue. On observe dans les deux systèmes des variations moins importantes par rapport au modèle théorique, pendant la récupération de PV en mue qu'aux autres stades. Le stade de récupération de PV en mue était en effet moins sensible aux modifications sur l'ensemble des paramètres que les autres stades (4.4.3.1). Dans les élevages en plein air et en cages, les PVar obtenus en 2ème âge de ponte (640 j) sont entre 1,6 et 2 fois plus élevés que ceux calculés en 1er âge de ponte, ce qui n'avait pas été observé sur les deux autres systèmes. Cela peut s'expliquer par une influence du paramètre LR persist avec LR min, détectable uniquement quand la période de ponte est assez longue pour que la courbe de ponte atteigne sa partie descendante. En effet, selon la valeur des

paramètres disponibles par scénario, il n'y a que sur les élevages en plein air et les élevages en cages que LR persist est inférieur à la durée totale de la ponte, car c'est sur ces élevages qu'on n'introduit pas de mue. Ainsi, le 2ème âge de ponte correspond pour les scénarii avec mue au pic d'un 2ème cycle de ponte, tandis que pour les scénarii sans mue ce 2ème âge de ponte correspond à la partie descendante de la courbe du 1er cycle de ponte. L'augmentation du PVar est ainsi attribuable à la diminution du taux de ponte pendant la phase descendante de la courbe de ponte, ce qui fait augmenter la concentration de la molécule dans les tissus.

Pour les élevages en plein air et en cages, les PVar deviennent très négatifs à 488 et 517 j d'âge (Tableau 61). La raison de cela se trouve dans l'absence de mue dans ces deux systèmes d'élevages, en comparaison avec le modèle théorique où une mue est mise en place de 476 à 518 j. Ainsi, comme observé lors du développement du modèle (4.3.5), la mue est responsable d'une augmentation de la concentration d'α-HBCD dans les tissus, qui atteint au pic de mue, où le PV se trouve à son minimum, des concentrations de l'ordre de deux fois plus élevées que pendant la ponte. Ou pour le dire dans l'autre sens, des PVar de l'ordre de -50 à 488 et 517 j mettent en évidence des concentrations d'α-HBCD dans les tissus environ 50% moins élevées dans les systèmes sans mue en comparaison avec les concentrations simulées par le modèle théorique pendant la mue. La dispersion (écart-types) des PVar dans les tissus pour les élevages sans mue à ces âges est d'ailleurs plus élevée que dans les autres cas. De légères différences entre certains tissus sont en effet observées et montrées dans la Figure 36.

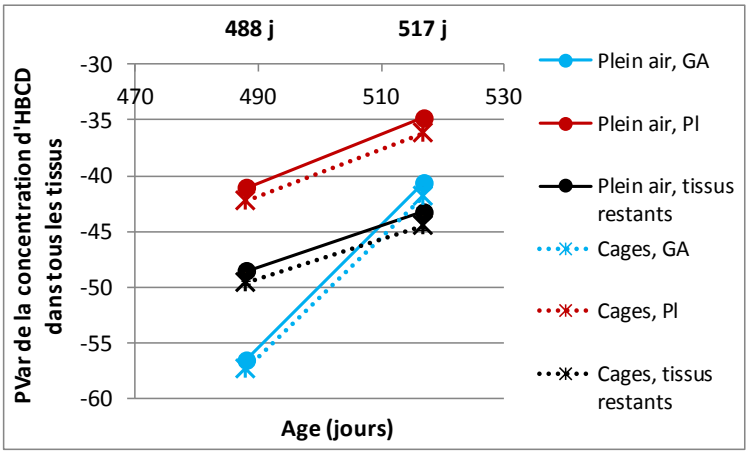


Figure 36 : pourcentages de variation (PVar) de la concentration d'α-HBCD dans le gras abdominal, dans le plasma et dans les tissus restants (foie, muscles pectoraux, muscles des cuisses, « other »), calculés pour des systèmes d'élevage sans mue, en comparaison avec les concentrations lors d'une mue. L'ensemble des paramètres propres à chaque système d'élevage ont été modifiés. Les symboles représentent la moyenne du PVar dans tous les tissus ± écart-type

Ces différences entre tissus sont cohérentes avec des observations sur les concentrations d'α-HBCD dans les tissus pendant la mue, en comparaison avec la ponte, abordées précédemment (4.3.5). En effet ces PVar sont calculés par rapport au modèle théorique, où une mue a lieu à ces âges. Plus précisément, l'augmentation de la concentration d'α-HBCD pendant la mue est légèrement moins importante dans le plasma et plus élevée dans le gras abdominal que dans les autres tissus. Cela peut s'expliquer pour le gras abdominal par une perte très importante (70%) du poids de ce tissu pendant la mue, ce qui favorise une augmentation importante de la concentration de la molécule dans ce tissu de stockage. L'augmentation des Kp de la molécule entre les tissus et le plasma pendant la mue explique de son côté l'augmentation moins importante de la concentration de la molécule dans le plasma que dans les autres tissus. De très petites différences sont observées à ces âges entre les systèmes en cages et en plein air. Des différences notamment dans les paramètres liés à la ponte caractérisent pourtant ces deux systèmes. Une analyse par groupe de paramètres sera développée ensuite, afin de déterminer l'influence de chaque groupe sur les concentrations d'α-HBCD dans les tissus.

4.7.2 Analyse par groupe de paramètres

L'analyse des scénarii complets montre des résultats d'une modification globale de plusieurs paramètres liés à des performances de ponte et au poids vif. Une analyse de scénarii partiels est réalisée ensuite par groupe de paramètres, lesquels sont groupés en : a) poids vif : BW2 et AGE2g ; et b) ponte : LR max, LR min, LR persist, Wegg max. Les valeurs de chaque groupe sont modifiées par scénarii tout en maintenant fixe l'autre groupe de paramètres et vice versa. Cette analyse par groupe de paramètres complète doit permettre de déterminer l'influence de l'ensemble des performances de poids de l'animal et de croissance (4.7.2.1) en comparaison avec l'influence des performances de ponte (4.7.2.2) représentatives de différents systèmes d'élevage, sur le transfert d'α-HBCD vers les tissus. L'impact de l'absence de mue ayant été étudié au préalable (4.7.1), les comparaisons se font ici entre d'un côté le modèle théorique et d'un autre côté les systèmes d'élevages partiels (après modification d'un seul groupe de paramètres), pour les stades physiologiques communs, c'est-à-dire pendant les deux cycles de ponte pour tous les systèmes d'élevage et pendant la mue pour les deux systèmes d'élevage avec mue.

4.7.2.1 Modification des paramètres liés au poids vif (BW2 et AGE2g)

Une modification exclusive des paramètres liés au poids vif (PV), précisément le PV final (BW2) et l'âge auquel le PV est maximisé (AGE2g) est réalisée, en appliquant les valeurs

correspondantes à chaque système d'élevage. Les pourcentages de variation dans la concentration d'α-HBCD dans les tissus pour les différents scénarii sont montrés aux différents stades sur la Figure 37.

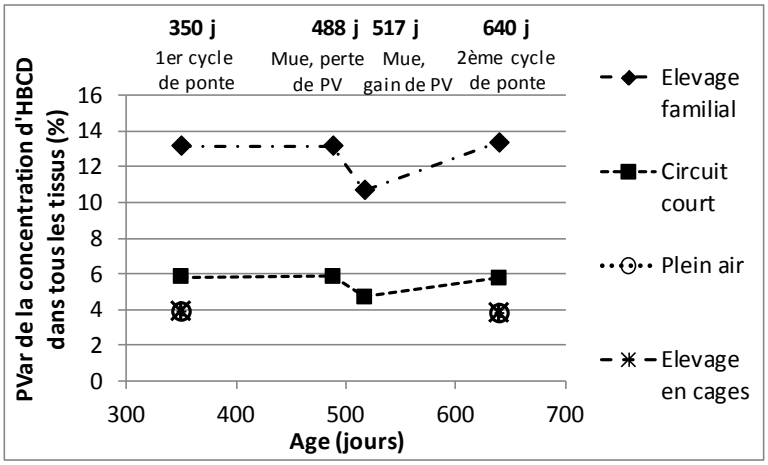


Figure 37 : pourcentage de variation (PVar) de la concentration d'α-HBCD dans tous les tissus (gras abdominal, foie, plasma, muscles pectoraux, muscles des cuisses, « other » ; aussi le jaune d'œuf pendant la ponte) aux différents âges représentatifs des différents stades physiologiques, après modification des paramètres liés au poids vif et à la croissance (BW2 et AGE2g) selon les valeurs correspondantes à chaque système d'élevage. Les symboles représentent la moyenne du PVar dans tous les tissus ± écart-type

Les PVar sont dans tous les cas positifs, ce qui indique que la valeur des paramètres correspondant à chaque scénario augmente les concentrations d'α-HBCD dans les tissus en comparaison avec les concentrations simulées par le modèle théorique. Au sein de chaque système d'élevage, le PVar est très proche entre les différents tissus pour chaque âge étudié. Comme commenté au préalable (4.7.1), ces PVar sont similaires pour les 1^{er} et $2^{ème}$ cycles de ponte ainsi que pour la phase de perte de PV pendant la mue et un peu moins élevés pendant la récupération de PV pendant la mue.

En accord avec les résultats de l'analyse des scénarii complets (4.7.1), les PVar résultants après modification des paramètres liés au PV sont plus élevés pour les systèmes d'élevages familiaux que pour les autres systèmes d'élevage. Ainsi, des PVar moyens de 13,2±0,18% sont calculés pour les élevages familiaux en ponte et en début de mue et de l'ordre de 10,7±0,11% en fin de mue. Ces PVar sont respectivement de l'ordre de 5,8±0,05% et 4,7±0,05% pour des élevages en circuit court. Pour les élevages en plein air et en cages, les PVar pendant la ponte se trouvent pour les deux systèmes entre 3,8 et 3,9% dans tous les tissus. Ces PVar très proches dans les élevages en plein air et en cages, qui présentent pourtant des valeurs d'AGE2g différents, s'expliquent par un même poids vif final (1,85 kg) dans les deux cas, proche du BW2 du modèle théorique (1,96). En effet, cette influence du

paramètre BW2 sur les résultats est également cohérente pour les deux autres systèmes. Ainsi, on peut conclure que les PVar très élevés calculés pour les systèmes d'élevage familiaux s'expliquent par un poids vif final bas des animaux. Cela est cohérent avec la sensibilité du modèle à BW2, qui montre des ratios de variation réponse/paramètre de l'ordre de -0,5 à -1 (Tableau 42). Cela signifie une variation inversement proportionnelle de la concentration d'α-HBCD dans les tissus vis-à-vis de la variation du paramètre, autrement dit si BW2 diminue la concentration d'α-HBCD dans les tissus augmente et vice versa. L'influence d'AGE2 (Tableau 42) était due simplement au fait que ce paramètre représentait jusqu'ici non seulement l'âge auquel le PV est maximisé mais également l'âge de début de la mue et c'est à cause de cette dernière raison qu'il avait une influence uniquement aux âges postérieurs à AGE2 et non pas pendant la croissance. AGE2 a été découpé pour l'analyse des scénarii et c'est uniquement l'âge auquel le poids vif est maximisé (AGE2g) qui est modifié et n'a certainement pas d'influence, au vu des résultats de l'analyse de sensibilité sur AGE2 pendant la fin de croissance et des résultats de la simulation des scénarii, qui montrent les mêmes PVar pour des poules d'élevage en cages et d'élevage en plein air, tandis que AGE2g est différent pour les poules de ces deux systèmes d'élevage.

4.7.2.2 Modification des paramètres liés aux performances de ponte (LR max, LR min, LR persist, Wegg max)

En maintenant les paramètres BW2 et AGE2g à leurs valeurs théoriques (précisément respectivement 1,96 kg et 476 j), les paramètres liés aux performances de ponte sont ici successivement modifiés pour étudier leur impact sur les concentrations d'α-HBCD dans les tissus. Les pourcentages de variation (PVar) des concentrations d'α-HBCD dans les tissus après modification des paramètres de ponte selon le scénario vis-à-vis des concentrations d'α-HBCD dans les tissus selon le modèle de base sont montrés dans la Figure 38.

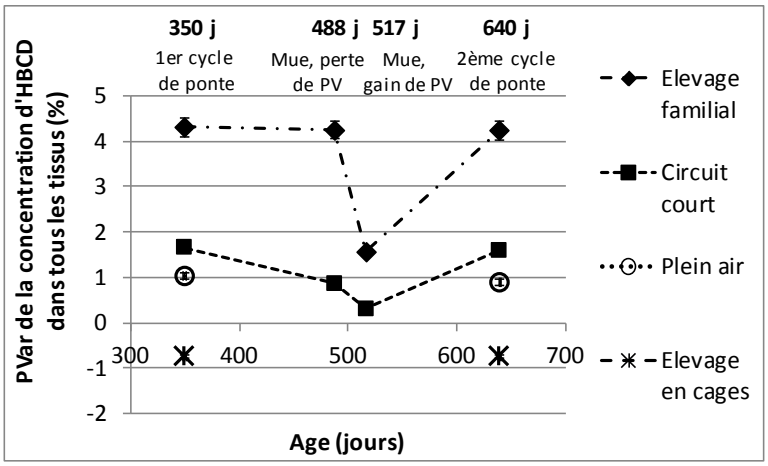


Figure 38 : pourcentage de variation (PVar) de la concentration d'α-HBCD dans les tissus (gras abdominal, foie, plasma, muscles pectoraux, muscles des cuisses, « other » ; aussi le jaune d'œuf pendant la ponte) aux âges représentatifs des différents stades physiologiques, après modification des paramètres liés à la ponte (LR max, LR min, LR persist, Wegg max) selon les valeurs correspondantes à chaque système d'élevage.
Les symboles représentent la moyenne du PVar dans tous les tissus ± écart-type

Les PVar résultants des modifications des paramètres liés à la ponte sont positifs pour la plupart des systèmes, à l'exception de l'élevage en cages pour lequel ils sont proches de 0 et légèrement négatifs. A la différence des PVar élevés calculés à partir des modifications des paramètres de poids vif, les modifications des paramètres de ponte donnent lieu à des PVar inférieurs à 5% dans tous les cas, ainsi la modification des paramètres de ponte ne fait pas varier les concentrations d'α-HBCD dans les tissus de plus de 5%. Les PVar les plus élevés sont rapportés pour les élevages familiaux, où ces PVar sont calculés à 4,3±0,19% pendant la ponte (1er et 2ème cycles) et en début de mue et à 1,6±0,06% pendant la récupération de PV lors de la mue. Les PVar dans les élevages en circuit court et en plein air se trouvent entre 0 et 2% et d'environ -0,7% dans les élevages en cages pendant la ponte. Les valeurs légèrement négatives calculées pour les élevages en cages indiquent que les caractéristiques très performantes de ponte représentatives des poules utilisées dans ces élevages tendent à diminuer légèrement les concentrations d'α-HBCD dans les tissus par rapport aux concentrations simulées par le modèle théorique. Il convient de rappeler sur ce point que la valeur de ces paramètres dans le modèle théorique a été sélectionnée sur des données bibliographiques de ponte correspondantes à des poules Isa Brown, sélectionnées pour leurs performances de ponte élevées. Dans l'autre sens, les performances de ponte moins bonnes des poules non sélectionnées dans des élevages familiaux, dans des élevages à circuit court, ou des souches rustiques utilisées dans des élevages de plein air prédisposent à des concentrations plus élevées d'α-HBCD dans les tissus que chez des souches pondeuses très performantes. En effet, la ponte représente une voie d'élimination d'α-HBCD depuis l'organisme. L'amélioration des performances de ponte permet d'augmenter l'élimination du contaminant depuis l'organisme dans l'œuf pondu. D'ailleurs, cette élimination

augmentée par la ponte ne signifie pas une diminution de la concentration d'α-HBCD dans les tissus aux dépens d'une augmentation de cette concentration dans l'œuf. De façon simple, on peut dire que chez les poules pondeuses très performantes, plus d'α-HBCD est éliminé dans un nombre d'œufs plus élevé. Une corrélation positive (0,996 ; P<0,001) est confirmée entre la concentration d'α-HBCD dans l'œuf et la concentration d'α-HBCD dans tous les tissus pour tous ces systèmes d'élevage. Ainsi, les poules présentant une concentration d'α-HBCD dans les tissus plus élevée à cause d'une ponte peu performante, présentent également une concentration d'α-HBCD plus élevée dans les œufs.

4.7.3 Discussion : influence des caractéristiques de l'animal dans l'accumulation d'α-HBCD dans les tissus et son transfert vers l'œuf chez la poule pondeuse

L'analyse de l'influence des caractéristiques de quatre poules-type représentatives de différents systèmes d'élevage permet de conclure que les variations de concentration d'α-HBCD dans les tissus et dans l'œuf selon la souche représentée s'expliquent principalement par les différences liées au poids vif final et cela à tous les stades physiologiques étudiés (1er cycle de ponte, mue, 2ème cycle de ponte). Des augmentations dans la concentration d'α-HBCD dans les tissus et dans l'œuf (PVar) entre 3,8 et 13,4% sont rapportées pour les différentes souches, ces PVar étant inversement proportionnelles à « BW2 ». Cela est cohérent avec les résultats de l'analyse de sensibilité qui ont mis en évidence une influence inverse du poids vif final de l'animal sur la concentration de la molécule dans les différents tissus et dans l'œuf.

Des performances élevées de ponte tendent à diminuer légèrement (entre 0,7 et 5% selon la souche) la concentration d'α-HBCD et dans les tissus et dans les œufs. Cela est en accord avec une augmentation des PVar au 2ème âge de ponte observée pour les scénarii sans mue en comparaison avec la PVar rapportée au 1er âge de ponte. Cela est dû à la diminution du taux de ponte dans la phase descendante finale de la courbe de ponte qui provoque une augmentation de la concentration de la molécule dans les tissus en comparaison avec les concentrations atteintes au pic de ponte. Toutefois la mue a une influence beaucoup plus importante sur la concentration d'α-HBCD dans les tissus que l'atteinte de la partie descendante de la courbe de ponte.

Au pic de mue, les concentrations d'α-HBCD dans les tissus augmentent d'environ deux fois leurs valeurs en ponte, avec de légères différences pour certains tissus (gras abdominal et plasma). A la reprise de la ponte, une augmentation de la concentration d'α-HBCD de plus de

60% est rapportée dans les premiers œufs, en comparaison avec les œufs pondus au pic de ponte. Ces niveaux n'atteignent les valeurs retrouvées lors du premier cycle de ponte qu'environ 65 jours après le début de la mue.

A noter enfin que les pourcentages de variation (PVar) des concentrations d'α-HBCD sont plus élevés quand les scénarii complets sont simulés, en comparaison avec la somme des PVar obtenus en faisant varier séparément chaque groupe de paramètres. Ainsi, pour le premier cycle de ponte, la somme des PVar obtenus séparément sur les paramètres de poids vif puis sur ceux de ponte représentent entre 82 et 94% des PVar obtenus sur les scénarii complets. Cela suggère un renforcement de l'influence des paramètres sur les concentrations d'α-HBCD dans les tissus quand plusieurs paramètres sont modifiés simultanément.

Au niveau de la gestion de risque de contamination d'α-HBCD dans les œufs, dans les élevages, il est préférable l'utilisation de poules à poids vif élevé, ou d'éviter du moins les poules à poids vif très réduit. Les performances de ponte élevées étant souhaitables tant du point de vue économique que de celui de la gestion de risques, ces caractéristiques ont moins d'influence sur la contamination des produits que le volume corporel. La mue provoque une augmentation très importante de la concentration de la molécule dans l'organisme et également dans les œufs pondus après la mue. Les concentrations d'α-HBCD dans l'œuf ne retrouvent leurs valeurs avant la mue qu'après plus de 2 mois de ponte post-mue.

4.8 Conclusion du modèle

Cette thèse a permis le développement et l'évaluation d'un modèle PBPK de transfert de l'α-HBCD chez la poule pondeuse à différents stades physiologiques (fin de croissance, 1er cycle de ponte, mue, 2ème cycle de ponte). En comparaison avec d'autres animaux d'élevage (porc, poulet) représentés dans un modèle conceptuel commun aux trois espèces, la représentation de la poule pondeuse présente des particularités structurelles (représentation de la formation de l'œuf, de toutes les variations liées à la ponte pendant la vie d'une poule (taux de ponte, poids de l'œuf…) du transfert de la molécule vers les follicules) mais surtout une plus grande complexité dans le nombre d'équations et de paramètres à calibrer pour l'ensemble des stades physiologiques , de nombreuses modifications physiologiques à mettre en place à chaque changement de stade physiologique (irrigation, modifications de poids vif, de poids des tissus, d'ingestion, de

composition de l'organisme et des tissus dont notamment le sang) des choix comme la modification de certaines équations (ex. clairance hépatique)….

La calibration de la totalité des paramètres du modèle (excepté le taux d'extraction hépatique de la molécule, qui a dû être ajusté) a pu être réalisée grâce à une recherche bibliographique approfondie, à la création de deux bases de données et à l'analyse de ces données. L'ensemble des étapes d'analyse de sensibilité, d'ajustement du modèle aux données expérimentales, d'évaluation du modèle et d'évaluation des scénarii d'élevage ont été également réalisées. Les principales caractéristiques et résultats de ce modèle sont présentés de façon résumée dans les Tableaux 62 et 63.

Tableau 62 : principales caractéristiques du modèle de transfert de l'α-HBCD chez la poule pondeuse développé pendant cette thèse, 1ère partie

Auteurs		**Thèse doctorat Dominguez-Romero E., 2016**
Type de modèle		PBPK
Animal		Poule pondeuse à différents stades physiologiques (fin de croissance, 2 cycles de ponte, 1 mue)
Molécule		α-HBCD
Objectifs principaux		Hiérarchisation de certaines caractéristiques physiologiques (poids vif et ponte) selon leur influence sur le devenir de la molécule chez la poule pondeuse. Etude de l'impact du stade physiologique sur ce devenir.
		Possibilité d'extrapolation du modèle à d'autres espèces et d'autres molécules lipophiles
Force motrice du modèle		Poids vif, caractéristiques de ponte
Compartiments représentés		Foie, plasma, gras abdominal, muscles des cuisses, filets, "other", follicules en croissance
Type d'information sur les compartiments		Poids (kg), lipides totaux (kg), lipides neutres (kg), débit sanguin (L j^{-1}), quantité d'α-HBCD (kg)
Hypothèse structurelle	**Echanges de la molécule entre les différentes matrices**	Transfert vers les tissus en fonction de : Kp de la molécule entre les tissus et le sang (estimés comme le ratio des concentrations des lipides neutres dans le tissu et le plasma à chaque instant t) et débits sanguins vers les tissus.
		Transfert vers le follicule en fonction de : dépôt quotidien de lipides neutres dans le follicule et concentration d'HBCD dans les lipides neutres du plasma
		Partition instantannée de la molécule du sang vers les tissus, et homogène au sein de ceux-ci
	Clairance hépatique	Calculée en fonction du débit sanguin du foie, du taux d'extraction hépatique de la molécule et de la concentration de la molécule dans le plasma
	Ingestion	Calculée en fonction du PV en fin de croissance. Ponte : fonction du PV (kg), du gain de PV (kg j^{-1}) et de la quantité d'œuf pondu par jour (kg j^{-1}). Mue : restriction alimentaire puis augmentation de l'ingestion en fonction du PV et du gain de PV
	Représentation du taux de ponte	Fonction des taux de ponte maximal, minimal, de la persistance de la courbe de ponte, et du moment de la courbe de ponte selon l'âge
		Durée minimale de la série de ponte : 1 j ; périodes de pause entre séries pouvant être supérieures à 1 j
	D'autres	Variation du poids de l'œuf selon l'âge et le taux de ponte
		Variation de la proportion de jaune dans l'œuf selon le poids de l'œuf
		PV fonction de l'âge par une équation de Gompertz, poids des tissus en fonction du poids vif (allométries)
		Débit cardiaque fonction du PV

Tableau 63 : principales caractéristiques du modèle de transfert de l'α-HBCD chez la poule pondeuse développé pendant cette thèse, 2ème partie

Auteurs	**Thèse doctorat Dominguez-Romero E., 2016**
Principales simplifications	Proportion de lipides neutres dans les lipides totaux de chaque matrice estimée comme la somme des proportions de triglycérides, de cholestérol total et 0,3 fois la proportion de phospholipides
	Seul le métabolisme hépatique est considéré. En l'absence de données de la littérature sur le taux d'extraction de l'α-HBCD dans le foie, ce paramètre est obtenu par ajustement du modèle
	Pas de processus de saturation ou d'induction du métabolisme considérés
	Pas de représentation d'une possible circulation entérohépatique de la molécule
	Agrégation des compartiments pas représentés individuellement dans un compartiment "other"
	La fraction maximale de perte de poids des tissus (Prop Wtissue molt) pendant la mue a été fixée à 20% pour les muscles et 25% pour le sang, en l'absence de données de la littérature sur ces valeurs
Evaluation	oui
Principaux résultats	La mue provoque une augmentation très importante de la concentration de la molécule dans les tissus et dans l'œuf, qui peut doubler pendant cette période
	Parmi les principales caractéristiques physiologiques étudiées par souche, le PV final est la principal influençant la concentration de l'α-HBCD dans les tissus et dans les œufs : suite à une exposition donnée, la concentration est plus élevée chez des poules légères
	Les performances de ponte (taux de ponte maximal et minimal dans la courbe de ponte, persistance, poids de l'œuf) présentent une influence moins importante mais pas négligeable sur la concentration d'α-HBCD dans les tissus et les œufs : des performances élevées de ponte tendent à diminuer cette concentration
	Estimation du taux d'extraction de l'α-HBCD dans le foie à 1,7%
	Possibilité d'extrapoler le modèle vers d'autres animaux et vers d'autres molécules lipophiles en modifiant la valeur des paramètres

Le développement du modèle a exigé l'adoption de quelques hypothèses simplificatrices. Les principales simplifications ont consisté à :

- Considérer que les lipides neutres plutôt que les lipides totaux déterminent la distribution tissulaire de l'α-HBCD. La proportion de lipides neutres dans les lipides totaux (Tissue neut lipid ratio) est calculée pour chaque matrice comme la somme des triglycérides (TG), du cholestérol (CH) total et de 30% des phospholipides (PH) (Haddad et al., 2000). La pertinence de cette équation pour estimer à partir du profil lipidique le profil de lipides neutres afin de représenter la partition de l'α-HBCD dans

le modèle a été remise en question. En effet, tout le cholestérol a été comptabilisé dans la fraction des lipides neutres, malgré des différences de polarité entre le cholestérol estérifié et le cholestérol libre, ce dernier étant relativement polaire (Diaz et al., 2008). Le cholestérol représente une proportion non négligeable des lipides totaux dans des tissus comme le foie (Entenman et al., 1940; Zhang et al., 2011a) et le plasma (Yu et al., 1976), et c'est justement sur ces deux matrices que les concentrations de la molécule simulées par le modèle restent surestimées malgré l'ajustement des paramètres (Figure 15). Un ajustement des proportions de lipides neutres dans les lipides totaux des différents tissus et du plasma a été réalisé pour pallier à de possibles biais dus à l'utilisation de cette équation.

- Représenter seulement le métabolisme hépatique de la molécule. Pour l'α-HBCD, cette simplification est cohérente avec la prédominance montrée du métabolisme hépatique et de l'élimination fécale sur d'autres voies. Cet aspect sera à considérer si l'on souhaite extrapoler le modèle sur des molécules où l'élimination rénale est plus importante, ou si l'on complexifie le modèle pour représenter l'élimination des métabolites et pas uniquement des molécules lipophiles parentales.
- Ne pas représenter une possible circulation entéro-hépatique de l'α-HBCD. La circulation entéro-hépatique consiste en la réabsorption d'une partie des molécules transportées dans la bile depuis le foie vers l'intestin, à la différence du reste des molécules qui, n'étant pas réabsorbées, ressortiront vers l'extérieur dans les fèces. Des études chez des rongeurs ont mis en évidence ce type de circulation pour certains RFB, précisément le 2,2-Bis(bromomethyl)-1,3-propanediol (BMP) (Hoehle et al., 2009), le tris(2,3-dibromopropyl)phosphate (Tris) (Hakk and Letcher, 2003) ou le tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) (Meijer et al., 2006). Chez la volaille, cette circulation a également été mise en évidence pour les polybromobiphényles (PBB) (Polin et al., 1985). Ces RFB présentent généralement soit une élimination majoritaire dans l'urine (Hakk and Letcher, 2003; Hoehle et al., 2009; Staskal et al., 2006) soit une élimination fécale à un taux d'élimination très réduit (Matthews et al., 1977). En effet la circulation entéro-hépatique limite l'élimination fécale des molécules. L'élimination fécale importante de l'HBCD va dans le sens que l'élimination entérohépatique de cette molécule, dans le cas où elle aurait lieu, elle ne serait en tout cas importante. Par ailleurs 100% de l'HBCD présent dans la bile, qui arrive dans l'intestin, se trouve sous forme de métabolites (Szabo et al., 2010; Szabo et al., 2011a). L'hypothétique circulation entéro-hépatique se ferait donc sur les métabolites. Or, ce modèle représente uniquement la molécule mère, l'α-HBCD, et non pas les métabolites qui peuvent être produits, qui d'ailleurs n'ont pas été

quantifiés expérimentalement chez la poule pondeuse (Domínguez-Romero et al., 2016).

- Ne pas représenter des phénomènes de saturation du métabolisme ou d'induction d'enzymes dans le modèle. Des mécanismes d'induction du métabolisme hépatique selon la dose d'HBCD total ou d'α-HBCD ont été observés chez le rat (Germer et al., 2006) et sur des hépatocytes d'embryon de poulet (Crump et al., 2008). Des phénomènes de saturation du métabolisme de l'α-HBCD ont été suggérés par des études chez la souris (Szabo et al., 2011a) et chez le rat (Van der Ven et al., 2006). Cependant aucune information expérimentale ne permet de conclure quant à l'intervention de ces mécanismes dans le métabolisme de l'α-HBCD chez la volaille adulte, et encore moins à définir les concentrations de la molécule dans l'organisme en dessus ou en dessous desquelles ces mécanismes interviendraient. Si c'était le cas, il serait simple de mettre en œuvre ces mécanismes dans le modèle, comme cela sera commenté dans la discussion générale. Les résultats expérimentaux concluent à une cinétique de 1er ordre pour l'ensemble des tissus pour les deux doses étudiées. Cette hypothèse semble ainsi cohérente pour ces doses.

Une discussion des principaux résultats, atouts et limites du modèle est présentée ci-dessous (5).

5 Discussion générale

Cette thèse contribue à l'analyse du risque de contamination des poules pondeuses par l'α-HBCD. La discussion générale de nos travaux abordera les points suivants :

- ✓ Les principaux atouts et limites du modèle pharmacocinétique basé sur la physiologie (PBPK) qui a été construit et qui permet de hiérarchiser les caractéristiques physiologiques de la poule pondeuse sur l'accumulation dans les tissus et le transfert vers les œufs de l'α-HBCD.
- ✓ La complémentarité des deux approches utilisées (modélisation et expérimentation *in vivo*). Les paramètres cinétiques de transfert et d'accumulation de l'α-HBCD chez la poule pondeuse seront comparés à des résultats obtenus pour d'autres isomères de l'HBCD et chez d'autres espèces.
- ✓ La contribution des résultats de la thèse à la maitrise de risque de contamination par l'α-HBCD des produits issus de la poule pondeuse (œufs et tissus) sera mise en valeur, avec des recommandations pratiques d'intérêt pour la filière avicole.
- ✓ Enfin des perspectives de généralisation du modèle et des travaux d'expérimentation complémentaires pour clarifier certaines questions seront proposés.

5.1 Influence des caractéristiques physiologiques de la poule pondeuse sur l'accumulation de l'α-HBCD dans les tissus et son transfert vers l'œuf : pertinence de la modélisation PBPK, atouts et limites du modèle développé

Une présentation résumée des caractéristiques les plus importantes du modèle et une discussion des principales simplifications du modèle a été réalisée à la fin du chapitre précédent (4.8). Le Tableau 64 présente de façon résumée des atouts et des limites du modèle développé, ainsi qu'une vue de certaines caractéristiques communes des modèles de transfert de polluants lipophiles chez la poule pondeuse développées par Fournier (2011 ; 2015) et MacLachlan (2010).

Tableau 64 : résumé des atoûts et limites du modèle développé pendant cette thèse. Caractéristiques communes et différences vis-à-vis des modèles de MacLachlan (2010) et Fournier (2011)

		Thèse Dominguez-Romero, 2016	MacLachlan (2010)	Fournier (2011) ; Fournier et al. (2015)
Atouts	Représentation de plusieurs stades physiologiques	**Oui**	Non	**Oui**
	Ingestion	**Variable**	**Théoriquement variable**	Fixe
	Taux de ponte	**Variable**	Fixe	**Variable**
	Variation du poids de l'œuf	**Variable**	Fixe	Fixe
	Variation de la proportion de jaune dans l'œuf	**Variable**	Fixe	Fixe
	Estimation du taux d'extraction hépatique	**Oui**	**Oui**	Non
	Hiérarchisation caractéristiques physiologiques	**Oui**	Non	**Oui**
	Extrapolation à d'autres espèces et molécules lipophiles	**Oui (PBPK)**	**Oui (PBPK)**	Ajustement préalable de paramètres
Interface atouts-limites	Caractéristiques représentées par matrice	Poids, lipides totaux, lipides neutres, débit sanguin, quantité de molécule	Poids, lipides totaux, débit sanguin, quantité de molécule	Lipides totaux et quantité de molécule
	Nombre de matrices (tissus ou produits) différenciées	7	6	3
Limites	Validation	Non	Non	Oui

Nous aborderons dans un premier temps les **limites** du modèle développé :

- Ce modèle représente un nombre élevé de matrices, de caractéristiques par tissu (poids, lipides totaux, lipides neutres, débit sanguin) qui se traduisent par 62 paramètres (vs. 32 paramètres chez Fournier et al., 2015). La question de la pertinence de représenter autant de compartiments individualisés et de paramètres peut se poser. En effet la valeur de chaque paramètre présente un degré d'imprécision lié à la variabilité des données bibliographiques ayant servi à estimer cette valeur. D'ailleurs malgré une recherche bibliographique approfondie, un nombre limité de données, présentant une variabilité importante ou dans certains cas provenant d'anciennes publications a été retrouvé dans la littérature pour calibrer les paramètres de débit sanguin des tissus et de proportion de lipides neutres dans les lipides totaux des tissus. Un modèle avec moins de compartiments (foie, plasma, jaune d'œuf et « other »), parmi lesquels le foie, le plasma et le jaune d'œuf puissent être ajustés sur des données expérimentales permettrait peut-être

d'augmenter la précision du modèle sur tous les compartiments. En effet, l'information retrouvée dans la littérature sur le poids, la composition lipidique (lipides totaux et lipides neutres) et l'irrigation de ces compartiments chez la poule pondeuse est beaucoup plus importante que les informations relatives aux filets, aux muscles des cuisses ou au gras abdominal. Dans le cas où l'information n'est pas suffisante et que des composantes du modèle doivent être éliminés, le compartiment « other » prendrait le relais. En effet, toutes les caractéristiques du compartiment « other » (poids, poids des lipides, poids des lipides neutres, coefficient de partition et perfusion sanguine) sont calculées par différence entre le corps entier et les tissus renseignés.

- La décontamination trop rapide du GA n'a pas pu être corrigée. Deux modifications principales ont été testées sur le modèle de base ; parmi elles une division du gras abdominal en deux sous-compartiments dont l'un à flux sanguin réduit. Ce type de modification sur le tissu adipeux a permis à MacLachlan (2010) de représenter correctement la cinétique de décontamination des deux polluants « dioxines et alpha-cyperméthrine ». Ce type de modification n'a pas permis de corriger la décontamination trop rapide de l'α-HBCD du GA dans le modèle, du fait d'une faible sensibilité du modèle aux paramètres de débit sanguin des tissus. En effet, l'analyse de sensibilité aurait dû précéder des modifications dans la structure ou les équations d'un modèle plus ou moins fini. En réalité seule la modification consistant en une rétention de la molécule dans certains compartiments par diminution du flux veineux a eu une influence sur les simulations. Or, cette correction théorique ne permettrait pas en définitive de justifier d'un point de vue physiologique ou biochimique la valeur de ces paramètres de limitation du flux veineux de sortie de la molécule depuis les tissus. Ainsi, la décontamination trop rapide du gras abdominal n'ayant pas pu être totalement corrigée, l'utilisation du modèle pour représenter une exposition accidentelle unique ou pour estimer le $t_{1/2}$ des molécules n'est pas totalement satisfaisante.
- Une validation du sous-modèle de transfert a été tentée sur des données expérimentales correspondants à 3 matrices (gras abdominal, foie et jaune d'œuf) pour un niveau d'exposition environ 11 fois moins élevé que celui des poules dont les données expérimentales ont servi à l'ajustement des paramètres (4.6). Les résultats obtenus sur le niveau bas d'exposition montrent que le modèle sous-estime les concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans le gras abdominal et dans le jaune d'œuf, et surestime la concentration dans le foie (Figure 31). Or, en considérant le niveau élevé d'exposition, seule une légère sur-estimation des

concentrations estimées sur les concentrations estimées a été observée dans le foie, tandis que les concentrations simulées de la molécule dans le jaune d'œuf et dans le gras abdominal sont proches des données observées (Figure 29). La raison principale de ces différences n'est pas due en réalité au modèle mais à des différences des résultats expérimentaux entre les deux niveaux (Domínguez-Romero et al., 2016). Du fait du nombre limité de points de cinétique, ces différences statistiquement non significatives empêchent une validation du modèle. Cela est illustré par la Figure 39 où les concentrations d'α-HBCD (µg kg^{-1} lipides) dans le jaune d'œuf, le gras abdominal et le foie simulées et observées chez des poules recevant des aliments contaminés soit à 40 µg kg^{-1} soit à 3,62 µg kg^{-1} ont été normalisées en les divisant par la concentration de la molécule dans l'aliment (µg kg^{-1}), afin de pouvoir les comparer.

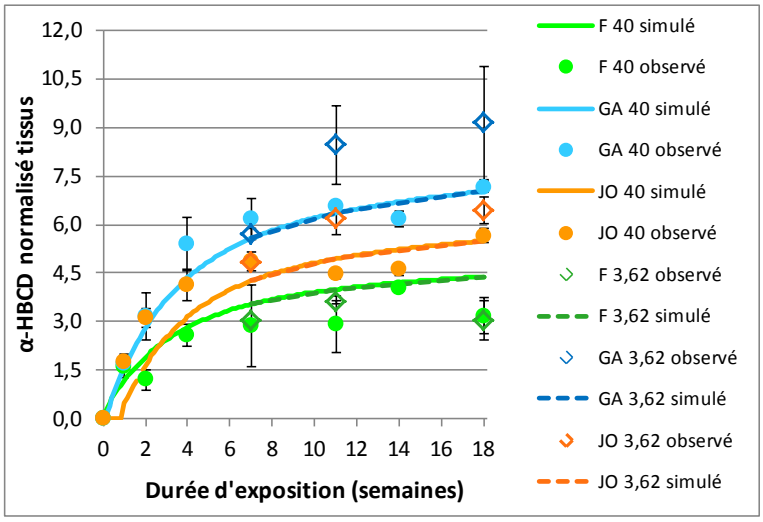


Figure 39 : concentrations normalisées d'α-HBCD dans les tissus après division par la concentration de la molécule dans l'aliment, observées expérimentalement (« observé ») et simulées par le modèle (« simulé ») rapportées lors d'une exposition pendant 18 semaines à des aliments contaminés soit à 40 soit à 3,62 µg kg^{-1}.
Matrices : foie, F ; gras abdominal, GA ; jaune d'œuf, JO

Malgré les limites évoquées ci-dessus, le modèle développé présente de nombreux **atouts détaillés ci-dessous** :

- Un des premiers atouts est de représenter la poule pondeuse à plusieurs stades physiologiques (fin de croissance ; 1er cycle de ponte ; mue, perte de PV ; mue, récupération de PV ; 2ème cycle de ponte). Ainsi, le devenir de l'α-HBCD a pu être étudié chez la poule pondeuse à des stades d'intérêt qui n'ont pas fait l'objet d'expérimentations.

- Le modèle représente un taux d'ingestion variable selon le stade physiologique de l'animal. Cela permet de faire varier le niveau d'exposition en fonction du niveau d'ingestion pour des molécules pour lesquelles la source principale d'exposition est l'aliment. Dans le cas présent, cela a permis notamment d'appliquer exactement le même niveau d'exposition que lors de l'expérimentation lors de l'introduction de données physiologiques expérimentales préalable à l'ajustement des paramètres.
- Le modèle représente de manière détaillée les paramètres de ponte en conditions réelles.
- L'analyse de sensibilité approfondie appliquée sur l'ensemble des paramètres et à chacun des stades physiologiques représentés a permis de bien identifier les paramètres à ajuster. Un rapprochement adéquat des résultats simulés de ceux observés pendant l'exposition a été possible pour le jaune d'œuf et les autres matrices pour lesquelles le nombre de données expérimentales pour ajustement a été suffisant, c'est-à-dire le gras abdominal et le foie (Figure 29). Au total 4340 résultats ont été analysés et présentés dans les Tableaux 42 à 49. Le type de calcul appliqué permet de déterminer, à partir de deux valeurs testées, si la variation dans la valeur basale d'un paramètre présente une influence linéaire ou pas sur la variation de la réponse. Cette approche est probablement novatrice et permet de normaliser les résultats pour comparer la sensibilité du modèle à des paramètres dont le pourcentage de variation testé est généralement proche de 15%, mais dont les pourcentages de variation extrêmes oscillent entre des valeurs minimales de 0,25-1,5% (mV blood et Storagefat neut lipid ratio respectivement) et 50-57% (Storagefat coef, Liver coef et mB coef).
- L'ajustement des paramètres a permis une première estimation du taux d'extraction hépatique de l'α-HBCD chez la poule pondeuse, paramètre non renseigné jusqu'à présent dans la littérature. Ce paramètre a été estimé à 1,7%, ce qui signifie qu'environ 1,7% du flux plasmatique d'α-HBCD vers le foie est éliminé par métabolisme dans cet organe. MacLachlan (2010) a estimé par ajustement de son modèle volaille les ratios d'extraction hépatique de plusieurs molécules. Le ratio d'extraction a été estimé à environ 3,5% pour le lindane. Graphiquement sur les concentrations simulées de cette molécule, le $t_{1/2}$ dans le gras abdominal peut être estimé à environ 10-15 jours. Dans le cas des dioxines, pour lesquelles le taux d'extraction était d'environ 0,03%, le $t_{1/2}$ simulé atteignait environ 40 jours. Le $t_{1/2}$ de l'α-HBCD ayant été estimé chez la poule pondeuse à entre 17 et 35 jours dans les différentes matrices lors de l'expérimentation *in vivo* décrite dans le chapitre 3 de

cette thèse, un taux d'extraction d'environ 1,7% est cohérent avec les résultats de MacLachlan (2010).

- Le modèle a permis de hiérarchiser les caractéristiques de l'animal selon leur influence sur le transfert de l'α-HBCD chez la poule pondeuse pendant une période d'exposition lors du 1er cycle de ponte, la mue et le 2ème cycle de ponte. Les différences observées sont dues principalement aux différences de poids vif final des poules de chaque type d'élevage. Dans les scénarii étudiés, les poules présentant les PV finaux les plus faibles (précisément les poules d'élevages familiaux et celles d'élevages en circuit court) sont celles où une exposition à l'α-HBCD donne lieu aux concentrations les plus élevées de la molécule dans les tissus et dans les œufs. Les performances de ponte (taux de ponte aux différents points de la courbe et poids de l'œuf) présentent une influence moins importante que les caractéristiques liées au poids vif sur la concentration de la molécule dans les tissus et dans les œufs. Précisément, pour les 1er et 2ème cycles de ponte, l'influence des paramètres liés au PV est entre 3 et 5 fois plus importante que l'influence des paramètres liés à la ponte. Les performances de ponte élevées des poules en cages leur permettent d'éliminer la molécule plus massivement ce qui diminue les concentrations de la molécule dans les œufs et dans les tissus, en comparaison avec des poules moins performantes exposées à un même niveau de contamination. L'analyse des scénarii met en évidence enfin que la mue constitue une pratique à risque lorsque des poules sont exposées à l'α-HBCD, ce qui a été rapporté également par le modèle d'A. Fournier (2015) chez des poules exposées de façon continue à des PCB. Comme le contenu corporel en α-HBCD est augmenté lors de la mue chez des poules exposées à la molécule, les œufs pondus après la mue présentent des concentrations élevées qui diminuent progressivement pendant des semaines après ce stade physiologique, jusqu'à atteindre la concentration plateau liée à l'équilibre de concentration entre les différents compartiments environ 2 mois après la fin de la mue.
- En tant que modèle PBPK, l'ensemble des paramètres est clairement interprétable du point de vue physiologique et biochimique. Le modèle peut être généralisé à d'autres animaux et molécules lipophiles. Les conditions précises pour la généralisation du modèle seront abordées dans les perspectives de la thèse (5.4).

5.2 Complémentarité des approches expérimentale et de modélisation pour décrire les processus ADME de l'α-HBCD chez la poule pondeuse ; atouts et limites de l'approche expérimentale.

Lors de la construction d'un modèle qui représente un animal, il est important de pouvoir vérifier son comportement par comparaison des résultats simulés avec des résultats *in vivo*. Ainsi, afin de vérifier que le modèle développé était capable de simuler un transfert adéquat de la molécule vers les tissus et vers l'œuf suite à un patron d'exposition donné, des résultats *in vivo* d'exposition à l'α-HBCD chez la poule pondeuse et de concentration de la molécule dans les tissus et dans l'œuf étaient nécessaires. Or, la synthèse bibliographique a mis en évidence l'absence d'études permettant de caractériser le devenir de l'α-HBCD chez la poule pondeuse. La réalisation d'une expérimentation *in vivo* pour fournir des données de concentration de la molécule dans les tissus et dans l'œuf suite à une exposition orale s'est donc avérée nécessaire pour évaluer le modèle. Cette expérimentation a permis par ailleurs une estimation de certains paramètres cinétiques de l'α-HBCD chez la poule pondeuse, paramètres inconnus au préalable chez les volailles. En résumé, les résultats montrent qu'en fin d'exposition, la concentration d'α-HBCD dans les tissus (ng g^{-1} MG) suit la hiérarchie : gras abdominal ≈ muscles des cuisses > œuf > foie. Une expérimentation chez des poulets en croissance exposés à l'α-HBCD réalisée pendant la thèse pour un autre volet du projet BrAviPorc confirme cette hiérarchie dans la concentration d'α-HBCD (ng g^{-1} MG) dans les différents tissus, et permet d'y situer également les muscles pectoraux : gras abdominal ≈ muscles des cuisses > muscles pectoraux ≈ foie (Cariou et al., 2016). Les résultats dans la hiérarchie des tissus pour l'accumulation de l'α-HBCD chez la volaille est cohérente avec les résultats d'accumulation de γ-HBCD dans les différentes matrices chez l'oiseau (Fournier et al., 2012a; Letcher et al., 2015). Les deux tissus où les concentrations observées sont les plus élevées (gras abdominal et muscles des cuisses) présentent en commun une proportion élevée de lipides neutres dans les lipides totaux (valeurs pour les différents tissus présentées sur le Tableau 26). Le modèle a été construit sur l'hypothèse structurelle d'un transfert de la molécule vers les tissus en fonction du débit sanguin et des Kp estimés comme le ratio de concentrations de lipides neutres dans les tissus et le plasma. Les résultats de l'analyse de sensibilité du modèle ont confirmé que la partition de la molécule est gerée par la proportion de lipides neutres dans les lipides totaux des tissus (4.4.3.2).

La principale limite dans cette expérimentation a été le nombre de données disponibles sur le niveau bas d'exposition, qui s'est avéré insuffisant pour la validation du modèle et qui conclut statistiquement à des différences non significatives dans le devenir de la molécule chez la poule pondeuse, tandis que ces différences expérimentales entre les niveaux ont posé question lors de la validation du modèle.

Cette expérimentation *in vivo* a permis de déterminer pour la première fois les principaux paramètres cinétiques de transfert de l'α-HBCD chez la poule pondeuse (Domínguez-Romero et al., 2016). Elle met en évidence notamment le transfert élevé de l'α-HBCD ingéré vers l'œuf. Ainsi, il a été estimé qu'à l'état d'équilibre de transfert, 23% de l'α-HBCD ingéré au quotidien est transféré vers l'œuf vs. 1,2% pour le γ-HBCD (Fournier et al., 2012a). Cette expérimentation a permis également d'évaluer le modèle PBPK développé pendant la thèse et d'estimer par ajustement du modèle aux résultats expérimentaux un paramètre méconnu auparavant, le taux d'extraction hépatique d'α-HBCD dans le foie (Eliver, %).

5.3 Contribution à l'évaluation et à la maitrise du risque lié à l'α-HBCD

Les résultats du modèle PBPK de transfert de l'α-HBCD chez la poule pondeuse et de l'expérimentation *in vivo* réalisés pendant cette thèse, constituent une base nécessaire pour l'évaluation et la maitrise du risque lié à la contamination par l'α-HBCD des produits avicoles.

Pour l'α-HBCD, à partir des résultats de toxicité chronique chez le rat, une valeur toxicologique de référence (VTR) ou dose totale admissible par jour de 0,6 µg kg^{-1} PV j^{-1} a été établie chez l'être humain (INERIS, 2012). En général pour différentes molécules, en fonction des VTR et des concentrations de la molécule mesurées dans les aliments composant le régime, ainsi que de l'importance quantitative de chaque denrée alimentaire dans le régime, des doses journalières admissibles peuvent être fixées pour les différents aliments. Si l'on considère que l'œuf représente 2,2% de l'apport en lipides du régime chez l'adulte en France (Afssa, 2009), une VTR pour l'œuf d'environ 0,013 µg kg^{-1} PV j^{-1} pourrait être estimé pour l'α-HBCD. Il serait possible d'utiliser le modèle pour avoir une idée de la concentration de la molécule dans la matrice d'exposition ingérée par la poule qui donnerait lieu à une concentration maximale admissible dans les œufs et déterminer quel est le niveau d'exposition de la poule à l'élevage qui représente un risque pour le consommateur. Cependant cela ne présente pas d'intérêt pour un polluant comme l'HBCD. Pour ces molécules, l'intérêt est surtout de diminuer autant que possible le risque de contamination des produits animaux en maitrisant d'un côté les possibles sources d'exposition en élevage afin de réduire au minimum possible le niveau d'exposition, et d'un autre côté de connaître le devenir de la molécule chez l'animal, de connaître les facteurs physiologiques de l'animal qui lui permettent de diluer ou d'éliminer la molécule le plus efficacement possible pour que la concentration dans les produits animaux soit la moindre possible suite à une exposition à cette molécule. Ce type de démarche est intéressant cependant si le modèle est extrapolé à des substances médicamenteuses pour étudier les doses d'exposition qui permettent d'atteindre des concentrations d'intérêt dans les tissus cibles du médicament.

Certaines recommandations peuvent être dégagées de ce travail pour les éleveurs de poules pondeuses :

- Bien que les démarches appliquées pendant la thèse ont été centrées sur l'influence des caractéristiques de l'animal sur le devenir de la molécule, la mise en commun de certains résultats de l'étude bibliographique et les résultats de l'expérimentation *in vivo* permettent de dégager une recommandation pour limiter le risque d'exposition par la voie plausible de l'ingestion de fragments de matériaux contaminés dans certains élevages, telle que suggérée par Hiebl et Vetter (2007). Il est recommandé de vérifier l'état des bâtiments d'élevage, de garantir une maintenance adéquate ou la réparation des installations pour éviter toute possibilité d'accès des poules à des polystyrènes présents dans la structure des bâtiments.
- Le modèle a permis de conclure qu'en cas d'exposition des poules pondeuses à une source de contamination par l'α-HBCD, certaines caractéristiques physiologiques de la poule pondeuse influencent la concentration de la molécule dans les tissus et dans les œufs :
    - Chez des poules en ponte, le PV est le principal facteur qui influence la concentration de la molécule dans les tissus. Le risque d'atteinte de concentrations élevées de la molécule dans les tissus et dans les œufs est plus important chez des poules à poids vif réduit. Par ailleurs, avec une influence moins importante du point de vue de la gestion de risques que le PV, des performances élevées de ponte tendent à diminuer la concentration d'α-HBCD dans les tissus et dans les œufs. Les performances de ponte élevées sont souhaitables notamment du point de vue économique. Du point de vue de la gestion de risques, elles contribuent à réduire la charge corporelle de la molécule. Sur ce dernier point, les caractéristiques de ponte restent moins influentes que le poids vif.
    - La mue représente une pratique d'élevage à risque chez des poules qui ont été ou qui sont exposées à l'α-HBCD. La concentration de la molécule dans les œufs sera plus élevée après la mue qu'avant celle-ci. Ces concentrations reviendront à des valeurs plus faibles plusieurs semaines après la fin de la mue.
    - La concentration de la molécule dans les tissus est importante chez des poules pondeuses de réforme, c'est-à-dire des poules abattues à la fin de leur vie productive pour une utilisation de leur chair à des fins alimentaires. Il est recommandable de maintenir les poules de réforme en production d'œufs jusqu'à l'abattage pour éviter, dans le cas où elles seraient accidentellement

exposées à la molécule, une augmentation considérable dans la charge corporelle de la molécule (dans le cas où la poule serait contaminée) qui a lieu quand un arrêt de la ponte est maintenu pendant plusieurs jours.

5.4 Perspectives

La réalisation d'une nouvelle expérimentation *in vivo* de transfert de l'α-HBCD chez des poules pondeuses serait utile notamment pour valider le modèle. Le plus indiqué serait d'utiliser des poules pondeuses sélectionnées pour leurs performances de ponte pour éviter si possible de devoir modifier les données physiologiques du modèle avant évaluation du modèle sur ces données. Une simplification du nombre de compartiments contenus dans le modèle a été proposée ci-dessus (5.1), avec représentation uniquement du foie, du plasma, du compartiment « other » et du jaune d'œuf chez la poule pondeuse. Parallèlement, une réduction du nombre d'échantillons à analyser lors de l'expérimentation *in vivo* chez les poules de chaque traitement expérimental est possible en limitant les prélèvements et analyses à ces tissus (foie, plasma, jaune d'œuf). Le nombre de points cinétiques sur le niveau d'exposition prioritaire peut être maintenu, et le nombre de points cinétiques de prélèvement sur le niveau d'exposition secondaire peut être augmenté grâce à la réduction du nombre de matrices prélevées. Par ailleurs en s'appuyant par exemple sur trois dates d'abattage (en début, au milieu et en fin d'expérimentation), un échantillon obtenu à partir d'un broyage du reste de la carcasse serait utile pour analyser le contenu lipidique total et surtout pour analyser le profil en lipides neutres de ce compartiment « other ». L'augmentation du ratio entre les deux niveaux de concentration de la molécule dans les aliments (ex. passer d'un facteur 11 à un facteur 30 entre les deux niveaux d'exposition) permettrait d'arriver à des résultats plus concluants sur l'absence de l'effet niveau d'exposition. En cas de confirmation de l'absence de cet effet, les deux jeux de données pourraient être utilisés pour validation du modèle. En cas d'effet du niveau d'exposition lors de cette nouvelle expérimentation, des phénomènes d'induction ou de saturation du métabolisme devraient être considérés dans le modèle. Les deux jeux de données serviraient à l'ajustement des paramètres correspondants du modèle.

Même si la mue n'est pas induite par tous les types d'élevage, une autre expérimentation avec un niveau d'exposition constant (ex. par ingestion d'une quantité constante de la molécule tous les jours) pendant la ponte et pendant la mue permettrait d'étudier une possible influence du stade physiologique sur le taux d'extraction hépatique de la molécule et d'évaluer le modèle à ce stade. Au vu des changements dans la composition et la physiologie subis par le foie chez la poule pondeuse selon le stade physiologique, il ne

semble pas aberrant qu'une modification dans le taux d'extraction hépatique puisse avoir lieu en fonction du stade physiologique.

L'utilisation du modèle sur d'autres animaux que des poules pondeuses doit être soumise à des modifications de la valeur des paramètres physiologiques, du taux d'extraction de la molécule dans le foie et si besoin à des adaptations dans la structure du modèle au niveau notamment des tissus représentés. Le choix des tissus représentés peut être modifié. Pour remplacer un tissu par un autre, il suffira de mettre la valeur des paramètres correspondante à ce dernier. Si le paramétrage d'un compartiment donné n'est pas possible ou n'a pas d'intérêt pour certains animaux, il suffit de mettre à 0 la croissance et le poids initial de ce compartiment, qui sera alors automatiquement pris en compte dans le compartiment « other » de façon indifférenciée. Aucune modification du paramétrage de « other » n'est alors requise car ce compartiment est construit par différence entre le corps entier et les tissus représentés.

Est-il envisageable d'extrapoler le modèle pour représenter le transfert d'autres molécules chez la poule pondeuse ? Pour des molécules hautement lipophiles dont l'accumulation se produit majoritairement dans les lipides neutres des produits, il suffirait de modifier le taux d'absorption de la molécule dans le tube digestif et le taux d'extraction de celle-ci dans le foie. L'utilisation du modèle sur des molécules dont la partition se produit selon la concentration de lipides totaux dans les tissus requiert d'ailleurs de modifier le calcul des Kp, de façon à ce que ce soit la concentration de lipides totaux dans les tissus et dans le plasma et non pas la concentration de lipides neutres qui détermine cette partition. Ainsi, une généralisation du modèle sur des molécules où la partition dans les tissus est fonction des lipides totaux permettrait de simplifier le modèle. Il est certainement possible de généraliser et de valider le modèle sur ce type de molécules de façon à ce qu'il permette une prédiction fine des concentrations de ces molécules dans les tissus en réponse à une dose d'administration.

Dans le cas d'une généralisation sur d'autres molécules il est important de vérifier par ailleurs que celles-ci ne présentent pas une élimination rénale importante ou, dans ce cas, il est nécessaire de mettre en œuvre des ajouts sur le modèle pour représenter cette autre voie d'élimination. De la même façon, ce modèle ne considère pas des phénomènes de saturation du métabolisme ou d'induction d'enzymes. Si on souhaite l'extrapoler sur des molécules ou des doses pour lesquelles ces mécanismes sont mis en place, il est simple de mettre en place ces mécanismes en fixant des conditions pour la clairance hépatique selon lesquelles ce métabolisme ne se produit pas en dessous ou n'augmente plus au-dessus d'une certaine concentration de la molécule dans le plasma.

Un niveau d'exposition chronique constant serait également pertinent pour des molécules médicamenteuses. Dans l'état actuel du modèle, sa généralisation à des molécules médicamenteuses à caractère lipophile et à distribution par voie orale constitue une perspective intéressante du modèle pour déterminer des doses d'exposition qui permettent d'atteindre une concentration souhaitée du médicament dans un tissu cible.

Une validation du modèle par des jeux de données alternatifs est recommandée dans les cas de généralisation de son utilisation sur d'autres espèces ou des molécules différentes.

6 Références bibliographiques

Abdallah, M. A.-E., C. Uchea, J. K. Chipman, and S. Harrad, 2014, Enantioselective Biotransformation of Hexabromocyclododecane by in Vitro Rat and Trout Hepatic Sub-Cellular Fractions: Environmental Science & Technology, v. 48(5), p. 2732-2740.

Abdallah, M. A. E., S. Harrad, and A. Covaci, 2008, Hexabromocyclododecanes and tetrabromobisphenol-A in indoor air and dust in Birmingham, UK: Implications for human exposure: Environmental Science & Technology, v. 42(18), p. 6855-6861.

Adams, C. J., and D. D. Bell, 1998, A Model Relating Egg Weight and Distribution to Age of Hen and Season: The Journal of Applied Poultry Research, v. 7(1), p. 35-44.

Afssa, 2009, Etude Individuelle Nationale des Consommations Alimentaires (INCA 2), 2006-2007.

Akiba, Y., L. S. Jensen, C. R. Barb, and R. R. Kraeling, 1982, Plasma estradiol, thyroid hormones, and liver lipid content in laying hens fed different isocaloric diets: Journal of Nutrition, v. 112, p. 299-308.

Andersen, M. E., 1995, Decision Subtances Methodologies for Human Health Risk Assessment of Toxic SubstancesDevelopment of physiologically based pharmacokinetic and physiologically based pharmacodymamic models for applications in toxicology and risk assessment: Toxicology Letters, v. 79(1), p. 35-44.

Andersson, P. L., K. Oberg, and U. Orn, 2006, Chemical characterization of brominated flame retardants and identification of structurally representative compounds: Environmental Toxicology and Chemistry, v. 25(5), p. 1275-1282.

Aubry, A., N. Quiniou, Y. Le Cozler, and M. Querne, 2004, Modelisation de la croissance et de la consommation d'aliment des porcs de la naissance a l'abattage: actualisation des coefficients appliques aux criteres standardises de performances en Gestion Technico-Economique: Journées de la Recherche Porcine en France, v. 36, p. 409.

Balnave, D., 1971, Relationship between blood linoleic acid and laying activity in the laying hen: Journal of the Science of Food and Agriculture, v. 22(9), p. 467-469.

Barron, M. G., G. R. Stehly, and W. L. Hayton, 1990, Pharmacokinetic modeling in aquatic animals I. Models and concepts: Aquatic Toxicology, v. 18(2), p. 61-85.

Bell, D. D., 2003, Historical and current molting practices in the US table egg industry: Poultry Science, v. 82(6), p. 965-970.

Bell, D. J., T. P. Bird, and W. M. McIndoe, 1965, Changes in erythrocyte levels and the mean corpuscular haemoglobin concentration in hens during the laying cycle: Comparative biochemistry and physiology, v. 14(1), p. 83-100.

Benet, L. Z., D. L. Kroetz, L. B. Sheiner, J. G. Hardman, and L. E. Limbird, 1996, Pharmacokinetics: the dynamics of drug absorption, distribution, metabolism, and elimination: Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics, p. 3-27.

Berntssen, M. H. G., S. Valdersnes, G. Rosenlund, B. E. Torstensen, M. J. Zeilmaker, and J. C. H. van Eijkeren, 2011, Toxicokinetics and carry-over model of alpha-hexabromocyclododecane (HBCD) from feed to consumption-sized Atlantic salmon (Salmo salar): Food Additives and Contaminants Part a-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment, v. 28(9), p. 1274-1286.

Boelkins, J. N., W. J. Mueller, and K. L. Hall, 1973, Cardiac output distribution in the laying hen during shell formation: Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology, v. 46(4), p. 735-743.

Borlakoglu, J. T., V. A. Welch, J. P. G. Wilkins, and R. R. Dils, 1990, Transport and cellular uptake of polychlorinated biphenyls (PCBs) - I: Biochemical Pharmacology, v. 40(2), p. 265-272.

Brake, J., and P. Thaxton, 1979, Physiological Changes in Caged Layers During a Forced Molt: 1. Body Temperature and Selected Blood Constituents: Poultry Science, v. 58(3), p. 699-706.

Brandsma, S. H., L. T. M. van der Ven, J. de Boer, and P. E. G. Leonards, 2009, Identification of hydroxylated metabolites of hexabromocyclododecane in wildlife and 28-days exposed Wistar rats: Environmental science & technology, v. 43(15), p. 6058-6063.

Burnham, M. R., S. L. Branton, E. D. Peebles, B. D. Lott, and P. D. Gerard, 2002, Effects of F-strain Mycoplasma gallisepticum inoculation at twelve weeks of age on performance and egg characteristics of commercial egg-laying hens: Poultry Science, v. 81(10), p. 1478-1485.

Burnham, M. R., E. D. Peebles, S. L. Branton, M. S. Jones, and P. D. Gerard, 2003, Effects of F-strain Mycoplasma gallisepticum inoculation at twelve weeks of age on the blood characteristics of commercial egg laying hens: Poultry Science, v. 82(9), p. 1397-1402.

Cariou R, Baéza E, Dominguez-Romero E, Omer E, Souchet C, Vénisseau A, Marchand P, Dervilly-Pinel G, Le Bizec B, T. A, and J. C, 2016, Accumulation and tissue distribution of ingested α-hexabromocyclododecane (α-HBCDD) in broiler chicken (Gallus domesticus), 36th International Symposium on Halogenated Environmental Organic Pollutants and POPs, Firenze, Italy.

Cariou, R., A. Huneau-Salaün, E. Dominguez-Romero, E. Omer, G. Amand, C. Souchet, L. Balaine, A. Charpiot, A. Vénisseau, P. Marchand, M. Marcon, J. Ratel, S. Le Bouquin, E. Royer, G. Dervilly-Pinel, E. Engel, E. Baéza, B. Le Bizec, A. Travel, and C. Jondreville, 2015, Hexabromocyclododecane in poultry and pork: a comprehensive study of exposure and transfer into products, 7th International Symposium on Brominated Flame Retardants, Pékin.

Cariou, R., A. Venisseau, G. Amand, P. Marchand, M. Marcon, A. Huneau, S. Le Bouquin, G. Dervilly-Pinel, A. Travel, and B. Le Bizec, 2014, Identification of hexabromocyclododecane in building material: Organohalogen Compounds v. 76, p. 1521-1524.

CASDAR, 2012, Fiches CAS DAR 2012. 22 fiches-lauréats appel à projets "innovation et partenariat". Projet BrAviPorc., p. 22.

Cherian, G., T. B. Holsonbake, M. P. Goeger, and R. Bildfell, 2002, Dietary CLA alters yolk and tissue FA composition and hepatic histopathology of laying hens: Lipids, v. 37(8), p. 751-757.

Cortright, K. A., S. E. Wetzlich, and A. L. Craigmill, 2009, A PBPK model for midazolam in four avian species: Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics, v. 32(6), p. 552-565.

Covaci, A., A. C. Gerecke, R. J. Law, S. Voorspoels, M. Kohler, N. V. Heeb, H. Leslie, C. R. Allchin, and J. de Boer, 2006, Hexabromocyclododecanes (HBCDs) in the environment and humans: A review: Environmental Science & Technology, v. 40(12), p. 3679-3688.

Covaci, A., L. Roosens, A. C. Dirtu, N. Waegeneers, I. Van Overmeire, H. Neels, and L. Goeyens, 2009, Brominated flame retardants in Belgian home-produced eggs: Levels and contamination sources: Science of The Total Environment, v. 407(15), p. 4387-4396.

Crump, D., S. Chiu, C. Egloff, and S. W. Kennedy, 2008, Effects of Hexabromocyclododecane and Polybrominated Diphenyl Ethers on mRNA Expression in Chicken (Gallus domesticus) Hepatocytes: Toxicological Sciences, v. 106(2), p. 479-487.

De Vos, S., D. Verschueren, and R. De Schrijver, 2005, Digestibility, retention and incorporation of low-level dietary PCB contents in laying hens: Chemosphere, v. 58(11), p. 1553-1562.

DGAL, 2009, Bilan des Plans de surveillance et de contrôle mis en oeuvre par la DGAL en 2008 dans le domaine de la sécurité sanitaire des aliments.

DGAL, 2010, Bilan 2009 des Plans de surveillance et de contrôle mis en oeuvre par la DGAL

DGAL, 2013, Plans de surveillance - Plans de contrôle. Bilan 2012.

DGAL, 2014, Plans de surveillance - Plans de contrôle. Bilan 2013.

DGAL, 2015, Surveillance sanitaire des denrées animales et végétales. Bilan 2014. Plan de surveillance et plans de contrôle.

Diaz, G., M. Melis, B. Batetta, F. Angius, and A. M. Falchi, 2008, Hydrophobic characterization of intracellular lipids in situ by Nile Red red/yellow emission ratio: Micron, v. 39(7), p. 819-824.

Dirtu, A. C., and A. Covaci, 2010, Estimation of Daily Intake of Organohalogenated Contaminants from Food Consumption and Indoor Dust Ingestion in Romania: Environmental Science & Technology, v. 44(16), p. 6297-6304.

Domínguez-Romero, E., R. Cariou, E. Omer, P. Marchand, G. Dervilly-Pinel, B. Le Bizec, A. l. Travel, and C. Jondreville, 2016, Tissue Distribution and Transfer to Eggs of Ingested α-Hexabromocyclododecane (α-HBCDD) in Laying Hens (Gallus domesticus): Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 64(10), p. 2112-2119.

Donoghue, D. J., 2001, Mechanisms regulating drug and pesticide residue uptake by egg yolks: development of predictive models: World's Poultry Science Journal, v. 57(04), p. 373-380.

Donoghue, D. J., H. Hairston, S. A. Gaines, M. J. Bartholomew, and A. M. Donoghue, 1996, Modeling Residue Uptake by Eggs. 1. Similar Drug Residue Patterns in Developing Yolks Following Injection with Ampicillin or Oxytetracycline: Poultry Science, v. 75(3), p. 321-328.

Drouillard, K. G., K. J. Fernie, J. E. Smits, G. R. Bortolotti, D. M. Bird, and R. J. Norstrom, 2001, Bioaccumulation and toxicokinetics of 42 polychlorinated biphenyl congeners in American kestrels (*Falco sparverius*): Environmental Toxicology and Chemistry, v. 20(11), p. 2514-2522.

Drouillard, K. G., and R. J. Norstrom, 2001, Quantifying maternal and dietary sources of 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl deposited in eggs of the ring dove (Streptopelia risoria): Environmental Toxicology and Chemistry, v. 20(3), p. 561-567.

Drouillard, K. G., and R. J. Norstrom, 2003, The influence of diet properties and feeding rates on PCB toxicokinetics in the ring dove: Archives of environmental contamination and toxicology, v. 44(1), p. 0097-0106.

Du, M., L. Lin, C. Yan, C. Wang, and X. Zhang, 2013, Enantiomer-specific bioaccumulation and depuration of hexabromocyclododecanes in zebrafish (Danio Rerio): Journal of hazardous materials, v. 248, p. 167-171.

Du, M., L. Lin, C. Yan, and X. Zhang, 2012, Diastereoisomer- and Enantiomer-Specific Accumulation, Depuration, and Bioisomerization of Hexabromocyclododecanes in Zebrafish (Danio rerio): Environmental Science & Technology, v. 46(20), p. 11040-11046.

ECHA, 2009, Background document for hexabromocyclododecane and all major diastereoisomers identified (HBCDD).

EFSA, 2011, Scientific Opinion on Hexabromocyclododecanes (HBCDDs) in Food, EFSA Journal, p. 2296.

El-Kazzi, M., A. Bordas, G. Gandemer, and F. Minvielle, 1995, Divergent selection for residual food intake in Rhode Island Red egg laying lines: Gross carcase composition, carcase adiposity and lipid contents of tissues: British poultry science, v. 36(5), p. 719-728.

Eljarrat, E., M. Gorga, M. Gasser, J. Diaz-Ferrero, and D. Barcelo, 2014, Dietary Exposure Assessment of Spanish Citizens to Hexabromocyclododecane through the Diet: Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 62(12), p. 2462-2468.

Eljarrat, E., G. Marsh, A. Labandeira, and D. Barceló, 2008, Effect of sewage sludges contaminated with polybrominated diphenylethers on agricultural soils: Chemosphere, v. 71(6), p. 1079-1086.

Ema, M., S. Fujii, M. Hirata-Koizumi, and M. Matsumoto, 2008, Two-generation reproductive toxicity study of the flame retardant hexabromocyclododecane in rats: Reproductive Toxicology, v. 25(3), p. 335-351.

Entenman, C., F. W. Lorenz, and I. L. Chaikoff, 1940, The lipid content of blood, liver, and yolk sac of the newly hatched chick and the changes that occur in these tissues during the first month of life: Journal of Biological Chemistry, v. 133(1), p. 231-241.

EPA, 2014, Flame retardant alternatives for hexabromocyclododecane (HBCD). Final report.

Eriksson, P., C. Fischer, M. Wallin, E. Jakobsson, and A. Fredriksson, 2006, Impaired behaviour, learning and memory, in adult mice neonatally exposed to hexabromocyclododecane (HBCDD): Environmental toxicology and pharmacology, v. 21(3), p. 317-322.

Esslinger, S., R. Becker, R. Maul, and I. Nehls, 2011, Hexabromocyclododecane Enantiomers: Microsomal Degradation and Patterns of Hydroxylated Metabolites: Environmental Science & Technology, v. 45(9), p. 3938-3944.

FAO/WHO, 2003, Assuring food safety and quality: guidelines for strengthening national food control systems, FAO, 76 p.

FAO/WHO, 2016, INFOSAN activity report 2014-2015, p. 48.

Fernandes, A., P. Dicks, D. Mortimer, M. Gem, F. Smith, M. Driffield, S. White, and M. Rose, 2008, Brominated and chlorinated dioxins, PCBs and brominated flame retardants in Scottish shellfish: Methodology, occurrence and human dietary exposure: Molecular Nutrition & Food Research, v. 52(2), p. 238-249.

Fernandes, A. R., D. Mortimer, M. Rose, F. Smith, S. Panton, and M. Garcia-Lopez, 2016, Bromine content and brominated flame retardants in food and animal feed from the UK: Chemosphere, v. 150, p. 472-478.

Fournier, A., 2011, Transfert de Polluants Organiques Persistants (POP) vers l'oeuf de poule: influence des caracteristiques des polluants et du statut physiologique de l'animal, Université de Lorraine, INPL, Vandoeuvre-les-Nancy, 242 p.

Fournier, A., C. Feidt, P. Marchand, A. Venisseau, B. Le Bizec, N. Sellier, E. Engel, J. Ratel, A. Travel, and C. Jondreville, 2012a, Kinetic study of gamma-hexabromocyclododecane orally given to laying hens (Gallus domesticus) "Transfer of HBCD in laying hens": Environmental Science and Pollution Research, v. 19(2), p. 440-447.

Fournier, A., C. Feidt, A. Travel, B. Le Bizec, A. Venisseau, P. Marchand, and C. Jondreville, 2012b, Relative bioavailability to laying hens of indicator polychlorobiphenyls present in soil: Chemosphere, v. 88(3), p. 300-306.

Fournier, A., O. Martin, A. Travel, L. Puillet, C. Feidt, and C. Jondreville, 2015, Modeling PCB Transfer into Hen Eggs: Influence of Physiological Characteristics of the Animal: Environmental Toxicology and Chemistry, v. 34(1), p. 173-183.

Fournier, A. s., C. Feidt, M.-A. Dziurla, C. Grandclaudon, and C. Jondreville, 2010, Transfer kinetics to egg yolk and modeling residue recovered in yolk of readily metabolized molecules: Polycyclic aromatic hydrocarbons orally administered to laying hens: Chemosphere, v. 78(8), p. 1004-1010.

Frieden, T. R., 2010, A Framework for Public Health Action: The Health Impact Pyramid: American Journal of Public Health, v. 100(4), p. 590-595.

Fromme, H., G. Becher, B. Hilger, and W. Volkel, 2016, Brominated flame retardants - Exposure and risk assessment for the general population: International Journal of Hygiene and Environmental Health, v. 219(1), p. 1-23.

Garlich, J., J. Brake, C. R. Parkhurst, J. P. Thaxton, and G. W. Morgan, 1984, Physiological profile of caged layers during one production year, molt, and postmolt: Egg production, egg shell quality, liver, femur, and blood parameters: Poultry Science, v. 63(2), p. 339-343.

Germer, S., A. H. Piersma, L. van der Ven, A. Kamyschnikow, Y. Fery, H. J. Schmitz, and D. Schrenk, 2006, Subacute effects of the brominated flame retardants hexabromocyclododecane and tetrabromobisphenol A on hepatic cytochrome P450 levels in rats: Toxicology, v. 218(2), p. 229-236.

Goscinny, S., S. Vandevijvere, M. Maleki, I. Van Overmeire, I. Windal, V. Hanot, M. N. Blaude, C. Vleminckx, and J. Van Loco, 2011, Dietary intake of hexabromocyclododecane diastereoisomers (alpha-, beta-, and gamma-HBCD) in the Belgian adult population: Chemosphere, v. 84(3), p. 279-288.

Grossman, M., and W. J. Koops, 2001, A model for individual egg production in chickens: Poultry Science, v. 80(7), p. 859-867.

Gupta, S. K., A. B. Gilbert, and M. A. Walker, 1988, Histological study of follicular atresia in the ovary of the domestic hen (Gallus domesticus): Journal of reproduction and fertility, v. 82(1), p. 219-225.

Haddad, S., P. Poulin, and K. Krishnan, 2000, Relative lipid content as the sole mechanistic determinant of the adipose tissue:blood partition coefficients of highly lipophilic organic chemicals: Chemosphere, v. 40(8), p. 839-843.

Hakk, H., 2016, Comparative Metabolism Studies of Hexabromocyclododecane (HBCD) Diastereomers in Male Rats Following a Single Oral Dose: Environmental Science & Technology, v. 50(1), p. 89-96.

Hakk, H., and R. J. Letcher, 2003, Metabolism in the toxicokinetics and fate of brominated flame retardants-a review: Environment International, v. 29(6), p. 801-828.

Hakk, H., D. T. Szabo, J. Huwe, J. Diliberto, and L. S. Birnbaum, 2012, Novel and distinct metabolites identified following a single oral dose of α-or γ-hexabromocyclododecane in mice: Environmental science & technology, v. 46(24), p. 13494-13503.

Harju, M., T. Hamers, J. H. Kamstra, E. Sonneveld, J. P. Boon, M. Tysklind, and P. L. Andersson, 2007, Quantitative structure-activity relationship modeling on in vitro endocrine effects and metabolic stability involving 26 selected brominated flame retardants: Environmental Toxicology and Chemistry, v. 26(4), p. 816-826.

Harms, R. H., D. A. Roland, and C. F. Simpson, 1977, Experimentally induced "Fatty liver syndrome" condition in laying hens: Poultry science, v. 56(2), p. 517-520.

Harrad, S., M. A. E. Abdallah, and A. Covaci, 2009a, Causes of variability in concentrations and diastereomer patterns of hexabromocyclododecanes in indoor dust: Environment International, v. 35(3), p. 573-579.

Harrad, S., M. A. E. Abdallah, N. L. Rose, S. D. Turner, and T. A. Davidson, 2009b, Current-Use Brominated Flame Betardants in Water, Sediment, and Fish from English Lakes: Environmental Science & Technology, v. 43(24), p. 9077-9083.

Harrad, S., E. Goosey, J. Desborough, M. A. E. Abdallah, L. Roosens, and A. Covaci, 2010, Dust from UK Primary School Classrooms and Daycare Centers: The Significance of Dust As a Pathway of Exposure of Young UK Children to Brominated Flame Retardants and Polychlorinated Biphenyls: Environmental Science & Technology, v. 44(11), p. 4198-4202.

Haukås, M., E. Mariussen, A. Ruus, and K. E. Tollefsen, 2009, Accumulation and disposition of hexabromocyclododecane (HBCD) in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Aquatic Toxicology, v. 95(2), p. 144-151.

Heeb, N. V., W. Bernd Schweizer, P. Mattrel, R. Haag, A. C. Gerecke, P. Schmid, M. Zennegg, and H. Vonmont, 2008a, Regio- and stereoselective isomerization of hexabromocyclododecanes (HBCDs): Kinetics and mechanism of γ- to α-HBCD isomerization: Chemosphere, v. 73(8), p. 1201-1210.

Heeb, N. V., W. B. Schweizer, M. Kohler, and A. C. Gerecke, 2005, Structure elucidation of hexabromocyclododecanes - a class of compounds with a complex stereochemistry: Chemosphere, v. 61(1), p. 65-73.

Heeb, N. V., W. B. Schweizer, P. Mattrel, R. Haag, M. Kohler, P. Schmid, M. Zennegg, and M. Wolfensberger, 2008b, Regio- and stereoselective isomerization of hexabromocyclododecanes (HBCDs): Kinetics and mechanism of beta-HBCD racemization: Chemosphere, v. 71(8), p. 1547-1556.

Hiebl, J., and W. Vetter, 2007, Detection of hexabromocyclododecane and its metabolite pentabromocyclododecene in chicken egg and fish from the official food control: Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 55(9), p. 3319-3324.

Hoehle, S. I., G. A. Knudsen, J. M. Sanders, and I. G. Sipes, 2009, Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion of 2,2-Bis(bromomethyl)-1,3-propanediol in Male Fischer-344 Rats: Drug Metabolism and Disposition, v. 37(2), p. 408-416.

Hoyle, C. M., and J. D. Garlich, 1987, Postfasting dietary protein requirements of induced molted hens: Poultry Science, v. 66(12), p. 1973-1979.

Hulan, H. W., R. G. Ackman, W. M. N. Ratnayake, and F. G. Proudfoot, 1989, Omega-3 fatty acid levels and general performance of commercial broilers fed practical levels of redfish meal: Poultry Science, v. 68(1), p. 153-162.

Hutchinson, T. H., J. C. Madden, V. Naidoo, and C. H. Walker, 2014, Comparative metabolism as a key driver of wildlife species sensitivity to human and veterinary pharmaceuticals: Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences, v. 369(1656), p. 20130583.

Ibe, S. N., and L. N. Nwakalor, 1987, Growth patterns and conformation in broilers: influence of genotype and management on isometry of growth: Poultry science, v. 66(8), p. 1247-1251.

Ichihara, M., A. Yamamoto, K. Takakura, N. Kakutani, and M. Sudo, 2014, Distribution and pollutant load of hexabromocyclododecane (HBCD) in sewage treatment plants and water from Japanese Rivers: Chemosphere, v. 110, p. 78-84.

Icken, W., C. Looft, K. Schellander, D. Cavero, A. Blanco, M. Schmutz, and R. Preisinger, 2014, Implications of genetic selection on yolk proportion on the dry matter content of eggs in a White Leghorn population: British poultry science, v. 55(3), p. 291-297.

INERIS, 2012, INERIS : Normes de Qualité Environnementale. Hexabromocyclododécane - N° CAS : 25637-99-4. Version 2 : 02/07/2012.

ISApoultry, Isa Brown Production Guide, cage production systems, vs. 14.6, Institut de Sélection Animale BV.

Ivy, C. A., and M. C. Nesheim, 1973, Factors influencing the liver fat content of laying hens: Poultry science, v. 52(1), p. 281-291.

Jandacek, R. J., and P. Tso, 2001, Factors affecting the storage and excretion of toxic lipophilic xenobiotics: Lipids, v. 36(12), p. 1289-1305.

Javaid, S., M. I. Anjum, and M. Akram, 2011, Effect of dietary protein and energy level on proximate composition of breast and thigh meat in white leghorn layers at molt and post molt production stages: Pakistan Veterinary Journal, v. 32(4), p. 483-488.

Joice&Hill, Isa Brown Management Guide, Joice and Hill, Hendrix Genetics.

Jondreville, C., C. Bouveret, M. Lesueur-Jannoyer, G. Rychen, and C. Feidt, 2013, Relative bioavailability of tropical volcanic soil-bound chlordecone in laying hens (Gallus domesticus): Environmental Science and Pollution Research, v. 20(1), p. 292-299.

Jondreville, C., A. Fournier, C. Feidt, and col., 2011, Impact de la dose ingérée sur les cinétiques de dépôt et de bioisomérisation de gamma-HBCD chez la poule pondeuse, AFPA-PEX-MIC-7, Nancy, UR AFPA.

Jondreville, C., A. Fournier, A. Travel, C. Feidt, and B. Roudaut, 2010, Organic chemical contaminants in hens egg: regulatory context, modes and risk of transfer: Productions Animales, v. 23(2), p. 205-213.

Kelly, B. C., and F. A. P. C. Gobas, 2001, Bioaccumulation of Persistent Organic Pollutants in Lichen - Caribou - Wolf Food Chains of Canada's Central and Western Arctic: Environmental Science & Technology, v. 35(2), p. 325-334.

Kelly, B. C., F. A. P. C. Gobas, and M. S. McLachlan, 2004, Intestinal absorption and biomagnification of organic contaminants in fish, wildlife, and humans: Environmental Toxicology and Chemistry, v. 23(10), p. 2324-2336.

Kilford, P. J., M. Gertz, J. B. Houston, and A. Galetin, 2008, Hepatocellular binding of drugs: Correction for unbound fraction in hepatocyte incubations using microsomal binding or drug lipophilicity data: Drug Metabolism and Disposition, v. 36(7), p. 1194-1197.

Koch, C., 2015, Review of hexabromocyclododecane (HBCD) with a focus on legislation and recent publications concerning toxicokinetics and -dynamics: Environmental Pollution, v. 199, p. 26-34.

Koelkebeck, K. W., and K. E. Anderson, 2007, Molting layers - Alternative methods and their effectiveness: Poultry Science, v. 86(6), p. 1260-1264.

Krogdahl, A., 1985, Digestion and absorption of lipids in poultry: The Journal of nutrition, v. 115(5), p. 675-685.

Kudahl, A. B., S. Ostergaard, J. T. Sorensen, and S. S. Nielsen, 2007, A stochastic model simulating paratuberculosis in a dairy herd: Preventive Veterinary Medicine, v. 78(2), p. 97-117.

Kupper, T., L. F. de Alencastro, R. Gatsigazi, R. Furrer, D. Grandjean, and J. Tarradellas, 2008, Concentrations and specific loads of brominated flame retardants in sewage sludge: Chemosphere, v. 71(6), p. 1173-1180.

Law, K., V. P. Palace, T. Halldorson, R. Danell, K. Wautier, B. Evans, M. Alaee, C. Marvin, and G. T. Tomy, 2006, Dietary accumulation of hexabromocyclododecane diastereoisomers in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) I: Bioaccumulation parameters and evidence of bioisomerization: Environmental Toxicology and Chemistry, v. 25(7), p. 1757-1761.

Law, R. J., A. Covaci, S. Harrad, D. Herzke, M. A. E. Abdallah, K. Fernie, L.-M. L. Toms, and H. Takigami, 2014, Levels and trends of PBDEs and HBCDs in the global environment: Status at the end of 2012: Environment International, v. 65, p. 147-158.

Law, R. J., M. Kohler, N. V. Heeb, A. C. Gerecke, P. Schmid, S. Voorspoels, A. Covaci, G. Becher, K. Janák, and C. Thomsen, 2005, Hexabromocyclododecane Challenges Scientists and Regulators: Environmental Science & Technology, v. 39(13), p. 281A-287A.

Lawlor, J. B., N. Gaudette, T. Dickson, and J. D. House, 2010, Fatty acid profile and sensory characteristics of table eggs from laying hens fed diets containing microencapsulated fish oil: Animal Feed Science and Technology, v. 156(3), p. 97-103.

Lee, B. K., J. S. Kim, H. J. Ahn, J. H. Hwang, J. M. Kim, H. T. Lee, B. K. An, and C. W. Kang, 2010, Changes in hepatic lipid parameters and hepatic messenger ribonucleic acid expression following estradiol administration in laying hens (Gallus domesticus): Poultry science, v. 89(12), p. 2660-2667.

Lee, J.-S., J.-i. Takai, K. Takahasi, Y. Endo, K. Fujimoto, S. Koike, and W. Matsumoto, 2002, Effect of dietary tung oil on the growth and lipid metabolism of laying hens: Journal of nutritional science and vitaminology, v. 48(2), p. 142-148.

Leeson, S., and J. D. Summers, 1989, Response of Leghorn Pullets to Protein and Energy in the Diet When Reared in Regular or Hot-Cyclic Environments: Poultry Science, v. 68(4), p. 546-557.

Lemahieu, C., C. Bruneel, E. Ryckebosch, K. Muylaert, J. Buyse, and I. Foubert, 2015, Impact of different omega-3 polyunsaturated fatty acid (n-3 PUFA) sources (flaxseed, Isochrysis galbana, fish oil and DHA Gold) on n-3 LC-PUFA enrichment (efficiency) in the egg yolk: Journal of Functional Foods, v. 19, p. 821-827.

Letcher, R. J., L. C. Mattioli, S. C. Marteinson, D. Bird, I. J. Ritchie, and K. J. Fernie, 2015, Uptake, distribution, depletion, and in ovo transfer of isomers of hexabromocyclododecane flame retardant in diet-exposed American kestrels (Falco sparverius): Environmental Toxicology and Chemistry, v. 34(5), p. 1103-1112.

Levitt, D. G., 2007, Heterogeneity of human adipose blood flow: BMC Clinical Pharmacology, v. 7(1), p. 1.

Li, H. H., Q. H. Zhang, P. Wang, Y. M. Li, J. X. Lv, W. H. Chen, D. W. Geng, Y. W. Wang, T. Wang, and G. B. Jiang, 2012, Levels and distribution of hexabromocyclododecane (HBCD) in environmental samples near manufacturing facilities in Laizhou Bay area, East China: Journal of Environmental Monitoring, v. 14(10), p. 2591-2597.

Luo, X. J., W. Ruan, Y. H. Zeng, H. Y. Liu, S. J. Chen, J. P. Wu, and B. X. Mai, 2013, Trophic Dynamics of Hexabromocyclododecane Diastereomers and Enantiomers in Fish in a Laboratory Feeding Study: Environmental Toxicology and Chemistry, v. 32(11), p. 2565-2570.

MacLachlan, D. J., 2009, Influence of physiological status on residues of lipophilic xenobiotics in livestock: Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment, v. 26(5), p. 692-712.

MacLachlan, D. J., 2010, Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model for residues of lipophilic pesticides in poultry: Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment, v. 27(3), p. 302-314.

Marion, J. E., 1965, Effect of Age and Dietary Fat on the Lipids of Chicken Muscle: Journal of Nutrition, v. 85, p. 38-44.

Marvin, C. H., G. T. Tomy, J. M. Armitage, J. A. Arnot, L. McCarty, A. Covaci, and V. Palace, 2011, Hexabromocyclododecane: Current Understanding of Chemistry, Environmental Fate and Toxicology and Implications for Global Management: Environmental Science & Technology, v. 45(20), p. 8613-8623.

Matthews, H. B., S. Kato, N. M. Morales, and D. B. Tuey, 1977, Distribution and excretion of 2, 4, 5, 2', 4', 5'-hexabromobiphenyl, the major component of firemaster BP-6: Journal of Toxicology and Environmental Health, v. 3(3), p. 599-605.

Medway, W., and M. R. Kare, 1959, Blood and plasma volume, hematocrit, blood specific gravity and serum protein electrophoresis of the chicken: Poultry Science, v. 38(3), p. 624-631.

Meijer, L., A. M. Hafkamp, W. E. Bosman, R. Havinga, A. Bergman, P. J. J. Sauer, and H. J. Verkade, 2006, Nonabsorbable dietary fat enhances disposal of 2,2 ',4,4 '-tetrabromodiphenyl ether in rats through interruption of enterohepatic circulation: Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 54(17), p. 6440-6444.

Meng, X. Z., Y. P. Duan, C. Yang, Z. Y. Pan, Z. H. Wen, and L. Chen, 2011, Occurrence, sources, and inventory of hexabromocyclododecanes (HBCDs) in soils from Chongming Island, the Yangtze River Delta (YRD): Chemosphere, v. 82(5), p. 725-731.

Merrill, G. F., R. E. Russo, and J. M. Halper, 1981, Cardiac output distribution before and after endotoxin challenge in the rooster: American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, v. 241(1), p. R67-R71.

Mumma, J. O., J. P. Thaxton, Y. Vizzier-Thaxton, and W. L. Dodson, 2006, Physiological stress in laying hens: Poultry science, v. 85(4), p. 761-769.

Nakagawa, R., S. Murata, Y. Ashizuka, Y. Shintani, T. Hori, and T. Tsutsumi, 2010, Hexabromocyclododecane determination in seafood samples collected from Japanese coastal areas: Chemosphere, v. 81(4), p. 445-452.

Niezgoda, J., K. Pierzchala, and S. Bobek, 1982, Blood Flow through the Reproductive Organs in the Hen during the Maturation Period and Egg-Laying Cycle*: Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe A, v. 29(3), p. 207-214.

Novogen, 2016, Production Targets - Novogen Brown commercial layers, Novogen SAS.

NRC, 1994, Nutrient requirements of poultry, National Academy Press Washington, DC, p. 19-34.

Nys, Y., and N. Guyot, 2011, Egg formation and chemistry, Improving the Safety and Quality of Eggs and Egg Products, Vol 1: Egg Chemistry, Production and Consumption: Woodhead Publishing in Food Science Technology and Nutrition, p. 83-132.

OECD, 2012, OECD guidelines for the testing of chemicals, section 3: degradation and accumulation; test No. 305: Bioaccumulation in Fish: Aqueous and Dietary Exposure, OECD Publishing, p. 1-72.

Olsen, L., C. Oostenbrink, and F. S. Jørgensen, 2015, Prediction of cytochrome P450 mediated metabolism: Advanced Drug Delivery Reviews, v. 86, p. 61-71.

Ortiz, X., P. Guerra, J. Diaz-Ferrero, E. Eljarrat, and D. Barcelo, 2011, Diastereoisomer- and enantiomer-specific determination of hexabromocyclododecane in fish oil for food and feed: Chemosphere, v. 82(5), p. 739-744.

Park, J. H., and R. Ks, 2002, Recovery Pattern of Abdominal Fat, Visceral Organs, and Muscle Tissues in Induced Molting Hens: Korean Journal of Poultry Science, v. 29(4), p. 237-241.

Peebles, E. D., M. R. Burnham, R. L. Walzem, S. L. Branton, and P. D. Gerard, 2004, Effects of fasting on serum lipids and lipoprotein profiles in the egg-laying hen (Gallus domesticus): Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, v. 138(3), p. 305-311.

Peled, M., R. Scharia, and D. Sondack, 1995, Thermal rearrangement of hexabromo-cyclododecane (HBCD): Industrial Chemistry Library, v. 7, p. 92-99.

Pelkonen, O., and M. Turpeinen, 2007, In vitro-in vivo extrapolation of hepatic clearance: Biological tools, scaling factors, model assumptions and correct concentrations: Xenobiotica, v. 37(10-11), p. 1066-1089.

Perez-Bonilla, A., C. Jabbour, M. Frikha, S. Mirzaie, J. Garcia, and G. G. Mateos, 2012, Effect of crude protein and fat content of diet on productive performance and egg quality traits of brown egg-laying hens with different initial body weight: Poultry Science, v. 91(6), p. 1400-1405.

Pištěková, V., M. Hovorka, V. Večerek, E. Strakova, and P. Suchý, 2006, The quality comparison of eggs laid by laying hens kept in battery cages and in a deep litter system: Czech Journal of Animal Science, v. 51(7), p. 318-325.

Polder, A., M. B. Muller, O. B. Brynildsrud, J. de Boer, T. Hamers, J. H. Kamstra, E. Lie, R. H. Mdegela, H. Moberg, H. E. Nonga, M. Sandvik, J. U. Skaare, and J. L. Lyche, 2016, Dioxins, PCBs, chlorinated pesticides and brominated flame retardants in free-range chicken eggs from peri-urban areas in Arusha, Tanzania: Levels and implications for human health: Science of the Total Environment, v. 551, p. 656-667.

Polin, D., E. Lehning, D. Pullen, S. Bursian, and R. Leavitt, 1985, Procedures to enhance withdrawal of xenobiotics from chickens: Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues, v. 16(2), p. 243-254.

Porter, T., E. Kebreab, H. Darmani Kuhi, S. Lopez, A. B. Strathe, and J. France, 2010, Flexible alternatives to the Gompertz equation for describing growth with age in turkey hens: Poultry Science, v. 89(2), p. 371-378.

Poulin, P., and S. Haddad, 2012, Advancing prediction of tissue distribution and volume of distribution of highly lipophilic compounds from a simplified tissue-composition-based model as a mechanistic animal alternative method: Journal of pharmaceutical sciences, v. 101(6), p. 2250-2261.

Puchała, M., J. Krawczyk, and J. Calik, 2014, Influence of origin of laying hens on the quality of their carcasses and meat after the first laying period: Annals of Animal Science, v. 14(3), p. 685-696.

Rabot, C., 1998, Vitesse de croissance et caractéristiques lipidiques et sensorielles des muscles de poulet: PhD., INA Paris-Grignon.

Rauert, C., S. Harrad, M. Stranger, and B. Lazarov, 2015, Test chamber investigation of the volatilization from source materials of brominated flame retardants and their subsequent deposition to indoor dust: Indoor Air, v. 25(4), p. 393-404.

Rawn, D. F. K., A. Sadler, S. C. Quade, W. F. Sun, B.-Y. Lau, I. Kosarac, S. Hayward, and J. J. Ryan, 2011, Brominated flame retardants in Canadian chicken egg yolks: Food Additives and Contaminants, v. 28(6), p. 807-815.

Renema, R. A., F. E. Robinson, J. A. Proudman, M. Newcombe, and R. I. McKay, 1999, Effects of body weight and feed allocation during sexual maturation in broiler breeder hens. 2. Ovarian morphology and plasma hormone profiles: Poultry Science, v. 78(5), p. 629-639.

Renwick, A. G., 2001, Toxicokinetics: Pharmacokinetics in toxicology, *in* A. W. Hayes, ed., Principles and Methods of Toxicology: Philadelphia, PA, Taylor Francis, p. 137-191.

Rivière, G., V. Sirot, A. Tard, J. Jean, P. Marchand, B. Veyrand, B. Le Bizec, and J. C. Leblanc, 2014, Food risk assessment for perfluoroalkyl acids and brominated flame retardants in the French population: Results from the second French total diet study: Science of The Total Environment, v. 491, p. 176-183.

Rizzi, C., and G. M. Chiericato, 2005, Organic farming production. Effect of age on the productive yield and egg quality of hens of two commercial hybrid lines and two local breeds: Italian Journal of Animal Science, v. 4(suppl.3), p. 160-162.

Robinson, F. E., R. A. Renema, H. H. Oosterhoff, M. J. Zuidhof, and J. L. Wilson, 2001, Carcass Traits, Ovarian Morphology and Egg Laying Characteristics in Early Versus Late Maturing Strains of Commercial Egg-Type Hens: Poultry Science, v. 80(1), p. 37-46.

Ruby, M. V., Y. W. Lowney, A. L. Bunge, S. M. Roberts, J. L. Gomez-Eyles, U. Ghosh, J. C. Kissel, P. Tomlinson, and C. Menzie, 2016, Oral Bioavailability, Bioaccessibility, and Dermal Absorption of PAHs from Soil-State of the Science: Environmental Science & Technology, v. 50(5), p. 2151-2164.

Ryu, E. K., Y. S. Choe, D. H. Kim, B.-H. Ko, Y. Choi, K.-H. Lee, and B.-T. Kim, 2006, In vitro metabolism studies of 18F-labeled 1-phenylpiperazine using mouse liver S9 fraction: Nuclear Medicine and Biology, v. 33(2), p. 165-172.

Sahasrabudhe, M. R., N. F. Delorme, D. F. Wood, and C. J. Randall, 1985, Neutral and polar lipids in chicken parts and their fatty acid composition: Poultry Science, v. 64(5), p. 910-916.

Sakomura, N. K., R. M. Gous, S. M. Marcato, and J. B. K. Fernandes, 2011, A description of the growth of the major body components of 2 broiler chicken strains: Poultry Science, v. 90(12), p. 2888-2896.

Sanders, J. M., G. A. Knudsen, and L. S. Birnbaum, 2013, The Fate of β-Hexabromocyclododecane in Female C57BL/6 Mice: Toxicological sciences, v. 134(2), p. 251-257.

Santoso, U., K. Tanaka, and S. Ohtani, 1995, Effect of dried Bacillus subtilis culture on growth, body composition and hepatic lipogenic enzyme activity in female broiler chicks: British Journal of Nutrition, v. 74(04), p. 523-529.

Sapirstein, L. A., and F. A. Hartman, 1959, Cardiac output and its distribution in the chicken: American Journal of Physiology, v. 196(4), p. 751-752.

Sauvant, D., 1992, La modélisation systémique en nutrition: Reproduction Nutrition Development, v. 32(3), p. 217-230.

Sauveur, B., 1988, Reproduction des volailles et production d'oeufs, Editions Quae, 470 p.

Scanes, C. G., 2014, Sturkie's avian physiology, Elsevier, 1056 p.

Scanes, C. G., H. Mozelic, E. Kavanagh, G. Merrill, and J. Rabii, 1982, Distribution of blood flow in the ovary of domestic fowl (Gallus domesticus) and changes after prostaglandin F-2α treatment: Journal of reproduction and fertility, v. 64(1), p. 227-231.

Schecter, A., D. Haffner, J. Colacino, K. Patel, O. Päpke, M. Opel, and L. Birnbaum, 2010, Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and hexabromocyclodecane (HBCD) in composite US food samples: Environmental health perspectives, v. 118(3), p. 357.

Schumann, B. E., E. J. Squires, S. Leeson, and B. Hunter, 2003, Effect of hens fed dietary flaxseed with and without a fatty liver supplement on hepatic, plasma and production characteristics relevant to fatty liver haemorrhagic syndrome in laying hens: British poultry science, v. 44(2), p. 234-244.

Shi, Z.-X., Y.-N. Wu, J.-G. Li, Y.-F. Zhao, and J.-F. Feng, 2009, Dietary Exposure Assessment of Chinese Adults and Nursing Infants to Tetrabromobisphenol-A and Hexabromocyclododecanes: Occurrence Measurements in Foods and Human Milk: Environmental Science & Technology, v. 43(12), p. 4314-4319.

Silversides, F. G., and T. A. Scott, 2001, Effect of Storage and Layer Age on Quality of Eggs From Two Lines of Hens: Poultry Science, v. 80(8), p. 1240-1245.

Souza, K. M. r. R. d., A. S. Carrijo, I. B. Allaman, V. B. Fascina, J. R. C. Mauad, and F. M. Suzuki, 2010, Alternative methods of feed restriction in the forced molt of laying hens: Revista Brasileira de Zootecnia, v. 39(2), p. 356-362.

Staskal, D. F., H. Hakk, D. Bauer, J. J. Diliberto, and L. S. Birnbaum, 2006, Toxicokinetics of polybrominated diphenyl ether congeners 47, 99, 100, and 153 in mice: Toxicological sciences, v. 94(1), p. 28-37.

Stebel, S., and R. F. Wideman, 2008, Pulmonary hemodynamic responses to intravenous prostaglandin E2 in broiler chickens: Poultry science, v. 87(1), p. 138-145.

Sturkie, P. D., 1986, Avian physiology, Springer Verlag New York, 516 p.

Sturkie, P. D., A. Abati, P. D. Sturkie, and A. Abati, 1975, Blood flow in mesenteric, hepatic portal and renal portal veins of chickens: Pflügers Archiv - European Journal of Physiology, v. 359(1-2), p. 127-135.

Suk, Y. O., and C. Park, 2001, Effect of Breed and Age of Hens on the Yolk to Albumen Ratio in Two Different Genetic Stocks: Poultry Science, v. 80(7), p. 855-858.

Sun, Y.-x., X.-j. Luo, L. Mo, M.-j. He, Q. Zhang, S.-j. Chen, F.-s. Zou, and B.-x. Mai, 2012, Hexabromocyclododecane in terrestrial passerine birds from e-waste, urban and rural locations in the Pearl River Delta, South China: Levels, biomagnification, diastereoisomer-and enantiomer-specific accumulation: Environmental Pollution, v. 171, p. 191-198.

Szabo, D. T., J. J. Diliberto, H. Hakk, J. K. Huwe, and L. S. Birnbaum, 2010, Toxicokinetics of the flame retardant hexabromocyclododecane gamma: effect of dose, timing, route, repeated exposure, and metabolism: Toxicological Sciences, v. 117(2), p. 282-293.

Szabo, D. T., J. J. Diliberto, H. Hakk, J. K. Huwe, and L. S. Birnbaum, 2011a, Toxicokinetics of the flame retardant hexabromocyclododecane alpha: Effect of dose, timing, route, repeated exposure, and metabolism: Toxicological Sciences, v. 121(2), p. 234-244.

Szabo, D. T., J. J. Diliberto, J. K. Huwe, and L. S. Birnbaum, 2011b, Differences in Tissue Distribution of HBCD Alpha and Gamma between Adult and Developing Mice: Toxicological Sciences, v. 123(1), p. 256-263.

Thayer, R. H., E. C. Nelson, E. T. Clemens, R. R. Johnson, and A. L. Malle, 1973, Lipid Composition of Livers from Laying Hens: Poultry Science, v. 52(6), p. 2270-2275.

Thomsen, C., P. Molander, H. L. Daae, K. Janák, M. Froshaug, V. H. Liane, S. Thorud, G. Becher, and E. Dybing, 2007, Occupational exposure to hexabromocyclododecane at an industrial plant: Environmental science & technology, v. 41(15), p. 5210-5216.

Tickle, P. G., H. Paxton, J. W. Rankin, J. R. Hutchinson, and J. R. Codd, 2014, Anatomical and biomechanical traits of broiler chickens across ontogeny. Part I. Anatomy of the musculoskeletal respiratory apparatus and changes in organ size: PeerJ, v. 2, p. e432.

Törnkvist, A., A. Glynn, M. Aune, P. O. Darnerud, and E. H. Ankarberg, 2011, PCDD/F, PCB, PBDE, HBCD and chlorinated pesticides in a Swedish market basket from 2005 - Levels and dietary intake estimations: Chemosphere, v. 83(2), p. 193-199.

Umar Faruk, M., I. Bouvarel, N. Meme, N. Rideau, L. Roffidal, H. M. Tukur, D. Bastianelli, Y. Nys, and P. Lescoat, 2010, Sequential feeding using whole wheat and a separate protein-mineral concentrate improved feed efficiency in laying hens: Poultry Science, v. 89(4), p. 785-796.

Van der Ven, L. T. M., A. Verhoef, T. van de Kuil, W. Slob, P. E. G. Leonards, T. J. Visser, T. Hamers, M. Herlin, H. Håkansson, H. Olausson, A. H. Piersma, and J. G. Vos, 2006, A 28-day oral dose toxicity study enhanced to detect endocrine effects of hexabromocyclododecane in Wistar rats: Toxicological Sciences, v. 94(2), p. 281-292.

Vogel, J. A., and P. D. Sturkie, 1963, Cardiovascular responses of the chicken to seasonal and induced temperature changes: Science, v. 140(357), p. 1404-1406.

Vorkamp, K., K. Bester, and F. F. Riget, 2012, Species-Specific Time Trends and Enantiomer Fractions of Hexabromocyclododecane (HBCD) in Biota from East Greenland: Environmental Science & Technology, v. 46(19), p. 10549-10555.

Walzem, R. L., 1996, Lipoproteins and the laying hen: form follows function: Poultry and Avian Biology Reviews, v. 7(1), p. 31-64.

Walzem, R. L., P. A. Davis, and R. J. Hansen, 1994, Overfeeding increases very low density lipoprotein diameter and causes the appearance of a unique lipoprotein particle in association with failed yolk deposition: Journal of Lipid Research, v. 35(8), p. 1354-1366.

Wang, T., S. L. Han, T. Ruan, Y. W. Wang, J. Y. Feng, and G. B. Jiang, 2013, Spatial distribution and inter-year variation of hexabromocyclododecane (HBCD) and tris-(2,3-dibromopropyl) isocyanurate (TBC) in farm soils at a peri-urban region: Chemosphere, v. 90(2), p. 182-187.

Weber, K., and H. Goerke, 2003, Persistent organic pollutants (POPs) in antarctic fish: levels, patterns, changes: Chemosphere, v. 53(6), p. 667-678.

Weidner, W. J., L. F. Hoffman, and S. D. Clark, 1982, Regional blood flow in the domestic fowl immediately following chronic acceleration: Aviation, space, and environmental medicine, v. 53(7), p. 666-669.

Weiss, H. S., and H. Fisher, 1957, Plasma lipid and organ changes associated with the feeding of animal fat to laying chickens: Journal of Nutrition, v. 61(2), p. 267-280.

West, J. B., Z. Fu, Y. Gu, H. E. Wagner, J. A. Carr, and K. L. Peterson, 2010, Pulmonary artery pressure responses to increased cardiac output in chickens with raised metabolic rate: Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, v. 156(4), p. 430-435.

Wideman, R. F., 1999, Cardiac output in four-, five-, and six-week-old broilers, and hemodynamic responses to intravenous injections of epinephrine: Poultry Science, v. 78(3), p. 392-403.

Wideman, R. F., M. E. Chapman, and G. F. Erf, 2005, Pulmonary and systemic hemodynamic responses to intravenous prostacyclin in broilers: Poultry Science, v. 84(3), p. 442-453.

Wideman, R. F., Y. K. Kirby, M. F. Forman, N. Marson, R. W. McNew, and R. L. Owen, 1998, The infusion rate dependent influence of acute metabolic acidosis on pulmonary vascular resistance in broilers: Poultry Science, v. 77(2), p. 309-321.

Wideman, R. F., and C. D. Tackett, 2000, Cardio-pulmonary function in broilers reared at warm or cool temperatures: Effect of acute inhalation of 100% oxygen: Poultry Science, v. 79(2), p. 257-264.

Wolfenson, D., 1986, The effect of acclimatization on blood flow and its distribution in normothermic and hyperthermic domestic fowl: Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology, v. 85(4), p. 739-742.

Wolfenson, D., A. Berman, Y. F. Frei, and N. Snapir, 1978, Measurement of blood flow distribution by radioactive microspheres in the laying hen (Gallus domesticus): Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology, v. 61(4), p. 549-554.

Wolfenson, D., Y. F. Frei, N. Snapir, and A. Berman, 1981, Heat-stress effects on capillary blood-flow and its redistribution in the laying hen: Pflügers Archiv - European Journal of Physiology, v. 390(1), p. 86-93.

Wu, T., H. L. Huang, and S. Z. Zhang, 2016, Accumulation and phytotoxicity of technical hexabromocyclododecane in maize: Journal of Environmental Sciences, v. 42, p. 97-104.

Yang, L., Y. Huang, H. Q. Wang, and Z. Y. Chen, 2003, Isomeric distribution of conjugated linoleic acids (CLA) in the tissues of layer hens fed a CLA diet: Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 51(19), p. 5654-5660.

Yu, J.-L., L. D. Campbell, and R. R. Marquardt, 1976, Immunological and compositional patterns of lipoproteins in chicken (Gallus domesticus) plasma: Poultry Science, v. 55(5), p. 1626-1631.

Zegers, B. N., A. Mets, R. Van Bommel, C. Minkenberg, T. Hamers, J. H. Kamstra, G. J. Pierce, and J. P. Boon, 2005, Levels of hexabromocyclododecane in harbor porpoises and common dolphins from western European seas, with evidence for stereoisomer-specific biotransformation by cytochrome P450: Environmental Science & Technology, v. 39(7), p. 2095-2100.

Zhang, J. W., D. W. Chen, B. Yu, and Y. M. Wang, 2011a, Effect of dietary energy source on deposition and fatty acid synthesis in the liver of the laying hen: British Poultry Science, v. 52(6), p. 704-710.

Zhang, X.-L., X.-J. Luo, H.-Y. Liu, L.-H. Yu, S.-J. Chen, and B.-X. Mai, 2011b, Bioaccumulation of several brominated flame retardants and dechlorane plus in waterbirds from an e-waste recycling region in South China: associated with trophic level and diet sources: Environmental Science & Technology, v. 45(2), p. 400-405.

Zhang, Y., H. Sun, and Y. Ruan, 2014, Enantiomer-specific accumulation, depuration, metabolization and isomerization of hexabromocyclododecane (HBCD) diastereomers in mirror carp from water: Journal of Hazardous Materials, v. 264, p. 8-15.

Zheng, X.-B., J.-P. Wu, X.-J. Luo, Y.-H. Zeng, Y.-Z. She, and B.-X. Mai, 2012, Halogenated flame retardants in home-produced eggs from an electronic waste recycling region in South China: Levels, composition profiles, and human dietary exposure assessment: Environment International, v. 45, p. 122-128.

Zhu, H. K., H. W. Sun, Y. W. Zhang, J. Y. Xu, B. Li, and Q. X. Zhou, 2016, Uptake Pathway, Translocation, and Isomerization of Hexabromocyclododecane Diastereoisomers by Wheat in Closed Chambers: Environmental Science & Technology, v. 50(5), p. 2652-2659.

Zuidhof, M. J., 2005, Mathematical characterization of broiler carcass yield dynamics: Poultry Science, v. 84(7), p. 1108-1122.

7 Annexes

Annexe 1. Transfer of the α-HBCD in the laying hen: a physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model

Authors

Domínguez-Romero Elena, Bertrand Méda, Jérôme Henri, Eric Royer, Stéphanie Guérin, Andréa García-de Salazar, Elisabeth Baéza, Angélique Travel, Catherine Jondreville.

Abstract; keywords

Hexabromocyclododecane (HBCD) is a persistent organic pollutant (POP) of which the main source of exposure for the general population is represented by the foodstuffs of animal origin. The mean exposure level of the consumer to HBCD doesn't represent any risk to the food safety and the consumer's health (EFSA, 2011). Nevertheless, high maximal concentrations have been reported in some food samples including eggs (DGAL, 2009). The hens could be exposed mainly to the α- isomer of the HBCD. The laying rate and the body fat have an influence on the transfer kinetics of other POP in the laying hen. It was necessary to explore the influence of these features on the transfer kinetics of the α-HBCD in the case of a non-intended exposure of the laying hens to the molecule. A physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model has been developed, calibrated by literature data, a sensitivity analysis has been developed and some parameters have been adjusted on the basis of experimental results. This model has allowed the hierarchical organization of the physiological characteristics according to their influence on the α-HBCD accumulation in the tissues and its transfer to eggs in the laying hen during lay and molt. Among the physiological features considered as specific to different laying hen strains, the body weight (BW) is the main one influencing the α-HBCD kinetics. Thus, if the hen is exposed to the molecule, a low BW predisposes this animal to present higher concentrations of the molecule in all the matrices. A high laying performance diminishes the concentration of the molecule in all the matrices. The molting stage raises the body charge of the molecule in exposed hens. It was estimated that approximatively 1.7% of the α-HBCD plasmatic flow to the liver is continuously eliminated by metabolism in this organ. The model can be extrapolated to other animals and lipophilic molecules.

Keywords : *PBPK model, HBCD, laying hen, physiological features.*

Introduction

Food safety refers to the prevention of the hazards that may make food injurious to the consumer's health (FAO/WHO, 2003). Most of the food safety consultations or events included in the 2014/15 INFOSAN's Activity Report were related to pathogenic microbes (65% in 2014 and 59% in 2015) and chemical contaminants (25 and 22% respectively). Hexabromocyclododecane (HBCD) is a brominated flame retardant that has been used mainly as an additive in polystyrene foam (EPA, 2014). Its production and use is restricted since it was included in the annex A of the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POP) in 2013 (decision SC-6/13). As a POP, the HBCD, once released in the environment, is able of a wide distribution and a high persistence; in living organisms, this highly lipophilic molecule accumulates in lipids and is toxic for animals (included humans) (Covaci et al., 2006; Marvin et al., 2011). The ingestion of contaminated food is the main way of exposure of the general population to this molecule (Fromme et al., 2016) and the foodstuffs or animal origin the main source of exposure (EFSA, 2011). Mean concentrations of HBCD around 1 ng g^{-1} lipids are generally reported in these foodstuffs and the mean exposure level in the adult is estimated to be around 0.09-0.99 ng kg^{-1} BW d^{-1} in Europe (EFSA, 2011), 0.43 ng kg^{-1} BW d^{-1} in the United States (Fromme et al., 2016) and 0.43 ng kg^{-1} BW d^{-1} in China (Shi et al., 2009). Different studies conclude that the mean level of exposure of the population to this molecule doesn't represent a risk for the health (EFSA, 2011; Fromme et al., 2016). Nevertheless, in spite of the low mean concentrations of the molecule in food, high maximal concentrations have been reported in some samples of different foodstuffs of animal origin. In eggs, maximal concentrations around 500 ng g^{-1} lipids (DGAL, 2010) and even higher than 2000 ng g^{-1} lipids (DGAL, 2009; Hiebl and Vetter, 2007) have been reported in some samples by different food control surveys. The exposure of the hens to HBCD by picking of contaminated materials was suggested by Hiebl and Vetter (2007) as the cause of the high concentrations of the molecule in some eggs reported by this study. As the HBCD has been dosed in soil (Covaci et al., 2009), plants (Li et al., 2012) and animal feed (Fernandes et al., 2016), these matters constitute other possible sources of exposure of hens to HBCD while being bred. Among the three main isomers of HBCD, that's to say α-, β- and γ-HBCD, the α-HBCD is generally the predominant isomer in the foodstuffs of animal origin and specifically in eggs (Knutsen et al., 2008; Rawn et al., 2011). The α-HBCD was also generally the predominant isomer HBCD dosed in polystyrenes sampled in poultry and porc farm buildings (Cariou et al., 2014). The hens could be exposed mainly to this isomer. Most of the kinetic parameters of the accumulation in tissues and transfer to eggs of the ingested α-HBCD have been estimated by an *in vivo* experience in Novo brown laying hens orally exposed to the molecule (Domínguez-Romero et al., 2016). The influence of the laying rate,

the body fat and the molting state on the accumulation in tissues and transfer to eggs of PCB, a kind of POP, was shown by the compartmental model of Fournier et al. (2015). However, there is no information about the influence of the physiological characteristics in the kinetics of accumulation and transfer of the α-HBCD in the laying hen. Modelling can help to answer to this question for a long range of physiological features in hens characteristic of different breeding systems, such as family farming or conventional cage systems. A physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model has been developed for filling these gaps. The choice of a PBPK model has the advantage of making it easier to extrapolate the model to other animals or lipophilic molecules (MacLachlan, 2010) and a differenciate physiological or biochemical interpretation of the value of each parameter (Andersen, 1995).

Material and methods

Model structure and calibration

The model, implemented on Vensim PRO software, is composed of two submodels, one physiological and one representing the transfert of the molecule (Absorption, Distribution, Metabolism and Excretion: "ADME" submodel). The physiological submodel is presented on two diagrams in the appendix (Figures S 1 and S 2). The ADME submodel is presented in the Fig. 1. The represented tissues are: the plasma, the liver, the abdominal fat, the pectoral muscles, the thigh muscles. A compartment "other" represents the rest of tissues of the body. In this paper, "tissue i" is a generic denomination that makes reference to different tissues. Ten growing follicles that give rise to the yolks are also represented.

The laying hen is represented from 84 to 644 days of age, what includes the end of the growth, the 1st laying cycle, one molting (with a period of BW loss followed by a period of BW recovery). These periods and ages are summarized in the Fig. 2. The physiological submodel represents the physiological characteristics of the laying hen considered to influence the transfert of the α-HBCD, more specifically the BW, the tissue weight, the total and neutral lipid content of the different tissues and the plasma irrigation.

The ADME submodel represents the transfert of the molecule in the body to the different compartments and is mainly driven by the physiological submodel. Effectively, the level of exposure is considered as proportional to the daily feed intake (DFI, kg d^{-1}). The distribution is driven by the partition coefficient of the molecule between a tissue and the plasma (Kp tissue i, L kg^{-1}) and by the blood flow to tissues (Tissue i perf, L d^{-1}) (Benet et al., 1996; Renwick, 2001). Because of the high lipophilicity of this molecule (log Kow of 5.6; Marvin et al., 2011), the "Kp tissue i" is considered as the ratio of the neutral lipid concentrations in

the tissue and in the plasma (Haddad et al., 2000; MacLachlan, 2010; Poulin and Haddad, 2012). Moreover the transfer of the molecule to the growing follicles represents an important way of elimination of the molecule when the yolks are ovulated (Donoghue, 2001; Fournier, 2011). Two parameters specific to the molecule are represented in the ADME submodel: the absorption coefficient in the gut (HBCD abs coef, no units) and the extraction rate of the α-HBCD in the liver (E_{liver}, no units), that influence respectively the absorption, the metabolism and elimination of the molecule.

Two databases were created from around 110 references for the calibration of parameters. The description of all the parameters, their values and the references used for the calculation of these values are presented in the Tables 1 to 6.

Physiological submodel

Body and tissue weight

At the end of the growth and during the 1st laying cycle, the body weight (BW, kg) is described as a Gompertz function (Aubry et al., 2004) (Equation 1). The weight of each tissue ($W_{tissue\ i}$, kg) is described as an allometric function of BW (Ibe and Nwakalor, 1987) (Equations 2 and 3).

$BW = BW2 \times \frac{BW2}{BW1}^{\frac{-\left(e^{-Bgomp\times(AGE2g-AGE1)}-e^{-Bgomp\times(AGE-AGE1)}\right)}{-1+e^{-Bgomp\times(AGE2g-AGE1)}}}$	Equation 1
$\ln W_{tissue\ i} = a_{tissue\ i} \times \ln BW + b_{tissue\ i}$	Equation 2
$W_{tissue\ i} = a_{tissue\ i} \times BW + b_{tissue\ i}$	Equation 3

The parameters related to the BW (kg) and the tissue weight ($W_{tissue\ i}$, kg) have been estimated by adjusting these equations on bibliographic data.

In the model, the BW and the $W_{tissue\ i}$ compartment volumes result from the fluxes of weight gain and loss and from the initial weight of these compartments, as a function of the physiological stage. All the equations applied in the model for the calculation of the fluxes of BW and tissue weight gain and lost are shown in the Table 7. The BW gain (kg d^{-1}) is calculated as the derivate of the Equation 1 in function of the AGE during the growth and the beginning of the first laying cycle until the BW is maximized (Table 7, equation 14). For these periods, the tissue weight gain ($W_{tissue\ i}$ gain, kg d^{-1}) is calculated for all tissues unless "other" as the product of the derivative of the Equation 2 (for the pectoral muscles, the liver and the blood) or of the Equation 3 (for the abdominal fat and the thigh muscles) in function of BW and the BW gain (Table 7, equations 15 and 16). During the first 12 days of molting (molting,

BW loss), the BW diminishes of 25% (Prop BW molt, no units) by a constant BW loss (Table 7, equation 18). The tissue weight diminishes by a constant $W_{tissue\ i}$ loss that depends on the total fraction of each tissue weight lost during molting (Prop $W_{tissue\ i}$ molt, no units) (Table 7, eq. 19). The BW and the weight of tissues are recovered during the 30 last days of the molting, respectively by a constant BW gain (Table 7, eq. 21) and a constant $W_{tissue\ i}$ gain (Table 7, eq. 22). At the end of the molting (AGE4), the BW and the weight of tissues attain the value observed before the molting, and they stay stable during the 2nd laying cycle. The gain and the lost of weight of "other" are always calculated as the difference between the changing of the BW and the changing of weight of the rest of tissues (Table 7, equations 17, 20 and 23).

The plasma volume is calculated as a function of the blood weight, the blood density (mV_{blood}, kg L^{-1}) and the haematocrit (Ht growth or lay or Ht molt, no units) (Table 7, equations 24, 26 and 28). The gain and loss of plasma volume is calculated as a function of the gain or loss of blood weight at each physiological stage (Table 7, equations 25, 27 and 29).

Total and neutral lipid content in the body and in tissues

The proportion of lipids in the body (BW lipid cont, kg kg^{-1}) is considered to represent 6% at AGE1, 20% at AGE2, 13% at AGE3 and 20% from AGE4 to AGE5. For the intermediary ages in each of these intervals, the proportion of lipids in the body is considered to vary linearly with the BW, as a function of the BW and the lipid content of the body at the beginning (respectively BWb, kg and BW lipid cont AGEb, %) and at the end (respectively BWe, kg and BW lipid cont AGEe, %) of the corresponding interval (Equation 4). The body total lipid weight (body total lipids, kg) is calculated as the product of the Proportion of body total lipids by the BW (Equation 5).

$\text{Proportion of Body total lipids} = \text{BW lipid cont AGEb} + (\text{BW} - \text{BWb}) \times \frac{(\text{BW lipid cont AGEe} - \text{BW lipid cont AGEb})}{(\text{BWe} - \text{BWb})}$	Equation 4
$\text{Body total lipids} = \text{BW} \times \text{Proportion of Body total lipids}$	Equation 5

In tissues, during the growth and laying periods, the amount of tissue total lipids is calculated as a function of the proportion of total lipids in the tissue (Tissue lipid cont, kg kg^{-1}) and an intercept (b lip tissue i) (Equation 6) for the liver, the pectoral muscles, the thigh muscles and the abdominal fat. The intercept is different from 0 only for the liver.

$\text{Tissue i total lipids} = \text{Tissue i lipid cont} \times W_{\text{tissue i}} + b_{\text{lip tissue i}}$	Equation 6

All the equations applied in the model for the calculation of the total and neutral lipid content in the body and in tissues are shown in the Tables 8 and 9. The flux of Lipid deposition or Lipid loss (kg d^{-1}) in the body are calculated as the product of the derivate of the Equation 5 as a function of by the BW gain or loss (Table 8, equations 30, 32 and 35). The flux of lipid deposition in a tissue (tissue i lipid dep, kg d^{-1}) is calculated by multiplying the derivate of the Equation 6 as a function of the tissue weight by the weight gain (Table 8, eq. 31). The flux of storage fat lipid deposition and loss are directly proportional to the $W_{storagefat}$ gain or loss at every stage (Table 8, equations 33 and 36).

For the liver and the pectoral and thigh muscles during molting, a linear variation of the proportion of total lipids in these tissues is considered from AGE2 to AGE3 (molting, BW loss), and from AGE3 to AGE4 (molting, BW recovery). For the intermediary ages in these intervals, the proportion of total lipids in these tissues varies linearly as a function of the weight and the lipid content of the tissue at the beginning (respectively $W_{tissue\ i}$ AGEb, kg and Tissue i lipid cont AGEb, %) and at the end ($W_{tissue\ i}$ AGEe, kg and Tissue i lipid cont AGEe, %) of the corresponding interval (Equation 7). The tissue lipid weight (tissue i total lipids, kg), is the product of the Equation 7 by the $W_{tissue\ i}$ (Equation 8).

$\text{Tissue i lipid cont} = \text{Tissue i lipid cont AGEb} + (W_{\text{tissue i}} - W_{\text{tissue i}}\ \text{AGEb}) \times \frac{(\text{Tissue i lipid cont AGEe} - \text{Tissue i lipid cont AGEb})}{(W_{\text{tissue i}}\ \text{AGEe} - W_{\text{tissue i}}\ \text{AGEb})}$	Equation 7
$\text{Tissue i total lipids} = W_{\text{tissue i}} \times \text{Tissue i lipid cont}$	Equation 8

For these tissues (liver, pectoral and thigh muscles), the fluxes of lipid deposition or lipid loss during molting are calculated in the model as the product of the derivate of the Equation 8 as a function of the tissue weight by the tissue weight gain or loss (Table 8, equations 34 and 37).

In the plasma, the weight of total lipids can be calculated as the product of the volume of plasma (V_{plasma}, L) and the concentration of lipids in plasma either during growth and molting or during laying (respectively Plasma lipid cont and Plasma lipid cont lay, kg L^{-1}) (Equations 9 and 10).

$\text{Plasma total lipid} = \text{Plasma lipid cont} \times V_{\text{plasma}}$	Equation 9
$\text{Plasma total lipid} = \text{Plasma lipid cont lay} \times V_{\text{plasma}}$	Equation 10

In the model, the gain or loss of total lipids in the plasma is calculated by multiplying the gain or loss in plasma volume by the concentration of lipids in plasma either during growth or molting (Table 9, eq. 41 and 43) or during laying (Table 9, eq. 45 and 46). At the transition ages between not laying and laying (and vice versa), a correction must be applied for

considering the changings in the haematocrit depending in the stage (Table 9, eq. 42, 44 and 47).

The gain or the loss of weight of "other" total lipids is calculated by the difference between the changing of the weight of the Body total lipids and the changing of the weight of the total lipids in the rest of tissues (Table 8, eq. 38 and 39).

The proportion of the neutral lipids in the total lipids of the tissues (Tissue i neut lipid ratio, kg kg^{-1}) is estimated from bibliographic data as the sum of the proportions represented by the triglycerides, the cholesterol and 0,3 times the proportion of phospholipids in the total lipids of each tissue (Haddad et al., 2000). The Tissue neut lipid ratio is considered invariable with the physiological stage for most of the tissues unless for plasma, where this ratio increases during laying. In the model, the amount of neutral lipids in the different tissues (Tissue i neutral, kg) is calculated by multiplying the Tissue neut lipid ratio by the amount of total lipids in the tissue (Table 8, eq. 40; Table 9, eq. 48 and 49).

Irrigation of tissues

All the equations applied in the model for the calculation of the different components related to the irrigation of tissues are shown in the Table 10. The daily cardiac output can be calculated as the product of the cardiac output (Q coef, L kg^{-1} d^{-1}) by the BW (kg). The daily plasmatic cardiac output (TQ, L d^{-1}) is calculated by multiplying these variables by the proportion of plasma in the blood (eq. 50). Following the same structure, the plasmatic flow to each tissue (Tissue i perf, L d^{-1}) is calculated by the (eq. 51), where Tissue i coef is the blood flow to the tissue expressed in L kg^{-1} tissue d^{-1}. The daily plasmatic flow to the "other" compartment (Other perf, L d^{-1}) is calculated as the difference between the TQ and the blood flow to the rest of tissues (eq. 52).

Laying

All the equations applied in the model for the calculation of the components related to the growth of follicles and the ingestion are shown in the Table 10. Ten follicles are represented in the model. The initialisation of the growth of each follicle takes place one day after the initialisation of the previous one. The initialisations begin at AGE maturity and stop at AGE2, for restarting at AGE4. The daily store of follicle weight ($W_{follic[1..10]}$ gain, kg d^{-1}) is considered to last 10 days and is calculated by a logistic model (Fournier et al., 2010) (eq. 53). The follicle growth rate variable (k $growth_{follic}$, kg^{-1} d^{-1}) is calculated by considering that the follicle is ovulated when its weight reaches 93% of the maximum follicle weight (W_{yolk}, kg) (eq. 54). The daily store of total lipids in the follicle ($Follic_{[1..10]}$ lipid dep, kg d^{-1}) is calculated as the product of $W_{follic[1..10]}$ gain by the concentration of lipids in the yolk (Yolk lipid cont, kg

kg^{-1}) (eq. 55). The amount of lipids (kg) in the ovulated yolk is calculated by the product of the concentration of lipids in yolk (Yolk lipid cont, kg kg^{-1}) and the weight of the ovulated yolk ($W_{Yolk[1..10]}$, kg) (eq. 56). The maximum follicle weight (W_{yolk}, kg) can be calculated as a function of the egg weight (eq. 57) (Silversides and Scott, 2001; Suk and Park, 2001). The egg weight (W_{egg}, kg) increases with the hen age (Adams and Bell, 1998; Silversides and Scott, 2001). This W_{egg} is calculated as a function of the maximum egg weight (W_{egg} max, kg) and a constant (k_{Wegg}, d^{-1}) when the maximum laying rate (LR max, %) is higher than 60% (eq. 58). For lower values of LR max, Wegg is calculated as a function of the laying rate (eq. 59).

The laying rate curve is represented by calculating the number of follicles initialised in 10 days ($N_{init10d}$) as a function of the maximum and the minimum laying rates in this curve (LR max and LR min, %), the persistence of laying (LR persist, weeks) and the part of the laying rate curve corresponding to each age (N_{cycle}) (eq. 60). The Mean W_{egg} (kg d^{-1}) is the mean weight of the eggs laid daily for 10 days (eq. 61).

Ingestion

All the equations applied in the model for the calculation of the components related to the ingestion are shown in the Table 10. The daily feed intake (DFI, kg d^{-1}) is calculated at all ages as the quotient of the metabolizable energy ingested (Ei, MJ d^{-1}) and the metabolizable energy content in food (E_{diet}, MJ kg^{-1}) (eq. 62). From bibliographic data, the modelisation of the ingested metabolizable energy (Ei) is calculated as a function of BW during the end of growth and before the first egg is laid (eq. 63) (ISApoultry). During the 1st laying cycle, Ei is calculated as a function of the metabolic BW ($BW^{0.75}$), the gain of BW and the MeanWegg (kg d^{-1}) (eq. 64) (ISApoultry, ; NRC, 1994). During the first 12 days of molting, an energetic feed restriction is applied by diminishing of 60% the Ei (Souza et al., 2010) (eq. 65). During the last 30 days of molting, the Ei is calculated as a function of the $BW^{0.75}$ and the BW gain (eq. 66). The Ei is fixed for 30 days after AGE4 to the value attained at AGE4 (eq. 67), and by the eq. 68 for the rest of the 2nd laying cycle.

ADME submodel

The equations driving this submodel are compiled in the Table 11.

Ingestion and absorption of the α-HBCD

The total exposure by ingestion of the molecule (Total HBCD intake, µg d^{-1}) is represented in the model as the sum of the exposure by two possible sources: contaminated feed (Diet HBCD intake, µg d^{-1}) and contaminated materials (No diet HBCD intake, µg d^{-1}) (eq. 69). Only the first source is used here because this chronic way of exposure was the one used in the

only *in vivo* experiment realised about the transfert of the α-HBCD in the laying hen (Domínguez-Romero et al., 2016), whose data serve to the adjustment and the validation of the model. The Diet HBCD intake is calculated as the product of the daily feed intake (DFI, kg d^{-1}) and the concentration of α-HBCD in the feed (Diet HBCD conc, µg kg^{-1}) (eq. 70). Thus the absorption of the molecule depends directly on the DFI, which is highly restricted during molting (Table 10, eq. 65). The flux of the α-HBCD absorbed from the ingested feed to the liver is calculated as the product of the HBCD intake by the absorption coefficient of the molecule in the gut (HBCD abs coef, no units) (Table 11, eq. 71).

Distribution

The absorbed molecule transfers from the liver to the plasma. The molecule is then distributed to all the tissues by the arterial flow to each tissue, calculated as the product of the daily plasmatic flow to the tissue (Tissue i perf, L d^{-1}) and the concentration of HBCD in plasma ($HBCD_{plasma}$ conc, µg L^{-1}). The plasmatic venous flow from the tissue to plasma considers that a part of the molecule stays in the tissue during the exchanges with plasma. The part of the molecule retained in each tissue during the exchanges with plasma depends on the partition coefficient of the molecule in the tissue, estimated for the highly lipophilic α-HBCD as the ratio between the concentration of neutral lipids in the tissue and the concentration of neutral lipids in plasma (Kp tissue i, L kg^{-1}) (eq. 72). In the model, the net plasmatic flow of the molecule in each tissue ($HBCD_{Plasma\ tissue\ i}$, µg d^{-1}) is calculated as the difference between the arterial and the venous flows as represented by the eq. 73. The concentration of α-HBCD in the lipids of each tissue is calculated by the eq. 74.

Metabolism

The hepatic metabolism of the α-HBCD is represented. In light of the experimental results in the laying hen (Domínguez-Romero et al., 2016) that indicate 1st order kinetics for the depuration of the different tissues and generally no significant effect of the exposure level in the transfer kinetics of the molecule, no saturation or activation processes in liver are considered for the doses of interest. The clearance of the molecule from the liver ($HBCD_{liver}$ Cl, µg d^{-1}) is calculated as the product of the Liver perf (L d^{-1}), the HBCD concentration in plasma (µg L^{-1}) and the extraction capacity of the liver for this molecule (Eliver, no units) (Benet et al., 1996; MacLachlan, 2009, 2010) (eq. 75).

Elimination

The daily flux of the α-HBCD from the plasma to each growing follicle ($HBCD_{plasma\ foll[1..10]}$, µg d^{-1}) is calculated as the product of the daily store of total lipids in the follicle ($Follic_{[1..10]}$ lipid dep, kg d^{-1}) by the proportion of neutral lipids in the total lipids of follicle (Follic neut lipid ratio, kg kg^{-1}) and the concentration of the molecule in the neutral lipids of plasma (µg kg^{-1}) (eq. 76). The concentration of α-HBCD in the laid yolk is calculated by the eq. 77.

Sensitivity analysis

This analysis is applied on the whole parameters of the basal model by testing each parameter individually. The minimum and the maximum values studied for each parameter (Test values) were established either as the basal value ±2 times the standard deviation (SD), when the SD was known, or by modifying the basal value by a variable percentage (in general from ±10 to ±25%), in order to test values as realistic as possible while permitting an interval of variation large enough. The percentage of variation in the value of each parameter (PVar parameter, %) is calculated by the equation 11.

$\textbf{PVar parameter} = \frac{\textbf{Test value of the parameter} - \textbf{Basal value of the parameter}}{\lvert\textbf{Basal value of the parameter}\rvert} \times \mathbf{100}$	Equation 11

The model is firstly simulated by considering the basal values of all parameters and exposing the hen to a contaminated feed (40 µg α-HBCD kg^{-1} feed) from AGE1 to AGE5. This level of exposure is aleatory chosen as one of the experimental levels applied (Domínguez-Romero et al., 2016). As the DFI is restricted during the first days of molting, it diminishes the exposure during this period (Table 10, eq. 65). The simulated concentration of α-HBCD in all tissues and eggs is compiled. Thereafter a new simulation is made by maintaining the exposure profile while changing the value of one parameter to one of its test values. The new simulated concentrations of α-HBCD in tissues and eggs are compared to those obtained by simulating the basal model. This comparison is made separately at different ages representative of each physiological stage: 110 days (end of growth), 350 d (1st laying cycle), 488 d (molting, BW lost), 517 d (molting, BW recovery), 640 d (2nd laying cycle). The percentage of variation in the concentration of α-HBCD in each matrix (PVar $[HBCD]_{tissues/eggs}$, %) is calculated by the equation 12. For normalising the results and comparing parameters whose variation percentage is different, a variation ratio (Var ratio {$[HBCD]_{(tissues/eggs)}$/parameter}) is calculated by the Equation 13 for each parameter value. Before changing any parameter's value to its test value, the other parameters are fixed to theirs basal values.

$\textbf{PVar } [\textbf{HBCD}]_{\textbf{tissue/eggs}} = \frac{[\textbf{HBCD}]_{\textbf{tissue/eggs}} \textbf{ after changing the value of the parameter} - [\textbf{HBCD}]_{\textbf{tissue/eggs}} \textbf{ from the basal model}}{[\textbf{HBCD}]_{\textbf{tissue/eggs}} \textbf{ from the basal model}} \times \mathbf{100}$	Equation 12
$\textbf{Var ratio} \frac{[\textbf{HBCD}]_{\textbf{tissue/eggs}}}{\textbf{parameter}} = \frac{\textbf{PVar } [\textbf{HBCD}]_{\textbf{tissue/eggs}}}{\textbf{PVar du paramètre}}$	Equation 13

Optimization

Adjustment of the model to the experimental physiological data

Experimental data of contamination of tissues and eggs in laying hens following exposure to α-HBCD were used for the optimization and evaluation of the model (Domínguez-Romero et al., 2016). Briefly, 45 experimental Novo Brown hens (30 weeks, 1.54±1.3 kg at the beginning of the experiment) received an experimentally contaminated feed (40 or 3.6 µg α-HBCD kg^{-1} feed) either for 18 weeks (both contamination levels), or for 11 weeks followed by 7 depuration weeks (40 µg kg^{-1}). They were slaughtered at different time points all along the experiment and the concentration of α-HBCD (µg kg^{-1} lipids) in tissues and eggs analysed. At the end of the experiment (48 weeks of age), the mean BW of the hens was 1.69±3.5 kg. Surprisingly, these hens continued to grow during the experiment, whereas this breed was expected to be heavier than it was and the BW was expected to approach stability at these ages (1.82 and 1.86 kg at 30 and 48 weeks respectively) (Novogen, 2016). In order to eliminate the bias motivated by these physiological differences, an adjustment was realized on the physiological submodel for representing the physiological characteristics observed in the experimental hens. The procurable experimental physiological data corresponded to: BW as a function of age, weight and total lipid content of tissues (abdominal fat, liver, thigh muscles, eggs and yolks), blood lipid profile, ingestion and laying rate. This adjustment implied the recalculation of some parameters (Table S 9), the adjustment of DFI and Wegg on the basis of regression equations between these variables and the age (Figure S 3), and the use of lookup variables for simulating the laying rate of the experimental hens (higher than 90% all along the experiment). The adjusted values of parameters and variables of the physiological submodel to the experimental physiological data are exclusively applied during the global adjustment of selected parameters and during the evaluation of the ADME submodel.

Adjustment of selected parameters for the evaluation of the model

The proportion of neutral lipids in the total lipids of each tissue (Tissue i neut lipid ratio, kg kg^{-1}), the blood flow to the liver (Liver coef, L kg^{-1} tissue d^{-1}) and the extraction rate of the α-HBCD in the liver (E_{liver}, %) were adjusted. For this purpose, the experimental data of α-HBCD concentration in tissues and eggs (µg kg^{-1} lipids) of 36 hens receiving a contaminated feed at a concentration of 40 µg kg^{-1} either for 18 weeks or for 11 weeks followed by 7 depuration weeks (Domínguez-Romero et al., 2016) were imported from Excel to Vensim. The same exposure pattern used during the experiment was applied in the model. The adjustment of some parameters aims to get the values of the "payoff elements" as close as possible to the experimental values. The following variables were selected as "payoff elements" (weight=1):

HBCD liver conc total lipid, HBCD storagefat conc total lipid, HBCD yolk[1..10] conc total lipid, HBCD mB conc total lipid, HBCD plasma conc total lipid. The parameters to be adjusted were selected. A payoff report is produced at each adjustment. The parameters were adjusted in the following order:

-Firstly, E_{liver} is adjusted on the data of hens contaminated for 18 weeks. The adjusted value of Eliver is kept henceforth. Secondly, the tissue i neut lipid ratio parameters are adjusted on the same experimental data, by limiting their variation interval to ±20% of their basal values. The adjusted values of these parameters are kept hereafter.

-The data of the hens contaminated for 11 weeks followed by 7 weeks of depuration are used for the adjustment of Liver coef. Its adjusted value is used from this point forward.

For the proportion of neutral lipids in the total lipids of plasma during (growth and) molting (Plasma neut lipid ratio, kg kg^{-1}), its adjustment is realized by considering the same proportion of variation as the one applied on Plasma neut lipid ratio lay, kg kg^{-1}.

Model evaluation

The model capability to simulate the transfer of the α-HBCD to the tissues and eggs in the laying hen exposed to the molecule was evaluated after adjustment of the physiological characteristics to those of experimental hens, and after adjustment of other selected parameters related to the physiology and to the molecule kinetics. The model is evaluated by comparing the simulated to the experimental data after an exposure to a contaminated food (at 40 µg kg^{-1}) for 18 weeks.

Application of the model to hens from different breeding systems

The model is used for studying the influence of several physiological characteristics of the hen that are dependent on the breeding system. The four studied hen-type, corresponding to four breeding systems are presented on the Table 14. The whole basal model (from the end of growth to AGE5) is used for this study. The adjusted values of the parameters related to the Tissue i neut lipid ratio, Liver coef and E_{liver} are used. Firstly, a chronic exposure is applied on the basal model by considering a concentration of the α-HBCD in the feed of 40 µg kg^{-1} feed from the beginning of laying at 126 days to AGE5. The DFI is reduced during the first phase of molting (Table 10, eq. 65). The simulated concentrations of α-HBCD in all the tissues represented and in the yolks (µg kg^{-1} lipides) are compiled.

Thereafter, the model is adjusted to each breeding system by adapting the selected parameters to the values of the hen-type representative of the corresponding breeding system. The same exposure pattern is applied. The simulated concentration of α-HBCD (µg

kg^{-1} lipides) in all the tissues and in yolk is compared to the concentrations simulated by the basal model at 350 d (1^{st} laying cycle), 488 d (molting, BW loss), 517 d (molting, BW recovery) and 640 d (2^{nd} laying cycle). It must be clarified that for the breeding systems that don't apply any molting period, the four selected ages correspond to different points of the 1^{st} laying cycle. The percentage of variation of the concentration in the different matrices for each breeding system compared to the basal model is calculated as expressed by the Equation 12, after the modification of the whole parameters of the hen-type of a breeding system. In a second stage, this study is realised by modifying separately the parameters related to the BW (BW2 and AGE2g) and those related to the lay (LR max, LR min, LR persist, Wegg max) and comparing the effects of each group of parameters on the contamination of tissues and eggs.

Results

Sensitivity analysis

The results of the sensitivity analysis are compiled for all parameters and tested values, ages and tissues in the Tables S 1 to S 8. A positive value of the Var ratio {[HBCD] $_{(tissues/eggs)}$/parameter} means a direct relation between the change of the parameter value and the change in the concentration of HBCD in tissues, that is if the parameter value is increased, the concentration of HBCD in tissues increases and vice versa. A negative value of the Var ratio {[HBCD] $_{(tissues/eggs)}$/parameter} means the parameter value and the concentration of HBCD in tissues are inversely related. In a majority of the cases, the value of the Var ratio {[HBCD] $_{(tissues/eggs)}$/parameter} is different for the two tested values of each parameter. It means that the influence of the parameter value modification on the concentration of HBCD in tissues is not linear. The main parameters influencing the concentration of the molecule in the different tissues and in eggs, the physiological stages and matrix affected and the precision degree in the estimation of the parameter basal value are summarized in the Table 12.

The results show that for some parameters, the model is mainly or exclusively sensitive to them during growth. However a) the number and quality of data for estimating the basal value of these parameters are considered as appropriate and b) the objectives of this paper deal mainly with the laying period, and secondarily with the influence of the molting on the transfer of the α-HBCD to tissues and eggs. The selection of the parameters to be adjusted will be based on the results on other stages. Concerning the molting, during the first days of this stage (molting, BW loss), the exposure to the molecule is reduced by 60% in comparison with the exposure during laying. This reduction in exposure is not a pure depuration as the lay (elimination pathway) is progressively stopped during molting. However, the sensitivity

analysis results for the stage of BW loss during molting could give an idea of the parameters that can be influent during a depuration. However, only two parameters are exclusively influent during this stage: BW lipid cont AGE3 and Prop Wstoragefat molt, both of them being used by the model exclusively during molting. Their interest is limited to the molt and the estimation of their value is considered as adequate, so they are not selected for adjustment. Finally, among the parameters having an influence during laying, the basal value of some of them presents some limits due to the variability and scarcity of bibliographic data on laying hen. This is the case for: liver coef (L kg^{-1} tissue d^{-1}), tissue i neut lipid ratio (kg kg^{-1}) and E_{liver} (no units). The results of the sensitivity analysis show that the tissue i neut lipid ratio parameters are the main ones that determine the partition of the molecule among tissues, as they have an influence only on a specific tissue and not in the whole matrix. Moreover all the parameters tissue i neut lipid ratio are calculated by using a bibliographic equation (Haddad et al., 2000) that could be too simplifying for calculating the neutral lipid profile from each lipid fraction in tissues, in relation to the behaviour of the α-HBCD. That's why the parameters liver coef, tissue i neut lipid ratio and E_{liver} were selected for adjustment (Domínguez-Romero et al., 2016).

Optimization

The adjusted values of the parameters related to the tissue i neut lipid ratio (kg kg^{-1}), the blood flow to the liver (Liver coef, L kg^{-1} tissue d^{-1}) and the extraction rate of the α-HBCD in the liver (E_{liver}, no units) are shown in the Table 13.

Model evaluation

The results of the evaluation of the model from a high level of exposure (40 µg kg^{-1} feed) by comparing the simulated concentrations in tissues (storage fat, yolk and liver) to the experimental data that served to the adjustment of parameters for 18 weeks are shown in the Fig. 3. At the plateau of concentration attained in each matrix for the last weeks of exposure, the simulated concentrations in storage fat and in yolk are close to the observed concentrations. For the liver, a slight overestimation is observed in simulated vs. observed concentrations.

Influence of the physiological characteristics of the laying hen on α-HBCD transfer kinetics

The percentage of variation (PVar) of the concentration of α-HBCD in the different matrices for each breeding system hen-type compared to the results of the basal model are shown in the Table 15. This comparison is realized by considering the same level of exposure in all cases and after modifying the whole parameters characteristic of each breeding system hen-type. Firstly, the systems with no molting show a concentration of the molecule in tissues in the range of 41 to 50% lower at 488 and 517 days than the concentrations simulated by the basal model during molting. It means that the molting provoques an increase of more than

40% in the concentration of the molecule in the tissues. The other results compare hens at the same physiological stages. They show that the family farming hens have the highest PVar all along their productive life (>21% during laying), followed by local farming and distribution hens (8% during laying) and at a lower level the free-range and battery cage hens (from 3.1 to 8.4% during laying). It means that following the same level of exposure than the basal model hen, the family farming hens show concentrations of the molecule in the tissues and in eggs around 21% higher than the theoretical basal hen. The differences observed between the PVar calculated at 350 and at 640 days in the systems with no molting are produced by a light influence of the LR persist and LR min parameters, only observable when the laying period is longer than LR persist and the diminishing part of the laying curve is reached, what is the case for the breeding systems with no molting practice.

The results of the separate modification of each group of parameters: BW (BW2 and AGE2g) and lay (LR max, LR min, LR persist, Wegg max) show a higher influence of the BW parameters than the lay parameters on the calculated whole breeding system PVar (Figures S 4 and S 5). For the 1st and the 2nd laying cycles, the influence of the BW parameters is between 3 and 5 times higher than the influence of the lay parameters in all the studied breeding systems. The main parameter influencing this PVar is the BW2, that is inversely related to the PVar calculated for each hen-type. It means that the concentration of α-HBCD in tissues and eggs following a giving exposure will be higher in light hens than in heavy hens and vice versa. For both laying cycles, the highest PVar calculated after modification of the BW parameters correspond to the family farming hen-type (13.3±0.14). Concerning the lay characteristics, the high laying production of the battery hen-type causes a slightly negative PVar (-0.07±0.02) when comparing the concentrations of the molecule in the tissues and eggs of the battery hen and the theoretical basal model hen. It means that a high laying production lets the hen to increase the elimination of the molecule from the body, what provokes a diminution in the concentration of the molecule in all the matrices. In the other sense, the low laying performance characteristics of the family farming hen provokes a positive PVar (4.3±0.20) during the 1st and 2nd laying cycles. The results of the sum of the PVar after separate modification of the BW and lay parameters are lower than the PVar obtained after modification of the whole parameters of each breeding system. It suggests an exponentiation of the influence of the parameters when modified together.

Discussion

This PBPK model was built on the basis of some hypothesis. Like other models representing the transfer of lipophilic molecules in the laying hen (Fournier et al., 2015; MacLachlan, 2010), only the hepatic metabolism of the molecule was represented, no saturation or

activation of the metabolism was considered and no entero-hepatic circulation represented. The hepatic metabolism of the α-HBCD by the enzymes of the cytochrome P450 in the liver has been highlighted by different studies in the rat (Germer et al., 2006) and in chicken embryos (Crump et al., 2008). In fish, it has been suggested the possibility of a minor metabolism of this molecule in muscles (Haukås et al., 2009), what is coherent with the ubiquity of the cytochrome P450 in the organism. This study highlights a higher metabolism in liver than in other tissues. The predominance of the faecal when compared to the urinary excretion in the rat (Hakk, 2016) and in the mice (Hakk et al., 2012; Sanders et al., 2013; Szabo et al., 2010; Szabo et al., 2011) supports the predominance of the metabolism of this molecule in the liver. Several studies suggest the intervention of either saturation or induction mechanisms on the metabolism of this molecule as a function of the exposure level in the rat (Germer et al., 2006; Van der Ven et al., 2006), mice (Szabo et al., 2011) and in chicken embryonic hepatocytes (Crump et al., 2008). In the laying hen orally exposed to α-HBCD then depurated, first order kinetics of could be adjusted on the depuration data in each matrix, and no significant effect of the exposure level on the kinetics of the molecule was reported (Domínguez-Romero et al., 2016). These results in the laying hen support this hypothesis for the α-HBCD at the exposure levels studied here. There is not enough experimental evidence for ruling out the intervention of some of these mechanisms at lower or higher levels of exposure and even less for determining the level of exposure at which they can take place. More experimental information on a larger interval of exposure intervals would help to clarify these questions. The entero-hepatic circulation consists on the reabsorption of a part of the molecule after metabolism in the liver and elimination in the bile towards the intestine. This mechanism has been proved for different BFR in the rodent (Hakk and Letcher, 2003; Hoehle et al., 2009; Meijer et al., 2006) and in poultry (Polin et al., 1985); all these BFR were characterized either by a predominant excretion in the urine (Hakk and Letcher, 2003; Hoehle et al., 2009; Staskal et al., 2006) or by a very low fecal elimination rate (Matthews et al., 1977). Effectively, the entero-hepatic circulation limits the fecal elimination of the molecules. The high and predominant fecal elimination of the HBCD supports the hypothesis that this mechanism is not important for this molecule. Moreover, 100% of the HBCD present in the bile after metabolism consists on metabolites and not in the parental molecule (Szabo et al., 2010; Szabo et al., 2011). However, this model represents the accumulation and transfer of the parental molecule, the α-HBCD, and not the metabolites that are produced but that have not been experimentally quantified in the laying hen (Domínguez-Romero et al., 2016). Finally, another hypothesis consisted on considering that the neutral and not the total lipid ratio in tissues were determinant for the partition of the α-HBCD. In this regard, it was considered that the neutral lipid ratio in the total lipids can be estimated as the sum of the proportions of TG, total CH and 30% of the PH

(Haddad et al., 2000), while some differences of polarity exist between the esterified and the free CH, the second one being relatively polar (Diaz et al., 2008). However, little information is available about the neutral lipid content in tissues in the laying hen and even less for the proportion of each type of CH. As it doesn't seem realistic to distinguish the types of cholesterol and also not appropriate to increase the number of parameters, the parameters related to the proportion of neutral lipids in the total lipids of each matrix have been corrected by adjustment.

The number of matrices represented and the tissue characteristics represented (weight, total lipids, neutral lipids, blood flow) depending on the physiological stage result in a high number of parameters (63), what can be considered as a limit of the model. Effectively, it means a non negligible time for their calibration not only for this case of utilisation of the model on the laying hen but also for the case of an extrapolation of the model, some of these data being rare in the literature. Moreover, each parameter value presents some imprecision related to the variability of the data found for its calibration, what limits the precision of the model. The sensitivity analysis was applied by testing the effect of two new values on each parameter of the model, at each physiological stage and considering all the represented matrices, what gave place to 4340 results. The approach used for the sensitivity analysis presents some assets that should be cited. The calculation of a variation ratio from the variation percentage in the concentration of the molecule in tissues and the variation percentage in the parameter value lets the comparison of parameters whose variation percentage is different. It has also the advantage to clarify if the variation percentage in the concentration of the molecule in tissues is linearly related to the variation percentage of the parameter or not, by comparing the results obtained from two tested values of one parameter. As all the parameters were submitted to a detailed sensitivity analysis, the adjustment could be targeted on eight parameters during laying (Table 13) and extended to another one for the molting stage (Plasma neut lipid ratio).

As the model developed by Fournier et al. (2015), the model developed in this work has also the assets of representing the hen at different physiological stages (mainly the 1st and the 2nd laying cycles and a molt). The feed intake is variable as depending on the physiological stage, essentially on the body weight and the laying rate. It lets the modulation of the exposure as a function of the feed intake, as was the case during the experiment that provided the observed data for the evaluation of the model (Domínguez-Romero et al., 2016). This modulation of the intake is especially useful for the molecules which the main exposure source is the feed. The detailed representation of the lay parameters in the model developed here comprises the logistic growth of the follicles (Fournier et al., 2010), the weight of the yolk as a function of the egg weight (Lee et al., 2002; Pištěková et al., 2006;

Rizzi and Chiericato, 2005; Silversides and Scott, 2001; Suk and Park, 2001), the egg weight as generally a function of the age (Adams and Bell, 1998) and the laying rate as a function of several parameters easily interpretable in practice (maximal and minimal laying rate in the laying curve and laying persistence) (Grossman and Koops, 2001).

The model has made it possible to study the influence of different physiological features of a hen-type of different breeding systems on the concentration of the molecule attained in tissues and eggs during an exposure period and rank these characteristics. Briefly, a high body weight and a high laying rate contribute for the first to a dilution of the molecule and for the second to a higher elimination from the body, resulting in both cases in a lower concentration of the molecule in the tissues and in eggs. An example of hens presenting these characteristics are the selected hens usually used in conventional cage systems. The body weight has an influence between 3 and 5 times higher than the laying features on the concentration of the molecule in the different matrix. In the case a laying hen is exposed to the molecule, the concentrations in the different matrices can double during molting when compared to the plateau concentrations during laying. From the model results, it can be estimated that the concentration of the molecule in the eggs laid after the molting can be 60% higher than the concentration in the eggs before the molting. This concentration diminishes progressively and attains at around 65 days post-molting the plateau values simulated before the molting.

One of the advantages of this model and in general of PBPK models is that each parameter is exclusively related either to a physiological feature of the animal or to a biochemical characteristic of the molecule (Andersen, 1995). Thus, each parameter is easily understandable. A first estimation of the liver extraction ratio (E_{liver}, %) was realised by adjustment of the simulated to the observed results. This parameter was estimated to 1.7%, what means that approximatively 1.7% of the α-HBCD plasmatic flow is continuously eliminated by metabolism in this organ. MacLachlan (2010) estimated a liver extraction ratio in the laying hen of 3.5% for the lindane and of 0.03% for the dioxins. From the graphical results of this study, the half-life of these lipophilic molecules can be estimated to around 10-15 days and 40 days respectively. For the α-HBCD, the half-life was estimated between 17 and 35 days in the yolk, the liver and the abdominal fat in the laying hen. These results support the adequacy of the estimated value of E_{liver} for the α-HBCD.

Moreover, the clear either physiological or biochemical significance of each parameter makes it feasible to extrapolate this model for its use on other species or lipophilic molecules. As an example, this model can be easily extrapolated to other lipophilic molecules which transfer depends either on the neutral or on the total lipid concentrations in tissues and in plasma. In both cases, it's needed to adjust the values of the parameters of

absorption ratio and hepatic elimination ratio. In the second case, the Kp calculation equation must be also modified to the ratio of the concentrations of total lipids in the tissues and in the plasma. The generalization of the model to lipophilic drugs orally administered is an interesting perspective as a tool for determining the exposure levels that result in a specific concentration of the drug in a target tissue.

References

Adams, C. J., and D. D. Bell, 1998, A Model Relating Egg Weight and Distribution to Age of Hen and Season: The Journal of Applied Poultry Research, v. 7(1), p. 35-44.

Andersen, M. E., 1995, Decision Subtances Methodologies for Human Health Risk Assessment of Toxic SubstancesDevelopment of physiologically based pharmacokinetic and physiologically based pharmacodymamic models for applications in toxicology and risk assessment: Toxicology Letters, v. 79(1), p. 35-44.

Aubry, A., N. Quiniou, Y. Le Cozler, and M. Querne, 2004, Modelisation de la croissance et de la consommation d'aliment des porcs de la naissance a l'abattage: actualisation des coefficients appliques aux criteres standardises de performances en Gestion Technico-Economique: Journées de la Recherche Porcine en France, v. 36, p. 409.

Benet, L. Z., D. L. Kroetz, L. B. Sheiner, J. G. Hardman, and L. E. Limbird, 1996, Pharmacokinetics: the dynamics of drug absorption, distribution, metabolism, and elimination: Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics, p. 3-27.

Cariou, R., A. Venisseau, G. Amand, P. Marchand, M. Marcon, A. Huneau, S. Le Bouquin, G. Dervilly-Pinel, A. Travel, and B. Le Bizec, 2014, Identification of hexabromocyclododecane in building material: Organohalogen Compounds v. 76, p. 1521-1524.

Covaci, A., A. C. Gerecke, R. J. Law, S. Voorspoels, M. Kohler, N. V. Heeb, H. Leslie, C. R. Allchin, and J. de Boer, 2006, Hexabromocyclododecanes (HBCDs) in the environment and humans: A review: Environmental Science & Technology, v. 40(12), p. 3679-3688.

Covaci, A., L. Roosens, A. C. Dirtu, N. Waegeneers, I. Van Overmeire, H. Neels, and L. Goeyens, 2009, Brominated flame retardants in Belgian home-produced eggs: Levels and contamination sources: Science of The Total Environment, v. 407(15), p. 4387-4396.

Crump, D., S. Chiu, C. Egloff, and S. W. Kennedy, 2008, Effects of Hexabromocyclododecane and Polybrominated Diphenyl Ethers on mRNA Expression in Chicken (Gallus domesticus) Hepatocytes: Toxicological Sciences, v. 106(2), p. 479-487.

DGAL, 2009, Bilan des Plans de surveillance et de contrôle mis en oeuvre par la DGAL en 2008 dans le domaine de la sécurité sanitaire des aliments.

DGAL, 2010, Bilan 2009 des Plans de surveillance et de contrôle mis en oeuvre par la DGAL

Diaz, G., M. Melis, B. Batetta, F. Angius, and A. M. Falchi, 2008, Hydrophobic characterization of intracellular lipids in situ by Nile Red red/yellow emission ratio: Micron, v. 39(7), p. 819-824.

Domínguez-Romero, E., R. Cariou, E. Omer, P. Marchand, G. Dervilly-Pinel, B. Le Bizec, A. l. Travel, and C. Jondreville, 2016, Tissue Distribution and Transfer to Eggs of Ingested α-Hexabromocyclododecane (α-HBCDD) in Laying Hens (Gallus domesticus): Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 64(10), p. 2112-2119.

Donoghue, D. J., 2001, Mechanisms regulating drug and pesticide residue uptake by egg yolks: development of predictive models: World's Poultry Science Journal, v. 57(04), p. 373-380.

EFSA, 2011, Scientific Opinion on Hexabromocyclododecanes (HBCDDs) in Food, EFSA Journal, p. 2296.

EPA, 2014, Flame retardant alternatives for hexabromocyclododecane (HBCD). Final report.

FAO/WHO, 2003, Assuring food safety and quality: guidelines for strengthening national food control systems, FAO, 76 p.

Fernandes, A. R., D. Mortimer, M. Rose, F. Smith, S. Panton, and M. Garcia-Lopez, 2016, Bromine content and brominated flame retardants in food and animal feed from the UK: Chemosphere, v. 150, p. 472-478.

Fournier, A., 2011, Transfert de Polluants Organiques Persistants (POP) vers l'oeuf de poule: influence des caracteristiques des polluants et du statut physiologique de l'animal, Université de Lorraine, INPL, Vandoeuvre-les-Nancy, 242 p.

Fournier, A., O. Martin, A. Travel, L. Puillet, C. Feidt, and C. Jondreville, 2015, Modeling PCB Transfer into Hen Eggs: Influence of Physiological Characteristics of the Animal: Environmental Toxicology and Chemistry, v. 34(1), p. 173-183.

Fournier, A. s., C. Feidt, M.-A. Dziurla, C. Grandclaudon, and C. Jondreville, 2010, Transfer kinetics to egg yolk and modeling residue recovered in yolk of readily metabolized molecules: Polycyclic aromatic hydrocarbons orally administered to laying hens: Chemosphere, v. 78(8), p. 1004-1010.

Fromme, H., G. Becher, B. Hilger, and W. Volkel, 2016, Brominated flame retardants - Exposure and risk assessment for the general population: International Journal of Hygiene and Environmental Health, v. 219(1), p. 1-23.

Germer, S., A. H. Piersma, L. van der Ven, A. Kamyschnikow, Y. Fery, H. J. Schmitz, and D. Schrenk, 2006, Subacute effects of the brominated flame retardants hexabromocyclododecane and tetrabromobisphenol A on hepatic cytochrome P450 levels in rats: Toxicology, v. 218(2), p. 229-236.

Grossman, M., and W. J. Koops, 2001, A model for individual egg production in chickens: Poultry Science, v. 80(7), p. 859-867.

Haddad, S., P. Poulin, and K. Krishnan, 2000, Relative lipid content as the sole mechanistic determinant of the adipose tissue:blood partition coefficients of highly lipophilic organic chemicals: Chemosphere, v. 40(8), p. 839-843.

Hakk, H., 2016, Comparative Metabolism Studies of Hexabromocyclododecane (HBCD) Diastereomers in Male Rats Following a Single Oral Dose: Environmental Science & Technology, v. 50(1), p. 89-96.

Hakk, H., and R. J. Letcher, 2003, Metabolism in the toxicokinetics and fate of brominated flame retardants-a review: Environment International, v. 29(6), p. 801-828.

Hakk, H., D. T. Szabo, J. Huwe, J. Diliberto, and L. S. Birnbaum, 2012, Novel and distinct metabolites identified following a single oral dose of α-or γ-hexabromocyclododecane in mice: Environmental science & technology, v. 46(24), p. 13494-13503.

Haukås, M., E. Mariussen, A. Ruus, and K. E. Tollefsen, 2009, Accumulation and disposition of hexabromocyclododecane (HBCD) in juvenile rainbow trout (Oncorhynchus mykiss): Aquatic Toxicology, v. 95(2), p. 144-151.

Hiebl, J., and W. Vetter, 2007, Detection of hexabromocyclododecane and its metabolite pentabromocyclododecene in chicken egg and fish from the official food control: Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 55(9), p. 3319-3324.

Hoehle, S. I., G. A. Knudsen, J. M. Sanders, and I. G. Sipes, 2009, Absorption, Distribution, Metabolism, and Excretion of 2,2-Bis(bromomethyl)-1,3-propanediol in Male Fischer-344 Rats: Drug Metabolism and Disposition, v. 37(2), p. 408-416.

Ibe, S. N., and L. N. Nwakalor, 1987, Growth patterns and conformation in broilers: influence of genotype and management on isometry of growth: Poultry science, v. 66(8), p. 1247-1251.

ISApoultry, Isa Brown Production Guide, cage production systems, vs. 14.6, Institut de Sélection Animale BV.

Knutsen, H. K., H. E. Kvalem, C. Thomsen, M. Frøshaug, M. Haugen, G. Becher, J. Alexander, and H. M. Meltzer, 2008, Dietary exposure to brominated flame retardants correlates with male blood levels in a selected group of Norwegians with a wide range of seafood consumption: Molecular Nutrition & Food Research, v. 52(2), p. 217-227.

Lee, J.-S., J.-i. Takai, K. Takahasi, Y. Endo, K. Fujimoto, S. Koike, and W. Matsumoto, 2002, Effect of dietary tung oil on the growth and lipid metabolism of laying hens: Journal of nutritional science and vitaminology, v. 48(2), p. 142-148.

Li, H. H., Q. H. Zhang, P. Wang, Y. M. Li, J. X. Lv, W. H. Chen, D. W. Geng, Y. W. Wang, T. Wang, and G. B. Jiang, 2012, Levels and distribution of hexabromocyclododecane (HBCD) in environmental samples near manufacturing facilities in Laizhou Bay area, East China: Journal of Environmental Monitoring, v. 14(10), p. 2591-2597.

MacLachlan, D. J., 2009, Influence of physiological status on residues of lipophilic xenobiotics in livestock: Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment, v. 26(5), p. 692-712.

MacLachlan, D. J., 2010, Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model for residues of lipophilic pesticides in poultry: Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment, v. 27(3), p. 302-314.

Marvin, C. H., G. T. Tomy, J. M. Armitage, J. A. Arnot, L. McCarty, A. Covaci, and V. Palace, 2011, Hexabromocyclododecane: Current Understanding of Chemistry, Environmental Fate and Toxicology and Implications for Global Management: Environmental Science & Technology, v. 45(20), p. 8613-8623.

Matthews, H. B., S. Kato, N. M. Morales, and D. B. Tuey, 1977, Distribution and excretion of 2, 4, 5, 2', 4', 5'-hexabromobiphenyl, the major component of firemaster BP-6: Journal of Toxicology and Environmental Health, v. 3(3), p. 599-605.

Meijer, L., A. M. Hafkamp, W. E. Bosman, R. Havinga, A. Bergman, P. J. J. Sauer, and H. J. Verkade, 2006, Nonabsorbable dietary fat enhances disposal of 2,2 ',4,4 '-tetrabromodiphenyl ether in rats through interruption of enterohepatic circulation: Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 54(17), p. 6440-6444.

Novogen, 2016, Production Targets - Novogen Brown commercial layers, Novogen SAS.

NRC, 1994, Nutrient requirements of poultry, National Academy Press Washington, DC, p. 19-34.

Pištěková, V., M. Hovorka, V. Večerek, E. Strakova, and P. Suchý, 2006, The quality comparison of eggs laid by laying hens kept in battery cages and in a deep litter system: Czech Journal of Animal Science, v. 51(7), p. 318-325.

Polin, D., E. Lehning, D. Pullen, S. Bursian, and R. Leavitt, 1985, Procedures to enhance withdrawal of xenobiotics from chickens: Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues, v. 16(2), p. 243-254.

Poulin, P., and S. Haddad, 2012, Advancing prediction of tissue distribution and volume of distribution of highly lipophilic compounds from a simplified tissue-composition-based model as a mechanistic animal alternative method: Journal of pharmaceutical sciences, v. 101(6), p. 2250-2261.

Rawn, D. F. K., A. Sadler, S. C. Quade, W. F. Sun, B.-Y. Lau, I. Kosarac, S. Hayward, and J. J. Ryan, 2011, Brominated flame retardants in Canadian chicken egg yolks: Food Additives and Contaminants, v. 28(6), p. 807-815.

Renwick, A. G., 2001, Toxicokinetics: Pharmacokinetics in toxicology, in A. W. Hayes, ed., Principles and Methods of Toxicology: Philadelphia, PA, Taylor Francis, p. 137-191.

Rizzi, C., and G. M. Chiericato, 2005, Organic farming production. Effect of age on the productive yield and egg quality of hens of two commercial hybrid lines and two local breeds: Italian Journal of Animal Science, v. 4(suppl.3), p. 160-162.

Sanders, J. M., G. A. Knudsen, and L. S. Birnbaum, 2013, The Fate of β-Hexabromocyclododecane in Female C57BL/6 Mice: Toxicological sciences, v. 134(2), p. 251-257.

Shi, Z.-X., Y.-N. Wu, J.-G. Li, Y.-F. Zhao, and J.-F. Feng, 2009, Dietary Exposure Assessment of Chinese Adults and Nursing Infants to Tetrabromobisphenol-A and Hexabromocyclododecanes: Occurrence Measurements in Foods and Human Milk: Environmental Science & Technology, v. 43(12), p. 4314-4319.

Silversides, F. G., and T. A. Scott, 2001, Effect of Storage and Layer Age on Quality of Eggs From Two Lines of Hens: Poultry Science, v. 80(8), p. 1240-1245.

Souza, K. M. r. R. d., A. S. Carrijo, I. B. Allaman, V. B. Fascina, J. R. C. Mauad, and F. M. Suzuki, 2010, Alternative methods of feed restriction in the forced molt of laying hens: Revista Brasileira de Zootecnia, v. 39(2), p. 356-362.

Staskal, D. F., H. Hakk, D. Bauer, J. J. Diliberto, and L. S. Birnbaum, 2006, Toxicokinetics of polybrominated diphenyl ether congeners 47, 99, 100, and 153 in mice: Toxicological sciences, v. 94(1), p. 28-37.

Suk, Y. O., and C. Park, 2001, Effect of Breed and Age of Hens on the Yolk to Albumen Ratio in Two Different Genetic Stocks: Poultry Science, v. 80(7), p. 855-858.

Szabo, D. T., J. J. Diliberto, H. Hakk, J. K. Huwe, and L. S. Birnbaum, 2010, Toxicokinetics of the flame retardant hexabromocyclododecane gamma: effect of dose, timing, route, repeated exposure, and metabolism: Toxicological Sciences, v. 117(2), p. 282-293.

Szabo, D. T., J. J. Diliberto, H. Hakk, J. K. Huwe, and L. S. Birnbaum, 2011, Toxicokinetics of the flame retardant hexabromocyclododecane alpha: Effect of dose, timing, route, repeated exposure, and metabolism: Toxicological Sciences, v. 121(2), p. 234-244.

Van der Ven, L. T. M., A. Verhoef, T. van de Kuil, W. Slob, P. E. G. Leonards, T. J. Visser, T. Hamers, M. Herlin, H. Håkansson, H. Olausson, A. H. Piersma, and J. G. Vos, 2006, A 28-day oral dose toxicity study enhanced to detect endocrine effects of hexabromocyclododecane in Wistar rats: Toxicological Sciences, v. 94(2), p. 281-292.

Appendix/appendices

Table S 1. Var ratio [HBCD]$_{(tissues/eggs)}$/parameter (Var ratio) of the parameters related to BW and tissue weight, at each physiological stage

	Basal value	Test values	110 d		350 d	640 d	488 d		517 d
			Var ratio	Exceptions	Var ratio	Var ratio	Var ratio	Exceptions	Var ratio
BW1	1.077	0.969	0		0	0	0		0
		1.185	|1-2|	|0.5-1| in liver	0	0	0		0
BW2	1.962	1.668	0		-|0.5-1|	-|0.5-1|	-|0.5-1|		-|0.5-1|
		2.256	0		-|0.5-1|	-|0.5-1|	-|0.5-1|		0
Age1	84	71	|0.5-1|		0	0	0		0
		97	**|5-10|**		0	0	0		0
Age2	476	357	0		0	0	-|2-5|	-|1-2| in AF	-|1-2|
		595	0		0	|2-5|	-|2-5|	-|1-2| in PI	-|1-2|
Bgomp	0.0216	0.0184	-|0.5-1|		0	0	0		0
		0.0248	0		0	0	0		0
a_mA	0.512	0.435	-|0.5-1|		0	0	0		0
		0.589	0		0	0	0		0
b_mA	-1.847	-1.570	0		0	0	0		0
		-2.124	-|0.5-1|		0	0	0		0
a_mB	0.055	0.047	0		0	0	0		0
		0.063	0	-|0.5-1| in AF	0	0	0		0
a_liver	1.649	1.402	0		-|0.5-1|	-|0.5-1|	-|0.5-1|		-|0.5-1|
		1.896	0	|0.5-1| in AF	-|0.5-1|	-|0.5-1|	-|0.5-1|		-|0.5-1|
b_liver	-4.123	-4.329	**|5-10|**		-|2-5|	-|2-5|	-|2-5|		-|2-5|
		-3.505	-|0.5-1|		-|2-5|	-|2-5|	-|2-5|		-|1-2|
a_blood	0.842	0.716	-|0.5-1|		0	0	0		0
		0.968	0		0	0	0		0
b_blood	-2.6	-2.73	**> |30|**		0	0	0		0
		-2.21	0		0	0	0		0
a_storagefat	0.117	0.099	0		0	0	0		0
		0.135	0	|0.5-1| in AF	0	0	0		0
b_storagefat	-0.124	-0.143	0		0	0	0		0
		-0.105	0		0	0	0		0
		0.30	0		0	0	0		0

Physiological stage at each specified age: end of growth (110 d), 1st and 2nd laying cycles (350 and 640 d respectively), lost of BW during molting (488 d), recovery of BW during molting (517 d).

The Var ratio [HBCD]$_{(tissues/eggs)}$/parameter (Var ratio) was calculated as the ratio of the percentage of variation in the concentration of α-HBCD in each matrix (PVar [HBCD]$_{tissues/eggs}$, %) by the percentage of variation of the tested parameter. The percentage of variation in the concentration of α-HBCD in each matrix comprises all tissues (liver, pectoral muscles, thigh muscles, abdominal fat, plasma, "other", yolk) during the periods of lay, and to all the tissues unless yolk during the end of growth and during molting. The exceptions to these values are specified in the table. "AF": abdominal fat

Table S 2. Var ratio $[HBCD]_{(tissues/eggs)}$/parameter (Var ratio) of the parameters specific to molting related to BW and tissue weight, at each physiological stage

	Basal value	Test values	110 d		350 d	640 d	488 d		517 d
			Var ratio	Exceptions	Var ratio	Var ratio	Var ratio	Exceptions	Var ratio
Prop BW molt	0.25	0.20	0		0	0	0		0
		0.30	0		0	0	0		0
Prop WmA molt	0.20	0.16	0		0	0	0		0
		0.24	0		0	0	0		0
Prop WmB molt	0.20	0.16	0		0	0	0		0
		0.24	0		0	0	0		0
Prop Wliver molt	0.50	0.40	0		0	0	0		0
		0.60	0		0	0	0		0
Prop Wstoragefat molt	0.70	0.56	0		0	0	0	|0.5-1| in AF	0
		0.84	0		0	0	0	|1-2| in AF	0
Prop Wblood molt	0.25	0.20	0		0	0	0		0
		0.30	0		0	0	0		0

Physiological stage at each specified age: end of growth (110 d), 1st and 2nd laying cycles (350 and 640 d respectively), lost of BW during molting (488 d), recovery of BW during molting (517 d).

The Var ratio $[HBCD]_{(tissues/eggs)}$/parameter (Var ratio) was calculated as the ratio of the percentage of variation in the concentration of α-HBCD in each matrix (PVar $[HBCD]_{tissues/eggs}$, %) by the percentage of variation of the tested parameter. The percentage of variation in the concentration of α-HBCD in each matrix comprises all tissues (liver, pectoral muscles, thigh muscles, abdominal fat, plasma, "other", yolk) during the periods of lay, and to all the tissues unless yolk during the end of growth and during molting. The exceptions to these values are specified in the table. "AF": abdominal fat

Table S 3. Var ratio [HBCD]$_{(tissues/eggs)}$/parameter (Var ratio) of the parameters related to body and tissue total lipids, at each physiological stage

	Basal value	Test values	110 d		350 d		640 d		488 d		517 d	
			Var ratio	Exceptions	Var ratio	Exceptions	Var ratio	Exceptions	Var ratio	Exceptions	Var ratio	Exceptions
BW lipid cont AGE1	0.06	0.051	0		0		0		0		0	
		0.069	0		0		0		0		0	
BW lipid cont AGE2	0.2	0.170	-|0.5-1|		0		0		|0.5-1|		-|0.5-1|	0 in AF
		0.230	0		0		0		|0.5-1|		0	
mA_lipid_cont	0.014	0.010	0		0		0		0		0	
		0.018	0		0		0		0		0	
mB_lipid_cont	0.06	0.051	0		0		0		0		0	
		0.069	0		0		0		0		0	
Liver_lipid_cont	0.1741	0.148	|2-5|		0		0		0		0	
		0.200	0		0		0		0		0	
b lipid liver	-0.0026	-0.0030	-|0.5-1|		0		0		0		0	
		-0.0022	0		0		0		0		0	
Storagefat_lipid_cont	0.87	0.790	-|0.5-1|		0		0		0		0	
		0.950	|1-2|		0		0		0		0	
Plasma lipid cont laying	0.026	0.022	0		-|0.5-1|		-|0.5-1|		-|0.5-1|		0	
		0.030	0		-|0.5-1|		-|0.5-1|		-|0.5-1|		0	
plasma_lipid_cont	0.007	0.006	0	-|0.5-1| in liver	0		0		0		0	
		0.008	0		0		0		0		0	

Physiological stage at each specified age: end of growth (110 d), 1st and 2nd laying cycles (350 and 640 d respectively), lost of BW during molting (488 d), recovery of BW during molting (517 d). The Var ratio [HBCD]$_{(tissues/eggs)}$/parameter (Var ratio) was calculated as the ratio of the percentage of variation in the concentration of α-HBCD in each matrix (PVar [HBCD]$_{tissues/eggs}$, %) by the percentage of variation of the tested parameter. The percentage of variation in the concentration of α-HBCD in each matrix comprises all tissues (liver, pectoral muscles, thigh muscles, abdominal fat, plasma, "other", yolk) during the periods of lay, and to all the tissues unless yolk during the end of growth and during molting. The exceptions to these values are specified in the table. "AF": abdominal fat

Table S 4. Var ratio $[HBCD]_{(tissues/eggs)}$/parameter (Var ratio) of the parameters related to tissue lipid profile, at each physiological stage

	Basal value	Test values	110 d		350 d		640 d		488 d		517 d	
			Var ratio	Exceptions	Var ratio	Exceptions	Var ratio	Exceptions	Var ratio	Exceptions	Var ratio	Exceptions
mA_neut_lipid_ratio	0.5506	0.468	0	|0.5-1| in PM	0	|1-2| in PM	0	|1-2| in PM	0	|1-2| in PM	0	|0.5-1| in PM
		0.633	0	|1-2| in PM	0	|0.5-1| in PM	0	|0.5-1| in PM	0	|0.5-1| in PM	0	|0.5-1| in PM
mB_neut_lipid_ratio	0.86	0.731	0	|0.5-1| in TM	0	|0.5-1| in TM	0	|0.5-1| in TM	0	|0.5-1| in TM	0	|0.5-1| in TM
		0.989	0	|0.5-1| in TM	0	|1-2| in TM	0	|1-2| in TM	0	|0.5-1| in TM	0	|0.5-1| in TM
Liver_neut_lipid_ratio	0.76	0.646	0	+ and -|0.5-1| in liver and in AF	0	|0.5-1| in liver	0	|1-2| in liver	0	|1-2| in liver	0	|0.5-1| in liver
		0.874	0	|0.5-1| in liver	0	|1-2| in liver	0	|0.5-1| in liver	0	|0.5-1| in liver	0	|0.5-1| in liver
Storagefat_neut_lipid_ratio	0.9853	0.838	-|0.5-1|	0 in AF	0	|0.5-1| in AF	0	|1-2| in AF	0	|1-2| in AF	0	|0.5-1| in AF
		1.000	**|5-10|**		0	|1-2| in AF	0	|0.5-1| in AF	0	|1-2| in AF	0	|0.5-1| in AF
other neut lipid ratio	0.96	0.816	-|1-2|	0 in "other"	0	|0.5-1| in "other"	0	|1-2| in "other"	0	|0.5-1| in "other"	0	|0.5-1| in "other"
		1.000	|1-2|	|2-5| in "other"	0	|0.5-1| in "other"	0	|1-2| in "other"	0	|0.5-1| in "other"	0	|0.5-1| in "other"

Physiological stage at each specified age: end of growth (110 d), 1st and 2nd laying cycles (350 and 640 d respectively), lost of BW during molting (488 d), recovery of BW during molting (517 d).

The Var ratio $[HBCD]_{(tissues/eggs)}$/parameter (Var ratio) was calculated as the ratio of the percentage of variation in the concentration of α-HBCD in each matrix (PVar $[HBCD]_{tissues/eggs}$, %) by the percentage of variation of the tested parameter. The percentage of variation in the concentration of α-HBCD in each matrix comprises all tissues (liver, pectoral muscles, thigh muscles, abdominal fat, plasma, "other", yolk) during the periods of lay, and to all the tissues unless yolk during the end of growth and during molting. The exceptions to these values are specified in the table. "PM": pectoral muscles; "TM": thigh muscles; "AF": abdominal fat

Table S 5. Var ratio [HBCD]$_{(tissues/eggs)}$/parameter (Var ratio) of the parameters related to plasma lipid profile and the parameters related to body and tissue lipid content during molting, at each physiological stage

	Basal value	Test values	110 d		350 d		640 d		488 d		517 d	
			Var ratio	Exceptions	Var ratio	Exceptions	Var ratio	Exceptions	Var ratio	Exceptions	Var ratio	Exceptions
plasma_neut_lipid_ratio	0.687	0.584	0	+ et -|0.5-1| in liver and in Pl	0		0		0	|0.5-1| in Pl	0	|0.5-1| in Pl
		0.790	0	|0.5-1| in AF ; |1-2| in Pl	0		0		0	|0.5-1| in plasma	0	|0.5-1| in plasma
Plasma neut lipid ratio lay	0.79	0.672	0		-|0.5-1|	0 in Pl	-|0.5-1|	0 in Pl	-|0.5-1|		0	
		0.909	0		-|0.5-1|	0 in Pl	-|0.5-1|	0 in Pl	-|0.5-1|		0	
Liver lipid cont AGE3	0.06	0.048	0		0		0		0		0	
		0.072	0		0		0		0		0	
mA lipid cont AGE3	0.0112	0.0090	0		0		0		0		0	
		0.0134	0		0		0		0		0	
mB lipid cont AGE3	0.048	0.038	0		0		0		0		0	
		0.058	0		0		0		0		0	
plasma_lipid_cont	0.007	0.006	0	-|0.5-1| in liver	0		0		0		0	
		0.008	0		0		0		0		0	
BW lipid cont AGE3	0.13	0.104	0		0		0		-|1-2|	|0.5-1| in AF	0	
		0.156	0		0		0		-|0.5-1|		0	

Physiological stage at each specified age: end of growth (110 d), 1st and 2nd laying cycles (350 and 640 d respectively), lost of BW during molting (488 d), recovery of BW during molting (517 d).

The Var ratio [HBCD]$_{(tissues/eggs)}$/parameter (Var ratio) was calculated as the ratio of the percentage of variation in the concentration of α-HBCD in each matrix (PVar [HBCD]$_{tissues/eggs}$, %) by the percentage of variation of the tested parameter. The percentage of variation in the concentration of α-HBCD in each matrix comprises all tissues (liver, pectoral muscles, thigh muscles, abdominal fat, plasma, "other", yolk) during the periods of lay, and to all the tissues unless yolk during the end of growth and during molting. The exceptions to these values are specified in the table. "Pl": plasma; "AF": abdominal fat.

Table S 6. Var ratio $[HBCD]_{(tissues/eggs)}$/parameter of the parameters related to irrigation, at each physiological stage

	Basal value	**Test values**	**110 d**	**350 d**	**640 d**	**488 d**	**517 d**
			Var ratio $[HBCD]_{(tissues/eggs)}$/parameter				
Hematocrit growth and laying	0.265	0.219	0	0	0	0	0
		0.311	0	0	0	0	0
mA coef	210	190	0	0	0	0	0
		230	|0.5-1|	0	0	0	0
mB coef	163	70	0	0	0	0	0
		256	0	0	0	0	0
liver coef	1200	532	0	-|1-2|	-|1-2|	-|1-2|	-|0.5-1|
		1868	0	-|0.5-1|	-|0.5-1|	-|0.5-1|	0
storagefat coef	95	48	0	0	0	0	0
		143	0	0	0	0	0
Q coef	283	257	0	0	0	0	0
		309	**-|5-10|**	0	0	0	0
mV blood	1.044	1.041	-|1-2|	0	0	0	0
		1.047	**>|30|**	0	0	0	0
Hematocrit molting	0.31	0.264	0	0	0	0	0
		0.357	0	0	0	0	0

Physiological stage at each specified age: end of growth (110 d), 1st and 2nd laying cycles (350 and 640 d respectively), lost of BW during molting (488 d), recovery of BW during molting (517 d).

The Var ratio $[HBCD]_{(tissues/eggs)}$/parameter (Var ratio) was calculated as the ratio of the percentage of variation in the concentration of α-HBCD in each matrix (PVar $[HBCD]_{tissues/eggs}$, %) by the percentage of variation of the tested parameter. The percentage of variation in the concentration of α-HBCD in each matrix comprises all tissues (liver, pectoral muscles, thigh muscles, abdominal fat, plasma, "other", yolk) during the periods of lay, and to all the tissues unless yolk during the end of growth and during molting. No exceptions to these values were found in any tissue.

Table S 7. Var ratio [HBCD]$_{(tissues/eggs)}$/parameter (Var ratio) of the parameters related to laying and ingestion, at each physiological stage

	Basal value	Test values	110 d	350 d		640 d		488 d	517 d
			Var ratio	Var ratio	Exceptions	Var ratio	Exceptions	Var ratio	Var ratio
Yolk lipid cont	0.35	0.298	0	0		0		0	0
		0.403	0	0		0		0	0
W follic min	0.0002	0.00017	0	0		0		0	0
		0.00023	0	0		0		0	0
LR max	0.902	0.767	0	0		0		0	0
		1.000	0	0		0		0	0
LR min	0.761	0.647	0	0		0		0	0
		0.876	0	0		0		0	0
LR persist	32.9	28.0	0	0		0		0	0
		37.9	0	0		0		0	0
Wegg max	0.065	0.055	0	0		0		0	0
		0.075	0	0		0		0	0
k Wegg	0.0118	0.0100	0	0		0		0	0
		0.0136	0	0		0		0	0
ayolk	0.402	0.342	0	0		0		0	0
		0.462	0	0		0		0	0
byolk	-0.0089	-0.0076	0	0		0		0	0
		-0.0102	0	0		0		0	0
Follic_neut_lipid_ratio	0.783	0.666	0	0	|0.5-1| in yolk	0	|0.5-1| in yolk	0	0
		0.900	0	0	|0.5-1| in yolk	0	|0.5-1| in yolk	0	0
Ediet	11.6	9.9	-|1-2|	-|1-2|		-|1-2|		-|1-2|	-|1-2|
		13.3	-|0.5-1|	-|0.5-1|		-|0.5-1|		-|0.5-1|	-|0.5-1|
Prop Ei molt	0.60	0.51	0	0		0		0	0
		0.69	0	0		0		0	0

Physiological stage at each specified age: end of growth (110 d), 1st and 2nd laying cycles (350 and 640 d respectively), lost of BW during molting (488 d), recovery of BW during molting (517 d).

The Var ratio [HBCD]$_{(tissues/eggs)}$/parameter (Var ratio) was calculated as the ratio of the percentage of variation in the concentration of α-HBCD in each matrix (PVar [HBCD]$_{tissues/eggs}$, %) by the percentage of variation of the tested parameter. The percentage of variation in the concentration of α-HBCD in each matrix comprises all tissues (liver, pectoral muscles, thigh muscles, abdominal fat, plasma, "other", yolk) during the periods of lay, and to all the tissues unless yolk during the end of growth and during molting. The exceptions to these values are specified in the table.

Table S 8. Var ratio $[HBCD]_{(tissues/eggs)}$/parameter of the parameters related to α-HBCD transfer kinetics, at each physiological stage

	Basal value	Test values	110 d	350 d	640 d	488 d	517 d
			Var ratio $[HBCD]_{(tissues/eggs)}$/parameter				
HBCD_abs_coef	0.900	0.765	0	|0.5-1|	|0.5-1|	|1-2|	|0.5-1|
		1.000	|0.5-1|	|1-2|	|0.5-1|	|0.5-1|	|1-2|
E_{liver}	0.013	0.010	-|0.5-1|	-|1-2|	-|1-2|	-|0.5-1|	-|0.5-1|
		0.016	0	-|0.5-1|	-|0.5-1|	-|0.5-1|	0

Physiological stage at each specified age: end of growth (110 d), 1st and 2nd laying cycles (350 and 640 d respectively), lost of BW during molting (488 d), recovery of BW during molting (517 d).

The Var ratio $[HBCD]_{(tissues/eggs)}$/parameter (Var ratio) was calculated as the ratio of the percentage of variation in the concentration of α-HBCD in each matrix (PVar $[HBCD]_{tissues/eggs}$, %) by the percentage of variation of the tested parameter. The percentage of variation in the concentration of α-HBCD in each matrix comprises all tissues (liver, pectoral muscles, thigh muscles, abdominal fat, plasma, "other", yolk) during the periods of lay, and to all the tissues unless yolk during the end of growth and during molting. No exceptions to these values were found in any tissue.

Table S 9. Value of the parameters modified during the adjustment of the model to the experimental physiological data

Acronym	Description	Value	Units
BW and weight of tissues			
AGE1	Age of start of simulation	199	j
AGE2g	Age at which the BW is maximized	336	j
BW1	Body weight (BW) at AGE1	1.541	kg
BW2	BW at AGE2	1.707	kg
Bgomp	Rate of growth of BW at the inflexion point in the growth curve	0.0133	j^{-1}
$a_{storagefat}$	Slope of the storage fat growth allometry	15.474	
$b_{storagefat}$	Intercept of the storage fat growth allometry	-11.029	
W_{liver}	Liver weight	0.03*	kg
Lipides corporels et tissulaires			
mB lipid cont	Proportion of total lipids in the thigh muscles during growth and laying	0.0786	$kg\ kg^{-1}$
Liver lipid cont	Slope of the linear relation between the amount of total lipids in the liver and the weight of liver, during growth and laying stages	0.0973	$kg\ kg^{-1}$
b lip liver	Intercept of the linear relation between the amount of liver lipids and the weight of the liver during growth and laying	0	kg
Storagefat lipid cont	Proportion of total lipids in the abdominal fat during growth and laying	0.9534	$kg\ kg^{-1}$
b lip storagefat	Intercept of the linear relation between the amount of abdominal fat lipids and the weight of this tissue during growth and laying	-0.0018	kg
Growing follicles			
Yolk lipid cont	Concentration of lipids in the follicle or in the yolk	0.32	$kg\ kg^{-1}$

**Initial value of the compartment*

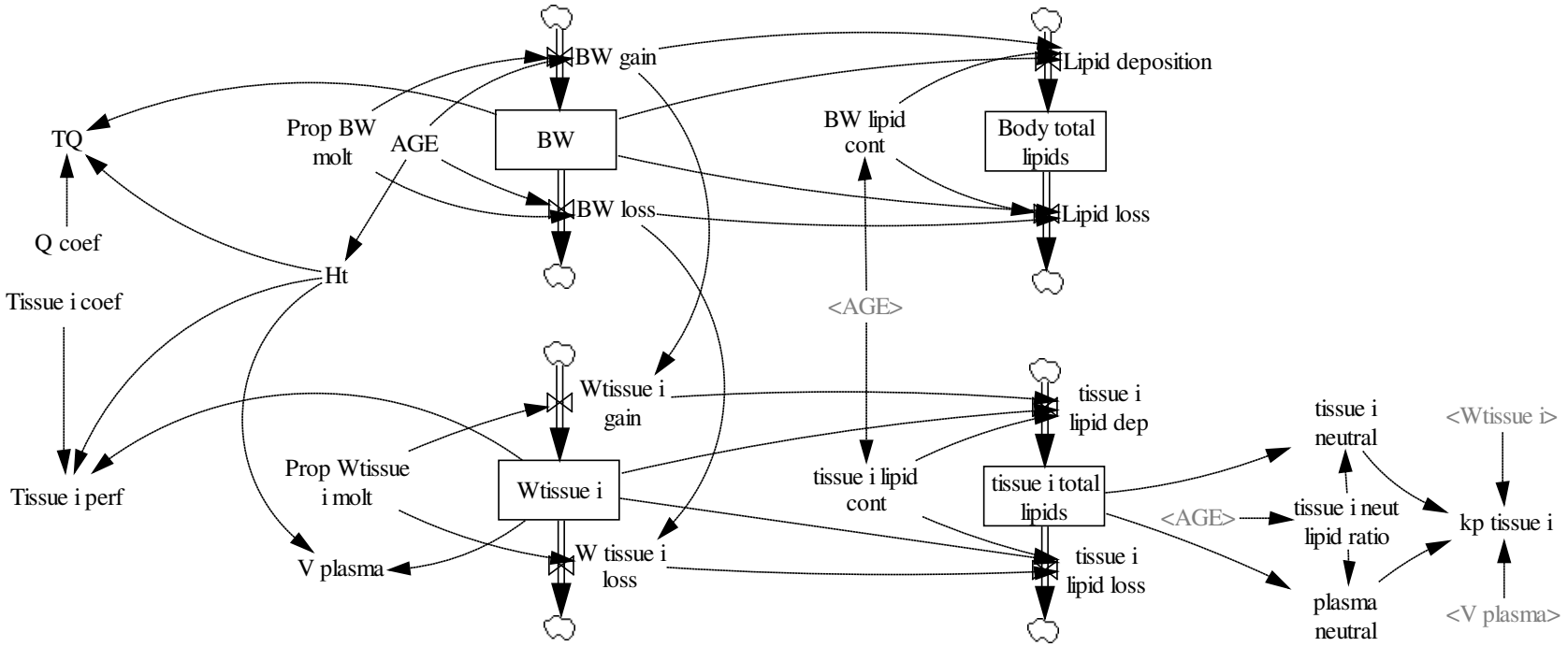


Figure S 1. Diagram of the physiological sub-model, 1st part: components related to the growth, the body and tissue weight, the amount and the profile of the lipids in the body and in tissues and the irrigation. Double arrows : matter flux (kg d^{-1}) ; compartments (squares) : matter amounts (kg) ; discontinuous arrows : information flux (no units) ; other components : calculation variables or model parameters. Grey : duplicate of a model component represented elsewhere. The whole parameters of the model are described in the Table 1 to Table 6. "Tissue i" is a generic denomination of each tissue represented in the model and replace in the diagram theirs specific names in the Table 1 to Table 6, that's to say: storagefat, mA, mB, liver, blood, plasma, other.

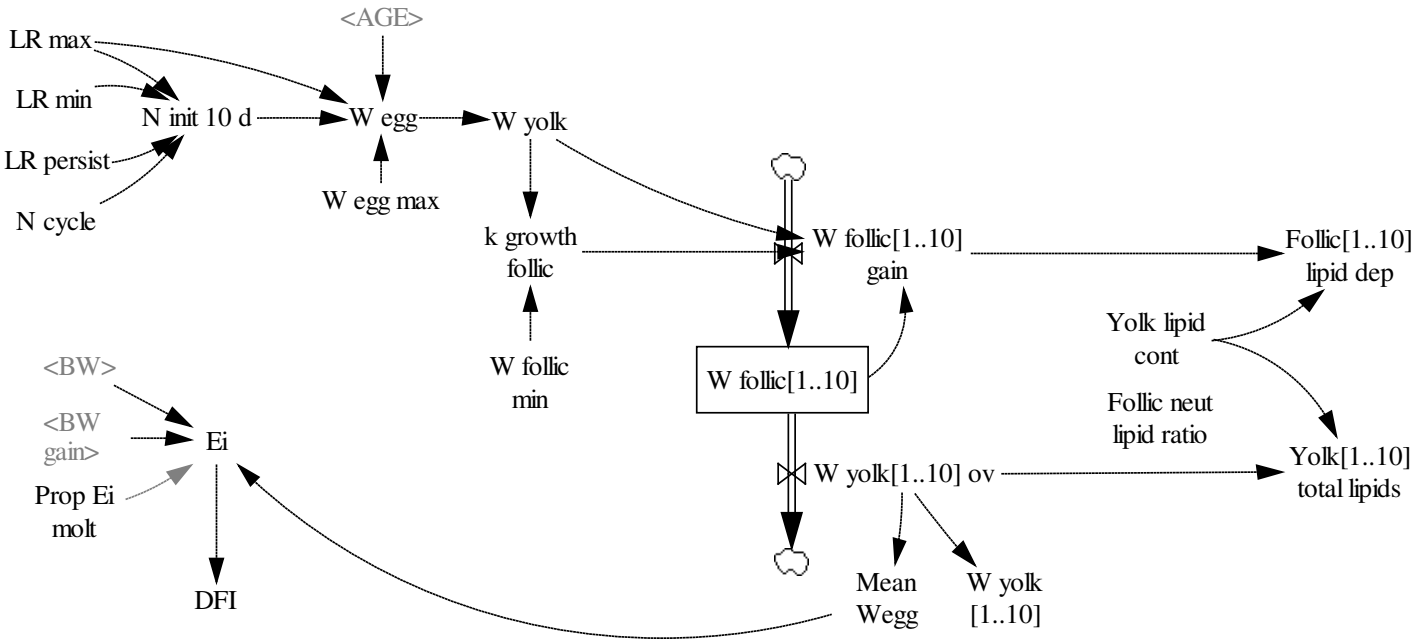


Figure S 2. Diagram of the physiological sub-model, 2nd part: components related to the lay and the ingestion. Double arrows : matter flux (kg d^{-1}) ; compartments (squares) : matter amounts (kg) ; discontinuous arrows : information flux (no units) ; other components : calculation variables or model parameters. Grey : duplicate of a model component represented elsewhere. The whole parameters of the model are described in the Table 1 to Table 6.

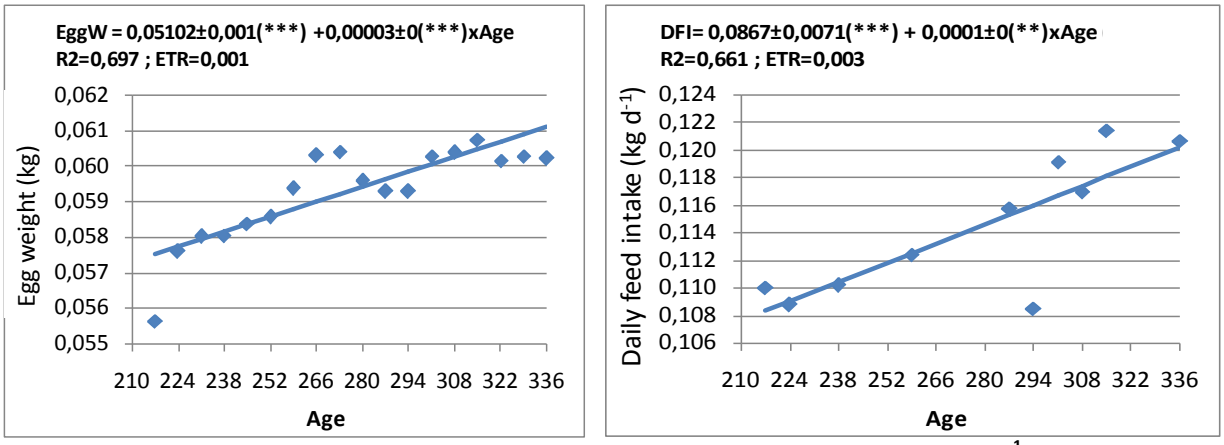


Figure S 3. Representation of the egg weight (EggW, kg) and the daily feed intake (DFI, kg d^{-1}) as a function of age (d). The symbols represent the experimentally observed values. The lines represent the values simulated as a result of the indicated equations.

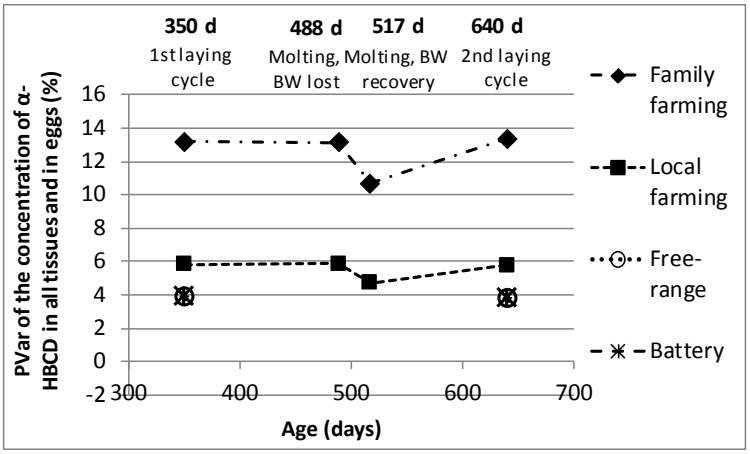


Figure S 4. PVar (%) of the α-HBCD concentration in all the tissues (storage fat, liver, plasma, pectoral muscles, thigh muscles, « other » ; also the yolk during the laying) at 4 ages corresponding to different physiological stages, after modification of the parameters related to the body weight (BW2 et AGE2g) to the values representative of each breeding system hen. *The symbols represent the mean of the PVar in all the matrices±standard deviation.*

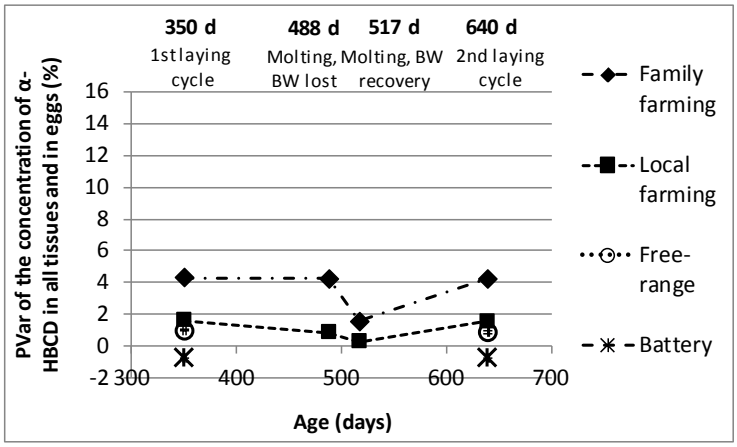


Figure S 5. PVar (%) of the α-HBCD concentration in all the tissues (storage fat, liver, plasma, pectoral muscles, thigh muscles, « other » ; also the yolk during the laying) at 4 ages corresponding to different physiological stages, after modification of the parameters related to the lay (LR max, LR min, LR persist, Wegg max) to the values representative of each breeding system hen. *The symbols represent the mean of the PVar in all the matrices±standard deviation.*

Table(s) with caption(s) (on individual pages); figure caption(s) (as a list)

Table 1 : description, value (units) and references used for the estimation of the model parameters; description and initial value (*) of the compartments and variables of the model.

Acronym	Description	Value	Units	References
ablood	Slope of the relation between the weight of the blood and the BW	0.842		(Medway and Kare, 1959)
AGE maturity	Âge at which the initialisation of follicles begins	116	d	(Nys and Guyot, 2011)
AGE1	Age of start of simulation	84	d	
AGE2g	Age at which the BW is maximized	476	d	(Bell, 2003), (Fournier et al., 2015), (Sauveur, 1988), (ISApoultry)
AGE2	Age at which the molting starts	476	d	(Bell, 2003), (Fournier et al., 2015), (Sauveur, 1988)
AGE3	Age at which the lost of BW during molting finishes	488	d	(Bell, 2003)
AGE4	Age at which the molting finishes and the initialisation of yolk growth starts again	518	d	(Bell, 2003)
AGE5	Age at which the simulation finishes	644	d	
aliver	Slope of the liver growth allometry	1.649		(Akiba et al., 1982) ; (Lee et al., 2002) ; (Mumma et al., 2006) ; (Robinson et al., 2001) ; (Umar Faruk et al., 2010) ; (Wolfenson et al., 1978; Yang et al., 2003)
amA	Slope of the growth allometry of pectoral muscles	0.512		(Robinson et al., 2001)
amB	Slope of the growth allometry of thigh muscles	0.055		(Domínguez-Romero et al., 2016)
astoragefat	Slope of the storage fat growth allometry	0.117		(Mumma et al., 2006; Robinson et al., 2001)
ayolk	Slope of the linear relation between the yolk weight and the egg weight	0.402	$kg\ kg^{-}_{1}$	(Lee et al., 2002; Pištěková et al., 2006; Rizzi and Chiericato, 2005; Silversides and Scott, 2001; Suk and Park, 2001)
b lip liver	Intercept of the linear relation between the amount of liver lipids and the weight of the liver during the end of the growth and during laying	-0.0026	kg	(Akiba et al., 1982; El-Kazzi et al., 1995; Harms et al., 1977; Lee et al., 2002; Robinson et al., 2001; Schumann et al., 2003; Thayer et al., 1973; Umar Faruk et al., 2010)
bblood	Intercept of the relation between the weight of the blood and the BW	-2.6		(Medway and Kare, 1959)
Bgomp	Rate of growth of BW at the inflexion point of the growth curve	0.0216	j^{-1}	(ISApoultry)
bliver	Intercept of the liver growth allometry	-4.123		(Akiba et al., 1982) ; (Lee et al., 2002) ; (Mumma et al., 2006) ; (Robinson et al., 2001) ; (Umar Faruk et al., 2010) ; (Wolfenson et al., 1978; Yang et al., 2003)

*Value of the corresponding compartment or variable either at the beginning of the simulation for most parameters or at AGE maturity for the parameters related to the follicle

Table 2 : description, value (units) and references used for the estimation of the model parameters; description and initial value (*) of the compartments and variables of the model.

Acronym	Description	Value	Units	References
bmA	Intercept of the growth allometry of pectoral muscles	-1.847		(Robinson et al., 2001)
bmB	Intercept of the growth allometry of thigh muscles	0		(Domínguez-Romero et al., 2016)
Body total lipids	Body total lipid weight	0.065*	kg	
bstoragefat	Intercept of the storage fat growth allometry	-0.124		(Mumma et al., 2006; Robinson et al., 2001)
BW	Body weight	1.077*	kg	
BW AGE2	Simulated body weight at AGE2		kg	
BW gain	Gain of body weight		kg d^{-1}	
BW lipid cont AGE1	Body lipid content at AGE1	0.06	kg kg^{-1}	(Hoyle and Garlich, 1987; Robinson et al., 2001)
BW lipid cont AGE2	Body lipid content at AGE2	0.2	kg kg^{-1}	(Hoyle and Garlich, 1987)
BW lipid cont AGE3	Body lipid content at AGE3	0.13	kg kg^{-1}	(Hoyle and Garlich, 1987)
BW loss	Loss of body weight		kg d^{-1}	
BW1	Body weight (BW) at AGE1	1.077	kg	(ISApoultry)
BW2	BW at AGE2	1.962	kg	(ISApoultry)
byolk	Intercept of the linear relation between the yolk weight and the egg weight	-0.0089	kg	(Lee et al., 2002; Pištěková et al., 2006; Rizzi and Chiericato, 2005; Silversides and Scott, 2001; Suk and Park, 2001)
DFI	Daily feed intake	0.063*	kg d^{-1}	
Diet HBCD conc	Considered concentration of α-HBCD in feed	40	µg kg^{-1}	
Ediet	Metabolisable energy in feed	11.6	MJ kg^{-1}	(ISApoultry)
Ei	Metabolisable energy ingested daily	0.73*	MJ d^{-1}	
Eliver	Extraction rate of the α-HBCD in the liver	0.013	-	Adjustement on experimental data (Domínguez-Romero et al., 2016)
Follic neut lipid ratio	Proportion of neutral lipids in the follicle or yolk total lipids	0.78	kg kg^{-1}	(Nys and Guyot, 2011)
Follic(1..10) lipid dep	Daily transfer of lipids to the follicle		kg d^{-1}	
HBCD abs	Amount of α-HBCD absorbed daily		µg d^{-1}	
HBCD abs coef	Absorption coefficient in the gut of the ingested α-HBCD	0.9	-	(Szabo et al., 2011a)
HBCD liver Cl	Amount of α-HBCD eliminated daily by hepatic metabolism		µg d^{-1}	
HBCD plasma liver	Net flow of α-HBCD to the liver		µg d^{-1}	
HBCD plasma tissue i	Net flow of α-HBCD to each tissue		µg d^{-1}	
HBCDFoll[1..10]	Amount of α-HBCD in the growing follicle	0*	µg	
HBCDliver	Amount of α-HBCD in the liver	0*	µg	
HBCDmA	Amount of α-HBCD in the pectoral muscles	0*	µg	

*Value of the corresponding compartment or variable either at the beginning of the simulation for most parameters or at AGE maturity for the parameters related to the follicle

Table 3 : description, value (units) and references used for the estimation of the model parameters; description and initial value (*) of the compartments and variables of the model.

Acronym	Description	Value	Units	References
HBCDmB	Amount of α-HBCD in the thigh muscles	0*	µg	
HBCDother	Amount of α-HBCD in the "other" tissues	0*	µg	
HBCDplasma	Amount of α-HBCD in the plasma	0*	µg	
HBCDplasma foll[1..10]	Daily flow of α-HBCD from the plasma to the growing follicle		µg d^{-1}	
HBCDstoragefat	Amount of α-HBCD in the storage fat	0*	µg	
HBCDplasma conc	Concentration of HBCD in plasma	0*	µg L^{-1}	
HBCDtissue conc	Concentration of HBCD in plasma	0*	µg L^{-1}	
HBCDYolk[1..10]	Amount of α-HBCD in the laid egg	0*	µg	
HBCDyolk[1..10] ov	Flow of α-HBCD being eliminated in the ovulated yolk		µg d^{-1}	
Ht	Applied value of hematocrit depending on the physiological stage	0.265*		
Ht growth or lay	Value of hematocrit during the growth and the laying stages	0.265	-	(Bell et al., 1965; Burnham et al., 2002; Burnham et al., 2003; Medway and Kare, 1959; Peebles et al., 2004)
Ht molt	Value of hematocrit during molting	0.31	-	(Bell et al., 1965; Brake and Thaxton, 1979)
k growthfollic	Variable of calcul of the rate of growth of the follicle	58.09*	kg_1^{-1} d^{-}	
Kp tissue i	Partition coefficient of the molecule between a tissue and the plasma	*	L kg^{-1}	
kWegg	Constant of calcul of the variation of egg weight as a function of age	0.012	d^{-1}	(Adams and Bell, 1998; ISApoultry)
Lipid deposition	Gain of body lipids		kg d^{-1}	
Lipid loss	Loss of body lipids		kg d^{-1}	
Liver coef	Blood flow to the liver	1200	L kg^{-1} tissue d^{-1}	(Boelkins et al., 1973; Merrill et al., 1981; Sapirstein and Hartman, 1959; Weidner et al., 1982; Wolfenson, 1986; Wolfenson et al., 1978)
Liver lipid cont	Slope of the linear relation between the amount of total lipids in the liver and the weight of liver, during growth and laying stages	0.17	kg kg_1^{-}	(Akiba et al., 1982; El-Kazzi et al., 1995; Harms et al., 1977; Lee et al., 2002; Robinson et al., 2001; Schumann et al., 2003; Thayer et al., 1973; Umar Faruk et al., 2010)
Liver lipid cont AGE3	Minimum proportion of total lipids in liver during molting	0.06	kg kg_1^{-}	(Garlich et al., 1984)
Liver neut lipid ratio	Proportion of neutral lipids in the total lipids of liver	0.76	kg kg_1^{-}	(Entenman et al., 1940; Ivy and Nesheim, 1973; Lee et al., 2010; Lee et al., 2002; Thayer et al., 1973; Zhang et al., 2011a)
Liver neutral	Weight of neutral lipids in liver	0.0004*	kg	
Liver perf	Daily plasma flow to liver	16.1*	L d^{-1}	

*Value of the corresponding compartment or variable either at the beginning of the simulation for most parameters or at AGE maturity for the parameters related to the follicle

Table 4 : description, value (units) and references used for the estimation of the model parameters; description and initial value (*) of the compartments and variables of the model.

Acronym	Description	Value	Units	References
Liver total lipids	Weight of total lipids in liver	0.0006*	kg	
LR max	Maximum laying rate	90	%	(Grossman and Koops, 2001; ISApoultry)
LR min	Minimum laying rate during the declining phase of the laying rate curve	76	%	(Grossman and Koops, 2001; ISApoultry)
LR persist	Persistence of laying	32.9	weeks	(Grossman and Koops, 2001; ISApoultry)
mA coef	Blood flow to the pectoral muscles	210	L kg^{-1} tissue d^{-1}	(Wolfenson, 1986; Wolfenson et al., 1978)
mA lipid cont	Proportion of total lipids in the pectoral muscles during growth and laying	0.014	kg kg^{-1}	(Cherian et al., 2002; Lee et al., 2002; Yang et al., 2003)
mA lipid cont AGE2	Proportion of total lipids in the pectoral muscles at AGE2	0.014	kg kg^{-1}	(Cherian et al., 2002; Lee et al., 2002; Yang et al., 2003)
mA lipid cont AGE3	Minimum proportion of total lipids in the pectoral muscles during molting	0.011	kg kg^{-1}	(Cherian et al., 2002; Javaid et al., 2011; Lee et al., 2002; Yang et al., 2003)
mA neut lipid ratio	Proportion of neutral lipids in the total lipids of the pectoral muscles	0.55	kg kg^{-1}	(Lee et al., 2002)
mA neutral	Weight of neutral lipids in the pectoral muscles	0.0013*	kg	
mA perf	Daily plasma flow to the pectoral muscles	25.3*	L d^{-1}	
mA total lipids	Weight of total lipids in the pectoral muscles	0.002*	kg	
mB coef	Blood flow to the thigh muscles	163	L kg^{-1} tissue d^{-1}	(Sapirstein and Hartman, 1959; Wolfenson, 1986)
mB lipid cont	Proportion of total lipids in the thigh muscles during growth and laying	0.06	kg kg^{-1}	(Cherian et al., 2002; Puchala et al., 2014)
mB lipid cont AGE2	Proportion of total lipids in the thigh muscles at AGE2	0.06	kg kg^{-1}	
mB lipid cont AGE3	Minimum proportion of total lipids in the thigh muscles during molting	0.048	kg kg^{-1}	(Cherian et al., 2002; Javaid et al., 2011; Puchala et al., 2014)
mB neut lipid ratio	Proportion of neutral lipids in the total lipids of the thigh muscles	0.86	kg kg^{-1}	Données sur poulet de chair, en l'absence de données sur poule : (Hulan et al., 1989; Marion, 1965; Rabot, 1998; Sahasrabudhe et al., 1985)
mB neutral	Weight of neutral lipids in the thigh muscles	0.0031*	kg	
mB perf	Daily plasma flow to the thigh muscles	7.1*	L d^{-1}	
mB total lipids	Weight of total lipids in the thigh muscles	0.004*	kg	
Mean Wegg	Mean weight of the eggs laid daily for 10 days	0*	kg d^{-1}	
mVblood	Density of blood	1.044	kg L^{-1}	(Medway and Kare, 1959)
Ncycle	Number of cycles of 10 days gone through from the beginning of laying	1*		

*Value of the corresponding compartment or variable either at the beginning of the simulation for most parameters or at AGE maturity for the parameters related to the follicle

Table 5 : description, value (units) and references used for the estimation of the model parameters; description and initial value (*) of the compartments and variables of the model.

Acronym	Description	Value	Units	References
Ninit10d	Number of yolks initialised in a 10 day cycle, from AGE maturity to AGE2, and from AGE4 to AGE5	4.17*		
Other neut lipid ratio	Proportion of neutral lipids in the total lipids of the "other" compartment	0.96	kg kg^{-1}	(Santoso et al., 1995)
Other neutral	Weight of neutral lipids in the "other" compartment	0.054*	kg	
Other perf	Daily plasma flow to the "other" compartment	175*	L d^{-1}	
Other total lipids	Weight of total lipids in the "other" compartment	0.056*	kg	
Plasma lipid cont	Concentration of total lipids in plasma during growth and molting	0.007	kg L^{-1}	(Entenman et al., 1940; Robinson et al., 2001; Yu et al., 1976)
Plasma lipid cont lay	Concentration of total lipids in plasma during laying	0.026	kg L^{-1}	(Akiba et al., 1982; Balnave, 1971; Robinson et al., 2001; Walzem et al., 1994; Weiss and Fisher, 1957; Yu et al., 1976)
Plasma neut lipid ratio	Proportion of neutral lipids in the total lipids of plasma during growth and molting	0.69	kg kg^{-1}	(Yu et al., 1976)
Plasma neut lipid ratio lay	Proportion of neutral lipids in the total lipids of plasma during laying	0.79	kg kg^{-1}	(Walzem et al., 1994; Yu et al., 1976)
Plasma neutral	Weight of neutral lipids in plasma	0.0003*	kg	
Plasma total lipids	Weight of total lipids in plasma	0.0004*	kg	
Prop BW molt	Total fraction of BW lost during molting	0.25	-	(Sauveur, 1988)
Prop Ei molt	Energy restriction during molting	0.6	-	(Souza et al. 2010)
Prop Wblood molt	Total fraction of the blood weight lost during molting	0.25	-	Hypothesis
Prop Wliver molt	Total fraction of the liver weight lost during molting	0.5	-	(Sauveur, 1988)
Prop WmA molt	Total fraction of the weight of pectoral muscles lost during molting	0.2	-	Hypothesis
Prop WmB molt	Total fraction of the weight of thigh muscles lost during molting	0.2	-	Hypothesis
Prop Wstoragefat molt	Total fraction of the storage fat weight lost during molting	0.7	-	(Park and Ks, 2002)
Q coef	Cardiac output	283	L kg^{-1} BW d^{-1}	(Niezgoda et al., 1982; Sapirstein and Hartman, 1959; Wideman, 1999)
Storagefat coef	Blood flow to the abdominal fat	95	L kg^{-1} tissue d^{-1}	(MacLachlan, 2010)
Storagefat lipid cont	Proportion of total lipids in the abdominal fat	0.87	kg kg^{-1}	(Cherian et al., 2002; El-Kazzi et al., 1995; Lee et al., 2002)
Storagefat neut lipid ratio	Proportion of neutral lipids in the total lipids of the abdominal fat	0.98	kg kg^{-1}	(Lee et al., 2002)

*Value of the corresponding compartment or variable either at the beginning of the simulation for most parameters or at AGE maturity for the parameters related to the follicle

Table 6 : description, value (units) and references used for the estimation of the model parameters; description and initial value (*) of the compartments and variables of the model.

Acronym	Description	Value	Units	References
Storagefat neutral	Weight of neutral lipids in the abdominal fat	0.0017*	kg	
Storagefat perf	Daily plasma flow to the storage fat	0.144*	L d^{-1}	
Storagefat total lipids	Weight of total lipids in the storage fat	0.002*	kg	
tissue i lipid dep	Daily deposition of lipids in a tissue i		kg d^{-1}	
tissue i lipid loss	Daily loss of lipids from a tissue i		kg d^{-1}	
TQ	Daily plasmatic cardiac output	224*	L d^{-1}	
Vplasma	Plasma volume	0.056*	L	
Wall yolks 10 d	Sum of the weight of the yolks ovulated for 10 days	0*	kg	
Wblood	Blood weight	0.079*	kg	
Wblood AGE2	Simulated blood weight at AGE2			
Wblood AGE maturity	Simulated blood weight at AGE maturity			
Wegg	Weight of the egg as a function of age or of laying rate	0.044*	kg	
Wegg max	Maximum weight of the egg	0.065	kg	(Adams and Bell, 1998; ISApoultry)
Wfollic min	Minimum weight of the follicle, at the beginning of the rapid growth phase	0.0002	kg	(Fournier et al., 2015)
WFollic(1..10)	Weight of each follicle during the rapid growth phase	0*	kg	
W follic[1..10] gain	Daily deposition of yolk matter in each growing follicle		kg d^{-1}	
Wliver	Liver weight	0.018*	kg	
WmA	Weight of pectoral muscles	0.164*	kg	
WmB	Weight of thigh muscles	0.059*	kg	
Wother	Weight of the compartment "other"	0.755*	kg	
Wstoragefat	Storage fat weight	0.002*	kg	
Wtissue i	Weight of a tissue			
Wtissue AGE2	Weight of the corresponding tissue attained in simulation at AGE2		kg	
Wtissue i gain	Gain of weight of a tissue i		kg d^{-1}	
Wtissue i loss	Loss of weight of a tissue i		kg d^{-1}	
Wyolk	Maximum weight of the follicle at the end of the rapid growth phase	0.009*	kg	
WYolk(1..10)	Weight of the ovulated yolk	0*	kg	
Wyolk[1..10] ov	Amount of yolk ovulated		kg d^{-1}	
Yolk lipid cont	Concentration of lipids in the follicle or in the yolk	0.35	kg kg^{-1}	(Nys and Guyot, 2011)

*Value of the corresponding compartment or variable either at the beginning of the simulation for most parameters or at AGE maturity for the parameters related to the follicle

Table 7. Equations applied for the growth, the lost and the recovery of the weight of the compartments body weight (BW) and weight of tissues, and variables related to these components.

Physiological stade	Compartment affected	Equation	Eq. number
End of growth and 1st laying cycle	BW	$\text{BW gain} = -\text{BW} \times \ln\frac{\text{BW}_2}{\text{BW}_1} \times \text{Bgomp} \times \frac{e^{-\text{Bgomp}\times(\text{AGE}-\text{AGE1})}}{-1+e^{-\text{Bgomp}\times(\text{AGE2g}-\text{AGE1})}}$	14
	W_{blood}, W_{liver}, W_{mA},	$W_{\text{tissue i}}\ \text{gain} = a_{\text{tissue i}} \times e^{b_{\text{tissue i}}} \times \text{BW}^{a_{\text{tissue i}}-1} \times \text{BW gain}$	15
	W_{mB}, $W_{Storagefat}$	$W_{\text{tissue i}}\ \text{gain} = a_{\text{tissue i}} \times \text{BW gain}$	16
	W_{other}	$W_{other}\ \text{gain} = \text{BW gain} - (W_{blood}\ \text{gain} + W_{storagefat}\ \text{gain} + W_{liver}\ \text{gain} + W_{mA}\ \text{gain} + W_{mB}\ \text{gain})$	17
Molting, BW lost	BW	$\text{BW loss} = \frac{\text{Prop BW molt} \times \text{BW AGE2}}{(\text{AGE3} - \text{AGE2})}$	18
	W_{blood}, W_{liver}, W_{mA}, W_{mB}, $W_{Storagefat}$	$\text{W tissue i loss} = \frac{(\text{Prop}\ W_{\text{tissue i}}\ \text{molt}) \times W_{\text{tissue i}}\ \text{AGE2}}{(\text{AGE3} - \text{AGE2})}$	19
	W_{other}	$W_{other}\ \text{loss} = \text{BW loss} - (W_{blood}\ \text{loss} + W_{storagefat}\ \text{loss} + W_{liver}\ \text{loss} + W_{mA}\ \text{loss} + W_{mB}\ \text{loss})$	20
Molting, BW recovery	BW	$\text{BW gain} = \frac{\text{Prop BW molt} \times \text{BW AGE2}}{(\text{AGE4} - \text{AGE3})}$	21
	W_{blood}, W_{liver}, W_{mA}, W_{mB}, $W_{Storagefat}$	$W_{\text{tissue i}}\ \text{gain} = \frac{\text{prop}W_{\text{tissue i}}\ \text{molt} \times W_{\text{tissue i}}\ \text{AGE2}}{(\text{AGE4} - \text{AGE3})}$	22
	W_{other}	(Eq. 17)	23
Variables related to the weight of the tissues			
Physiological stade	**Variable affected**	**Equation**	**Eq. number**
End of growth and 1st and 2nd laying cycles	V_{plasma}	$V_{plasma} = W_{blood} \times \frac{(1-\text{Ht growth or lay})}{mV_{blood}}$	24
	V_{plasma} gain	$V_{plasma}\ \text{gain} = W_{blood}\ \text{gain} \times \frac{(1-\text{Ht growth or lay})}{mV_{blood}}$	25
Molting, BW lost	V_{plasma}	$V_{plasma} = W_{blood} \times \frac{(1-\text{Ht molt})}{mV_{blood}}$	26
	V_{plasma} loss	$V_{plasma}\ \text{loss} = W_{blood}\ \text{loss} \times \frac{(1-\text{Ht molt})}{mV_{blood}}$	27
Molting, BW recovery	V_{plasma}	(Eq. 26)	28
	V_{plasma} gain	$V_{plasma}\ \text{gain} = W_{blood}\ \text{gain} \times \frac{(1-\text{Ht molt})}{mV_{blood}}$	29

Table 8. Equations applied for the growth, the lost and the recovery of the weight of the compartments body total lipids and total lipids of tissues (unless plasma), and variables related to the content of neutral lipids in these components of the model

Physiological stade	Compartment affected	Equation	Eq. number
End of growth and 1st laying cycle	Body total lipids	$\text{Lipid deposition} = [\text{BW lipid cont AGE1} + 2 \times \frac{(\text{BW lipid cont AGE2} - \text{BW lipid cont AGE1})}{(\text{BW2} - \text{BW1})} \times \text{BW} - \text{BW1} \times \frac{(\text{BW lipid cont AGE2} - \text{BW lipid cont AGE1})}{(\text{BW2} - \text{BW1})}] \times \text{BW gain}$	30
	Liver total lipids, mA total lipids, mB total lipids, Storagefat total lipids	$\text{Tissue i lipid dep} = \text{Tissue i lipid cont} \times W_{\text{tissue i}}\ \text{gain}$	31
Molting, BW lost	Body total lipids	$\text{Lipid loss} = [\text{BW lipid cont AGE2} + \frac{(\text{BW lipid cont AGE3} - \text{BW lipid cont AGE2})}{(\text{BW3} - \text{BW2})} \times (2 \times \text{BW} - \text{BW2})] \times \text{BW loss}$	32
	Storagefat total lipids	$\text{Storagefat lipid loss} = \text{Storagefat lipid cont} \times W_{\text{storagefat}}\ \text{loss}$	33
	Liver total lipids, mA total lipids, mB total lipids	$\text{Tissue i lipid loss} = [\text{Tissue i lipid cont AGE2} + \frac{(\text{tissue i lipid cont AGE3} - \text{tissue i lipid cont AGE2})}{(W_{\text{tissue i}}\text{AGE3} - W_{\text{tissue i}}\text{AGE2})} \times (2 \times W_{\text{tissue i}} - W_{\text{tissue i}}\text{AGE2})] \times W_{\text{tissue i}}\ \text{loss}$	34
Molting, BW recovery	Body total lipids	$\text{Lipid deposition} = [\text{BW lipid cont AGE3} + \frac{(\text{BW lipid cont AGE2} - \text{BW lipid cont AGE3})}{(\text{BW2} - \text{BW3})} \times (2 \times \text{BW} - \text{BW3})] \times \text{BW gain}$	35
	Storagefat total lipids	$\text{Storagefat lipid dep} = \text{Storagefat lipid cont} \times W_{\text{storagefat}}\ \text{gain}$	36
	Liver total lipids, mA total lipids, mB total lipids	$\text{Tissue i lipid dep} = [\text{Tissue i lipid cont AGE3} + \frac{(\text{tissue i lipid cont AGE2} - \text{tissue i lipid cont AGE3})}{(W_{\text{tissue}}\text{AGE2} - W_{\text{tissue}}\text{AGE3})} \times (2 \times W_{\text{tissue i}} - W_{\text{tissue i}}\text{AGE3})] \times W_{\text{tissue i}}\ \text{gain}$	37
All ages unless from AGE2 to AGE3	Other total lipids	$\text{Other lipid dep} = \text{Lipid deposition} - (\text{Liver lipid dep} + \text{mA lipid dep} + \text{mB lipid dep} + \text{Plasma lipid dep} + \text{Storagefat lipid dep})$	38
From AGE2 to AGE3		$\text{Other lipid loss} = \text{Lipid loss} - (\text{Liver lipid loss} + \text{mA lipid loss} + \text{mB lipid loss} + \text{Plasma lipid loss} + \text{Storagefat lipid loss})$	39
Variables related to the neutral lipid content of tissues			
Physiological stade	**Variable affected**	**Equation**	**Eq. number**
All ages	Liver neutral, mA neutral, mB neutral, Other neutral, Storagefat neutral	$\text{Tissue i neutral} = \text{Tissue i neut lipid ratio} \times \text{Tissue i total lipids}$	40

Table 9. Equations applied for the growth, the lost and the recovery of the weight of the plasma total lipids, and variables related to the neutral lipid content of plasma.

Physiological stade	Compartment affected	Equation	Eq. number
End of growth until AGE maturity	Plasma total lipids	$\text{Plasma lipid dep} = \text{Plasma lipid cont} \times V_{\text{plasma}}\ \text{gain}$	41
At AGE maturity	Plasma total lipids	$\text{Plasma lipid dep} = (\text{Plasma lipid cont lay} - \text{Plasma lipid cont}) \times W_{\text{blood}}\text{AGE maturity} \times \frac{(1-\text{Ht growth or lay})}{\text{mV blood}}$	42
From AGE maturity to AGE2	Plasma total lipids	$\text{Plasma lipid dep} = \text{Plasma lipid cont lay} \times V_{\text{plasma}}\ \text{gain}$	43
At AGE2	Plasma total lipids	$\text{Plasma lipid loss} = (\text{Plasma lipid cont lay} - \text{Plasma lipid cont}) \times W_{\text{blood}}\text{AGE2} \times \frac{(1-\text{Ht growth or lay})}{\text{mV blood}} + \text{Plasma lipid cont} \times W_{\text{blood}}\text{AGE2} \times \frac{((1-\text{Ht molt})-(1-\text{Ht growth or lay}))}{\text{mV blood}}$	44
From AGE2 to AGE3	Plasma total lipids	$\text{Plasma lipid loss} = \text{Plasma lipid cont} \times V_{\text{plasma}}\ \text{loss}$	45
From AGE3 to AGE4	Plasma total lipids	(Eq. 41)	46
At AGE4	Plasma total lipids	$\text{Plasma lipid dep} = (\text{Plasma lipid cont lay} - \text{Plasma lipid cont}) \times W_{\text{blood}}\text{AGE2} \times \frac{(1-\text{Ht molt})}{\text{mV blood}} + \text{Plasma lipid cont lay} \times W_{\text{blood}}\text{AGE2} \times \frac{((1-\text{Ht growth or lay})-(1-\text{Ht molt}))}{\text{mV blood}}$	47
Variables related to the neutral lipid content of tissues			
Physiological stade	**Variable affected**	**Equation**	**Eq. number**
End of growth and molting	Plasma neutral	$\text{Plasma neutral} = \text{Plasma neut lipid ratio} \times \text{Plasma total lipids}$	48
1st and 2nd laying cycles	Plasma neutral	$\text{Plasma neutral} = \text{Plasma neut lipid ratio lay} \times \text{Plasma total lipids}$	49

Table 10. Variables and compartments related to the irrigation, the growth of follicles and the ingestion

Variables related to the irrigation of tissues			
Physiological stade	**Variable affected**	**Equation**	**Eq. number**
All ages	TQ	$TQ = Q\ coef \times BW \times (1 - Ht)$	50
	Liver perf, mA perf, mB perf, Storagefat perf	$Tissue\ i\ perf = W_{tissue\ i} \times Tissue\ i\ coef \times (1 - Ht)$	51
	Other perf	$Other\ perf = TQ - (mA\ perf + mB\ perf + Liver\ perf + Storagefat\ perf)$	52
Compartments and equations related to the follicle growth			
Physiological stade	**Compartment affected**	**Equation**	**Eq. number**
1st and 2nd laying cycles	$W_{follic[1..10]}$	$W_{follic[1..10]}\ gain = k\ growth_{follic} \times W_{follic[1..10]} \times (\frac{W_{yolk}}{0.93} - W_{follic[1..10]})$	53
Variables related to the laying function			
Physiological stade	**Variable affected**	**Equation**	**Eq. number**
1st and 2nd laying cycles	$k\ growth_{follic}$	$k\ growth_{follic} = \frac{-\ln(\frac{1-0.93}{0.93} \times \frac{1}{W_{yolk}})}{\frac{0.93 \times W_{follic}^{-1}}{\frac{W_{yolk}}{0.93} \times 10}}$	54
	$Follic_{[1..10]}$ lipid dep	$Follic_{[1..10]} lipid\ dep = W_{follic[1..10]}\ gain \times Yolk\ lipid\ cont$	55
	Yolk[1..10]total lipids	$Yolk[1..10] total\ lipids = Yolk\ lipid\ cont \times W_{Yolk[1..10]}$	56
	W_{yolk}	$W_{yolk} = b_{yolk} + a_{yolk} \times W_{egg}$	57
	W_{egg}	If LR max >= 60%: $W_{egg} = Wegg\ max \times (1 - e^{-k_{Wegg} \times AGE})$	58
		If LR max < 60%: $W_{egg} = 0.001 \times N_{init10d} + 0.040$	59
	$N_{init10d}$	$N_{init10d} = 10 \times LR\ max \times \frac{1-e^{-N_{cycle}}}{1+e^{-N_{cycle}}} - 10 \times (LR\ max - LR\ min) \times \frac{1-e^{-N_{cycle}}}{1+e^{-(N_{cycle} - LR\ persist)}}$	60
	Mean W_{egg}	$Mean\ W_{egg} = \frac{W\ all\ yolks\ 10\ d}{10} \times \frac{W_{egg}}{W_{yolk}}$	61
Variables related to the ingestion			
Physiological stade	**Variable affected**	**Equation**	**Eq. number**
All ages	DFI	$DFI = \frac{Ei}{Ediet}$	62
End of growth, until the first egg is laid	Ei	$Ei = 0.5676 \times BW^3 - 1.4554 \times BW^2 + 1.5389 \times BW + 0.0525$	63
1st laying cycle, from the first laid egg until AGE2		$Ei = 0.662 \times BW^{0.75} + 12 \times BW\ gain + 4 \times Mean\ W_{egg}$	64
Molting, BW lost		$Ei = (1 - Prop\ Ei\ molt) \times Ei\ AGE2$	65
Molting, BW recovery		$Ei = 0.662 \times BW^{0.75} + 12 \times BW\ gain$	66
2nd laying cycle, from AGE4 to AGE4+30		$Ei = Ei\ AGE4$	67
2nd laying cycle, from AGE4+30		Eq. 64	68

Table 11. Equations applied for the absorption, distribution, metabolism and elimination (ADME) of the molecule to or from different compartments of the model, and variables related to the ADME submodel.

Physiological stade	Compartments /variables directly affected	Equation	Eq. number
Absorption			
All ages	Total HBCD intake	$\text{Total HBCD intake} = \text{Diet HBCD intake} + \text{No diet HBCD intake}$	69
All ages	Diet HBCD intake	$\text{Diet HBCD intake} = \text{DFI} \times \text{Diet HBCD conc}$	70
All ages	$HBCD_{liver}$	$\text{HBCD abs} = \text{Total HBCD intake} \times \text{HBCD abs coef}$	71
Distribution			
All ages	$HBCD_{liver}$, $HBCD_{mA}$, $HBCD_{mB}$, $HBCD_{other}$, $HBCD_{storagefat}$, $HBCD_{plasma}$	$\text{Kp}_{\text{tissue i}} = \frac{\text{Tissue i neutral}}{\text{W}_{\text{tissue i}}} \times \frac{\text{V}_{\text{plasma}}}{\text{Plasma neutral}}$	72
All ages	$HBCD_{liver}$, $HBCD_{mA}$, $HBCD_{mB}$, $HBCD_{other}$, $HBCD_{storagefat}$, $HBCD_{plasma}$	$\text{HBCD}_{\text{plasma tissue i}} = \text{Tissue i perf} \times (\text{HBCD}_{\text{plasma}}\text{conc} - \frac{\text{HBCD}_{\text{tissue i}}\text{ conc}}{\text{Kp}_{\text{tissue i}}})$	73
All ages	HBCD_tissue conc total lipids	$\text{HBCD}_{\text{tissue i}}\text{ conc total lipids} = \frac{\text{HBCD}_{\text{tissue i}}}{\text{Tissue i total lipids}}$	74
Metabolism			
All ages	$HBCD_{plasma}$	$\text{HBCD}_{\text{liver}}\text{ Cl} = \text{Liver perf} \times \text{E}_{\text{liver}} \times \text{HBCD}_{\text{plasma}}\text{ conc}$	75
Excretion			
1st and 2nd laying cycles	$HBCD_{foll[1..10]}$, $HBCD_{plasma}$	$\text{HBCD}_{\text{plasma foll[1..10]}} = \text{Follic}_{[1..10]}\text{lipid dep} \times \text{Follic neut lipid ratio} \times \frac{\text{HBCD}_{\text{plasma}}}{\text{Plasma neutral}}$	76
	HBCD_Yolk[1..10] conc total lipid	$\text{HBCD}_{\text{Yolk[1..10]}}\text{conc total lipid} = \frac{\text{HBCD}_{\text{Yolk[1..10]}}}{\text{Yolk[1..10]total lipids}}$	77

Table 12. Summary of the results of the sensitivity analysis: main parameters influencing the concentration of the molecule in tissues/eggs, physiological stages and matrix affected by the changing in the parameter, precision of the estimated basal value

	Physiological stades at which the model is sensitive to the parameter					Tissues/eggs affected by the value of the parameter	Precision of the basal value
	End of growth	1st laying cycle	Molting, BW lost	Molting, BW recovery	2nd laying cycle		
Parameters related to BW and tissue weight							
Age2			x	x	x	All	Appropriate
b_blood	x					All	Appropriate
b_liver	x	x	x	x	x	All	Appropriate
Prop Wstoragefat molt			x			Abdominal fat	Sufficient
Parameters related to body and tissue lipid content and lipid profile							
BW lipid cont AGE3			x			All	Appropriate
Liver_lipid_cont	x					All	Appropriate
Liver_neut_lipid_ratio	x	x	x	x	x	Liver	Appropriate
mA_neut_lipid_ratio	x	x	x	x	x	Pectoral muscles	Limited
mB_neut_lipid_ratio	x	x	x	x	x	Thigh muscles	Limited
other neut lipid ratio	x	x	x	x	x	"Other"	Limited
Plasma neut lipid ratio lay		x	x		x	Plasma	Appropriate
plasma_neut_lipid_ratio	x		x	x		Plasma	Appropriate
Storagefat_neut_lipid_ratio	x	x	x	x	x	Abdominal fat	Limited
Parameters related to blood irrigation							
liver coef		x	x		x	All	Limited
mV blood	x					All	Appropriate
Q coef	x					All	Appropriate
Parameters related to ingestion or exposure to the molecule							
Ediet	x	x	x	x	x	All	Appropriate
HBCD_abs_coef	x	x	x	x	x	All	Sufficient
Parameters related to the metabolism of the molecule							
E_{liver}	x	x	x	x	x	All	No data found, needs adjustment

Table 13. Basal and adjusted values of the parameters selected for adjustment.

Acronym	Description	Units	Basal value	Adjusted value
mA neut lipid ratio	Proportion of neutral lipids in the total lipids of the pectoral muscles	kg kg^{-1}	0.55	0.56
mB neut lipid ratio	Proportion of neutral lipids in the total lipids of the thigh muscles	kg kg^{-1}	0.86	1
Liver neut lipid ratio	Proportion of neutral lipids in the total lipids of liver	kg kg^{-1}	0.76	0.61
Plasma neut lipid ratio lay	Proportion of neutral lipids in the total lipids of plasma during laying	kg kg^{-1}	0.79	0.63
Storagefat neut lipid ratio	Proportion of neutral lipids in the total lipids of the abdominal fat	kg kg^{-1}	0.98	0.99
Other neut lipid ratio	Proportion of neutral lipids in the total lipids of the "other" compartment	kg kg^{-1}	0.96	0.96
Liver coef	Blood flow to the liver	L kg^{-1} tissue d^{-1}	1200	1307.9
E_{liver}	Extraction rate of the α-HBCD in the liver	%	1.30%	1.70%
Plasma neut lipid ratio	Proportion of neutral lipids in the total lipids of plasma during growth and molting	kg kg^{-1}	0.69	0.552

Table 14. Value of the parameters related to the BW, the laying rate, the egg weight and the setting up or not of a molting, corresponding to different laying hen breeding systems

Variable	Acronym	Units	Basal model	Family farming*	Local farming and distribution*	Free-range*	Battery *
Body weight	BW2	Kg	1.96	1.6	1.8	1.85	1.85
	AGE2g	d	476	800	640	485	550
Laying rate	LR max	%	90	70	70	70	90
	LR min	%	76	40	60	60	75
	LR persist	weeks	33	80	60	45	50
Egg weight	Wegg max	Kg	0.065	0.05	0.062	0.065	0.068
Molting	Molting starting age	d	Molting of 42 d, from 476 d	Molting of 42 d, from 476 d	Molting of 42 d, from 476 d	No molting	No molting

**Source of the values of the parameters for the four practical breeding systems: ITAVI*

Table 15 : PVar of the concentration of α-HBCD in the tissues (storage fat, liver, plasma, pectoral muscles, thigh muscles, "other"; also the yolk during the laying periods) at 4 ages representative of the different physiological stages. The whole parameters corresponding to each breeding system hen-type were modified.

	350 d (1st laying cycle)	640 d (laying)	488 d (molting, BW lost)	517 d (molting, BW recovery)
Systems with molting				
Family farming	21.2±0.24	21.7±0.22	21.1±0.10	13.9±0.12
Local farming and distribution	8.1±0.04	8.0±0.06	7.1±0.02	5.2±0.05
Systems with no molting				
Free-range	5.2±0.06	8.4±0.09	-48.6±4.9	-41.4±3.4
Battery cages	3.1±0.04	6.7±0.12	-49.7±4.8	-42.6±3.3

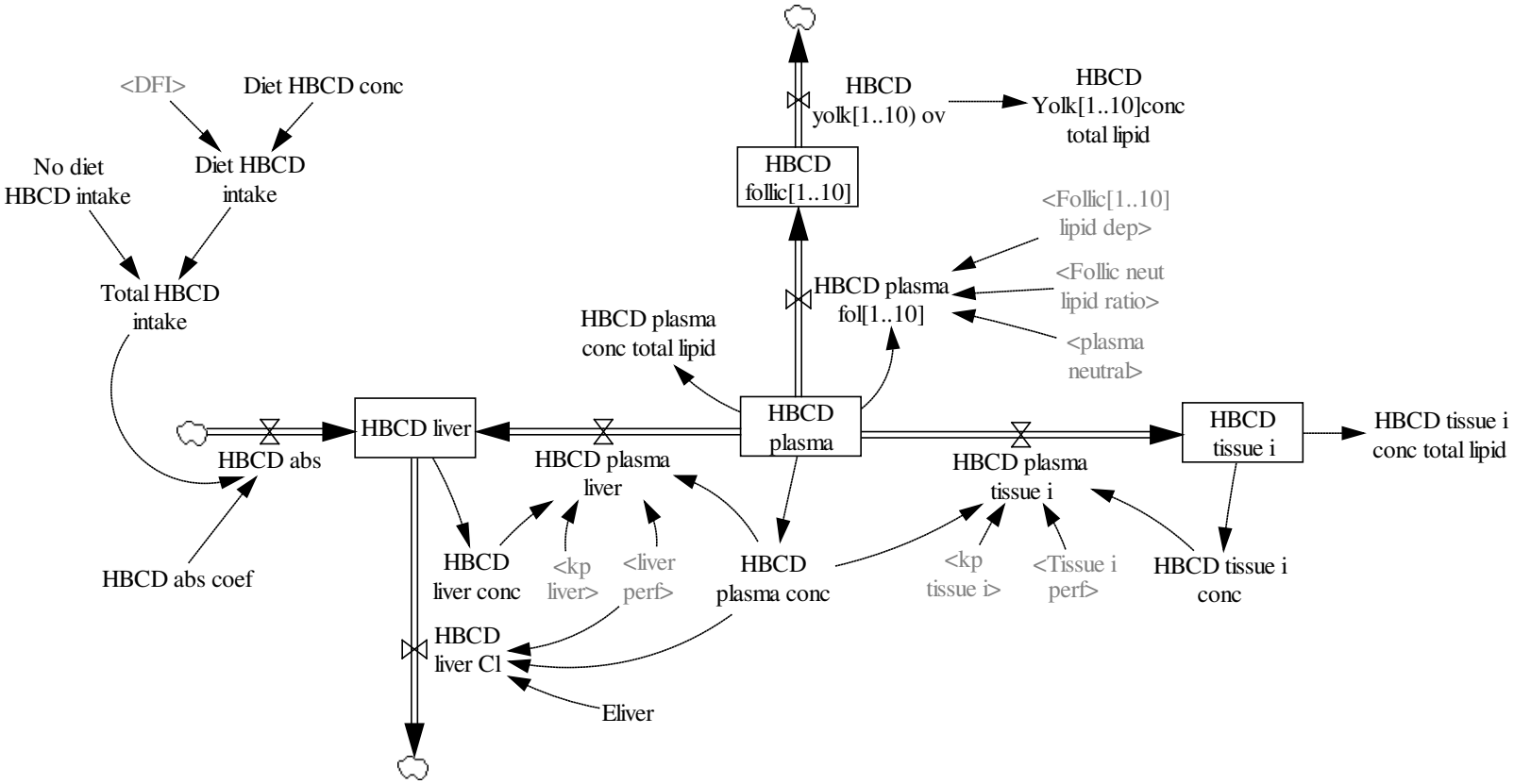


Fig. 1. Diagram of the ADME sub-model. Double arrows : matter flux (kg d^{-1}) ; compartments (squares) : matter amounts (kg) ; discontinuous arrows : information flux (no units) ; other components : calculation variables or model parameters. Grey : duplicate of a model component represented elsewhere. The whole parameters of the model are described in the Table 1 to Table 6. "Tissue i" is a generic denomination of different tissues represented in the model and replace in this diagram theirs specific names in the Table 1 to Table 6, that's to say: storagefat, mA, mB, other.

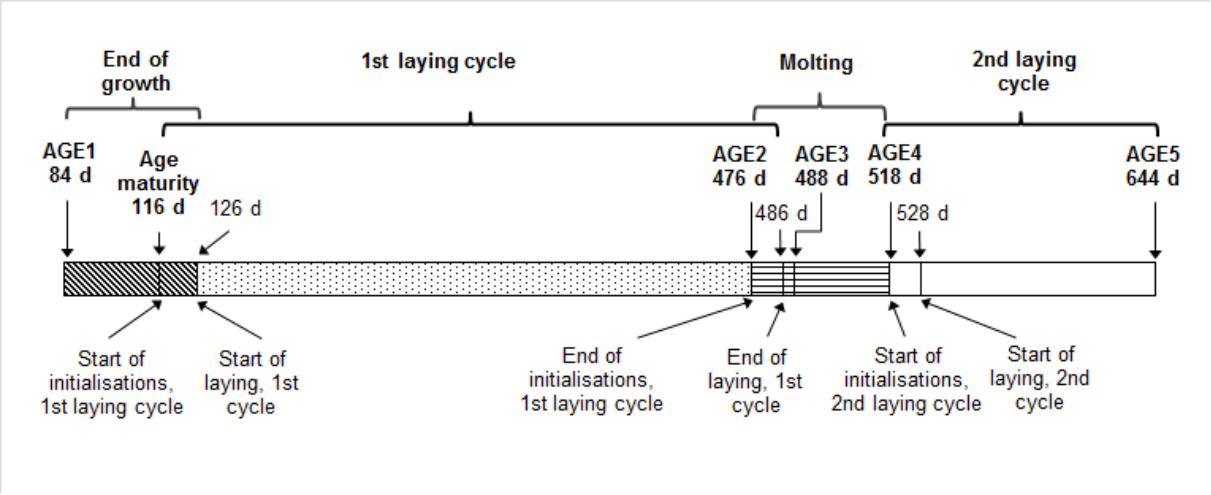


Fig. 2. Diagram of the physiological stages and ages represented in the model.

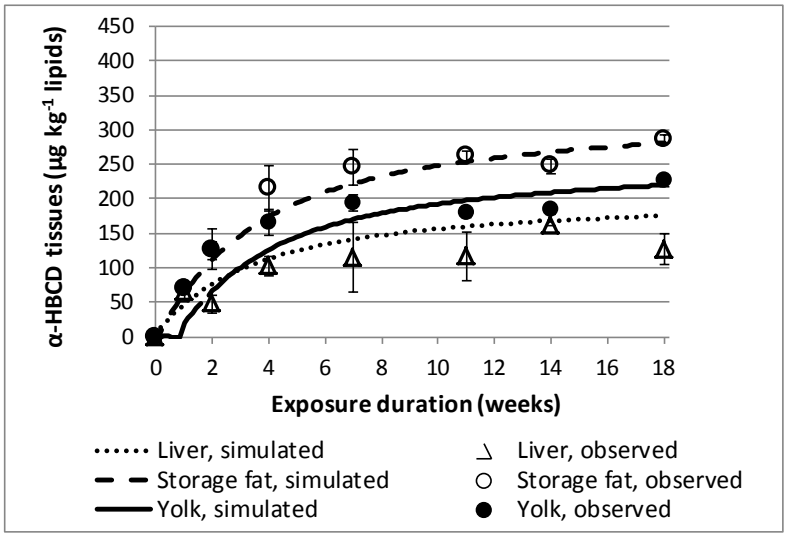
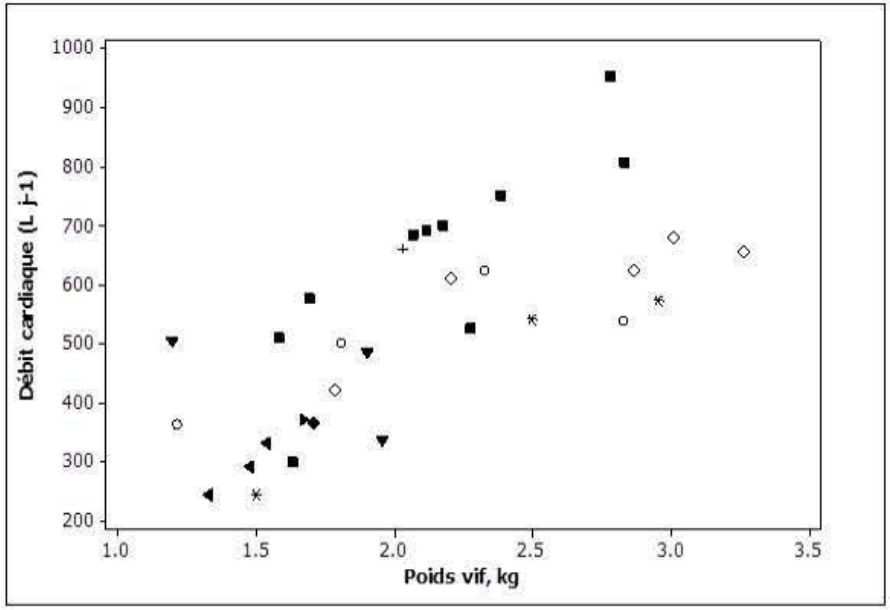
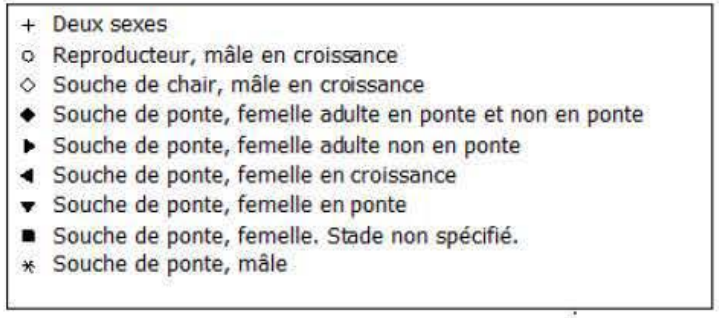


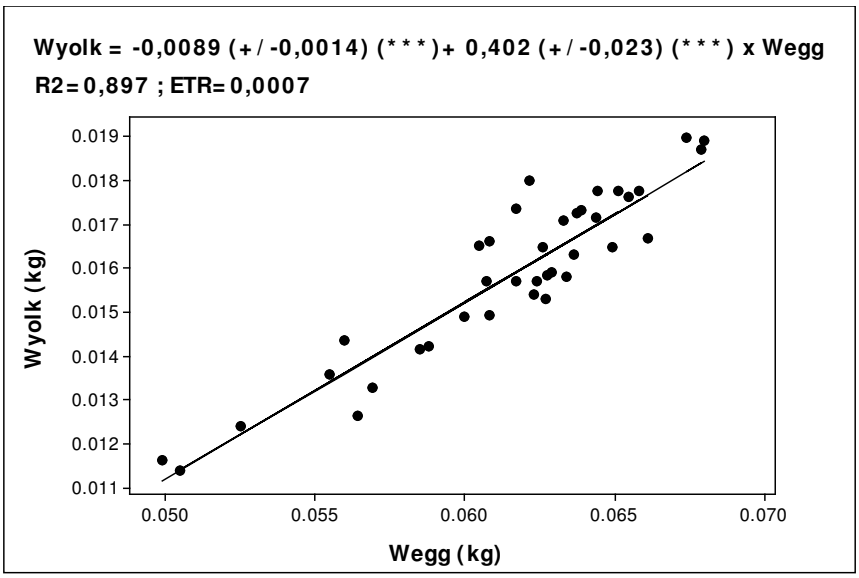
Fig. 3. Simulated and observed concentrations of α-HBCD in liver, storage fat and yolk following exposure to contaminated feed (40 µg kg^{-1}) for 18 weeks

Annexe 2 : représentation du débit cardiaque (L j^{-1}) en fonction du poids vif (kg), pour l'ensemble des données bibliographiques compilées. Différenciation des données par type de souche de volaille, sexe et stade physiologique.





Annexe 3 : représentation du poids du jaune à partir du poids de l'œuf



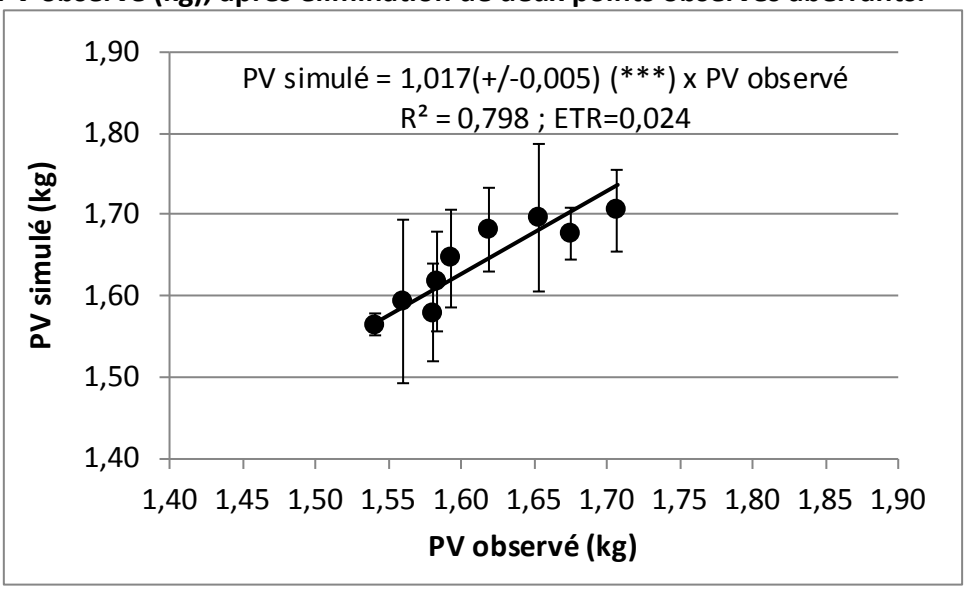
Annexe 4 : follicules initialisés (croix) en fonction du nombre total de follicules à initialiser en 10 jours ($N_{init10d}$)

$N_{init10d}$	Follic1 init	Follic2 init	Follic3 init	Follic4 init	Follic5 init	Follic6 init	Follic7 init	Follic8 init	Follic9 init	Follic10 init
1	X									
2	X				X					
3	X		X		X					
4	X		X		X		X			
5	X		X		X		X		X	
6	X		X	X	X		X		X	
7	X		X	X	X		X		X	X
8	X	X	X	X	X		X		X	X
9	X	X	X	X	X		X	X	X	X
10	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

Annexe 5 : comparaison par GLM des concentrations d'α-HBCD simulées par le modèle modifié vis-à-vis du modèle de base. Les deux modifications du modèle présentées consistent en une division du gras abdominal en deux compartiments à débit plasmatique différent

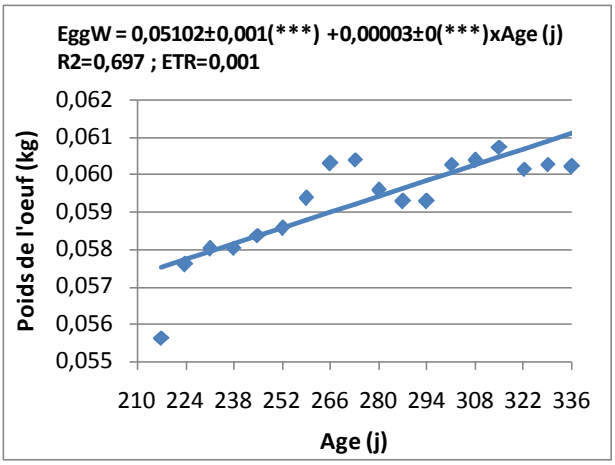
Matrice	Modification sur le modèle de base	Variable x	Unités	Ordonnée à l'origine	Pente	ETR	R^2	Normalité résidus	Moy résidus
Jaune d'œuf	Modif. 4.3.2.1.a	Modèle de base	µg kg^{-1} lipides	0,137 ± 0,129 (ns)	0,999 ± 0,001 (***)	0,229	1	non	0
	Modif. 4.3.2.1.b	Modèle de base	µg kg^{-1} lipides	0,777 ± 0,820 (ns)	0,993 ± 0,006 (***)	1,456	1	non	0
Foie	Modif. 4.3.2.1.a	Modèle de base	µg kg^{-1} lipides	0,187 ± 0,045 (***)	0,998 ± 0,000 (***)	0,236	1	non	0
	Modif. 4.3.2.1.b	Modèle de base	µg kg^{-1} lipides	0,972 ± 0,259 (***)	0,991 ± 0,002 (***)	1,37	1	non	0
Gras abdominal	Modif. 4.3.2.1.a	Modèle de base	µg kg^{-1} lipides	0,298 ± 0,236 (ns)	0,996 ± 0,001 (***)	1,25	1	non	0
	Modif. 4.3.2.1.b	Modèle de base	µg kg^{-1} lipides	2,84 ± 0,05 (*)	0,972 ± 0,008 (***)	7,51	0,99	non	0
Muscles des cuisses	Modif. 4.3.2.1.a	Modèle de base	µg kg^{-1} lipides	0,223 ± 0,051 (***)	0,998 ± 0,000 (***)	0,268	1	non	0
	Modif. 4.3.2.1.b	Modèle de base	µg kg^{-1} lipides	1,164 ± 0,295 (***)	0,991 ± 0,002 (***)	1,56	1	non	0
Plasma	Modif. 4.3.2.1.a	Modèle de base	µg kg^{-1} lipides	0,205 ± 0,047 (***)	0,998 ± 0,000 (***)	0,246	1	non	0
	Modif. 4.3.2.1.b	Modèle de base	µg kg^{-1} lipides	1,069 ± 0,271 (***)	0,991 ± 0,002 (***)	1,434	1	non	0

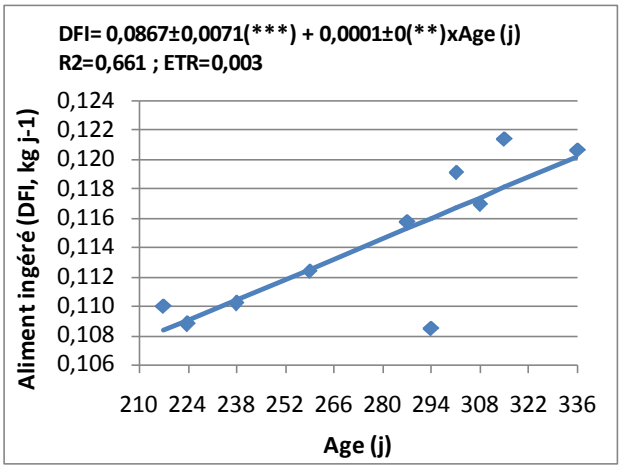
Annexe 6 : représentation de la relation entre le PV simulé (kg) après introduction des données physiologiques expérimentales dans le sous-modèle physiologique vis-à-vis du PV observé (kg), après élimination de deux points observés aberrants.



Annexe 7 : représentation du poids de l'œuf (EggW, kg) et de l'aliment ingéré (DFI, kg j^{-1}) en fonction de l'âge (j).

Ces équations ont été obtenues lors de l'introduction des données expérimentales dans le sous-modèle physiologique, préalable à l'ajustement. Les losanges représentent les valeurs expérimentales. Les tracées sont les valeurs fixées dans le modèle grâce aux équations indiquées en haut des graphiques





Modélisation du devenir de l'hexabromocyclododécane (HBCD) chez la poule pondeuse : influence des caractéristiques physiologiques

L'hexabromocyclododécane (HBCD) est un retardateur de flamme bromé qui a été utilisé notamment comme additif dans des polystyrènes (PS). En 2013, l'HBCD a été inclus à l'annexe A de la Convention de Stockholm comme Polluant Organique Persistant. Les denrées alimentaires d'origine animale (DAOA) constituent la source principale d'exposition de la population générale à ce polluant. Selon l'Autorité Européenne de Sécurité des Aliments (EFSA, 2011), le niveau moyen d'exposition chez l'adulte est de 0,09-0,99 ng kg^{-1} PV j^{-1} et ne représente pas un risque majeur pour la sécurité sanitaire des aliments et la santé du consommateur. Des concentrations moyennes proches d'un ng g^{-1} lipides sont rapportées normalement dans les DAOA. Toutefois, des concentrations maximales supérieures à 2000 ng g^{-1} lipides dans des échantillons de certaines DAOA dont des œufs ont été rapportées. Plusieurs sources potentielles d'exposition orale des volailles à ce polluant existent dont le sol, des plantes et accessoirement des aliments contaminés. L'ingestion de fragments de matériaux contaminés auxquels les animaux pourraient avoir accès dans certains élevages a été suggérée. L'α-HBCD est l'isomère majoritaire dans des PS prélevés dans des bâtiments d'élevage et dans les DAOA. Ainsi, les poules pondeuses pourraient être exposées majoritairement à l'α-HBCD. Toutefois, la synthèse bibliographique met en évidence l'absence d'informations sur le devenir de l'α-HBCD chez la poule pondeuse. La réalisation d'une expérimentation *in vivo* a permis d'estimer la plupart des paramètres cinétiques du devenir de l'α-HBCD ingéré chez la poule pondeuse. L'estimation du taux d'extraction de l'α-HBCD dans le foie a été réalisée grâce au développement d'un modèle pharmacocinétique basé sur la physiologie (PBPK) de transfert de l'α-HBCD chez la poule pondeuse. Ce modèle a été développé, calibré par des données de la littérature, une analyse de sensibilité a été réalisée et plusieurs paramètres ont été ajustés sur des résultats *in vivo*. Une validation du modèle a été testée. Ce modèle a permis de déterminer l'influence des caractéristiques physiologiques de l'animal sur le devenir de l'α-HBCD chez la poule pondeuse notamment pendant la ponte et la mue. Parmi les caractéristiques physiologiques considérées propres à différentes souches de poules pondeuses, le poids vif (PV) est celle qui influence le plus la concentration d'α-HBCD dans les tissus et les œufs chez la poule exposée. Un PV bas prédispose à une concentration plus élevée dans ces matrices. Des performances de ponte élevées diminuent la concentration de la molécule dans les différentes matrices. La mue produit une augmentation considérable de la charge corporelle de la molécule chez des poules exposées. Ce modèle peut être extrapolé à d'autres animaux et molécules lipophiles après modification de certains paramètres.

Mots clés : ***Sécurité Sanitaire des Aliments, HBCD, modèle PBPK, poule pondeuse, caractéristiques physiologiques.***

Modelling the hexabromocyclododecane (HBCD) transfer kinetics in the laying hen: impact of the physiological features

Hexabromocyclododecane (HBCD) is a brominated flame retardant mainly used as an additive in polystyrene (PS). In 2013, HBCD was included in the annex A of the Stockholm Convention as a Persistent Organic Pollutant. The foodstuffs of animal origin are the main source of exposure of the general population to this pollutant. According to EFSA (2011), the mean exposure level of the adult to HBCD is 0.09-0.99 ng kg^{-1} BW d^{-1} and doesn't represent a major risk to the food safety and the consumer's health. Mean concentrations close to 1 ng g^{-1} lipids are generally reported in the foodstuffs of animal origin. Nevertheless, maximal concentrations higher than 2000 ng g^{-1} lipids have been reported in some food samples including eggs. Several potential sources of oral exposure of the hens to this pollutant include the contaminated soil and plants and additionally contaminated feed. The ingestion of contaminated material fragments accessible in some breeding buildings by the hens has also been suggested. Generally, the α-HBCD is the predominant isomer in the PS sampled in the buildings of breeding systems and in the foodstuffs of animal origin. The hens could be exposed mainly to this isomer. However, the bibliographic synthesis highlights the absence of information about the α-HBCD kinetics in the laying hen. The realization of an *in vivo* experience has allowed the estimation of the majority of the α-HBCD kinetic parameters in the laying hen. The development of a physiologically based pharmacokinetic (PBPK) model has made it possible to estimate the extraction rate of the α-HBCD in the hen's liver. This model has been developed, calibrated by literature data, a sensitivity analysis has been developed on each parameter and some parameters have been adjusted on the basis of experimental *in vivo* results. A validation of the model has been attempted. This model has allowed to determine the influence of the main physiological characteristics on the α-HBCD accumulation in tissues and transfer to eggs in the laying hen at several physiological stages, principally lay and molt. Among the physiological characteristics considered as specific to different laying hen strains, the body weight (BW) is the main feature influencing the α-HBCD kinetics. Thus if the hen is exposed to the α-HBCD, a low BW predisposes the hen to have higher concentrations of the molecule in all the matrices. A high laying performance diminishes the concentration of the molecule in these matrices. The molting stage raises the body charge of the molecule in exposed hens. This model can be extrapolated to other animals and lipophilic molecules after modification of some parameters.

Keywords : ***Food Safety, HBCD, PBPK model, laying hen, physiological features.***