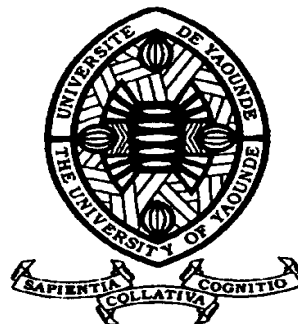


REPUBLIQUE DU CAMEROUN

Paix - Travail - Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE



REPUBLIC OF CAMEROUN

Peace - Work - Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I
FACULTY OF SCIENCE
DEPARTMENT OF
BIOCHEMISTRY

CENTRE DE RECHERCHE ET DE
FORMATION DOCTORALE EN
SCIENCES DE
LA VIE, SANTE ET ENVIRONNEMENT
LABORATOIRE DE PHARMACOLOGIE
ET TOXICOLOGIE

CENTRE FOR RESEARCH AND
TRAINING
IN GRADUATE STUDIES IN LIFE,
HEALTH
AND ENVIRONMENTAL
SCIENCES
LABORATORY OF
PHARMACOLOGY AND
TOXICOLOGY

**Evaluation de l'exposition des populations
adultes de Yaoundé - Cameroun aux polluants
alimentaires et environnementaux : métaux
lourds, bisphénol A et mycotoxines**

Thèse présentée en vue de l'obtention du
Doctorat/Ph.D en Biochimie

Par : TCHANA NKOUATCHOUA ANGELE
Doctorat de 3ème Cycle Biochimie

Sous la direction de
Paul MOUNDIPA FEWOU
Professeur

Année Académique : 2017 - 2018



Evaluation de l'exposition des populations adultes de Yaoundé – Cameroun aux polluants alimentaires et environnementaux : métaux lourds, bisphénol A et mycotoxines

Thèse présentée et soutenue le **14 Décembre 2018** à l'Université de Yaoundé I

Par **TCHANA NKOUATCHOUA Angèle**

Devant le Jury suivant :

Président :	ETOA François-Xavier Professeur	Université de Yaoundé I
Rapporteur :	MOUNDIPA FEWOU Paul Professeur	Université de Yaoundé I
Membres :	NDJOUNKEU Robert Professeur	Université de Ngaoundéré
	MBACHAM FON Wilfred Professeur	Université de Yaoundé I
	MINKA Samuel Maître de Conférences	Université de Yaoundé I
	FOKOU Elie Maître de Conférences	Université de Yaoundé I

REPUBLIQUE DU CAMEROUN
Paix-Travail-Patrie

UNIVERSITE DE YAOUNDE I
FACULTE DES SCIENCES



REPUBLIC OF CAMEROON
Peace-Work-Fatherland

UNIVERSITY OF YAOUNDE I
FACULTY OF SCIENCE

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE
B.P. 812 Yaoundé, Cameroun

DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY
P.O.Box 812, Yaoundé, Cameroon

DECLARATION SUR L'HONNEUR

Je soussigné, **TCHANA NKOUATCHOUA ANGELE**, atteste que la présente thèse de Doctorat/Ph.D intitulée **«Evaluation de l'exposition des populations adultes de Yaoundé – Cameroun aux polluants alimentaires et environnementaux : métaux lourds, bisphénol A et mycotoxines»**, est le fruit de mes propres travaux de recherche effectués sous la direction du Professeur **MOUNDIPA FEWOU Paul**.

Cette thèse est authentique et n'a pas été présentée pour l'acquisition de tout diplôme que ce soit.

TCHANA N. N. Angèle

Yaoundé, le 14 Décembre 2018

LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS DE LA FACULTE DES SCIENCES

UNIVERSITE DE YAOUNDE I

ANNEE ACADEMIQUE 2018/2019

(Par Département et par Grade)

DATE D'ACTUALISATION : Janvier 2018

ADMINISTRATION

DOYEN : TCHOUANKEU Jean-Claude, Maître de Conférences

VICE-DOYEN / DPSAA : DONGO Etienne, Professeur

VICE-DOYEN / DSSE : AJEAGAH Gidéon AGHAINDOUM, Maître de Conférences

VICE-DOYEN / DRC : MBAZEMEVA'A Luc, Maître de Conférences

Chef Division Affaires Académiques, Scolarité et Recherche : ABOSSOLO Monique,
Maître de Conférences

Chef Division Administrative et Financière : NDOYE FOE Marie C. F., Maître de Conférences

1- DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE (BC) (40)

N°	NOMS ET PRENOMS	GRADE	OBSERVATIONS
1	BENG née NINTCHOM PENLAP V.	Professeur	En poste
2	FEKAM BOYOM Fabrice	Professeur	En poste
3	MBACHAM Wilfried	Professeur	En poste
4	MOUNDIPA FEWOU Paul	Professeur	Chef de Département
5	OBEN Julius ENYONG	Professeur	Vice-Doyen (DSSE)

6	ATOGHO Barbara Mma	Maître de Conférences	En poste
7	BELINGA née NDOYE FOE Marie C. Florentine	Maître de Conférences	Chef DAF / FS
8	BIGOGA DIAGA Jude	Maître de Conférences	En poste
9	BOUDJEKO Thaddée	Maître de Conférences	En poste
10	EFFA ONOMO Pierre	Maître de Conférences	En poste
11	FOKOU Elie	Maître de Conférences	En poste
12	KANSCI Germain	Maître de Conférences	En poste
13	NGONDI Judith Laure	Maître de Conférences	En poste
14	NGUEFACK Julienne	Maître de Conférences	En poste
15	NJAYOU Frédéric Nico	Maître de Conférences	En poste
16	WAKAM née NANA Louise	Maître de Conférences	En poste
17	ACHU Merci BIH	Chargé de Cours	En poste
18	AKINDEH MBUH NJI	Chargé de Cours	En poste
19	AZANTSA Boris	Chargé de Cours	En poste
20	BEBOY EDJENGUELE Sara Nathalie	Chargé de Cours	En poste
21	DAKOLE DABOY Charles	Chargé de Cours	En poste
22	DJOKAM TAMO Rosine	Chargé de Cours	En poste
23	DJUIDJE NGOUNOUE Marcelline	Chargé de Cours	En poste
24	DJUIKWO NKONGA Ruth Viviane	Chargé de Cours	En poste
25	DONGMO LEKAGNE Joseph Blaise	Chargé de Cours	En poste
26	EVEHE BEBANDOUE Marie –Solange	Chargé de Cours	<i>En disponibilité</i>
27	EWANE Cécile Anne	Chargé de Cours	En poste
28	FONKOUA Martin	Chargé de Cours	En poste
29	KOTUE TAPTUE Charles	Chargé de Cours	En poste
30	LUNGA Paul KEILAH	Chargé de Cours	En poste
31	MBONG ANGIE MOUGANDE Mary Ann	Chargé de Cours	En poste
32	MANANGA Marlyse Joséphine	Chargé de Cours	En poste
33	MOFOR née TEUGWA Clautilde	Chargé de Cours	<i>IA4/MINESUP</i>

34	Palmer MASUMBE NETONGO	Chargé de Cours	En poste
35	TCHANA KOUATCHOUA Angèle	Chargé de Cours	En poste
36	PECHANGO NSANGO Sylvain	Chargé de Cours	En poste
37	BEBBE FADIMATOU	Assistant	En poste
38	MBOUCHE FANMOE Marcelline Joëlle	Assistant	En poste
39	TIENTCHEU DJOKAM Léopold	Assistant	En poste

2- DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE ANIMALES (B.P.A.) (44)

1	BILONG BILONG Charles Félix	Professeur	Chef de Département
2	DIMO Théophile	Professeur	En Poste
3	FOMENA Abraham	Professeur	En Poste
4	KAMTCHOUING Pierre	Professeur	En poste
5	MIMPFOUNDI REMY	Professeur	En poste
6	NJAMEN Dieudonné	Professeur	En poste
7	NJIOKOU Flobert	Professeur	En Poste
8	NOLA Moïse	Professeur	En poste
9	TAN Paul Vernyuy	Professeur	En poste
10	TCHUEM TCHUENTE Louis	Professeur	<i>Coord. Progr. MINSANTE</i>
11	AJEAGAH Gidéon AGHAINDOUM	Maître de Conférences	<i>Chef Serv. /Diplomation FS</i>
12	DJIETO Lordon Champlain	Maître de Conférences	En poste
13	DZEUFIT DJOMENI Paul Désiré	Maître de Conférences	En poste
14	ESSOMBA née NTSAMA MBALLA	Maître de Conférences	<i>VDRC/Chef dépt FMSB</i>
15	FOTO MENBOHAN Samuel	Maître de Conférences	En poste
16	KAMGANG René	Maître de Conférences	<i>C.E. MINRESI</i>
17	KEKEUNOU Sévilor	Maître de Conférences	En poste
18	MEGNEKOU Rosette	Maître de Conférences	En poste
19	MONY NTONE Ruth	Maître de Conférences	En poste
20	ZEBAZE TOGOUET Serge Hubert	Maître de Conférences	En poste

20	ALENE Désirée Chantal	Chargé de Cours	<i>Chef Serv. /MINSUP</i>
21	ATSAMO Albert Donatien	Chargé de Cours	En poste
22	BELLET EDIMO Oscar Roger	Chargé de Cours	En poste
23	BILANDA Danielle Claude	Chargé de Cours	En poste
24	DJIOGUE Séfirin	Chargé de Cours	En poste
25	GOUNOUE KAMKUMO Raceline	Chargé de Cours	En poste
26	JATSA MEGAPTCHE Hermine	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
27	MAHOB Raymond Joseph	Chargé de Cours	En poste
28	MBENOUN MASSE Paul Serge	Chargé de Cours	En poste
29	MOUGANG NGAMENI Luciane	Chargé de Cours	En poste
30	LEKEUFACK FOLEFACK Guy Benoît	Chargé de Cours	En poste
31	NGOULATEU KENFACK Omer BEBE	Chargé de Cours	En poste
32	NGUEGUIM TSOFACK Florence	Chargé de Cours	En poste
33	NGUEMBOCK	Chargé de Cours	En poste
34	NJUA Clarisse YAFI	Chargé de Cours	En poste
35	TADU Zéphirin	Chargé de Cours	En poste
36	TOMBI Jeannette	Chargé de Cours	En poste
37	YEDE	Chargé de Cours	En poste
38	ETEME ENAMA Serge	Assistant	En poste
39	KANDEDA KAVAYE Antoine	Assistant	En poste
40	KOGA MANG'Dobara	Assistant	En poste
41	METCHI DONGFACK Mireille Flore	Assistant	En poste
40	NOAH E. O. Vivien	Assistant	En poste
41	MVEYO NDANKEU Yves Patrick	Assistant	En poste
3-DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET PHYSIOLOGIE VEGETALES (B. P. V.) (27)			
1	YOUMBI Emmanuel	Professeur	Chef de Département

2	AMBANG Zachée	Professeur	DAARS / UYII
3	MOSSEBO Dominique Claude	Professeur	En poste
4	BELL Joseph Martin	Maître de Conférences	En poste
5	DJOCGOUE Pierre François	Maître de Conférences	En poste
6	KENGNE NOUMSI Ives Magloire	Maître de Conférences	En poste
7	MBOLO Marie.	Maître de Conférences	<i>Coordo. Programme MINFOF</i>
8	NDONGO BEKOLO	Maître de Conférences	<i>CE / MINRESI</i>
9	ZAPFACK Louis	Maître de Conférences	En poste
10	ANGONI Hyacinthe	Chargé de Cours	En poste
11	BIYE Elvire Hortense	Chargé de Cours	En poste
12	MAHBOU SOMO TOUKAM Gabriel	Chargé de Cours	En poste
13	MALLA Armand William	Chargé de Cours	En poste
14	MBARGA BINDZI Marie Alain.	Chargé de Cours	<i>Inspecteur académ. N°1 MINESUP</i>
15	NGALLE Hermine BILLE	Chargé de Cours	En poste
16	NGODO MELINGUI Jean Baptiste	Chargé de Cours	En poste
17	NGONKEU MAGAPTCHE Eddy Léonard	Chargé de Cours	En poste
18	NGOOU Lucas Vincent	Chargé de Cours	En poste
19	NSOM ZAMO Annie Claude ép. Pial	Chargé de Cours	<i>Expert national./UNESCO</i>
20	ONANA Jean Michel	Chargé de Cours	En poste
21	TONFACK Libert Brice	Chargé de Cours	En poste
22	TSOATA Esaïe	Chargé de Cours	En poste
23	DJEUANI Astride Carole	Assistant	En poste
24	GONMADGE Christelle	Assistant	En poste
25	MAFFO MAFFO Nicole Liliane	Assistant	En poste
26	NNANGA MEBENGA Ruth Laure	Assistant	En poste
27	NOUKEU KOUAKAM Armelle	Assistant	En poste

4-DEPARTEMENT DE CHIMIE INORGANIQUE (C.I.) (35)

1	KETCHA MBADCAM Joseph	Professeur	Chef de Département
2	NDIFON Peter TEKE	Professeur	<i>CT MINRESI</i>
3	NGAMENI Emmanuel	Professeur	<i>Doyen/ UD</i>
4	GHOGOMU Paul MINGO	Professeur	<i>Directeur Cabinet PM</i>
5	LAMINSI Samuel	Professeur	En poste
6	MELO née CHINJE Uphie F.	Professeur	<i>Recteur/UN</i>
7	AGWARA ONDOH Moïse	Professeur	<i>Vice-Recteur/ Ubda</i>
8	NANSEU Charles Péguy	Professeur	En poste
9	NENWA Justin	Professeur	En poste
10	BABALE DJAM DOUDOU	Maître de Conférences	En poste
11	DJOUFAC WOUMFO Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
12	ELIMBI Antoine	Maître de Conférences	En poste
13	KONG SAKEO	Maître de Conférences	En poste
14	NDIKONTAR Maurice KOR	Maître de Conférences	<i>Vice-Doyen/Ubda</i>
15	NGOMO Horace MANGA	Maître de Conférences	<i>Recteur /UB</i>
16	YOUNANG Elie	Maître de Conférences	En poste
17	ACAYANKA Elie	Chargé de Cours	En poste
18	BELIBI BELIBI Placide Désiré	Chargé de Cours	En poste
19	CHEUMANI YONA Arnaud	Chargé de Cours	En poste
20	EMADACK Alphonse	Chargé de Cours	En poste
21	GWET Simon – Pierre	Chargé de Cours	En poste
22	KAMGANG YOUNBI Georges	Chargé de Cours	En poste
23	KEUMEGNE MBOUGUEM Jean Claude	Chargé de Cours	En poste
24	KENNE DEDZO Gustave	Chargé de Cours	. En poste

25	MBEY Jean Aimé	Chargé de Cours	En poste
26	NDI Julius NSAMI	Chargé de Cours	En poste
27	NDOSIRI Bridget NDOYE	Chargé de Cours	En poste
28	NJIOMOU Chantale épouse DJANGANG	Chargé de Cours	En poste
29	NJOYA Dayirou	Chargé de Cours	En poste
30	NYAMEN Linda Dyorisse	Chargé de Cours	En poste
31	PABOUDAM GBAMBIE Awaou	Chargé de Cours	En poste
32	TCHAKOUTE KOUAMO Hervé	Chargé de Cours	En poste
33	KOUOTOU DAOUDA	Assistant	En poste
34	MAKON Thomas Beauregar	Assistant	En poste
35	NCHIMI NONO Katia	Assistant	En poste

5-DEPARTEMENT DE CHIMIE ORGANIQUE (C.O.) (33)

1	DONGO Etienne	Professeur	Vice-Doyen/ DPSSA
2	GHOGOMU TIH ROBERT RALPH	Professeur	<i>Directeur I.B.A. Fouban</i>
3	MBAFOR Joseph	Professeur	En poste
4	NGADJUI TCHALEU B.	Professeur	<i>Chef de dépt FMBS</i>
5	NGOUELA Silvère Augustin	Professeur	<i>Chef de dépt. UDs</i>
6	NKENGFACK Augustin Ephraïm	Professeur	Chef de Département
7	NYASSE Barthélemy	Professeur	<i>Directeur /UN</i>
8	PEGNYEMB Dieudonné Emmanuel	Professeur	<i>Directeur au MINESUP</i>
9	WANDJI Jean	Professeur	En poste
10	Alex de Théodore ATCHADE	Maître de Conférences	<i>CD Rectorat/ UYI</i>
11	FOLEFOC Gabriel NGOSONG	Maître de Conférences	En poste
12	KEUMEDJIO Félix	Maître de Conférences	En poste
13	KOUAM Jacques	Maître de Conférences	En poste
14	MBAZOA née DJAMA Céline	Maître de Conférences	En poste

15	MKOUNGA Pierre	Maître de Conférences	En poste
16	NOUNGOUE TCHAMO Diderot	Maître de Conférences	En poste
17	TCHOUANKEU Jean-Claude	Maître de Conférences	<i>Vice-Recteur/UYII</i>
18	YANKEP Emmanuel	Maître de Conférences	En poste
19	TCHUENDEM KENMOGNE Marguerite	Maître de Conférences	En poste
20	TIH née NGO BILONG E. Anastasie	Maître de Conférences	En poste
21	AMBASSA Pantaleon	Chargé de Cours	En poste
22	EYONG Kenneth OBEN	Chargé de Cours	En poste
23	FOTSO WABO Ghislain	Chargé de Cours	En poste
24	KAMTO Eutrophe Ledoux	Chargé de Cours	En poste
25	NGO MBING Joséphine	Chargé de Cours	En poste
26	NGONO BIKOBO Dominique Serge	Chargé de Cours	En poste
27	NOTE LOUGBOT Olivier	Chargé de Cours	En poste
28	OUAHOUE WACHE Blandine Marlyse	Chargé de Cours	En poste
29	TABOPDA KUATE Turibio	Chargé de Cours	En poste
30	TAGATSING FOTSING Maurice	Chargé de Cours	En poste
31	ZONDEGOUNBA Ernestine	Chargé de Cours	En poste
32	NGINTEDO Dominique	Assistant	En poste
33	NGOMO Orléans	Assistant	En poste

6-DEPARTEMENT D'INFORMATIQUE (IN) (30)

1	TCHUENTE Maurice	Professeur	<i>PCA / UYII</i>
2	FOTSO Pauline Laure	Professeur	<i>Député à l'Assemblée Nationale</i>
3	FOUDA NDJODO Marcel	Professeur	<i>IGA-MINESUP/Chef Dpt ENS</i>
4	ATSA ETOUNDI Roger	Professeur	Chef de Département <i>Chef Division MINESUP</i>
5	NDOUNDAM René	Maître de Conférences	En poste
6	CHEDOM FOTSO Donatien	Chargé de Cours	En poste

7	DJAM Xaviera Youth KIMBI	Chargé de Cours	En poste
8	KOUOKAM KOUOKAM Etienne Appolin	Chargé de Cours	En poste
9	MELATAGIA YONTA Paulin	Chargé de Cours	En poste
10	MOTO MPONG Serge Alain	Chargé de Cours	En poste
11	TINDO Gilbert	Chargé de Cours	En poste
12	TSOPZE Norbert	Chargé de Cours	En poste
13	WAKU KOUAMOU Jules	Chargé de Cours	En poste
14	ABESSOLO ALO'O Gislain	Assistant	En poste
15	AMINOU Halilou	Assistant	En poste
16	BAYEM Jacques Narcisse	Assistant	En poste
17	DOMGA KOMGUEM Rodrigue	Assistant	En poste
18	EBELE Serge	Assistant	En poste
19	HAMZA Adamou	Assistant	En poste
20	KAMDEM KENGNE Christiane	Assistant	En poste
21	KAMGUEU Patrick Olivier	Assistant	En poste
22	JIOMEKONG AZANZI Fidel	Assistant	En poste
23	MAKEMBE S. Fritz Oswald	Assistant	En poste
24	MEYEMDOU Nadège Sylvianne	Assistant	En poste
25	MONTHE DJIADEU Valery Martial	Assistant	En poste
26	NKONDOCK MI BAHANACK Nicolas	Assistant	En poste
27	OLE OLE David Claude	Assistant	En poste
28	TAPAMO KENFACK Hyppolite	Assistant	En poste

7-DEPARTEMENT DE MATHEMATIQUES (MA) (33)

1	BEKOLLE David	Professeur	<i>Vice-Recteur UN</i>
2	BITJONG NDOMBOL	Professeur	En poste
3	DOSSA COSSY Marcel	Professeur	En poste
4	AYISSI Raoult Domingo	Maître de Conférences	Chef de Département

5	EMVUDU WONO Yves S.	Maître de Conférences	Dir.MINESUP
6	NKUIMI JUGNIA Célestin	Maître de Conférences	En poste
7	NOUNDJEU Pierre	Maître de Conférences	En poste
8	AGHOUKENG JIOFACK Jean Gérard	Chargé de Cours	C.E. MINEPAT
9	BOGSO Antoine M	Chargé de Cours	En poste
10	CHENDJOU Gilbert	Chargé de Cours	En poste
11	DOUANLA YONTA Hermann	Chargé de Cours	En poste
12	FOMEKONG Christophe	Chargé de Cours	En poste
13	KIANPI Maurice	Chargé de Cours	En poste
14	KIKI Maxime Armand	Chargé de Cours	En poste
15	MBAKOP Guy Merlin	Chargé de Cours	En poste
16	MBANG Joseph	Chargé de Cours	En poste
17	MBEHOU Mohamed	Chargé de Cours	En poste
18	MBELE BEDIMA Martin	Chargé de Cours	En poste
19	MENGUE MENGUE David Joe	Chargé de Cours	En poste
20	NGUEFACK Bertrand	Chargé de Cours	En poste
21	NGUIMTSA Charles	Chargé de Cours	En poste
22	POLA DOUNDOU Emmanuel	Chargé de Cours	En poste
23	TAKAM SOH Patrice	Chargé de Cours	En poste
24	TCHANGANG Roger Duclos	Chargé de Cours	En poste
25	TCHOUNDJA Edgar Landry	Chargé de Cours	En poste
26	TIAYA TSAGUE N. Anne- Marie	Chargé de Cours	En poste
27	DJIADEU NGAHA Michel	Assistant	En poste
28	MBIAKOP Hilaire George	Assistant	En poste
29	NIMPA PEFOUKEU Romain	Assistant	En poste
30	TANG AHANDA Barnabé	Assistant	<i>Chef Serv. MINPLAMAT</i>
31	TETSADJIO TCHILEPECK Mesmin Erick	Assistant	En poste

8-DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE (MB) (13)

1	ETOA François-Xavier	Professeur	Recteur UD/ Chef de Département
2	BOYOMO ONANA	Maître de Conférences	
3	ESSIA NGANG Jean Justin	Maître de Conférences	<i>Chef de Division recherche IMPM</i>
4	NYEGUE Maximilienne Ascension	Maître de Conférences	En poste
5	NWAGA Dieudonné M.	Maître de Conférences	En poste
6	RIWOM Sara Honorine	Maître de Conférences	En poste
7	SADO KAMDEM Sylvain Leroy	Maître de Conférences	En poste
8	BODA Maurice	Chargé de Cours	En poste
9	ESSONO OBOUGOU Germain Gabriel	Chargé de Cours	En poste
10	BOUGNOM Blaise Pascal	Chargé de Cours	En poste
11	NJIKI BIKOÏ Jacky	Chargé de Cours	En poste
12	TCHIKOUA Roger	Chargé de Cours	En poste

9-DEPARTEMENT DE PHYSIQUE (PH) (41)

1	ESSIMBI ZOBO Bernard	Professeur	En poste
2	KOFANE Timoléon Crépin	Professeur	En poste
3	NJOMO Donatien	Professeur	En poste
4	TABOD Charles TABOD	Professeur	<i>Doyen/Ubda</i>
5	WOAFO Paul	Professeur	En poste
6	NDJAKA Jean Marie Bienvenu	Professeur	Chef de Département
7	PEMHA Elkana	Professeur	En poste
8	TCHAWOUA Clément	Professeur	En poste
9	BIYA MOTTO Frédéric	Maître de Conférences	<i>Dir.Gén. B. MEKIM</i>
10	BEN- BOLIE Germain Hubert	Maître de Conférences	En poste

11	DJUIDJE KENMOE Gemaine épouse ALOYEM KAZE	Maître de Conférences	En poste
12	EKOBENA FOU DA Henri Paul	Maître de Conférences	<i>Chef Dépt UN</i>
13	EYEBE FOU DA Jean Sire	Maître de Conférences	En poste
14	FEWO Serge Ibraïd	Maître de Conférences	En poste
15	MBANE BIOUELE	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
16	NANA NBENDJO Blaise	Maître de Conférences	En poste
17	NJANDJOCK NOUCK Philippe	Maître de Conférences	<i>Chef Serv. MINRESI</i>
18	NOUAYOU Robert	Maître de Conférences	En poste
19	OUMAROU BOUBA	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
20	SAIDOU	Maître de Conférences	<i>En poste</i>
21	SIEWE SIEWE Martin	Maître de Conférences	En poste
22	ZEKENG Serge Sylvain	Maître de Conférences	En poste
23	ABDOURAHIMI	Chargé de Cours	En Poste
24	BODO Bernard	Chargé de Cours	En poste
25	ENYEGUE A NYAM Françoise épouse BELINGA	Chargé de Cours	En poste
26	EDONGUE HERVAIS	Chargé de Cours	En poste
27	FOUEDJIO David	Chargé de Cours	<i>Chef Cellule MINADER</i>
28	HONA Jacques	Chargé de Cours	En poste
29	MBINACK Clément	Chargé de Cours	En Poste
30	MBONO SAMBA Yves Christian U.	Chargé de Cours	En poste
31	NDOP Joseph	Chargé de Cours	En poste
32	OBOUNOU Marcel	Chargé de Cours	<i>Dir.acad/Univ.Int.Etat Cam-Congo</i>
33	SIMO Elie	Chargé de Cours	En poste
34	TABI Conrad Bertrand	Chargé de Cours	En poste
35	TCHOFFO Fidèle	Chargé de Cours	En poste
36	VONDOU DERBETINI Appolinaire	Chargé de Cours	En Poste
37	WAKATA née BEYA Annie	Chargé de Cours	<i>Chef Serv. MINESUP</i>

39	WOULACHE Rosalie Laure	Chargé de Cours	En poste
40	CHAMANI Roméo	Assistant	En Poste
41	MELI'I Jorelle Larissa	Assistant	En Poste
42	MVOGO Alain	Assistant	En Poste
10- DEPARTEMENT DE SCIENCES DE LA TERRE (S.T.) (44)			
1	NDJIGUI Paul-Désiré	Professeur	Chef de Department
2	NZENTI Jean-Paul	Professeur	En poste
3	BITOM Dieudonné Lucien	Professeur	Doyen FASA/ U D
4	FOUATEU Rose épouse YONGUE	Maître de Conférences	En poste
5	KAMGANG Pierre	Maître de Conférences	En poste
6	MEDJO EKO Robert	Maître de Conférences	Conseiller Technique/UYII
7	MOUNDI Amidou	Maître de Conférences	<i>CT/MINMIDT</i>
8	NDAM NGOUPAYOU Jules-Remy	Maître de Conférences	En poste
9	NGOS III Simon	Maître de Conférences	<i>D.A.A.C./UM</i>
10	NJILAH Isaac KONFOR	Maître de Conférences	En poste
11	NKOUMBOU Charles	Maître de Conférences	En poste
12	TEMDJIM Robert	Maître de Conférences	En poste
13	YENE ATANGANA Joseph Q.	Maître de Conférences	<i>Chef de Divi/ MINTP</i>
14	ABOSSOLO née ANGUE Monique	Maître de Conférences	Chef DAASR FS/UYI
15	BEKOA Etienne	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
16	BISSO Dieudonné	Chargé de Cours	<i>Dir.Projet Barage Memve'ele</i>
17	EKOMANE Emile	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
18	ESSONO Jean	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
19	EYONG John TAKEM	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
20	FUH Calistus Gentry	Chargé de Cours	<i>SG D'ETAT /MINMIDT</i>
21	GANNO Sylvestre	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
22	GHOGOMU Richard TANWI	Chargé de Cours	<i>Chef de Dépt IMIP/Maroua</i>

23	LAMILEN BILLA Daniel	Chargé de Cours	En poste
24	MBIDA YEM	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
25	MINYEM Dieudonné	Chargé de Cours	<i>Chef de Dépt IMIP/Maroua</i>
26	MOUAFO Lucas	Chargé de Cours	En poste
27	NGO BELNOUN Rose Noël	Chargé de Cours	En poste
28	NGO BIDJECK Louise Marie	Chargé de Cours	En poste
29	NGUEUTCHOUA Gabriel	Chargé de Cours	CEA MINRESI
30	NJOM Bernard de Lattre	Chargé de Cours	En poste
31	NYECK Bruno	Chargé de Cours	En poste
32	ONANA Vincent	Chargé de Cours	En poste
33	TCHAKOUNTE Jacqueline ép. NUMBEM	Chargé de cours	<i>CEA MINRESI</i>
34	TCHOUANKOUE Jean-Pierre	Chargé de Cours	En poste
35	ZO'O ZAME Philémon	Chargé de Cours	<i>DG ART</i>
36	TEMGA Jean Pierre	Chargé de Cours	<i>En poste</i>
37	ANABA ONANA Achille Basile	Assistant	<i>En Poste</i>
38	BINELI BETSI Thierry Olivier	Assistant	<i>En Poste</i>
39	METANG Victor	Assistant	<i>En poste</i>
40	NOMO NEGUE Emmanuel	Assistant	En poste
41	SABABA Elisé	Assistant	En Poste
42	TCHAPTCHET TCHATO De Pesquidoux I	Assistant	En poste
43	TEHNA Nathanaël	Assistant	En poste

**Répartition chiffrée des enseignants permanents par Département
(Octobre 2017)**

Département	Nombre d'enseignants				
	Pr	MC	CC	ASS	Total
BCH	5 (1)	12 (5)	21 (11)	3 (2)	39 (19)
BPA	10 (0)	9 (1)	14 (6)	11 (4)	44 (11)
BPV	1 (0)	7 (0)	12 (3)	7 (6)	27 (9)
C.I.	6 (1)	8 (0)	15(3)	6 (2)	35 (6)
C.O.	9 (0)	11 (3)	11 (3)	2 (0)	33 (6)
INF	3 (1)	2 (0)	7 (0)	18 (4)	30 (5)
MAT	3 (0)	6 (0)	17 (1)	7 (0)	33 (1)
MIB	1 (0)	6 (2)	6 (2)	0	12 (3)
PHY	8 (0)	10 (1)	19 (2)	4(2)	41 (4)
STU	4 (0)	10 (1)	20 (4)	10 (0)	44 (5)
Total	50 (3)	74 (11)	145 (36)	74 (21)	341(71)

Soit un total de :

- Professeurs
- Maîtres de Conférences
- Chargés de Cours
- Assistants
- () = Nombre de femmes.

339 (70) dont

- 50 (3)
- 73 (11)
- 144 (35)
- 74 (21)

Le Doyen de la Faculté des Sciences

SOMMAIRE

LISTE DES ENSEIGNANTS PERMANENTS DE LA FACULTE DES SCIENCES	i
DEDICACE	xiv
REMERCIEMENTS	xv
LISTE DES ABREVIATIONS	xvi
LISTE DES TABLEAUX	xviii
LISTE DES FIGURES	xx
RESUME	xxii
ABSTRACT	xxiii
INTRODUCTION GENERALE	1
Contexte de l'étude	1
Objectif général du travail	3
Objectifs spécifiques	4
CHAPITRE I : REVUE DE LA LITTERATURE	
I.1- QUELQUES POLLUANTS ENVIRONNEMENTAUX	5
I.1.1- Les contaminants naturels de l'environnement : les mycotoxines	5
I.1.1.1- Généralités	5
I.1.1.2- Occurrence	5
I.1.1.3- Mycotoxinogenèse	7
a)- Biogenèse des mycotoxines	7
b)- Conditions de la mycotoxinogenèse	7
I.1.1.4- Occurrence et sources d'exposition des mycotoxines réglementées	8
a)- Les aflatoxines	8
i)- Structures et occurrence	8
ii)- Contaminations rencontrées et exposition alimentaire	9
b)- Les ochratoxines : structures, occurrence et sources d'exposition	11
c)- La zéaralenone : structure, occurrence et sources d'exposition	12
d)- Les trichothécènes : structures, occurrence et sources d'exposition	13
e)- Les fumonisines : structures, occurrence et sources d'exposition	14
f)- La patuline	15
I.1.2- Les contaminants naturels chimiques de l'environnement : les métaux lourds	15
I.1.2.1- Origine et domaines d'utilisation	15
I.1.2.2- Sources d'exposition et contaminations alimentaires	16
I.1.3- Contaminant chimique industriel de l'environnement : le Bisphénol A	17
I.1.3.1- Origine et applications du BPA	17
I.1.3.2- Sources d'exposition au BPA	18
I.2- DEVENIR DES MYCOTOXINES, METAUX LOURDS ET DU BISPHEENOL A DANS L'ORGANISME	
.....	20
I.2.1- Voies d'exposition humaine aux polluants environnementaux	20
I.2.2- Généralités sur le métabolisme	21
I.2.3- Biotransformation des mycotoxines réglementées	22
I.2.3.1- Métabolisme de l'aflatoxine B ₁	22
I.2.3.2- Métabolisme de l'ochratoxine A	24

I.2.3.3- Métabolisme de la zéaralénone	25
I.2.3.4- Métabolisme de la déoxynivalénol	25
I.2.3.5- Métabolisme de la fumonisine B ₁	25
I.2.3.6- Métabolisme de la patuline	26
I.2.3.7- Effets biologiques des mycotoxines dans l'organisme	26
I.2.4- Données toxicologiques de quelques métaux lourds	28
I.2.4.1- Devenir de quelques métaux lourds dans l'organisme	28
a)- Plomb	28
b)- Cadmium	28
c)- Mercure	29
d)- Cuivre	30
e)- Zinc	30
I.2.4.2- Mécanisme d'action des métaux lourds et effets biologiques	31
I.2.5- Métabolisme et modes d'action du BPA	33
I.2.5.1- Métabolisme du BPA	33
I.2.5.2- Mécanisme d'action du BPA	34
I.2.5.3- Quelques effets biologiques du BPA chez l'homme	35
I.3- Polluants environnementaux et maladies non transmissibles	35
I.3.1- Prévalence de quelques maladies non transmissibles d'intérêt au Cameroun	35
I.3.2- Mécanismes communs aux polluants environnementaux et maladies chroniques	36
I.4- ANALYSE DU RISQUE	39
1.4- Evaluation du risque alimentaire.....	39
a)- Identification des dangers et évaluation de l'exposition.....	39
b)- Caractérisation des dangers	40
c)- Caractérisation du risque	40
CHAPITRE II- MATERIEL ET METHODES	
II.1- MATERIEL	42
II.1.1- Matériel biologique	42
II.1.2- Réactifs et matériel de laboratoire	42
II.2- METHODES.....	42
II.2.1- Cadre de l'étude	42
II.2.2- Enquête épidémiologique	43
a)- Populations cibles.....	43
b)- Aspect déontologique et considération éthique.....	44
c)- Structure de l'entretien et centres d'intérêt.....	44
d)- Collecte d'informations.....	44
II.2.3- Evaluation de la contamination des aliments consommés	45
a)- Choix des aliments et échantillonnage.....	45
b)- Traitement des échantillons.....	45
II.2.3.1- Analyse des métaux lourds alimentaires.....	46
a)- Minéralisation des échantillons	46

b)- Dosage des métaux lourds : plomb, cadmium, mercure, cuivre et zinc	47
c)- Détermination de la teneur en métaux lourds des échantillons	47
II.2.3.2- Analyse du bisphénol A alimentaire	48
a)- Extraction du BPA dans les échantillons	48
b)- Détermination de la teneur en BPA des échantillons	49
II.2.3.3- Estimation de l'exposition des populations aux métaux lourds et BPA.....	51
a)- Estimation de l'apport journalier	51
b)- Estimation de la dose d'exposition journalière	51
II.2.3.4- Caractérisation des risques sanitaires	52
a)- Indice de risque sanitaire (IR)	52
b)- Marge d'exposition (MoE)	52
II.2.4- Recherche des biomarqueurs d'exposition dans le sang et les urines.....	53
II.2.4.1- Prélèvement et traitement du sang et des urines.....	53
II.2.4.2- Analyse du bisphénol A.....	
a)- Extraction du BPA plasmatique.....	53
b)- Extraction du BPA urinaire.....	54
c)- Dosage du BPA dans le plasma et les urines.....	54
i)- Dosage de la créatinine urinaire.....	54
ii)- Dosage du BPA dans le plasma et les urines.....	55
d)- Estimation de la consommation journalière prédite de BPA (DEJp).....	56
II.2.4.3- Recherche des biomarqueurs de mycotoxines et des métaux lourds	56
a)- Analyse des mycotoxine urinaires.....	56
i)- Extraction des mycotoxines dans les échantillons d'urine	57
ii)- Dosage des mycotoxines dans les urines par UHPLC-ESI-MS/MS	57
iii) Détermination quantitative des mycotoxines	58
iv)- Estimation de la dose d'exposition journalière des mycotoxines	59
b)- Analyse des métaux lourds dans les urines.....	59
i)- Digestion des échantillons d'urine	60
ii)- Dosage des métaux par ICP-MS	60
II.2.5- Analyses statistiques des données	60
CHAPITRE III- RESULTATS ET DISCUSSION	
III.1. RESULTATS	62
III.1.1- Evaluation de l'exposition alimentaire aux métaux lourds et BPA	62
III.1.1.1- Caractéristiques de la population d'étude	62
III.1.1.2- Teneurs en métaux lourds et BPA des aliments	63
III.1.1.3- Teneurs en métaux lourds et BPA des aliments en fonction du conditionnement...	66
III.1.1.4- Estimation du niveau d'exposition aux métaux lourds et BPA	67
a)- Estimation des apports journaliers des métaux lourds et BPA	67
b)- Niveaux d'exposition des participants aux métaux lourds et BPA	68
c)- Exposition globale et risques sanitaires dans la population d'étude	76
III.1.2- Evaluation du bisphénol A dans le sang et les urines.....	77

III.1.2.1- Caractéristiques de la population d'étude	77
III.1.2.2- Concentrations de BPA dans le plasma et les urines	78
III.1.2.3- Détermination de la dose d'exposition prédite de BPA (DEJp)	79
III.1.3- Biomarqueurs de mycotoxines et des métaux lourds dans les urines.....	81
III.1.3.1- Caractéristiques de la population d'étude	81
III.1.3.2- Biomarqueurs d'exposition aux mycotoxines	82
a)- Profil et concentration des biomarqueurs de mycotoxines	82
b)- Moyenne des mycotoxines détectées par individu et par groupe	83
c)- Concentrations des biomarqueurs de mycotoxines chez les participants	84
d)- Estimation de la consommation journalière des mycotoxines réglementées	86
III.1.3.3- Evaluation des métaux lourds dans les urines	88
a)- Profil de contamination des urines des participants	88
b)- Concentrations moyennes des métaux dans les différents groupes	88
c)- Concentrations des métaux lourds par rapport sexe.....	89
d)- Teneurs des métaux lourds en fonction du statut d'obésité et de surpoids	91
e)- Quelques multi-expositions aux mycotoxines et métaux toxiques rencontrées	93
III.2- DISCUSSIONS	94
III.2.1- Evaluation de la contamination des aliments par les métaux lourds et BPA	94
III.2.2- Evaluation du BPA chez les sujets sains, diabétiques et hypertendus	97
III.2.3- Biomarqueurs de mycotoxines et des métaux lourds chez les sujets sains et hypertendus.....	100
a)- Profil et concentrations des biomarqueurs de mycotoxines dans les urines.....	100
b)- Profil et concentrations des métaux lourds dans les urines.....	103
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	
Conclusion générale	105
Perspectives	106
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	107
ANNEXES	
ANNEXE 1 : Matériel de laboratoire et réactifs	A
ANNEXE 2 : Clairance éthique	B
ANNEXE 3 : Fiche d'enquête	C
ANNEXE 4 : Notice d'information et consentement éclairé	D
ANNEXE 5 : Composition des aliments collectés	E
ANNEXE 6 : Courbes d'étalonnage des contaminants alimentaires	F

DEDICACE

A DIEU Tout Puissant

A mon défunt papa NKOUATCHOUA Isaac

A ma défunte maman TCHANA Emilienne

A mes Frères et Sœurs

A mes neveux

A la Famille Mougoué

A la Famille Medou Djemba

A maman Ngantchou Françoise

A tous ceux qui partagent avec moi mes joies et mes peines

REMERCIEMENTS

Au Pr MOUNDIPA FEWOU Paul, Chef de Département de Biochimie et Chef de laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie de l'Université de Yaoundé I, pour l'encadrement, la disponibilité, la rigueur et l'intérêt qu'il a toujours porté à ma formation.

Au Ministère de l'Enseignement Supérieur, à l'Université de Yaoundé I qui m'abritent, pour avoir rendu ce travail possible par l'allocation des Fonds d'Appui à la Recherche.

Aux Directeur de l'IRAD-Yaoundé et Chef de Laboratoire d'Analyses des Plantes, des Eaux, des Engrais et des Sols (LAPEES) pour avoir facilité l'analyse des métaux lourds alimentaires.

A l'Université des Ressources Naturelles et des Sciences de la Vie de Vienne en Autriche - Centre de Chimie Analytique du Département d'Agro-Biotechnologie - Par l'entremise du **Dr ABIA Wilfried** qui a œuvré de tout pour rendre possible l'analyse des mycotoxines urinaires.

A l'Université d'Hokkaido au Japon - Laboratoire de Toxicologie du Département des Sciences Vétérinaires et de l'Environnement de l'Ecole de Médecine Vétérinaire pour l'analyse des métaux urinaires.

Aux Directeurs de l'Hôpital Central de Yaoundé et de la clinique « les Promoteurs de la Bonne Santé » à Yaoundé, à **tous les participants**, sans qui cette étude n'aurait pas été possible.

Merci, merci et



Pour vos conseils, vos multiples contributions

Pour vos critiques, vos suggestions

Pour votre soutien, votre attention

Pour votre sympathie

Je vous redis merci !

LISTE DES ABREVIATIONS

- A : *Aspergillus*
- ACGIH: *American Conference of Governmental Industrial Hygienists*
- ADN : Acide désoxyribonucléique
- AFB₁ : Aflatoxine B₁
- AFB₂ : Aflatoxine B₂
- AFB_{2a} : Aflatoxine B_{2a}
- AFG₁ : Aflatoxine G₁
- AFG₂ : Aflatoxine G₂
- AFM₁ : Aflatoxine M₁
- AFR₀ : Aflatoxicol
- AFSSA : Agence de Française de Sécurité Sanitaire
- ANSES : Agence Nationale de Sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'Environnement et du travail
- ARN : Acide ribonucléique
- As : Arsenic
- ATDSR : *Agency for Toxic Substances and Disease Registry - Atlanta*
- ATP : Adénosine triphosphate
- Aw : Activité de l'eau
- BPA: Bisphénol A
- BPA-G : Bisphénol A-glucuronide
- BPA-P : Bisphénol A plasmatique
- BPA-U : Bisphénol A urinaire
- Cd : Cadmium
- CE : Commission européenne

CIRC : Centre international de recherche sur le cancer

CIT : Citrinine

CSHPPF : Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France

Cu : Cuivre

CYP : Cytochrome P450

DEJ: Dose d'exposition journalière

DEJp: Dose d'exposition journalière prédite

DHC : Dihydrocitrinone

DOM-1 : Dé-époxy-déoxynivalénol

DON : Déoxynivalénol

EC: *European Commission*

EFSA: *European Food Safety Authority*

ELISA : *Enzyme-linked immunosorbent assay*

EPA: *Environmental Protection Agency*

ERO : Espèce Réactive de l'Oxygène

F : *Fusarium*

FAO : Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture

FAO/WHO: *Food and Agriculture Organization/World Health Organization*

FB₁ : Fumonisine B₁

HbsAg : Antigène du virus de l'hépatite B

Hg : Mercure

IAEA: *International Atomic Energy Agency*

IARC : Agence Internationale de Recherche sur le Cancer

INERIS : Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques

JECFA: *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*

LOD : Limite de détection

LOQ : Limite de quantification.

NIV : Nivalénol

OMS- IPCS: *World Health Organisation International Programme on chemical Safety*

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

OTA : Ochratoxine A

P : *Penicillium*

Pb : Plomb

ppb : Partie par billion

ppm : Partie par million

SCF : Comité Scientifique de l'Alimentation Humaine

US EPA: *United States Environmental Protection Agency*

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

ZEN : Zéaralénone

Zn : Zinc

α -ZOL : α -Zéaralénol

β -ZOL : β -Zéaralénol

LISTE DES TABLEAUX

	Page
Tableau 1 : Sources alimentaires des mycotoxines dans quelques pays en voie de développement	10
Tableau 2 : Domaines d'utilisation des métaux lourds	16
Tableau 3 : Mécanismes d'action et effets toxiques de quelques mycotoxines réglementées	27
Tableau 4 : Mécanisme d'action de quelques métaux lourds et leurs effets biologiques	32
Tableau 5 : Types d'échantillons collectés et leurs caractéristiques	46
Tableau 6 : Distribution des étalons et extraits d'échantillons dans la microplaque .	48
Tableau 7 : Caractéristiques générales de la population d'étude	62
Tableau 8 : Profil d'utilisation du matériel potentiellement à risque par la population d'étude	63
Tableau 9: Profil des concentrations des métaux lourds et BPA dans les lieux de restauration et groupes d'échantillons	66
Tableau 10: Teneurs en métaux lourds (ppm) et BPA (ppb) des aliments en fonction de l'emballage	67
Tableau 11: Apports journaliers moyens des métaux lourds (mg/j) et BPA ($\mu\text{g}/\text{j}$) par les différents groupes d'échantillons	68
Tableau 12: Exposition moyenne et des forts centiles de la population générale aux métaux lourds et BPA par rapport au sexe	69
Tableau 13: Contributions relatives de chaque groupe de produit à l'exposition des participants aux métaux lourds et BPA	72
Tableau 14: Doses d'exposition journalière moyenne et fort centile ($\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{j}$) de la population d'étude par rapport au statut professionnel	75
Tableau 15: Vue synoptique sur les apports journaliers moyens, les doses d'exposition aux métaux lourds et BPA et les risques sanitaires dans la population d'étude.....	76
Tableau 16: Répartition des participants en fonction du statut médical	77
Tableau 17: Concentrations de BPA plasmatique (BPA-P) et BPA urinaire (BPA-U) chez les sujets malades et sains	78
Tableau 18: Doses d'exposition moyennes prédites (DEJp) de BPA et concentrations plasmatiques prédites (BPA _{éq}) dans les groupes.....	80
Tableau 19: Répartition des participants en fonction du statut médical, des facteurs de risque et du sexe.....	81
Tableau 20: Caractéristiques de performance du système UHPLC-MS/MS: limites de détection de quantification.....	82
Tableau 21: Profil d'occurrence des biomarqueurs de mycotoxines et leurs concentrations moyennes et maximales dans la population d'étude.....	83
Tableau 22: Concentrations moyennes des biomarqueurs de mycotoxines en fonction du	

	statut médical.....	85
Tableau 23:	Niveaux moyens des expositions estimées aux mycotoxines réglementées dans la population d'étude.....	87
Tableau 24:	Profil de contamination des urines par les métaux lourds	88
Tableau 25:	Taux urinaires moyens des métaux par rapport au statut médical.....	89

LISTE DES FIGURES

	Page
Figure 1 : Distribution des mycotoxines dans le monde	6
Figure 2 : Structures des principales aflatoxines.....	9
Figure 3 : Structures des ochratoxines A, B et C	12
Figure 4 : Structure de la zéaralénone et de ses dérivés α et β hydroxylés.....	13
Figure 5 : Structure de la déoxynivalénol (DON)	14
Figure 6 : Structure générale des principales fumonisines	14
Figure 7 : Structure de la patuline.....	15
Figure 8 : Structures du Bisphénol A et de l'œstradiol	17
Figure 9 : Les applications du bisphénol A	18
Figure 10: Schéma conceptuel des applications et d'exposition au BPA	19
Figure 11: Schéma général de la biotransformation des xénobiotiques.....	22
Figure 12: Principales voies métaboliques de l'AFB ₁	23
Figure 13: Voies de biotransformation de l'OTA.....	24
Figure 14: Les voies métaboliques majeures du BPA chez l'homme	33
Figure 15: Formation de l'adduit à l'ADN du BPA.....	34
Figure 16: Effets biologiques cellulaires des espèces réactives de l'oxygène.....	37
Figure 17: Mécanisme d'action des polluants environnementaux sur l'épigénome...	38
Figure 18: Carte de Yaoundé présentant les zones d'enquête et de collecte des aliments	43
Figure 19: Principe de dosage de BPA par ELISA compétitif	49
Figure 20: Profil de contamination des échantillons issus des ménages et restaurants de rue.....	64
Figure 21: Profil de contamination des différents groupes d'échantillons.....	64
Figure 22: Pourcentage d'échantillons positifs ayant des teneurs en contaminants supérieures aux valeurs tolérées.....	65
Figure 23 : Distribution des expositions aux Pb, Cd, Hg, Cu, Zn et BPA par rapport au sexe	70
Figure 24: Contribution des aliments à l'exposition au plomb	73
Figure 25: Contribution des aliments à l'exposition au cadmium	73
Figure 26: Contribution des aliments à l'exposition au mercure	73
Figure 27: Contribution des aliments à l'exposition au cuivre	73
Figure 28: Contribution des aliments à l'exposition au zinc	74
Figure 29: Contribution des aliments à l'exposition au BPA.....	74
Figure 30: Nombre moyen de mycotoxines par individu en fonction du statut médical	

	83
Figure 31:	Nombre moyen de mycotoxines par individu en fonction de l'obésité	84
Figure 32:	Nombre moyen de mycotoxines par individu en fonction du sexe	84
Figure 33:	Taux moyen des mycotoxines en fonction du statut médical	86
Figure 34:	Concentrations urinaires d'As, Cd, Cu, Pb et total des métaux dans les groupes témoins et malades	90
Figure 35:	Concentrations urinaires d'As, Cd, Cu, Pb et total des métaux en fonction du sexe.....	91
Figure 36:	Concentrations urinaires d'As, Cd, Cu, Pb et total des métaux (mg/l) en fonction du statut d'obésité et surpoids	92

RESUME

Cette étude a évalué l'exposition des populations adultes (âge ≥ 21 ans) de Yaoundé-Cameroun aux polluants alimentaires et environnementaux ; métaux lourds, bisphénol A (BPA) et mycotoxines, en relation avec les maladies non transmissibles (diabète (DIA) et hypertension (HTA)). Les échantillons d'aliments, eaux et jus (150) provenant des ménages et restaurants de rue ont été analysés pour leur contenu en métaux lourds et BPA respectivement par spectrophotométrie d'absorption atomique et par la méthode immuno-enzymatique (ELISA). Le BPA libre et BPA total (libre et conjugué) ont été dosés respectivement dans les prélèvements sanguins et urinaires des sujets sains et malades par ELISA. Les biomarqueurs de mycotoxines et les métaux Cu, arsenic (As), Pb et Cd ont été évalués dans les urines des sujets sains et HTA respectivement par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (multi-analyte) et par spectrométrie de masse à plasma inductif (multi-élémentaire). Dans les aliments et boissons analysés, les métaux lourds suivants ont été présents : Pb dans 93% (0,019-1,77 ppm), Cu 91% (0,01-4,68 ppm), Zn 88% (0,014-2447,04 ppm), Hg 81% (0,03-10,56 ppm), Cd 70% (0,01-4,68 ppm). Le BPA a été détecté dans 99,23% d'échantillons (0,007-52 ppb). Le Pb, Cd, Hg et BPA ont été simultanément présents dans 52,7% d'échantillons. Les teneurs maximales en métaux lourds (de 8 à 105,8 fois) et BPA (de 86,66 fois) ont excédé les normes respectives fixées par la Commission Européenne et ont été retrouvées dans les aliments de rue emballés dans la matière plastique. Les apports journaliers moyens (AJM) les plus élevés en Pb (0,96 mg/j) et Hg (1,84 mg/j) ont été pourvus par l'eau de robinet, ceux du Cd (1,15 mg/j), Cu (5,42 mg/j), Zn (601,6 mg/j) et BPA (16633,34 μ g/j) par le riz/sauce arachide. Les niveaux d'exposition de la population d'étude aux métaux uniquement ont excédé (1,3 à 94 fois) ($p = 0,001$) les doses d'exposition journalière tolérables (PTDI). Les marges d'exposition (MoE) au Cd, Hg, BPA et celle de la multi-contamination (MoEt) (< 100) constitueraient un risque pour la santé à long terme. Pour l'estimation du BPA chez les sujets étudiés, la prévalence de BPA plasmatique (BPA-P) a été de 94,82% chez les sujets HTA et 100% chez les DIA, DIA/HTA et témoins. La quantité moyenne de BPA ingérée par jour (DEJp) estimée des taux de BPA urinaire, a été supérieure à la norme chez près de 4% des sujets HTA. Les concentrations plasmatiques prédites de BPA (BPA_{éq}) qui en ont résulté ont été largement inférieures à celles de BPA-P dosées et suggèrent plusieurs sources d'exposition des participants au BPA. Il n'y a aucun lien entre les teneurs en BPA-P et l'état sanitaire (DIA ou HTA) des participants. L'analyse de la contamination multiple en mycotoxines chez les sujets enquêtés montre que tous les échantillons d'urine contiennent au moins 2 biomarqueurs de mycotoxines. La zéaralénone (ZEN), la déoxynivalénol (DON), l'ochratoxines A (OTA) ont été plus fréquemment détectées ($>80\%$) suivies de l'aflatoxine M₁ (AFM₁) 42%, nivalénol (NIV) 36% et fumonisine B₁ (FB₁) 10%. Les sujets sains (54,63%) ont été autant contaminés que les HTA_N (53,05%), et moins que les HTA_A (65,78%). Les consommations alimentaires journalières des mycotoxines estimées, ont largement excédé (de 21 fois pour FB₁ à 743 fois pour DON) les limites permises. Par ailleurs, les sujets sains ont été autant imprégnés au Cu, As et Pb (100%) et moins au Cd (26%) que les HTA_A (36,84%) et HTA_N (46,4%). Les patients HTA_A excrètent plus de mycotoxines et métaux que les autres. Dix (10) contaminants potentiellement toxiques dont 6 mycotoxines réglementées (métabolites exclus, excepté l'AFM₁) ont été mis en évidence pour la première fois chez un même individu dont 2 au total: AFM₁, FB₁, DON, ZEN, OTA, NIV, CIT, As, Pb, Cd (HTA_N et contrôle) et une combinaison entre autres de 9 contaminants : les 7 mycotoxines, As et Pb chez 4 participants. Les résultats indiquent une exposition multiple des populations de Yaoundé aux métaux lourds, BPA et mycotoxines réglementées, quel que soit l'état de santé. Des mesures s'imposent pour la réduction de cette exposition eu égard à la recrudescence des maladies non transmissibles au Cameroun.

Mots clés: Exposition, métaux lourds, BPA, biomarqueurs de mycotoxines, diabète, hypertension, Cameroun.

ABSTRACT

This study assessed the exposure of adults people (age ≥ 21 years) in Yaoundé, Cameroon to food and environmental contaminants: heavy metals, bisphenol A (BPA), mycotoxins in relation with non communicable diseases (diabete (DIA), hypertension (HTA)). Table-ready food, water and soft drink samples (150) were collected from households and street restaurants and analyzed for heavy metals and BPA contents using respectively atomic absorption spectrophotometer and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Free BPA in plasma and total BPA (free and conjugated) in urine samples from healthy people and patients were measured using ELISA test. Mycotoxins biomarkers and heavy metals were assessed in urine samples from healthy people and patients respectively by a modern liquid chromatography - tandem mass spectrophotometer based on multi-biomarker approach and multi-elementary inductively coupled plasma mass spectrophotometer. Lead (93%, range 0.019-1.77 ppm), cadmium (Cd) (70%, range 0.01-4.68 ppm), mercury (Hg) (81%, range 0.03-10.56 ppm), copper (Cu) (90%, range 0.004-40.32 ppm), zinc (Zn) (87%, range 0.014-2,447.04 ppm), BPA (99.23%, 0.007-52 ppb) were detected in food samples and beverages analyzed. Lead, Cd, Hg and BPA were simultaneously present in 52.7% of samples. Maximum level of heavy metals exceeded (8 to 105.8 fold) and BPA (86.66 fold) their corresponding European Commission legislative limits. Samples from street restaurants and packed in plastic bags were most tainted. The highest average daily intakes (ADIs) of Pb (0.96 mg/day) and Hg (1.84 mg/day) were through tap water, while Cd (1.15 mg/day), Cu (5.42 mg/day) and Zn (601.6 mg/day), BPA (16633.34 $\mu\text{g/day}$) were through rice/peanut sauce mixed food. The estimated average daily exposure dose of each detected metal significantly ($p = 0.001$) exceeded from 1.3 to 94 fold its corresponding PTDI (provisional tolerable daily intake) excepted BPA. The margin of exposure (MoE) (< 100) to Cd, Hg, BPA and to multi-contamination (MoEt) indicate health risks associated with the ingestion of such contaminated foods, water and soft drinks. Concerning the assessment of BPA in studied subjects, the prevalence of plasmatic BPA (BPA-P) was 94.82% for HTA patients and 100% for DIA, DIA/HTA and healthy people. The amount of BPA ingested per day (DEJp), estimated from urinary BPA content was above the permissible limit in almost 4% of HTA subjects. The resulting predicted plasma levels of BPA (BPA $\acute{e}q$) were largely below the concentrations of free BPA in plasma (BPA-P), suggesting a multiple exposure sources of participants to BPA. No association was found between the BPA levels in plasma and the state of health (DIA, HTA). The analysis of multiple mycotoxin contamination in the subjects surveyed showed that all urine samples contain at least 2 biomarkers of mycotoxins. Zearalenone (ZEN), deoxynivalenol (DON), ochratoxin A (OTA) were frequently detected ($> 80\%$) followed by aflatoxin M₁ (AFM₁) 42%, nivalenol (NIV) 36% and fumonisin B₁ (FB₁) 10%. Healthy people (54.63%) were as contaminated as HTA_N patients (53.05%), and less than HTA_A patients (65.78%). The daily food consumption of estimated mycotoxins greatly exceeded (from 21 times for FB₁ to 743 times for DON) the guidelines. On the other hand, healthy people were as impregnated with Cu, arsenic (As) and Pb (100%) and less at Cd (26%) than patients with HTA_A (36.84%) and HTA_N (46.4%). HTA_A patient excretes most mycotoxins and metals. Ten (10) potentially toxic contaminants were identified cumulatively for the first time in the same individual, 2 in total: AFM₁, FB₁, DON, ZEN, OTA, NIV, CIT, As, Pb, Cd (1 HTA_N and 1 control) (metabolites excluded, excepted AFM₁) and a combination among others of 9 contaminants: AFM₁, FB₁, DON, ZEN, OTA, NIV, CIT, As, Pb in 4 participants (2 HTA_N and 2 controls). These results indicate a multiple exposure of people in Yaoundé to heavy metals, BPA and mycotoxins, regardless of health status. Action is needed to reduce this exposure with respect to the upsurge of non communicable diseases in Cameroon.

Key words: Exposure, heavy metals, BPA, mycotoxins biomarkers, diabete, hypertension, Cameroon.



INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Contexte de l'étude

Les Hommes, de façon permanente et inévitable sont exposés à divers contaminants naturels ou non (mycotoxines, métaux lourds), ou résultant de l'activité industrielle stricte (pesticides et bisphénols) pouvant entrer dans l'organisme par ingestion, inhalation ou par contact cutané. Ces composés sont omniprésents dans l'environnement, dûs à une contamination à différentes étapes de l'activité humaine : production, transformation, utilisation ou décharge, et sont potentiellement toxiques pour les organismes vivants (**Corrales et al., 2015**).

En effet, les mycotoxines sont des métabolites secondaires élaborées par des champignons microscopiques. Elles sont douées de propriétés hépatotoxique, cancérigène, néphrotoxique, immunosuppresseur ... (**CAST, 2003**). Elles sont produites en champ ou au cours du stockage dans les denrées telles que le maïs, le manioc, le haricot, les arachides qui sont parmi les principaux intrants alimentaires des populations Camerounaises (**Domngang et al, 1988 ; Essono et al, 2009 ; Abia et al., 2013a ; Ediage et al., 2014**) et sont également retrouvées dans les denrées d'origine animale (**Tchana et al., 2010 ; Chuisseu et al., 2018**). La FAO estime que près de 25% des denrées alimentaires mondiales sont contaminées par les mycotoxines entraînant une perte d'environ 10% de la production alimentaire (**Yiannikouris et Jouany, 2002**).

Le Bisphénol A (BPA) est l'un des composés chimiques les plus utilisés au monde dans l'industrie de la plasturgie pour fabriquer entre autres, les biberons, contenants alimentaires, téléphones portables, résines dentaires, révélateurs d'encre des papiers thermiques et pour le revêtement des boîtes de conserve et systèmes d'adduction d'eau potable (**Vanderberg et al., 2010**). Il a une activité œstrogène-mimétique, et interfère non seulement avec la fonction de reproduction, mais est également promoteur du diabète de type II (**Melzer et al., 2010 ; Manfo et al., 2014**). Il en est de même des métaux lourds toxiques tels que le plomb, cadmium, mercure, arsenic ... (largement utilisés dans la galvanoplastie, en métallurgie, la soudure et la tôlerie, la production des pesticides, des emballages plastiques...), des mycotoxines et des pesticides auxquels les hommes sont constamment exposés (**Biney et al., 1995 ; Manfo et al., 2014 ; Wild et Gong, 2014**). Ces groupes de composés sont susceptibles d'affecter la santé des hommes à travers la perturbation du système endocrinien, la modulation (induction/inhibition) des enzymes du métabolisme, la modification de l'ADN à travers leur métabolisme, le stress oxydatif ou des mécanismes épigénétiques. Conséquemment ils interfèrent avec la synthèse, la sécrétion, le transport, le métabolisme, la fixation, l'action ou l'élimination des hormones naturelles

responsables du maintien de l'homéostasie et de la régulation du développement de l'organisme (**De Coster et van Larebeke, 2012 ; Nalbone et al., 2013**). L'imprégnation sans cesse croissante des populations à ces composés a été corrélée à la recrudescence des maladies non transmissibles telles que le cancer, le diabète, l'obésité ; l'infertilité, les fausses couches et la puberté précoce chez le jeune fille (**Järup et Akesson, 2009 ; Vanderberg et al., 2010 ; De Coster et van Larebeke, 2012**).

Selon l'OMS, les maladies non transmissibles (MNT) sont responsables de 36 millions de décès dans le monde chaque année dont 80% imputables aux pays à revenu faible (**OMS, 2017**). Au Cameroun, elles sont responsables de 31% des décès et plus des trois quarts sont liés aux maladies cardiovasculaires, cancer, affections respiratoires chroniques et au diabète. La prévalence du diabète est passée de 1,5% à 10,6% entre 1990 et 2003 et celle de l'hypertension artérielle de 22,2% en 1994 à 38,4% en 2003 et 37% en 2008. La prévalence de l'obésité est passé de 9,8% en 2010 à 11,4 en 2014 et celle du surpoids de 31% en 2010 à 33,5% en 2014 dans la population générale (soit une population à risque de 40,8% et 44,9% respectivement en 2010 et 2014) (**OMS, 2014 ; 2016**).

A l'opposé des pays développés (France, Canada, Etats unis...), qui adoptent des mesures rigoureuses (législations et laboratoires de contrôle) pour ces substances toxiques (**CE, 2006 ; ACGIH ; 2008 ; EFSA, 2015**), les pays en voie de développement comme le Cameroun tardent à instituer un système de contrôle efficace. Les données précédentes témoignent de la nécessité de faire une définition exhaustive de l'impact des polluants environnementaux sur la santé afin de garantir un bon contrôle dans l'environnement pour une meilleure condition de vie des populations.

Justification de l'étude

- Au cours des études antérieures réalisées dans notre thématique au Cameroun, le foisonnement des champignons toxigènes du genre *Aspergillus* a été démontré (**Domngang et al., 1984**).

- Une distribution géographique des aflatoxines ($B_1 + B_2 + G_1 + G_2$) dans les aliments prêts à la consommation a été établie (**Domngang et al., 1988**). Les taux les plus élevés (2 ppm) ont été rencontrés dans la région du Centre et particulièrement à Yaoundé, zone de forte incidence du cancer primitif de foie, dont 35% des cas liés au virus de l'hépatite B (**Abondo et al., 1984**).

• Eu égard aux données précédentes, l'évaluation des risques d'intoxication des populations par ces toxines s'est poursuivie dans le cadre de mon Doctorat de 3^{ème} Cycle – Biochimie, par :

- l'analyse d'autres aliments courants de la chaîne alimentaire non encore testés tels que les œufs de poules en y incluant les aliments pour volailles administrés à ces dernières, en fonction des fluctuations saisonnières et des zones climatiques. Une corrélation positive avait été observée entre la teneur en AFB₁ des provendes et celle des aflatoxines (B₁, B_{2a} et M₁) des œufs (**Tchouanguép *et al.*, 1994**).

- l'analyse des laits maternels primordial pour les nourrissons, des laits de vache, pour ses usages multiples (consommation directe, fabrication des poudres de lait et autres produits laitiers) (**Tchana *et al.*, 2010**).

- une biosurveillance de l'exposition aux aflatoxines des enfants victimes de malnutrition protéino-calorique et des malades de cancer primitif de foie en relation avec le virus de l'hépatite B à Yaoundé –Région du Centre, Cameroun qui s'est distinguée par des taux élevés de contamination aflatoxinique. Les aflatoxines et le virus de l'hépatite B se sont révélés comme facteurs de risque qui contribueraient à l'augmentation de l'incidence de la malnutrition et du cancer primitif du foie au Cameroun (**Tchana *et al.*, 2010**).

Vu la forte demande et l'usage excessif du plastique dans les pratiques locales de conditionnement des aliments, la tendance à l'augmentation de la consommation des conserves, l'explosion de l'usage du téléphone portable et autres produits à base de BPA (encres d'impression), des petits métiers (soudure, mécanique) qui disséminent le BPA et les métaux lourds dans l'environnement et à la recrudescence des maladies du système endocrinien et dégénératives au Cameroun, il nous est paru nécessaire d'étendre notre investigation à ces polluants à caractère de perturbateurs endocriniens, rémanents et stables. L'état de contamination et la connaissance des niveaux d'exposition des populations (aliments et fluides biologiques), ainsi que la prise en compte de la notion de co-contamination ou contamination multiple s'avèrent ainsi nécessaire d'où l'intérêt de la présente étude.

Objectif général du travail

Evaluer l'exposition des populations adultes de Yaoundé aux polluants alimentaires et environnementaux en relation avec les maladies non transmissibles (diabète et hypertension).

Objectifs spécifiques

- 1) Dresser un profil alimentaire des populations adultes potentiellement exposées aux métaux lourds, bisphénol A et évaluer leurs niveaux d'exposition.

Hypothèse : Les pratiques alimentaires locales de la population adulte de Yaoundé, couplée à leurs occupations sont susceptibles de générer des pollutions, avec pour conséquence une exposition significative aux contaminants.

- 2) Effectuer une bio-évaluation de l'exposition au bisphénol A des personnes saines et atteintes de diabète et d'hypertension artérielle.

Hypothèse : Les régimes alimentaires et les modes de consommation sont porteurs de risque d'exposition au bisphénol A.

- 3) Rechercher les biomarqueurs urinaires d'exposition aux mycotoxines et métaux lourds chez des personnes saines et atteintes d'hypertension artérielle.

Hypothèse : Il existe une relation de cause à effet entre l'exposition aux polluants et les déterministes sanitaires et biologiques des contaminations.



CHAPITRE I : REVUE DE LITTERATURE

I.1- QUELQUES POLLUANTS ENVIRONNEMENTAUX

Les polluants sont définis comme des contaminants ou agents qui au-delà d'un certain seuil induisent des effets négatifs sur tout ou partie d'un organisme vivant, d'un écosystème ou de l'environnement en général. Ils peuvent être de nature physique, biologiques ou chimiques et d'origine naturelle ou anthropique (ANR, 2012).

I.1.1- Les contaminants naturels de l'environnement : les mycotoxines

I.1.1.1- Généralités

Les mycotoxines sont des substances de faible poids moléculaire (PM<1000Da) issues du métabolisme secondaire des moisissures, principalement des genres *Aspergillus* (A), *Penicillium* (P) et *Fusarium* (F) pouvant se développer sous tous les climats. Ces moisissures sont naturellement présentes dans l'air ambiant et le sol. Plus de 2500 mycotoxines ont été répertoriées, mais seule une trentaine posséderait des propriétés toxiques réellement préoccupantes pour l'homme ou l'animal (Yiannikouris et Jouany, 2002 ; Bennett et Klich, 2003).

Les mycotoxines sont très stables à la chaleur et résistent aux procédés de préparation et transformation des aliments (cuisson, fermentation, friture, braise, torréfaction...) que les moisissures les ayant produites. Elles sont par conséquent retrouvées dans les aliments manufacturés ou composés destinés à l'alimentation humaine et animale (Domngang *et al.*, 1988 ; Essono *et al.*, 2009 ; Tchana *et al.*, 2010 ; Abia *et al.*, 2013a). Aussi une analyse mycologique basée sur la détermination des espèces et sur la numération des germes revivifiables, ne donnent aucune indication fiable sur la teneur en mycotoxine d'un produit (Kamdem et Percebois, 1980).

Ces toxines peuvent être cytotoxique, néphrotoxique, cancérigène, mutagène, tératogène, neurotoxique, immunosuppressive ou avoir des effets œstrogéniques. Leur capacité à se lier aux protéines plasmatiques et leur lipophilie en font des toxiques capables de persister dans l'organisme (CAST, 2003 ; Wild et Gong, 2010).

I.1.1.2- Occurrence

Les mycotoxines sont considérées comme faisant partie des contaminants alimentaires les plus significatifs en termes d'impact sur la santé publique, la sécurité alimentaire et l'économie dans le monde (Schatzmayr et Streit, 2013).

Elles sont produites sur une gamme variée de denrées alimentaires avant, pendant et après la récolte : céréales, les fruits secs, les noix, les graines de café et de cacao, les raisins, tubercules, graines oléagineuses, les produits d'origine animale et dérivés ainsi que les produits transformés (AFSSA, 2009 ; Schatzmayr et Streit, 2013). La contamination et la toxigenèse sont facilitées par l'état sanitaire précédent une récolte, les conditions météorologiques, techniques de récolte, délais et conditions hydro-thermiques liés au stockage, transport des denrées et à l'hygiène alimentaire (Hawkins *et al.*, 2005). Les toxines les plus importantes du point de vue agro-alimentaire et sanitaire sont les aflatoxines, les ochratoxines, la patuline, les fumonisines, la zéaralénone et les trichothécènes (Bennett et Klich, 2003).

Selon la FAO, près de 25% des denrées alimentaires sont contaminées par les mycotoxines (Yiannikouris et Jouany, 2002) et des enquêtes récentes indiquent une contamination de près de 70% de la production alimentaire mondiale (Figure 1), entraînant une perte annuelle d'environ 10% (Schatzmayr et Streit, 2013).

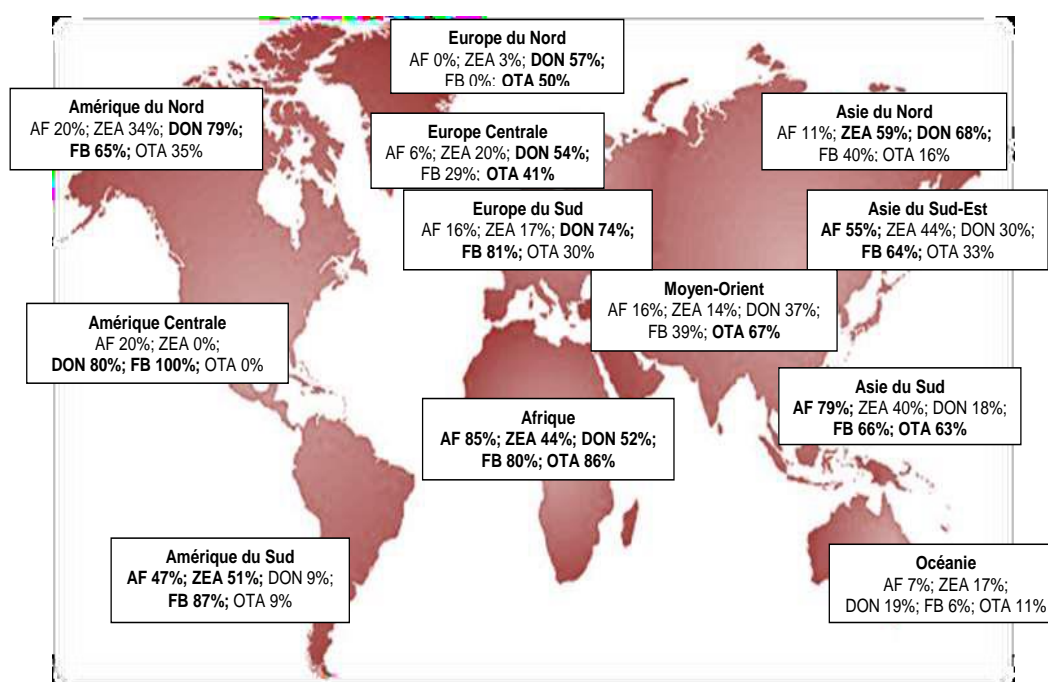


Figure 1 : Distribution des mycotoxines dans le monde (Schatzmayr et Streit, 2013)

AF : Aflatoxines, ZEA : Zéaralénone, DON : Déoxynivalénole, FB : Fumonisines, OTA : Ochratoxines.

I.1.1.3- Mycotoxinogénèse

a)- Biogénèse des mycotoxines

Elle dépend des caractères individuels (génétiques) de la souche productrice et des conditions environnementales. Métaboliquement, les mycotoxines dérivent soit :

- des acides aminés (alcaloïdes de l'ergot du seigle, acide cyclopiazonique, acide aspergillique, gliotoxine...),
- des polycétoacides (aflatoxine, stérématocystine, ochratoxine, citrinine, patuline, fumonisine, zéaralenone),
- des terpènes (trichothécènes, verrucarines) (**Bennett et Lee, 1979 ; Betina, 1994**).

Deux groupes de champignons toxinogènes peuvent être distingués : ceux qui envahissent les plantes sénescents ou stressées (*Fusarium*, *Alternaria*) et produisent les toxines dites de champs et ceux qui produisent après récolte des toxines dites de stockage (*Aspergillus*, *Penicillium*). Une moisissure peut produire différentes mycotoxines et à l'inverse une même mycotoxine peut être élaborée par plusieurs espèces et genres de moisissures donnant lieu à une multi-contamination. Par ailleurs, toutes les souches parmi les espèces réputées toxinogènes ne le sont pas (**Bennett et Klich, 2003**).

b)- Conditions de la mycotoxinogénèse

Les champignons toxinogènes sont répandus dans l'environnement. Ils sont capables de se développer dans différentes conditions d'humidité et de température sur divers substrats dès lors qu'ils contiennent des éléments nutritifs nécessaires (en particulier les sources de carbone et d'azote) à tous les stades de la chaîne alimentaire (denrées brutes, produits élaborés et éventuellement les produits d'origine animale). La toxinogénèse est fortement liée à l'activité de l'eau (A_w).

Ils se développent en général à l' A_w comprise entre 0,6 et 0,99 ; pH compris entre 3 et 8 et à des températures variées pouvant atteindre 50°C. Leur croissance est optimale entre 20 et 30°C à pH 4-6. Dès lors que les conditions sont favorables, la production des toxines est effective dès le second jour de l'infestation (**Wilson et Payne, 1994**)

La composition qualitative et quantitative du substrat peut influencer l'expression du pouvoir de sécrétion des toxines. Certains sucres (glucose, le saccharose et le maltose) et aminoacides (méthionine, glutamine, acide glutamique, proline) seraient plus favorables à la production des aflatoxines cependant que l'acide phytique la réprime. De même, la proline et

l'acide glutamique stimuleraient la synthèse de l'ochratoxine A par *Aspergillus ochraceus* (Guilbot et Jemmali, 1970 ; AFSSA, 2009).

La coexistence d'autres moisissures dans le milieu peut influencer la mycotoxinogénèse. Cette dernière est favorisée par le stress, les dommages physiques des plantes et des graines par les insectes (Streit *et al.*, 2012). La réduction de la pression partielle en oxygène et surtout l'accroissement de la teneur en CO₂ ont un effet dépressif important sur la mycotoxinogénèse (Filtenborg *et al.*, 2000).

I.1.1.4- Occurrence et sources d'exposition des mycotoxines réglementées

a)- Les aflatoxines

i)- Structures et occurrence

Les principales souches productrices (*Aspergillus (A) flavus* et *A. parasiticus*) se développent préférentiellement en milieu chaud et humide (climats tropical et subtropical) entre 15 et 45°C à pH 5-6, parfois 50°C pour une *A_w* de 0,7-0,8. La production de la toxine est optimale à 27-30°C et à pH 4-5. La prolifération fongique et la toxinogénèse peuvent avoir lieu au champ et au cours du stockage. (Wilson et Payne, 1994).

Les souches toxigéniques *A. flavus* produisent les aflatoxines B₁ (AFB₁) et B₂ (AFB₂) bleu fluorescent et *A. parasiticus* synthétisent les aflatoxines G₁ (AFG₁) et G₂ (AFG₂) vert fluorescent, mais également les aflatoxines B₁ et B₂. Ces composés renferment dans leurs structures un groupe bifuranocoumarin auquel sont accolés des pentanones (pour la aflatoxines B) ou des lactones (pour les aflatoxines G) (Bbosa *et al.*, 2013). Les structures des principales aflatoxines sont représentées à la figure 2.

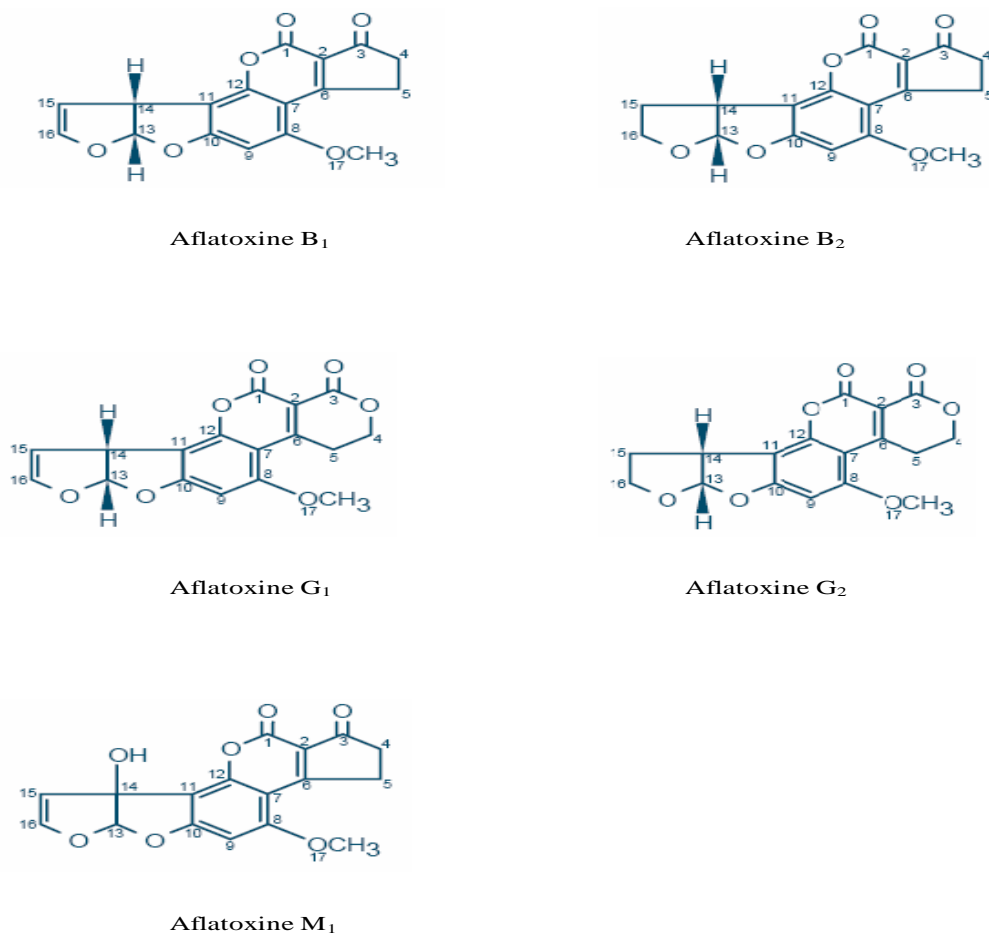


Figure 2 : Structures des principales aflatoxines.

ii)- Contaminations rencontrées et exposition alimentaire

Les aflatoxines ont été retrouvées à l'état de contaminants naturels dans les produits agricoles, aliments composés ou manufacturés destinés à l'alimentation humaine ou animale à des taux de prévalence compris entre 6 et 100% (Tableau 1). L'AFB₁ est la plus toxique et est toujours présente dans les contaminations primaires (CAST, 2003). Certains métabolites toxiques de l'AFB₁ ont été retrouvés dans les denrées d'origine animale, notamment l'AFM₁ le lait et ses dérivés (Tchana *et al.*, 2010 ; Chuisseu *et al.*, 2018) et l' AFR₀ dans les œufs (Micco *et al.*, 1987). Le taux de sécrétion d'AFM₁ dans le lait est d'environ 1 à 6% de la dose d'AFB₁ ingérée (AFSSA, 2009).

L'exposition alimentaire dans différents pays varie en fonction des niveaux de contamination et des habitudes alimentaires (Williams *et al.*, 2004). Selon les données rassemblées par ces auteurs, l'exposition à l'AFB₁ est estimée à 3,5-14,8 ng/kg p.c/j au Kenya, 4–115 ng/kg p.c/j en Gambie, 9,9-99,2 ng/kg p.c/j alors qu'elle est de 11,7–2027 ng/kg p.c/j au Sud de la Chine et 2.7 ng/kg p.c/j aux Etats-Unis. Il n'existe pas à ce jour une dose journalière

tolérable pour les aflatoxines considérées comme des substances carcinogéniques et génotoxiques sans seuil (Solfrizzo *et al.*, 2014). Le JECFA (1999) estime que l'ingestion de 1 ng d'aflatoxines/kg pc/j en Europe augmenterait l'incidence du cancer du foie de 0,013 cancer par an pour 100000 personnes.

Tableau 1 : Quelques sources alimentaires des mycotoxines dans quelques pays en voie de développement.

Denrée analysée	Pays	Mycotoxines	Références
Maïs	Cameroun	AFs FB ₁ , DON, ZEA	Domngang <i>et al.</i> , 1988 Ngoko <i>et al.</i> , 2008 Njobeh <i>et al</i> 2010
	Nigéria	AFs	Atehnkeng <i>et al.</i> , 2008
	Brésil	AFs, ZEA, FB ₁	Vargas <i>et al.</i> , 2001
Riz	Niger, Nigéria Inde	AFs	Hussaini <i>et al.</i> , 2007 Reddy <i>et al</i> 2009
Sorgho et blé	Brésil	AFB ₁ , FB ₁	da Silva <i>et al.</i> , 2000
Aliments pour enfants	Cameroun	AFs, FBs	Chuisseu <i>et al.</i> , 2018
Arachides, Pâte d'arachide	Ouganda Afrique du Sud	AFs	Kaaya <i>et al.</i> , 2001 Williams <i>et al</i> 2004 Domngang <i>et al.</i> , 1988
	Cameroun	Multi-mycotoxines	Abia <i>et al</i> 2013a
Sauce d'arachide	Gambie	AFs	Hudson <i>et al.</i> , 1992
	Cameroun	Multi-mycotoxines	Abia <i>et al.</i> , 2013a
Huile d'arachide	Sénégal	AFs	Ndiaye <i>et al</i> 1999
Soja	Egypte	AFs	el Kady <i>et al</i> 1993
	Cameroun	Multi-mycotoxines	Abia <i>et al.</i> , 2013a
Manioc	Cameroun	AFs	Essono <i>et al</i> 2009
Epices	Maroc	AFs	Zinedine <i>et al.</i> , 2007
Provendes	Cameroun	AFs Multi-mycotoxines	Domngang <i>et al</i> 1994; Abia <i>et al.</i> , 2013b
Œufs	Cameroun	AFM ₁ AFB ₁ , AFB ₂	Tchana <i>et al.</i> , 2010 Micco <i>et al</i> 1987
	Tunisie	AFM ₁ ; AFR ₀	
Lait maternel Lait de vache	Cameroun	AFM ₁	Tchana <i>et al.</i> , 2010 Chuisseu <i>et al.</i> , 2018
Yaourt	Cameroun	AFs	Chuisseu <i>et al.</i> , 2018
Fromage	Turquie	AFM ₁	Oruc <i>et al.</i> , 2001

Par ailleurs les études de biosurveillance basées sur des études épidémiologiques indiquent des taux de prévalence des aflatoxines dans les fluides biologiques de l'ordre de 32% au Kenya (Hendrickse *et al.*, 1989), 40-90% au Nigéria (Oyelami *et al.*, 1997), 89% au sud de la Chine Wang *et al.*, 1996), 95% en Gambie (Allen *et al.*, 1992), 99% au Bénin (Gong *et al.*, 2002), 11,1-63,9% au Cameroun (Tchana *et al.*, 2010). L'exposition a été corrélée à plusieurs

affections parmi lesquelles la malnutrition protéino-calorique (**Hendrickse et al., 1982 ; Tchana et al., 2010**), le syndrome de Reye caractérisé par une encéphalite accompagnée d'une dégénérescence graisseuse des viscères, le cancer primitif du foie, parfois en synergie avec le virus de l'hépatite B (**Williams et al., 2004 ; Bbosa et al., 2013**).

b)- Les ochratoxines : structures, occurrence et sources d'exposition

Les ochratoxines sont élaborées par des moisissures des genres *Aspergillus* en régions chaudes ou tropicales et *Penicillium* en régions froides ou tempérées. Les *Aspergilli* prolifèrent entre 8 et 37°C à une Aw supérieure à 0,8 et pH 3-10 alors que les *Penicillia* se développent entre 0 et 30°C, une Aw inférieure à 0,8 et pH 6-7. La production de la toxine est optimale à pH 3-10 alors que la croissance de ces champignons est optimale entre 24-31°C et 20°C respectivement (**AFSSA, 2009**).

Les ochratoxines sont des isocoumarines liées par un groupement carboxy à une L-β-phénylalanine. Les plus importantes par ordre de toxicité décroissante sont l'ochratoxine A produite par *Aspergillus ochraceus*, l'ochratoxine C (OTC) ester éthylique de l'OTA et l'ochratoxine B (OTB) dérivé non chloré de l'OTA (**O'Brien et Dietrich, 2005**) (Figure 3).

L'ochratoxine A a été retrouvée dans le cacao, le café, les céréales (surtout le maïs, le blé, l'orge et le seigle), les épices, les fruits secs, le raisin, pistaches, cacahuètes et leurs produits de transformation, les aliments pour animaux et dans le lait maternel (**Pfohl-Leszkowicz et Manderville, 2007 ; Abia et al., 2013b**). Le genre *Penicillium* affectionne les substrats riches en protéines. Il a été détecté dans les viandes et poissons fumés, volailles, lait et fromage (**Jorgensen, 1998 ; CAST, 2003**).

Les ochratoxines ont été impliquées dans les épidémies de néphropathie survenues dans les Balkans (Europe du Sud-Est) où les niveaux de contamination élevés des produits céréaliers, patates et haricots ont été observés. Le taux d'imprégnation de la population était de 87%. Cette pathologie a été corrélée à une exposition alimentaire des populations estimée à 1,21 µg/j (**Abouziéd et al., 2002**). La dose d'exposition journalière de l'OTA tolérée est de 0,017 ng/kg de poids corporel (**Solfrizzo et al., 2011**).

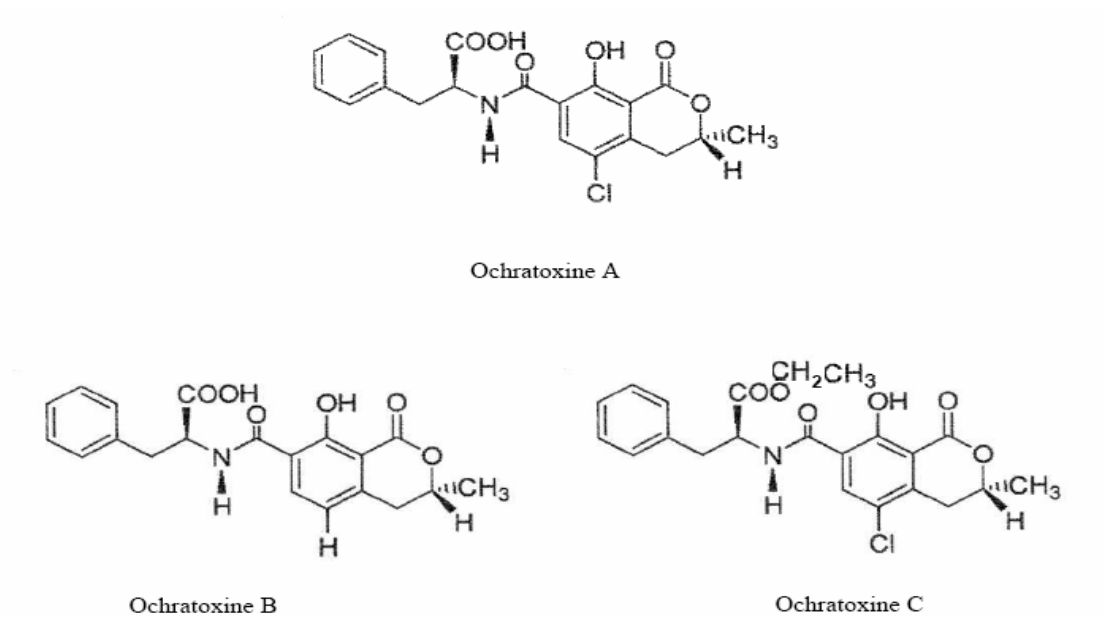


Figure 3 : Structures des ochratoxines A, B et C.

c)- La zéaralénone : structure, occurrence et sources d'exposition

La zéaralénone (ZEN) est une xéno-œstrogène hormono- mimétique non stéroïdienne produite par certaines espèces de *Fusarium* principalement par *F. graminearum*. Elles se développent entre 10 et 40°C à une Aw supérieure à 0,9. Sa production est optimale entre 22 et 25°C pour une activité hydrique de 0,95 à 0,97 (Sydenham *et al.*, 1991). La ZEN est une lactone macrocyclique dérivée de l'acide résorcyclique (Figure 4).

Les aliments vecteurs sont en particulier du maïs, l'orge, le blé, le sorgho, l'avoine, le seigle, le millet, les fruits, les tourteaux de soja, le manioc... Ses dérivés α et β zéaralénols, métabolites naturels, et produits du métabolisme animal ou humain sont également détectés dans les céréales contaminées, les œufs et lait (Gaumy *et al.*, 2001 ; Zinedine *et al.*, 2007). La zéaralénone coexiste régulièrement avec d'autres fusariotoxines, en particulier le déoxynivalénol, le nivalénol et les fumonisines (Schollenberger *et al.*, 2005). La dose d'exposition journalière de la ZEN est de 0,2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de poids corporel (Solfrizzo *et al.*, 2011).

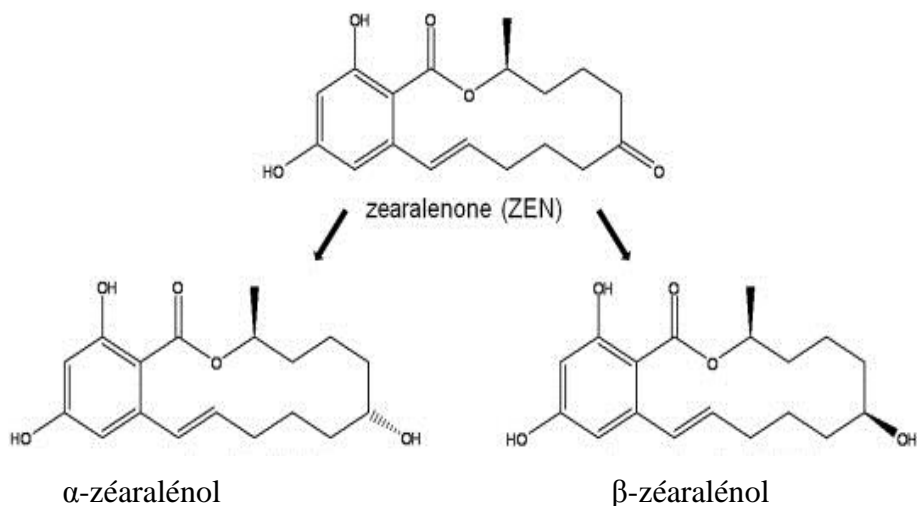


Figure 4 : Structure de la zéaralénone et de ses dérivés α et β hydroxylés.

d)- Les trichothécènes : structures, occurrence et sources d'exposition

Les trichothécènes (TCT) sont des sesquiterpènes substitués par un groupement époxyde entre C12 et C13 réparties en quatre groupes (A, B, C et D), synthétisées par les moisissures du genre *Fusarium*. Les TCT des groupes A et B sont des contaminants les plus fréquents en terme de prévalence naturelle. Le groupe B inclue la déoxynivalénol ou vomitoxine (DON) et la nivalénol et se différencie du groupe A parmi lesquels les toxines T-2, HT-2, par la présence d'une fonction cétone en C8 (**Balzer et al., 2004**). La toxicité des TCT provient essentiellement du groupement époxyde très réactif en C12-C13 (**Berek et al., 2001**).

Cependant le DON est le contaminant le plus répandu (Figure 5). Il est produit par *F. graminearum* et *F. culmorum* qui se développent principalement en zones tempérées. L'espèce fréquente en zone tropicale, chaude et humide est *Fusarium graminearum*. Sa croissance est optimale à 25-27°C à une Aw supérieure à 0,87. Ces moisissures contaminent principalement les céréales : riz, millet, maïs, orge, avoine, blé et produits dérivés de l'alimentation animale et humaine et également dans les œufs et le lait (**Balzer et al., 2004 ; Adejumo et al., 2007**).

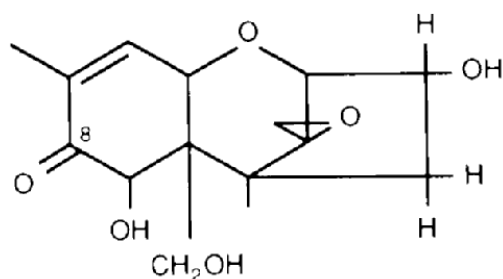


Figure 5 : Structure de la déoxynivalénol (DON)

e)- Les fumonisines : structures, occurrence et sources d'exposition

Les fumonisines représentent une famille de 28 molécules produites par des moisissures du genre *Fusarium*, en particulier *Fusarium proliferatum*, *Fusarium moniliforme* ou *verticillioides*. Elles se développent entre 1°C et 40°C avec une croissance optimale à 35°C. Les toxines sont produites dès 4°C et de façon optimale à 20°C, pH 3,7- 4 et Aw supérieure à 0,9 (Ayalew *et al.*, 2006).

Leur structure est similaire à celle de la sphingosine qui constitue le squelette hydrocarboné des sphingolipides, composantes des membranes cellulaires. Cette similarité de structure est à l'origine de leurs propriétés toxiques (Merrill *et al.*, 2001). Les fumonisines B₁ (FB₁), B₂ (FB₂) et B₃ (FB₃) (Figure 6) sont les plus répandues comme contaminants naturels des céréales. La FB₁, la plus importante en terme toxicologique, est couramment rencontrée dans les céréales (principalement le maïs) et dérivés destinés au bétail et à l'homme où elle peut représenter 70 à 80% des fumonisines totales. Ses résidus ont été détectés dans la viande, le lait et les œufs (Voss *et al.*, 2007).

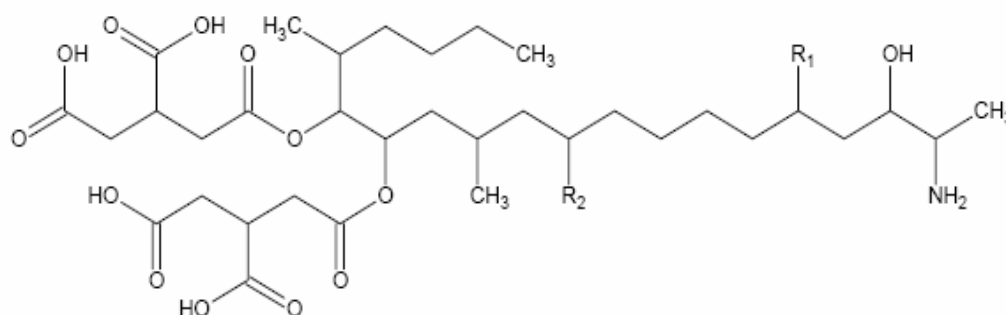


Figure 6 : Structure générale des principales fumonisines : FB₁ (R₁ = OH ; R₂ = OH), FB₂ (R₁ = OH; R₂ = H), FB₃ (R₁ = OH; R₂ = H)

f)- La patuline

La patuline ou clavacine est une lactone (dérivée de l'acide 6-méthylsalicylique (Figure 6), élaborée par des moisissures des genres *Penicillium* et *Aspergillus*. Elles prolifèrent entre 0 et 30°C et la toxinogénèse est optimale entre 20 et 25°C à pH 6 sur des substrats riches en glucide et notamment du glucose (McCallum *et al.*, 2002). Les aliments vecteurs sont des fruits tels que les pêches, poires, abricots, compotes, jus de pomme, les céréales et leurs dérivés (Neri *et al.*, 2010).

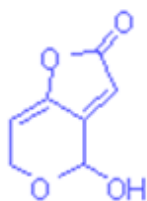


Figure 7 : Structure de la patuline.

La contamination mycotoxinique des principaux aliments de base (céréales, oléagineuses, légumineuses) dans l'alimentation des populations des pays en voie de développement, atteint des niveaux parfois inacceptables pour la santé (Williams *et al.*, 2004). L'impact zootechnique et agricole affecte non seulement la production, mais aussi les piliers de la sécurité alimentaire qui sont la disponibilité, l'accès à l'alimentation et sa régularité (AFSSA, 2009).

I.1.2- Les contaminants naturels chimiques de l'environnement : les métaux lourds

I.1.2.1- Origine et domaines d'utilisation

Les métaux lourds sont des contaminants répandus dans tous les compartiments de l'environnement (air, eau, sol) par émissions naturelles (érosion, éruptions volcaniques, incendies de forêts) ou anthropiques. Ils sont utilisés dans de nombreux procédés industriels, agricoles (pesticides, engrais ...), en plasturgie, des dispositifs médicaux tels que le mercure dentaire, les thermomètres (Biney *et al.*, 1995) ce qui contribue à accroître la pollution des milieux et conséquemment les aliments (Tableau 2).

Certains sont essentiels à l'état de trace (cuivre, zinc, fer ...) dans les processus cellulaires et peuvent devenir toxiques à fortes concentrations. En revanche, les métaux tels que

le plomb, le mercure, et le cadmium, arsenic, aluminium ... ont un caractère polluant exprimant des effets toxiques dans l'organisme vivant même à très faible concentration. Ils n'ont aucun effet bénéfique connu pour la cellule (Manfo *et al.*, 2014).

Tableau 2 : Domaines d'utilisation des métaux lourds (Biney *et al.*, 1995)

Utilisations	Métaux
Batteries et autres appareils électriques	Cd, Hg, Pb, Zn, Mn, Ni
Pigments et peintures	Ti, Cd, Hg, Pb, Zn, Mn, Sn, Cr, Al, As, Cu, Fe
Alliages et soudures	Cd, As, Pb, Zn, Mn, Sn, Ni, Cu
Biocides (conservateurs pesticides, herbicides)	As, Hg, Pb, Cu, Sn, Zn, Mn
Engrais	Cd, Hg, Pb, Al, As, Cr, Cu, Mn, Ni, Zn
Agents de catalyse	Ni, Hg, Pb, Cu, Sn
Verre	As, Sn, Mn
Raffineries	Ni, V, Pb, Fe, Mn, Zn
Carburants	Ni, Hg, Cu, Fe, Mn
Matières plastiques	Cd, Pb
Produits dentaires et cosmétiques	Sn, Hg
Textiles	Cr, Fe, Al

I.1.2.2- Sources d'exposition et contaminations alimentaires

L'exposition humaine aux métaux lourds se fait à travers :

- diverses activités agricoles (utilisation de pesticides et engrais), industrielles (raffinage, sidérurgie, la métallurgie, plasturgie, l'énergie), pétrochimiques, l'extraction minière,
- les rejets atmosphériques (gaz d'échappement des véhicules, incinération des déchets, émissions industriels, revêtement des chaussées),
- les eaux de lessivage (des décharges d'ordures ménagères et de résidus solides) et effluents industriels,
- les réseaux de distribution d'eau potable et les produits d'utilisation courante tels que les contenants alimentaires (Biney *et al.*, 1995; Bortey-Sam *et al.*, 2015a).

Les métaux lourds entrent dans la chaîne alimentaire en raison de leur absorption par les plantes. Leur présence dans la chaîne de production animale peut résulter des produits végétaux et des matières premières minérales utilisées pour l'alimentation animale. Ils sont non biodégradables et se caractérisent par leur effet cumulatif. Les risques de contamination s'amplifient au fur et à mesure que l'on remonte les maillons de la chaîne trophique (Okereke *et al.*, 2016).

De nombreuses études en relation avec leur potentiel sanitaire ont révélé leur présence dans le sol (**Bortey-Sam et al., 2015b**), les eaux souterraines (**Ahoussi et al., 2010**), de robinet (**Bamuwamye et al., 2017**), les denrées alimentaires : tubercules de manioc (**Bortey-Sam et al., 2015b**), les légumes-feuilles (**Kananke et al., 2015**), fruits, céréales et dérivés (**EFSA, 2009**) ainsi que les aliments prêts à la consommation (**Iwegbue et al., 2013 ; Abdulmajid et al., 2014**), parfois à des concentrations supérieures aux normes. Les résultats indiquent que les échantillons prélevés à proximité des zones à fort trafic routier présentent des concentrations plus élevées en métaux (**Säumel et al., 2012 ; Abdulmajid et al., 2014**). Les produits alimentaires en cannette et les produits marins (poissons gras, crustacés, moules, huîtres...) constituent d'importantes sources de contamination (**Reddy et al., 2007**). Cette présence des métaux lourds dans l'environnement et les denrées alimentaires et leur persistance constituent un risque pour les consommateurs. Des effets néfastes sur la santé humaine liée à l'ingestion d'aliments contaminés ont par ailleurs été signalés (**Manfo et al., 2014**).

I.1.3- Contaminant chimique industriel de l'environnement : le Bisphénol A

I.1.3.1- Origine et applications du BPA

Le bisphénol A (BPA) est une molécule de synthèse issue de la catalyse acide de deux phénols avec une cétone. Il a une structure similaire à celle de l'œstradiol (Figure 8) qui lui confère des activités œstrogène-mimétiques (**Vanderberg et al., 2010**).

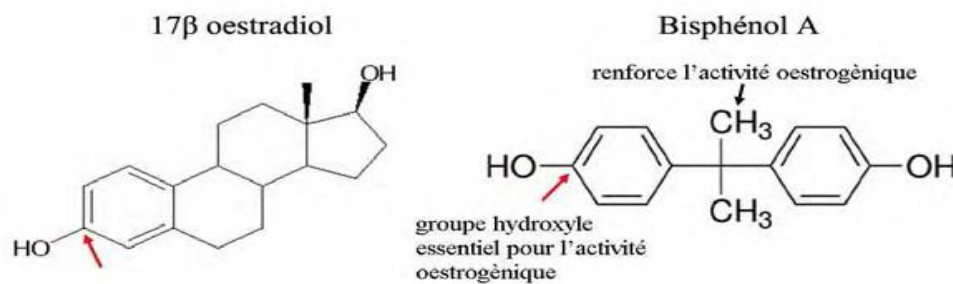


Figure 8 : Structures du Bisphénol A et de l'œstradiol

Il est utilisé comme monomère de synthèse :

- des plastiques de type polycarbonate caractérisés par leur transparence, légèreté, leur rigidité, leur durabilité dans le temps et leur résistance au à la chaleur (>125°C) et au choc,
- des résines époxydes utilisés pour le revêtement des boîtes de conserves, canettes, cuves alimentaires, réservoirs et adductions d'eau potable, dans les peintures,

• et autres résines phénoliques, les polyacrylates et polyesters comme révélateur d'encre des papiers thermiques (Figures 9) (ANSES, 2013).

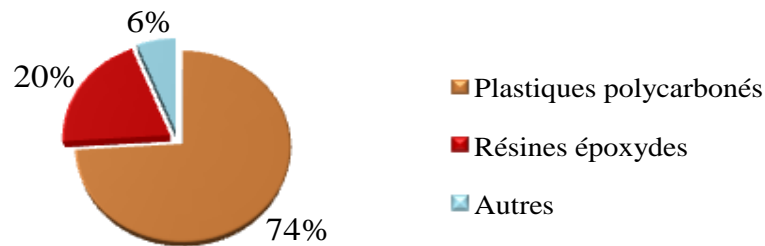


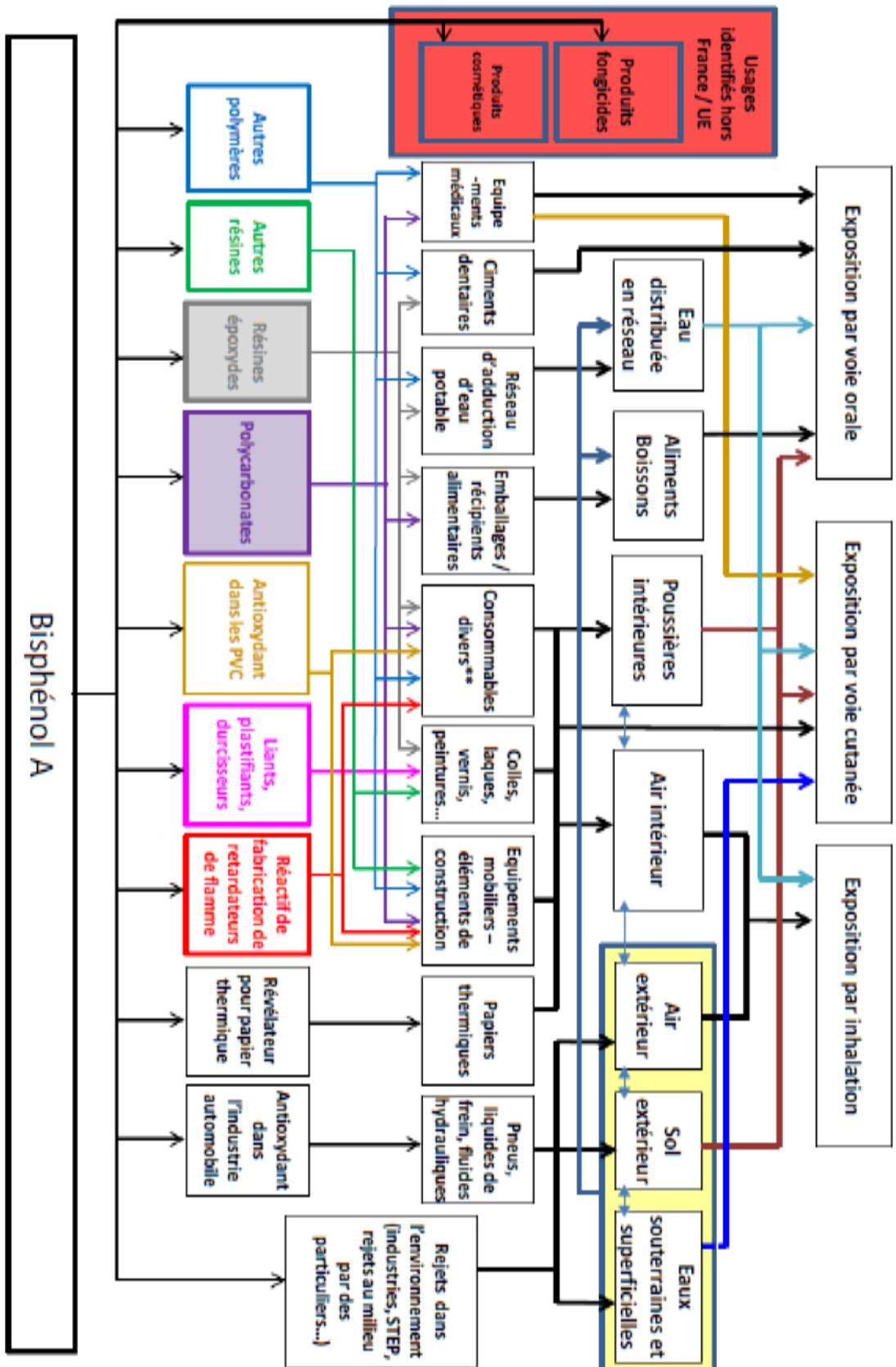
Figure 9: Les applications du BPA (EPA, 2013)

Le BPA est l'un des produits chimiques le plus utilisé dans le monde du fait de ses nombreuses applications industrielles. Sa production mondiale annuelle du BPA est de l'ordre de 8 millions de tonne avec une hausse annuelle de 6 à 10% (Vanderberg *et al.*, 2010). On le retrouve dans les matériaux couramment utilisés (emballages plastiques et cuves alimentaires, réseau d'adduction d'eau, bonbonnes, bouteilles plastiques, téléphones portables, biberons ...) et l'exposition humaine est par conséquent permanente et quasi quotidienne telle que représentée à la figure 10.

I.1.3.2- Sources d'exposition au BPA

Le BPA est ubiquitaire dans l'environnement, dû à une contamination à chaque étape de sa production, de son utilisation et de sa décharge. Il peut contaminer les aliments, les boissons, l'air à travers les rejets industriels, gaz d'échappement, poussières et incinération des déchets dont 12% issus des déchets ménagers et le sol par infiltration à travers les effluents divers dont 70% proviennent du recyclage des papiers thermiques (Corrales *et al.*, 2015).

Le BPA a été détecté dans les sédiments et déchets ménagers (Makinwa et Uadia, 2015), poussières dans l'air atmosphérique (Fu et Kawamura, 2010), les eaux de surface en Asie (272 ng/ml) à une concentration 1000 fois inférieure à celle des eaux d'égout (Duong *et al.*, 2010), dans les eaux de source au Brésil (114ng/ml) (Montagnier *et al.*, 2012) et au Nigéria à des teneurs de 0,2-0,4 ng/ml (Ignatius *et al.*, 2010) et 122-798 ng/ml (Makinwa et Uadia, 2015), les amalgames dentaires, papiers d'impression thermique et tickets de caisse (Biedermann *et al.*, 2010).



** : CD, DVD, ordinateurs, écrans, éléments électriques, appareils électroménagers, téléphones portables, équipements optiques, articles de sport...

Figure 10 : Schéma conceptuel des applications et d'exposition au BPA (ANSES, 2013)

L'imprégnation au BPA par la peau est importante avec l'usage extensif des tickets de caisse, relevés bancaires et imprimantes thermiques (**Zalko et al., 2010**). Une exposition professionnelle provoquerait une absorption quotidienne de 71 µg du BPA par passage transcutané (**Biedermann et al., 2010**) et ce, favorisée par une peau humide. Environ 8% de la dose de BPA appliquée sur un modèle de peau humaine *in vitro* sont absorbés (**Damierre et al. 2012**).

La contamination des aliments et eaux peut se faire par migration des monomères de BPA libérés, suite à une polymérisation incomplète ou à l'hydrolyse des ponts esters du polymère, du contenant au contenu. Cette migration est facilitée par l'acidité du contenu, l'usage de détergent pour le nettoyage, l'augmentation de la température observée lors de la cuisson, la stérilisation (biberons), l'appertisation (procédé d'autoclavage après la mise en conserve), l'exposition au soleil et la réutilisation et le vieillissement des matériaux (**Brede et al., 2003**). **Kubwabo et al. (2009)** ont observé une augmentation de la teneur en eau stockée dans une bonbonne en polycarbonate de 0,12 ng/ml à 40°C et de 1,77 ng/ml à 60°C. Par ailleurs la teneur en BPA de l'eau stockée dans le biberon est passée de 0,13 ng/ml à 18,47 ng/ml après 6 mois d'usage (**Brede et al., 2003**).

Le BPA a été détecté à des fréquences élevées (> 70%) dans les denrées alimentaires, aliments en conserve et aliments pour enfants (0,1 à 1300 ppb) (**Cao et al., 2011 ; Liao et Kannan, 2013 ; Lorber et al., 2015 ; Makinwa et Uadia, 2015**). La dose journalière tolérable est passée de 50 à 4 µg/kg de poids corporel/jour (**EFSA, 2015**) et la limite de migration spécifique (LMS) qui est la quantité de BPA tolérée, à migrer du contenant à l'aliment a été réduite de 0,6 à 0,05 mg/kg (**EFSA, 2018**).

I.2- DEVENIR DES MYCOTOXINES, METAUX LOURDS ET DU BISPHENOL A DANS L'ORGANISME

I.2.1- Voies d'exposition humaine aux polluants environnementaux

L'homme comme les animaux sont quotidiennement exposés aux toxiques dont les mycotoxines, métaux lourds, BPA. Ces derniers sont en général ubiquitaires dans l'environnement et contaminent les hommes par contact cutané, par inhalation (poussières, fumées et vapeur), par ingestion (aliments et boissons contaminés, amalgames dentaires, médicaments ...) ou par voie transplacentaire au fœtus. Cependant, la voie orale est prépondérante (87%) (**EFSA, 2011**).

I.2.2- Généralités sur le métabolisme

La biotransformation des xénobiotiques a pour principal site le foie. Non moins importants sont les rôles des poumons, intestins, placenta et capsules surrénales dans ce processus (**Doull *et al.*, 1980**). Elle se déroule en trois phases regroupant différentes enzymes microsomale et cytosolique et des molécules de transport.

La phase I dite de fonctionnalisation regroupe les réactions catalysées par les mono-oxygénases mixtes à cytochromes P450 (CYP450) localisées dans la membrane du réticulum endoplasmique. D'autres enzymes notamment les flavines mono-oxygénases, alcools déshydrogénases, estérases et monoamines oxydases peuvent également intervenir. Elles catalysent les réactions d'oxydation, de réduction, d'hydrolyse et de déhalogénéation conduisant à la formation des composés polaires par l'apparition des groupements -OH, -COOH, -NH₂ ... sur les molécules mères.

La phase II regroupe les réactions de conjugaison des composés activés ou désactivés de la phase I à un ligand endogène (acide glucuronique, glutathion, acétyl, méthyl, sulfate ...) pour leur élimination. Les enzymes impliquées sont : l'époxyde hydratase, les transférases tels que la glutathion-S-transférase (GST), la glucuronyl transférase (UDPGT), la N-acétyltransférase, les méthyles transférases, les acyl CoA transférases, les sulfotransférases.

La phase III correspond à l'étape d'excrétion des xénobiotiques ou de leurs métabolites qui peut se faire entre autres par voie biliaire, fécale ou urinaire. Elle est assurée par des protéines de transport ATP-dépendantes (**Doull *et al.*, 1980**). Le schéma général de cette biotransformation est représenté à la figure 11.

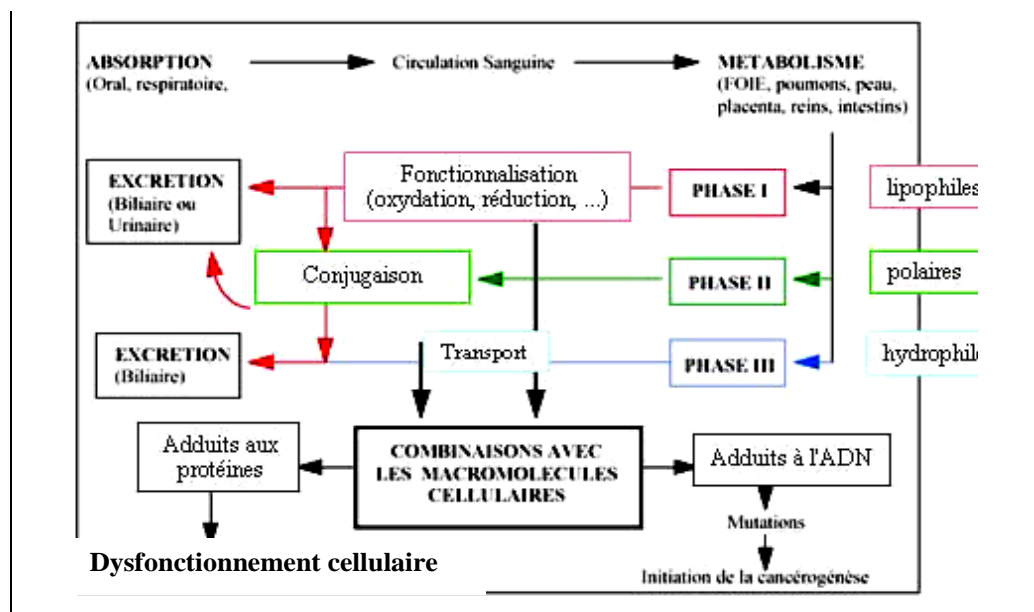


Figure 11 : Schéma général de la biotransformation des xénobiotiques (Doull *et al.*, 1980).

I.2.3- Biotransformation des mycotoxines réglementées

I.2.3.1- Métabolisme de l'aflatoxine B₁

Une fois ingérée, les aflatoxines sont rapidement absorbées (environ 90%) au niveau du duodénum. L'AFB₁ est véhiculée dans l'organisme par l'albumine (Wild et Turner 2002). Des transformations subies au niveau hépatique par les CYP450 conduisent à deux types de composés (Figure 12).

- Les métabolites hydroxylés : AFM₁, aflatoxine Q₁ (AFQ₁), aflatoxine P₁ (AFP₁), aflatoxine B_{2a} (AFB_{2a}), par hydroxylation, déméthylation ou hydratation et l'aflatoxicol (AFR₀). L'AFR₀ est susceptible d'être reconverti en AFB₁ et il est produit par la 17-hydroxystéroïde déshydrogénase -NADPH dépendante de la fraction soluble post-mitochondriale.
- Un époxyde : AFB₁ 8-9 époxyde, électrophile, très réactif et instable, pouvant former des adduits avec l'ADN (AFB₁-N7-Guanine) responsables des lésions du matériel génétique (Wild et Turner 2002 ; Bbosa *et al.*, 2013).

Différentes conjugaisons des métabolites de la phase I permettent leur détoxification (Figure 12). Leur excrétion est soit urinaire, fécale ou lactée (AFM₁). Le taux de sécrétion de l'AFM₁ est d'environ 1 à 3% (Zhu *et al.* 1987). Ses métabolites hydroxylés AFM₁ et AFR₀ se sont révélés tout aussi toxiques (Bbosa *et al.*, 2013). Les effets biologiques sont résumés dans le tableau 3. L'AFB₁ est classée dans le groupe I des molécules cancérogènes chez l'homme par l'IARC (1993).

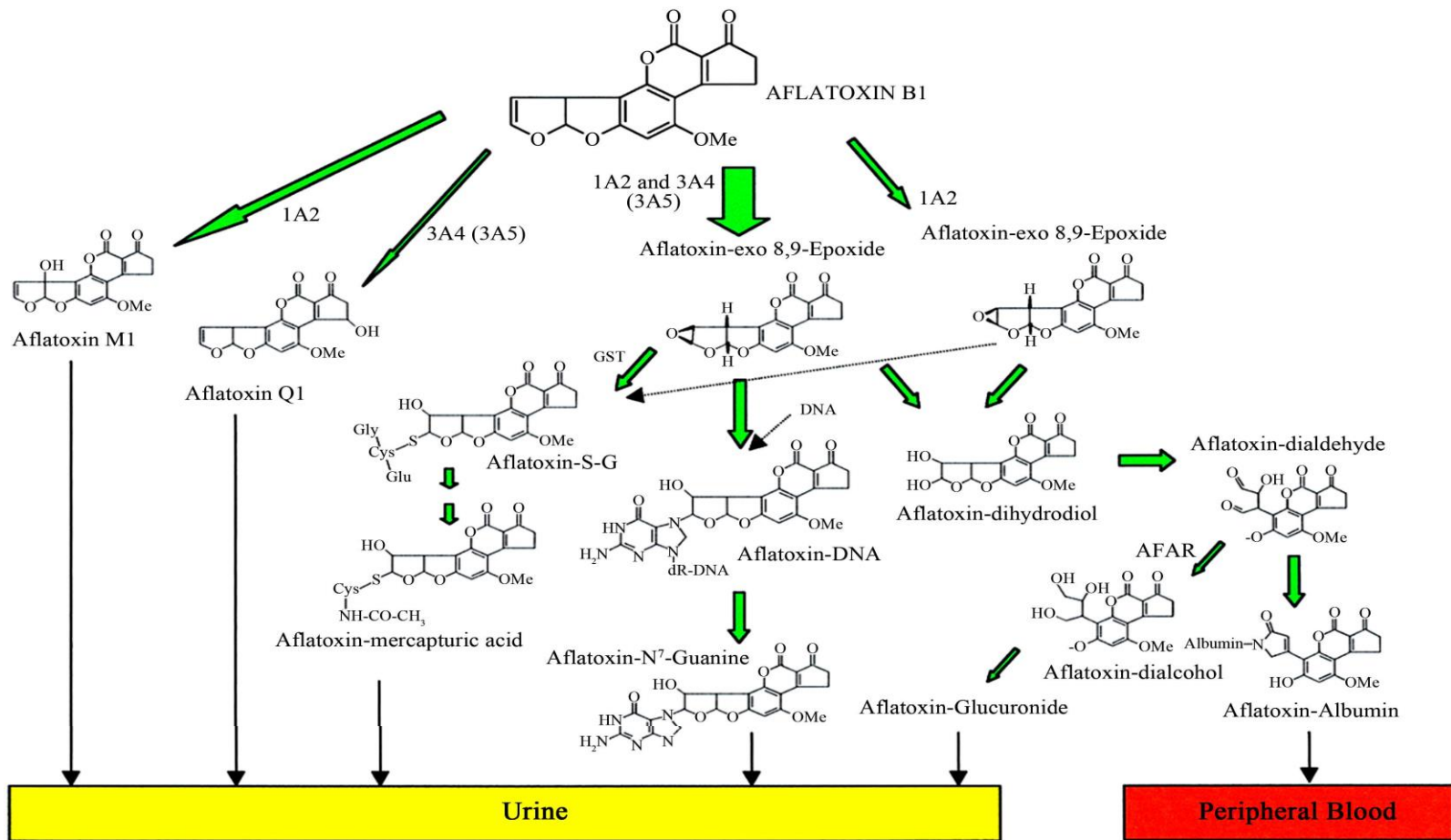


Figure 12 : Principales voies métaboliques de l'AFB₁. (Bbosa *et al.*, 2013)

Isoformes du CYP450 :1A2 (CYP1A2), 3A4 : CYP3A4), 3A5 : (CYP3A5), GST : (glutathion S- transférase), AFAR (aflatoxine – aldéhyde réductase), Aflatoxin-S-G (conjugué aflatoxine-glutathion).

I.2.3.2- Métabolisme de l'ochratoxine A

L'OTA ingérée traverse les parois stomacale et intestinale par diffusion passive. Elle est distribuée dans le foie, muscles, tissus adipeux et principalement les reins liée (90%) à l'albumine. Sa demi-vie dans l'organisme est estimée à un mois. Elle est convertie en composés hydroxylés moins toxiques 4(S) OH-OTA, 4(R) OH-OTA, 10-OH-OTA), en quinone (OTHQ) réactive avec l'ADN par le CYP450 hépatique, et sont éliminés par conjugaison au glutathion. L'action de la carboxypeptidase la convertit en ochratoxine α (OT α) avec libération de la phénylalanine (Figure 13). Leur excrétion est biliaire, fécale, lactée et faiblement urinaire. L'OTA excrétée dans la bile peut être réabsorbée au niveau intestinal via un cycle entéro-hépatique. De même, celle présente dans les urines peut être réabsorbée au niveau des tubules rénaux et favoriser son accumulation dans les cellules rénales, son retour éventuel dans le sang et sa persistance dans l'organisme (Studer-Rohr *et al.*, 2000 ; Pfohl-Leszlowicz et Manderville, 2007).

Sa toxicité dépendrait plus du stress oxydatif, que de sa métabolisation (Gross-Steinmeyer *et al.*, 2002 ; Pfohl-Leszlowicz et Manderville, 2007) et serait liée à la présence du groupement carboxylique de la phénylalanine, de l'atome de chlore en C5 et de l'hydroxyle en C8 dans sa molécule. Ses effets biologiques sont indiqués dans le tableau 3.

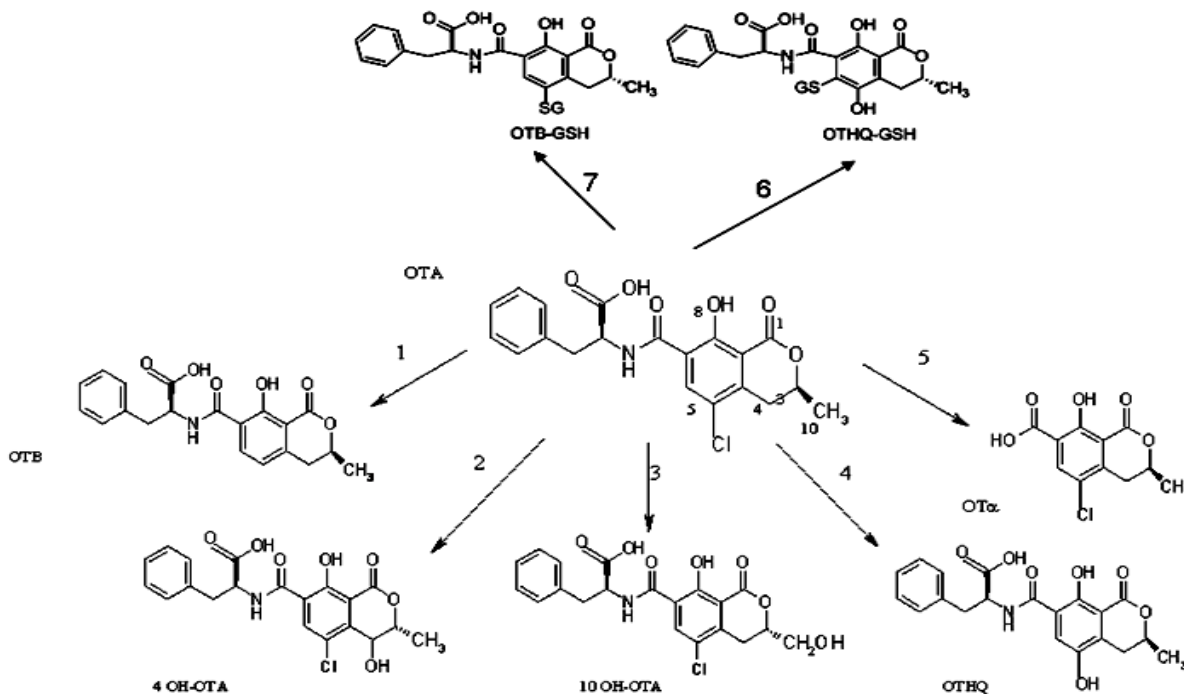


Figure 13: Voies de biotransformation de l'OTA (Pfohl-Leszlowicz et Manderville 2007).

1 (Peroxydases), 2 et 3 (CYP450), 4 (CYP450 et peroxydases), 5 (Carboxypeptidases A), 6 (CYP450 et peroxydases et conjugaison), 7 (Peroxydases et conjugaison).

I.2.3.3- Métabolisme de la zéaralénone

La zéaralénone rapidement absorbée après ingestion par diffusion passive au niveau des entérocytes et distribuée aux différents organes liée à la « *steroid binding protein* » (**Ramos et al., 1996**). Ses principales cibles sont l'utérus, les cellules interstitielles des testicules et les follicules ovariens. La zéaralénone est convertie en α -zéaralénol ayant une activité oestrogénique 3 fois plus élevée que celle de la zéaralénone et en β -zéaralénol par la 3- α et la 3- β hydroxystéroïde déshydrogénase hépatique. La zéaralénone et ses métabolites sont détoxifiés par voie de glucuroconjugaison catalysée par l'uridine diphosphate glucuronyl transférase (UDPGT) (**Ueno et Tashiro, 1981**). Leur élimination peut se faire par voie fécale, biliaire, urinaire ou lactée chez le rat. Elle est majoritairement urinaire chez l'homme. La ZEA et ses métabolites actifs se fixent compétitivement sur des récepteurs œstrogéniques et entraîne entre autres des troubles des fonctions de reproduction (**Gaumy et al., 2001 ; Zinedine et al., 2007**). Ses effets dans l'organisme sont multiples (Tableau 3).

I.2.3.4- Métabolisme de la déoxynivalénol (DON)

Après ingestion, le DON rapidement absorbée, se retrouve dans le sang et le liquide céphalo-rachidien et est largement distribué dans l'organisme (foie, rate, testicules, cerveau, cœur, muscle, peau, intestin et le pancréas). La toxicité des TCT provient essentiellement du groupement époxyde très réactif en C12-C13 (**Berek et al., 2001**) dont les effets biologiques sont résumés dans le tableau 3. La fraction non absorbée subit une dé-époxydation en dé-époxydéoxynivalénol-1 (50 fois moins toxique que la molécule d'origine) par la flore intestinale. D'autres voies de métabolisation incluent la dé-estérification et la conjugaison. Le DON et dérivés sont excrétés dans les fèces, les urines, la bile et le lait (**Eriksen et al., 2003**). Elle est classée comme carcinogène du groupe 3 par l'IARC (1993).

I.2.3.5- Métabolisme de la fumonisine B₁

La fumonisine ingérée est faiblement absorbée et transportée par les chylomicrons. Elle se retrouve dans tous les tissus et faiblement dans le foie et les reins (**Voss et Riley, 2013**). Peu de données sont disponibles sur le métabolisme de la FB₁ et il s'effectuerait dans le tractus intestinal. La FB₁ est retrouvée dans la bile et les urines à 96% sous forme active non métabolisée et en faible fraction dans les fèces sous forme native et hydrolysée (par perte d'un ester lié à l'acide tricarboxylique). De faibles concentrations de FB₁ ont été retrouvées dans l'utérus, le placenta, et chez les fœtus (**Norred et al., 1993**). Bien qu'il n'y ait pas de preuve de la biotransformation des fumonisines par les enzymes microsomaux, des études

réalisées *in vivo* ou *in vitro*, montrent qu'elles peuvent moduler l'activité de ces enzymes, à travers l'altération du métabolisme par action compétitive vis-à-vis des sphingolipides (Merrill *et al.*, 2001; Voss et Riley, 2013). Elle est classée comme carcinogène du groupe 2B par la IARC (1993).

I.2.3.6- Métabolisme de la patuline

Environ 29% de la patuline administrée par voie orale est absorbée et distribuée dans l'ensemble de l'organisme avec une nette préférence pour le système nerveux central. Sa biotransformation par les cytochromes CYP450 hépatiques conduit à la formation des composés non toxiques. Sa forte affinité pour les groupements thiols ou sulfhydriles (-SH), des protéines actives, et la production des espèces réactives à l'oxygène seraient à l'origine de sa toxicité et des effets biologiques observés. Elle est éliminée dans les urines et les fèces (CAST, 2003 ; Kwon *et al.*, 2011, Boussabbeh *et al.*, 2015). La patuline est classée comme carcinogène du groupe 3 (IARC, 1993).

I.2.3.7- Effets biologiques des mycotoxines dans l'organisme

Le métabolisme des mycotoxines conduit soit à une bioactivation de la molécule mère en métabolite électrophile, à la formation des radicaux libres, des espèces réactives de l'oxygène (ERO) : l'anion superoxyde O_2^- , le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), et le radical hydroxyle ($\cdot OH$) à partir desquelles elles expriment leur toxicité (Doi and Uetsuka, 2011 ; Omar, 2013).

Les différents effets biologiques observés chez les animaux et l'homme seraient liés à l'altération des processus impliqués dans le métabolisme de base. La fonction mitochondriale, le métabolisme des glucides, des lipides, des stéroïdes, la biosynthèse des protéines et acides nucléiques sont les plus affectés (Wild et Gong, 2010 ; Bbosa *et al.*, 2013).

La sévérité des effets biologiques est fonction de la toxine, la dose ingérée, la durée d'exposition, de l'âge et des organismes en présence (Bennett et Klich, 2003). Les mécanismes d'action cellulaire et moléculaire des principales mycotoxines ainsi que leurs effets biologiques sont répertoriés dans le tableau 3.

Tableau 3 : Mécanismes d'action et effets toxiques de quelques mycotoxines réglementées.

Mycotoxines	Mécanismes d'action cellulaire et moléculaire	Effets des mycotoxines	Références
Aflatoxine B₁	Bioactivation par le cytochrome P450 Inhibition de la chaîne de transport des électrons Induction du stress oxydatif Formation des adduits à l'ADN, ARN et protéines Inhibition de la RNA polymérase Peroxydation lipidique, Méthylation des ADN	Cytotoxique, Hémato-toxique Immunosuppresseur Troubles de l'hémostase Troubles hormonaux Mutagène, Carcinogène, Tératogène	Wild et Turner 2002, CAST, 2003 ; AFSSA, 2009 ; Doi <i>et al.</i> , 2011; Bbosa <i>et al.</i> , 2013
Ochratoxine A	Inhibition de la phénylalanine ARNt synthétase Induction du stress oxydatif Formation des adduits à l'ADN -Inhibition de la synthèse des protéines Inhibition de la production de l'ATP Peroxydation lipidique, Méthylation du DNA	Cytotoxique, Neurotoxique Perturbation du métabolisme des glucides Immunosuppresseur Carcinogène, Tératogène Néphropathique	Wei <i>et al.</i> , 1985 ; Doi <i>et al.</i> , 2011 ; Faucet <i>et al.</i> , 2004 ; Pfohl-Leszkowicz et Manderville, 2007 ; Zhu <i>et al.</i> , 2017
Fumonisine B1	-Inhibition de la N-acyl transférase et accumulation de la sphinganine libre -Induction du stress oxydatif -Peroxydation lipidique, Méthylation du DNA	Cytotoxique, Neurotoxique (Leucoencéphalopathie) Perturbation du métabolisme lipidique Néphrotoxique , Tératogène, cancérigène Anomalie cardiovasculaire (œdème pulmonaire)	Merrill <i>et al.</i> , 2001 ; Voss <i>et al.</i> , 2007 ; Doi <i>et al.</i> , 2011, Voss et Riley, 2013
Trichothécènes (DON)	Irritation gastro-intestinale Inhibition de la synthèse protéique Inhibition de la peptidyltransférase Induction du stress oxydatif	Nausées, diarrhée vomissements Cytotoxique, Hémato-toxique Neurotoxicité Immunosuppresseur Génotoxicité, tératogène	Berek <i>et al.</i> , 2001 ; Maresca <i>et al.</i> , 2002 ; Doi <i>et al.</i> , 2011 ; Wu <i>et al.</i> , 2013
Zéaralénone	Bioactivation par les déshydrogénases hépatiques Peroxydation lipidique Formation des adduits à l'ADN, Inhibition de la protéique Liaison aux récepteurs oestrogéniques Inhibition de la prolifération lymphocytaire	Cytotoxique, Génotoxique - Tératogène Immunosuppresseur, Reprotoxique (stérilité, infertilité), Troubles de développement, retard de croissance, Hypertrophie du foie	Ueno et Tashiro, 1981 ; Berek <i>et al.</i> , 2001 ; Gaumy <i>et al.</i> , 2001 ; AFSSA, 2009
Patuline	Inhibition des ATP-ases Na ⁺ /K ⁺ dépendantes Fixation au groupement sulfhydryl des protéines cellulaires Inhibition ARN-polymérase et les ADN polymérase Induction du stress oxydatif - Dommages oxydatif du DNA	Cytotoxique, Immunotoxique Neurotoxique, Tératogène - Mutagène Néphrotoxique	AFSSA, 2009 ; Kwon <i>et al.</i> , 2011, Boussabbeh <i>et al.</i> , 2015

I.2.4- Données toxicologiques de quelques métaux lourds

I.2.4.1- Devenir de quelques métaux lourds dans l'organisme

L'absorption des métaux lourds est influencée par leur nature, leur spéciation chimique et des facteurs diététiques (apports et carences alimentaires) (**Kippler *et al.*, 2007**). Les métaux absorbés sont distribués dans l'organisme par voie sanguine fixés à la métallothionéine et s'accumulent progressivement dans différents organes cibles : les reins, les poumons, le foie, les dents, les os, le cerveau et les tissus kératinisés tels que les cheveux et les ongles (**Hammi, 2010; Ye *et al.*, 2016**). La distribution tissulaire et la charge corporelle de ces métaux seraient liées à l'âge, au sexe, à l'état nutritionnel et à la variabilité génétique (**Olsson *et al.*, 2002**).

Au niveau cellulaire, les processus biochimiques nécessitent un contrôle strict de leur concentration et de leur localisation, régulé par un mécanisme homéostatique impliquant les métallothionéines et d'autres transporteurs. Les perturbations de cette homéostasie peuvent avoir des répercussions sanitaires à tous les stades de la vie (**Jaishankar *et al.*: 2014**).

a)- Plomb

Le plomb est toxique principalement sous sa forme ionique Pb^{2+} . Après absorption pulmonaire ou digestive le Pb passe dans le sang où il se répartit en forme non diffusible fixée aux hématies (90 à 95 %) et une forme plasmatique (5 à 10%) qui est distribuée et stockée dans différents tissus : système nerveux central, foie, reins, en particulier les os (80 à 90%) où il entre en compétition avec le calcium. Dans le plasma, le transport du Pb est assuré par l'albumine (88,2%) et les gammaglobulines (11,8%). Le Pb traverse facilement la barrière hémato- méningée. Sa demi-vie est de 20 à 30 jours chez l'adulte et peut s'étendre à 10 mois chez l'enfant. Il est très lentement éliminé par voie urinaire (**Links *et al.*, 2001**).

Des études ont montré que le plomb agit sur le système nerveux central (retard de développement, irritabilité, troubles du sommeil, perte de mémoire,...), sur la fonction de reproduction (la fertilité) et ses effets sont généralement amplifiés chez le fœtus et l'enfant (anomalies congénitales, troubles psychomoteurs, déficits neurocomportementaux durables) (**Bisson *et al.*, 2003 ; Manfo *et al.*, 2014**).

b)- Cadmium

L'exposition au cadmium est sous forme de poussières, de fumées et à travers l'alimentation. Une fois absorbée par inhalation (10%) ou ingestion (5%) le cadmium est

transporté dans le sang sous forme liée à l'hémoglobine ou à la métallothionéine dont il induit la synthèse cellulaire. C'est un toxique cumulatif qui se caractérise par une demi-vie très longue supérieure à dix ans. Il se concentre surtout dans le foie, les os et les reins (**EFSA, 2009**). Il est excrété dans le lait maternel à hauteur de 5 à 10% de la concentration sanguine maternelle (**Radisch et al., 1987**). Le cadmium libre est à l'origine des effets toxiques observés. Le cadmium est éliminé dans les fèces et très peu dans les urines. L'excrétion urinaire est proportionnelle à la charge corporelle en cadmium au niveau rénal et hépatique (**Amzal et al., 2009**).

Il a été l'origine du syndrome d'Itaï-Itaï (association insuffisance rénale, ostéoporose (déminéralisation et fragilisation des os) et ostéomalacie (déminéralisation et déformation des os) survenu au Japon (**Jarüp, 2009**). Les conséquences de l'exposition chronique au cadmium chez l'homme sont l'hypertension artérielle, cancer des poumons, une perturbation des organes reproducteurs et un dysfonctionnement du foie (**Satarug et al., 2003 ; Jarüp, 2009**).

c)- Mercure

Le mercure élémentaire (Hg^0) diffuse facilement à travers toutes les membranes (pulmonaire, érythrocytaire, cérébrale, placentaire ...) en raison de sa grande lipophilie. Environ 80% des vapeurs inhalées se retrouvent dans le sang dont 2/3 dans les hématies et 1/3 dans le plasma, et distribuées dans l'organisme. Il est oxydé sous l'action de la catalase dans les cellules en ion mercurique (Hg^{2+}) très peu diffusible. Il s'accumule surtout dans les reins mais aussi dans le foie et le cerveau sous forme de Hg^{2+} (**Nuttall, 2004**).

L'exposition au mercure organique (MeHg) est essentiellement alimentaire. Plus de 90% de la dose ingérée sont absorbés au niveau intestinal. Une fraction est convertie en ion mercurique par la flore microbienne (**Clarkson, 2002**). En raison de leur grande affinité pour les groupements thiols, les ions Hg^{2+} se fixent sur la cystéine et le glutathion intracellulaire, les protéines telles que l'albumine. Le complexe MeHg-cystéine mime la méthionine, présent dans l'organisme, ce qui facilite son entrée dans les cellules. Il est ensuite excrété par voie biliaire sous forme d'un complexe MeHg-glutathion, puis est réabsorbé à 80% au niveau de l'intestin (via un cycle entérohépatique) et redistribué par le système sanguin ou alors déméthylé et éliminé dans les fèces, les urines (**Nuttall 2004**). Le mercure peut également se lier aux acides nucléiques, modifier leurs structures et/ou inhiber leurs activités biologiques, dans l'organisme (**Jomova et Valko, 2011 ; Ray et al., 2014**).

Des effets portant sur les système nerveux, cardio-vasculaire, immunitaire ont été décrits (**Torres *et al.*, 2000 ; Jomova et Valko, 2011**). Des études sur une éventuelle relation entre une exposition au mercure et une réponse mutagène ou cancérigène et sur la reproduction ont révélé un nombre anormalement élevé d'aberrations chromosomiques, une augmentation de l'incidence des avortements, des cas d'oligospermie et de stérilité (**Wilson *et al.*, 2009 ; Manfo *et al.*, 2014**).

d)- Cuivre

Il est impliqué dans de nombreux processus métaboliques, notamment dans la synthèse de l'hémoglobine et la maturation des polynucléaires neutrophiles. De plus, il est un cofacteur spécifique de nombreuses enzymes (cytochrome oxydase, superoxyde dismutase, lysyl oxydase, dopamine hydrolase ...) et métalloprotéines de structure intervenant dans le métabolisme oxydatif, dans la respiration cellulaire et dans la pigmentation (**OMS-IPCS, 1998**).

Le cuivre d'origine alimentaire est absorbé au niveau de l'estomac et de l'intestin. La captation du cuivre se fait après sa complexation par les acides aminés (histidine en particulier) ou sa liaison aux métallothionéines. Il est distribué dans l'organisme lié aux protéines dont la céruloplasmine (80-90 %) (**Neumann et Sass-Kortsak, 1967**). Il est stocké dans les muscles, la moëlle osseuse et principalement dans le foie (**Cassereau, 2001**). Son élimination se fait par les fèces (via la bile), les urines, les menstruations, la sueur et même les cheveux (**ATSDR, 2004**).

e)- Zinc

Le zinc est un oligo-élément indispensable dans l'organisme. Près de 200 enzymes en contiennent dont l'anhydrase carbonique, l'ARN polymérase, l'alcool déshydrogénase, l'aspartase, la transcarbamylyase Il joue un rôle important dans le métabolisme des lipides glucides, protéines. Il intervient dans la croissance et la multiplication cellulaire, le métabolisme osseux, la cicatrisation, la reproduction, l'immunité et l'inflammation, la gustation et la vision, le fonctionnement cérébral, la protection contre les radicaux libres, etc. (**Jomova et Valko, 2011**). Par ailleurs le zinc peut avoir des effets protecteurs vis-à-vis d'autres métaux en stimulant la synthèse de métallothionéines et en réduisant leurs actions inhibitrices sur certaines enzymes (**Jomova et Valko, 2011**).

L'absorption du zinc au niveau des entérocytes représente 20 - 30 % de la dose ingérée. Dans le sang, l'albumine à près de 70%, les aminoacides libres assurent son transport

et sa distribution dans différents organes : foie, les reins et pancréas (**Cousins *et al.*, 2006**). Environ 80 à 90 % du zinc sérique se trouve dans les érythrocytes où il est fixé à l'anhydrase carbonique. Le zinc excrété dans les fèces provient de l'alimentation (zinc non absorbé), des sécrétions biliaires (puis réabsorbé), intestinales provenant de la desquamation des cellules muqueuses. Il est également éliminé par les urines et la sueur. On ne lui reconnaît aucune toxicité suite à une exposition alimentaire (**Durou *et al.*, 2005**).

Quel que soit le mode de contamination, les métaux lourds s'accumulent dans l'organisme et ne sont éliminés que très lentement.

I.2.4.2- Mécanisme d'action des métaux lourds et effets biologiques

La toxicité des métaux lourds absorbés est liée à leur spéciation chimique, leur effet cumulatif dans l'organisme et à leur biodisponibilité. Elle peut résulter de leur liaison aux groupements sulfhydryls (-SH) des molécules endogènes, de leur action compétitive vis-à-vis de certains cations divalents, de l'activation ou la production des espèces réactives de l'oxygène qui entraînent la peroxydation des lipides, les modifications épigénétiques de l'ADN, l'inactivation des protéines et des enzymes (**Torres *et al.*, 2000 ; Jomova and Valko, 2011 ; Venza *et al.*, 2014 ; Jaishankar *et al.*, 2014**). Ces mécanismes sont à l'origine de tous les effets biologiques répertoriés et consignés dans le tableau 4.

Tableau 4 : Mécanisme d'action de quelques métaux lourds et leurs effets biologiques

Métaux	Mécanismes d'action cellulaire et moléculaire	Effets biologiques	Références
Cd	<p>Fixation sur les groupements –SH Induction des espèces réactives de l'oxygène Inhibition des enzymes Hyperméthylation du DNA (inhibition de l'expression des gènes suppresseurs de tumeurs) Action compétitive avec le calcium</p>	<p>Atteinte tubulaire, insuffisance rénale (avec ostéoporose et ostéomalacie) Dysfonctionnement du foie Atteintes pulmonaires (broncho-pneumopathie chronique) Reprotoxique, génotoxique, tératogène Immunosuppresseur Diabète hépatogène, Hypertension artérielle Cancérogène du groupe 1 (IRAC)</p>	<p>Jin <i>et al.</i>, 2002 ; Hu <i>et al.</i>, 2002 ; Satarug <i>et al.</i>, 2003 ; Brocato et Costa, 2013 ; Venza <i>et al.</i>, 2014</p>
Pb	<p>Fixation sur les groupements –SH Inhibition de l'acide δ-aminolévulinique déshydratase (ALAD) Action compétitive avec les ions Ca²⁺, Fe²⁺, Zn²⁺ Inhibition de l'hexokinase (inhibition du métabolisme du glucose) Méthylation du DNA</p>	<p>Atteinte rénale (lésions tubulaires) Neurotoxique (troubles comportementaux, cécité, baisse de l'audition, saturnisme) Atteinte hépatique Hormono-dépresseur Reprotoxique (infertilité masculine) Hypertension artérielle Immunosuppresseur, hémato-toxique Cancérogène du groupe 2B (potentiel) (IRAC)</p>	<p>ATSDR, 1999 ; Bisson <i>et al.</i>, 2003 ; Manfo <i>et al.</i>, 2014 ; Ray <i>et al.</i>, 2014 ; Jaishankar <i>et al.</i>, 2014</p>
Hg	<p>Fixation sur les groupements –SH l'inhibition des enzymes thioi-dépendantes Perturbation du système de transport des tubules rénaux. Induction du stress oxydatif Interférence avec la captation du glutamate au niveau du cerveau (accumulation du glutamate et dommage des neurones) Méthylation de l'ADN</p>	<p>Troubles neurologiques (troubles psychomoteur et cognitifs, irritabilité, anxiété, hydrargie). Atteinte rénale (lésions glomérulaires et tubulaires) Hypertension artérielle Troubles respiratoires Immunotoxique Reprotoxique, tératogène</p>	<p>Torres <i>et al.</i>, 2000 ; Nuttall, 2004 ; Wilson <i>et al.</i>, 2009 ; Jaishankar <i>et al.</i>, 2014 ; Ray <i>et al.</i>, 2014</p>
Cu	<p>Fixation aux groupements -SH, carboxyles (-COO-), ou noyaux imidazoles des molécules actives Inhibition des enzymes Induction du stress oxydatif Interaction avec l'ADN Peroxydation lipidique</p>	<p>Cytotoxique, troubles gastro-intestinaux Génotoxique (Aberration chromosomique) Atteinte pulmonaire Hépatotoxique (nécrose) Anémie, lésions rénales Lésions rénales, trouble de la reproduction</p>	<p>OMS-IPCS, 1998 ; Alt <i>et al.</i>, 1990 ; NRC, 2000 ; Jomova et Valko, 2011 ; Ray <i>et al.</i>, 2014</p>

I.2.5- Métabolisme et modes d'action du BPA

I.2.5.1- Métabolisme du BPA

Administré par voie orale, le BPA est rapidement absorbé (environ 90%) au niveau intestinal et converti principalement dans le foie en BPA-glucuronide (BPA-G) et BPA-sulfate (BPA-S) inactifs, respectivement par l'uridine diphosphate glucuronyltransférase (UDPGT) et la sulfotransférase (Völkel *et al.*, 2002) (Figure 14). Toutefois, il peut être transformé par le cytochrome P450 en intermédiaires réactifs dont les catéchols (Zalko *et al.*, 2003) et BPA-quinone pouvant interagir avec l'ADN pour former un adduit BPA-N7-Guanine (Figure 15) susceptible d'initier les mutations des gènes, la carcinogenèse, de perturber le processus normal de fonctionnement de la cellule (Edmonds *et al.*, 2004 ; Stack *et al.*, 2017).

Les métabolites formés sont éliminés dans les urines majoritairement sous forme de BPA-G (75- 85%), BPA-S (3-4%) chez l'homme se traduisant ainsi par une faible biodisponibilité du BPA par la voie orale (1 à 6%). La demi-vie de BPA dans le sang est d'environ 4-6 heures (Thayer *et al.*, 2015).

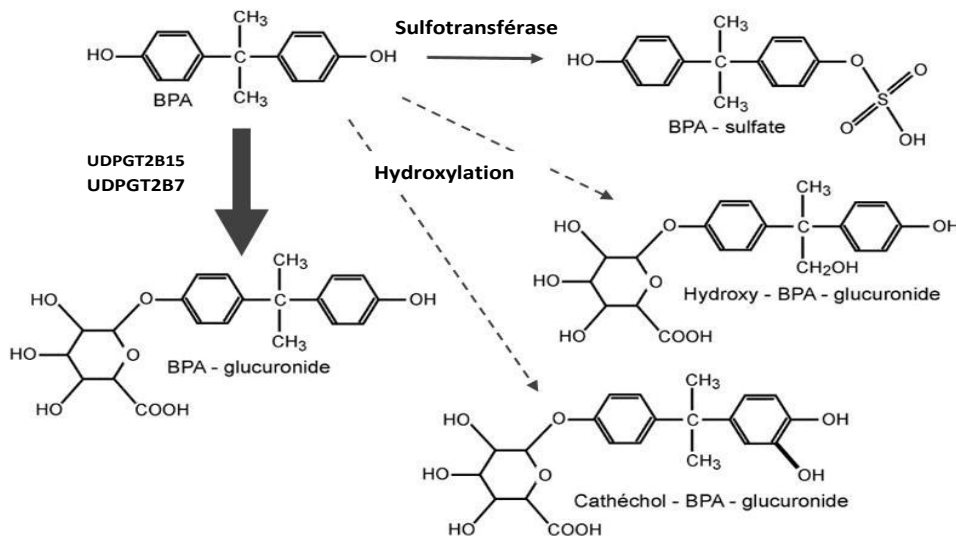


Figure 14 : Les voies métaboliques majeures du BPA chez l'homme (Zalko *et al.*, 2003)

Le BPA-G libéré dans la circulation systémique diffuse vers divers organes et tissus (cerveau, tissus adipeux, poumons, reins, glande mammaire, placenta, foie, embryons, testicules etc.) où il peut être reconverti par l'enzyme β -glucuronidase en BPA libre actif. Le BPA libre

transporté par l'albumine et la *Sex Hormone Binding Globulin* (SHBG) (Miyakoda *et al.*, 2000). Le caractère lipophile du BPA libre permet son stockage dans le tissu adipeux (Thayer *et al.*, 2015).

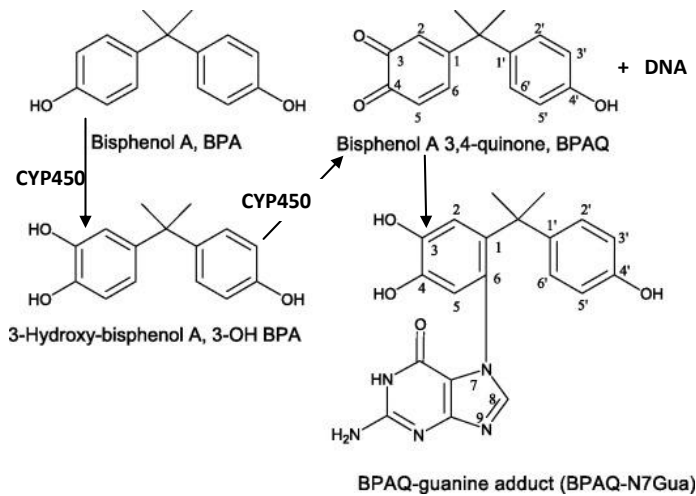


Figure 15: Formation de l'adduit à l'ADN du BPA (Edmonds *et al.*, 2004)

I.2.5.2- Mécanisme d'action du BPA

Le BPA a une structure similaire à celle de l'œstradiol (Figure 8) qui lui permet des interactions sur des récepteurs hormonaux nucléaires, des récepteurs membranaires mais aussi sur des enzymes du métabolisme des stéroïdes et des xénobiotiques. Ses activités œstrogéniques associées ou non à des activités anti-androgéniques à faible concentration (0,1 nM à 1pM) ont été démontrées (Manfo *et al.*, 2014).

Le BPA se fixe sur :

- Les récepteurs nucléaires des œstrogènes ER α et ER β (associés au métabolisme glucidique) avec 10 fois plus d'affinité pour ER β et stimule très rapidement des réponses cellulaires. Ces récepteurs agissent comme des facteurs de transcription lorsqu'ils se fixent sur l'ADN au niveau de séquences régulatrices des gènes (Kuiper *et al.*, 1998). Le BPA induit l'augmentation de calcium intracellulaire et entraîne une libération de l'insuline (action agoniste) par exocytose dans des cellules β (Soriano *et al.*, 2012).

- Les récepteurs membranaires des œstrogènes couplés à la protéine G (GPR30) impliqué dans la prolifération cellulaire et qui participerait à l'effet insulino-trope du BPA dans les cellules β pancréatiques humaines et induirait ainsi le diabète de type 2 (Soriano *et al.*, 2012).

- Les récepteurs gamma (ERR γ) reliés aux œstrogènes (*Estrogen-related receptor gamma*), avec une affinité 1000 fois supérieure à celle aux œstrogènes ER α et ER β (Li *et al.*,

2010). Ainsi, des doses plus faibles que celles impliquant une liaison aux récepteurs nucléaires α et β pourraient produire des effets sur le système endocrinien.

- Les récepteurs nucléaires androgéniques (AR) (Manfo *et al.*, 2014) et sur les récepteurs des hormones thyroïdienne T3 (triiodothyronine) (Moriyama *et al.*, 2002) en inhibant la transcription des gènes, entraînant des conséquences néfastes sur la fertilité d'une part et d'autre par sur la croissance, le développement neuronal et cognitif.

D'autres mécanismes d'action du BPA impliquent les adduits à l'ADN (BPA-N7-guanine) (Edmonds *et al.*, 2004) et le stress oxydatif qu'il induit (Gong *et al.*, 2013).

I.2.5.3- Quelques effets biologiques du BPA chez l'homme

Des études de biosurveillance aux USA, Japon, Corée, Egypte, Allemagne, Espagne, Chine..., fondées sur les dosages de BPA et de ses métabolites dans le plasma, les urines, le lait maternel, la salive, le tissu adipeux, le liquide amniotique et le sang fœtal montrent une exposition ubiquitaire des populations au BPA avec un taux compris entre 82 et 95% (Vanderberg *et al.*, 2010 ; Manfo *et al.*, 2014). Les concentrations sériques détectées se situent entre 0,2 et 20 ng/ml, avec en moyenne 0,64 ng/ml (2,8 nM) chez la femme et 1,49 ng/ml (6,5 nM) chez l'homme sain.

L'exposition au BPA a été corrélée à la recrudescence des cancers hormono-dépendants (seins, prostates testicules...), diabète, obésité, maladies cardiovasculaires, de l'infertilité, accrue de puberté précoce (Melzer *et al.*, 2010 ; Soriano *et al.*, 2012 ; Gong *et al.*, 2013 ; Manfo *et al.*, 2014), les troubles respiratoires (Ehrlich *et al.*, 2012) et de développement liés à la fonction thyroïdienne (Vanderberg *et al.*, 2010). Le BPA est classé par la Commission Européenne par règlement 2016/1179, en vigueur depuis le 1^{er} Mars 2018, comme composé Cancérogène, Mutagène Reprotoxique de catégorie 1B (INERIS, 2016).

I.3- POLLUANTS ENVIRONNEMENTAUX ET MALADIES NON TRANSMISSIBLES

Les maladies non transmissibles (MNT) selon l'OMS sont la cause de 36 millions de décès enregistrés en 2015 dans le monde chaque année dont 80% imputables aux pays en voie de développement, avec 33,7% de cas en Afrique. Plus des trois quarts de ces décès sont liés aux maladies métaboliques qui prennent l'allure d'une véritable épidémie (OMS, 2017).

I.3.1- Prévalence de quelques maladies non transmissibles d'intérêt au Cameroun

Les MNT sont en recrudescences au Cameroun. En 2014, elles ont été responsables de

31% de décès dont 11% dû aux maladies cardiovasculaires, 3% au cancer (dont les plus fréquents sont les cancers de prostate, de l'œsophage, du foie, du col utérin et des seins), 2% aux maladies respiratoires chroniques, 2% diabètes et autres 13% (OMS, 2014 ; 2016). La prévalence du diabète est passée de 1,5% à 10,6% entre 1990 et 2003 et celle de l'hypertension artérielle facteur de risque cardio-vasculaire et de maladie rénale est passée de 22,2% en 1994 à 38,4% en 2003 et 37% en 2008. La prévalence de l'obésité était de 9,8% en 2010 et 11,4 en 2014 et celle du surpoids de 31% en 2010 à 33,5% en 2014 dans la population générale (OMS, 2016).

Quinze mille nouveaux cas de cancers sont enregistrés chaque année. Le cancer de sein connaît une hausse annuelle de 1,5% (OMS, 2014). Parmi les facteurs de risque identifiés, figurent le VIH, le virus de l'hépatite B, le tabagisme, l'obésité, une alimentation déséquilibrée (surnutrition), la pollution environnementale.

L'exposition humaine aux polluants environnementaux, qu'ils soient physiques, chimiques ou biologiques (radiations, pesticides, hydrocarbures, résidus des médicaments, métaux lourds, mycotoxines, plastifiants ...), est virtuellement inévitable. Aussi, la survenue d'une maladie peut être le résultat de l'influence de plusieurs facteurs modifiables, faisant suite à une multi-contamination.

I.3.2- Mécanismes communs aux polluants environnementaux

Le stress oxydatif et les modifications épigénétiques (atteintes du génome sans modification de la séquence de l'ADN) ont été identifiés comme des mécanismes ultimes à l'origine de la plupart des effets délétères des polluants environnementaux dans l'organisme.

- Le stress oxydatif est un phénomène plurifactoriel qui induit la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) : l'anion superoxyde $\cdot O_2^-$, le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , et le radical hydroxyle $\cdot OH$ (Doi *et al.*, 2011 ; Jaishankar *et al.*, 2014). Toutefois, les ERO sont également produites par le complexe enzymatique mitochondrial de la chaîne respiratoire, le cytochrome P450, le système NADPH-oxydase des macrophages et granulocytes et interviennent comme médiateurs cellulaires. Un flux excessif des ERO peut entraîner un dépassement des capacités antioxydantes de l'organisme et générer des dommages oxydatifs au niveau des macromolécules biologiques : (lipides, protéines et ADN) conduisant à des altérations des structures cellulaires (Figure 16). L'exposition aux polluants environnementaux a été associée au stress oxydatif impliqué entre autres dans l'altération du fonctionnement des canaux ioniques sensibles aux œstrogènes (Hong *et al.*, 2009). Les

dommages oxydatifs de l'ADN permettent la formation des adduits ou des cassures simple brin ou double brins de l'ADN et les pontages ADN-protéines à effets génotoxiques (Favier, 2003). Une surproduction d'ERO pourrait aussi être induite par diverses expositions environnementales.

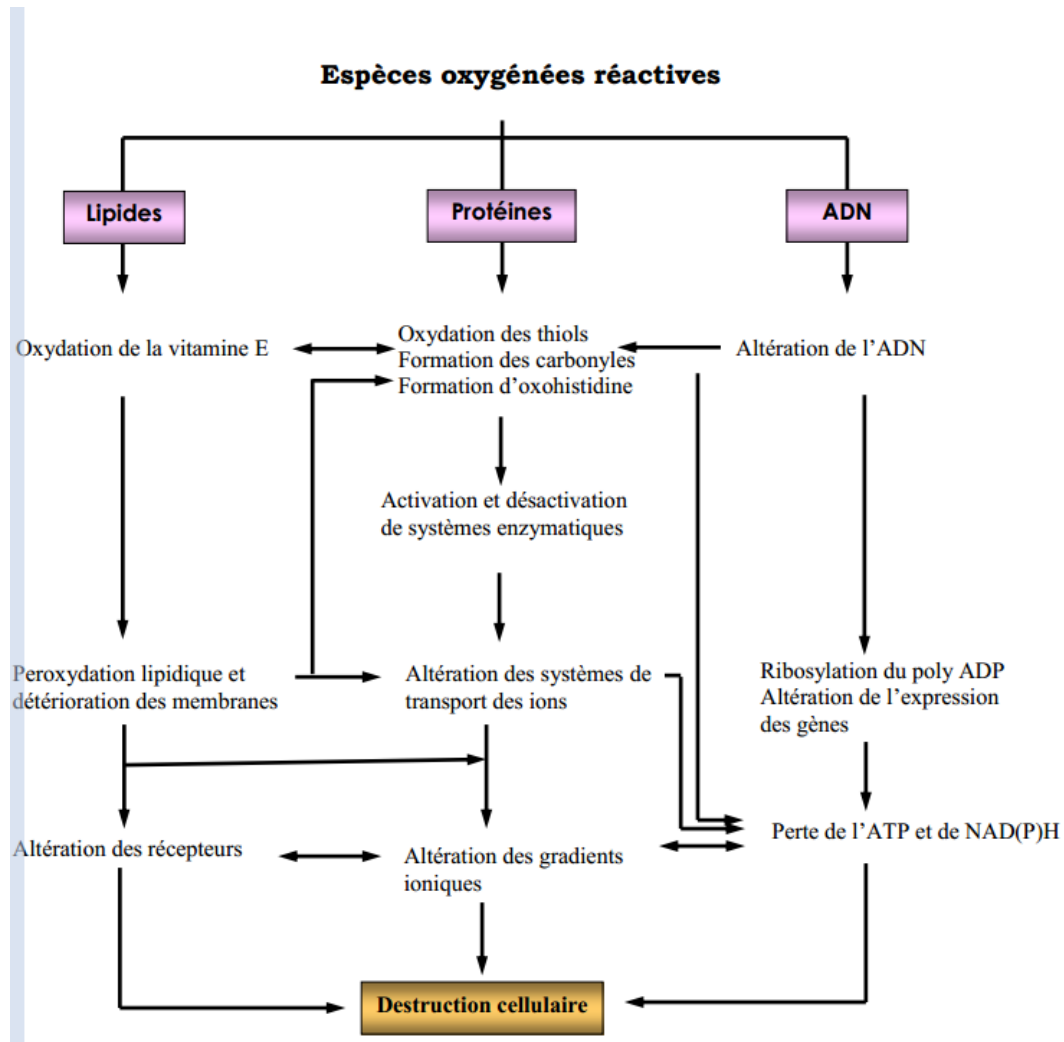


Figure 16: Effets biologiques cellulaires des espèces réactives de l'oxygène (Lefèvre *et al.*, 1998).

- L'effet épigénétique se traduit soit :
 - par la méthylation des bases (cytosine) de l'ADN qui inhibe la transcription,
 - par la modification post-traductionnelle des histones (par acétylation, méthylation, phosphorylation) qui perturbe l'accessibilité des facteurs de transcription à la région promotrice des gènes,

- par la synthèse des micro- RNA (miRNA) non codés qui inhibent la traduction de l'ARN messager (Figure 17).

Ces anomalies de l'ADN activent les oncogènes (surexpression des gènes) ou inhibent des gènes suppresseurs de tumeurs potentialisant ainsi les effets du toxique. Les effets épigénétiques peuvent être réversibles, transgénérationnels et peuvent varier avec l'état nutritionnel (Baccarelli et Bollati, 2009 ; Bbosa *et al.*, 2013 ; Ray *et al.*, 2014).

Mauvais-Jarvis *et al.* (2013) ont montré qu'une diminution de l'expression des gènes promoteurs des ER α entraîne une augmentation de l'obésité. Les désordres métaboliques induits par un ER α muté sont ceux décrits dans le syndrome métabolique, caractérisés par la conjonction de troubles d'origines glucidique et lipidique associés à une surcharge graisseuse, un état pro-inflammatoire, une hypertension, le tout prédisposant au diabète de type 2 et aux maladies cardiovasculaires. Ces observations sont corroborées par Zhong *et al.* (2010) qui ont montré que l'épigénétique interfère avec les mécanismes de régulation de la pression artérielle. Alors que les métaux lourds perturbent le métabolisme glucido-lipidique via principalement le stress oxydant (Ray *et al.*, 2014).

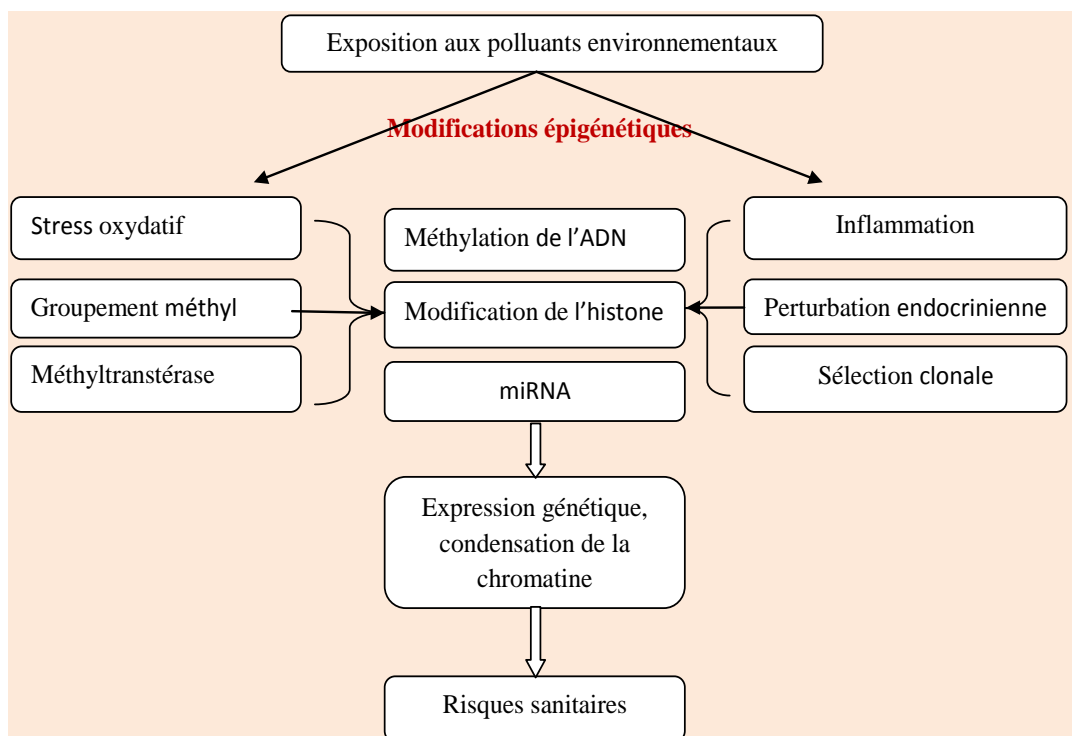


Figure 17 : Mécanisme d'action des polluants environnementaux sur l'épigénome. (Baccarelli et Bollati, 2009). miRNA : micro-RNA non codé.

Par ces différents mécanismes, il est à craindre un effet amplificateur des polluants sur une pathologie chronique donnée. Le risque de ce fait est devenu un concept central de santé publique qu'il soit environnemental, professionnel ou alimentaire. En prenant en compte les différentes sources de risques d'exposition liés aux contaminants environnementaux, le Comité Européen (2006), l'Organisation Mondiale de la Santé et l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (**FAO, 2010**) s'accordent sur le fait que la voie d'exposition alimentaire est prépondérante (87%). L'environnement et l'alimentation étant des contingences absolues de par leur diversité, tout individu est soumis au risque qui peut être multiforme. L'évaluation alimentaire est un moyen efficace pour obtenir des informations de base sur les niveaux d'exposition aux contaminants.

I.4 ANALYSE DU RISQUE

La notion d'analyse du risque fût développée par le *National Research Council*. (NRC) et l'*United States Environmental Protection Agency* (US-EPA) dès les années quatre-vingt. A travers l'analyse des impacts environnementaux et sanitaires des produits et rejets anthropiques, l'institution des démarches et des législations ont été prises pour la protection animale, humaine et environnementale (**NRC, 1983 ; US-EPA, 1989**). Les instances internationales (FAO/OMS, *Codex Alimentarius*) s'accordent sur le schéma d'analyse qui comprend : l'évaluation du risque, la gestion du risque (normes, législation) et la communication sur le risque qui consiste en des échanges interactifs d'informations et d'opinions sur les risques entre les évaluateurs, les gestionnaires du risque et toutes autres parties intéressées (consommateurs).

I.4.1- Evaluation du risque alimentaire

C'est une démarche comprenant l'identification des dangers/évaluation de l'exposition, la caractérisation des dangers et la caractérisation du risque.

a)- Identification des dangers et évaluation de l'exposition

Elle consiste à rechercher dans un aliment donné, des agents ou contaminants susceptibles de causer un effet néfaste pour la santé et tient compte de la relation dose-effet sur l'homme. Elle s'appuie sur les études épidémiologiques, voire cliniques et la distribution des expositions dans une population en prenant en compte la consommation réelle des aliments ou groupes d'aliments et la concentration des toxiques dans les aliments. Cette

méthode dite indirecte exploite les données des analyses et questionnaires sur les habitudes alimentaires etc., et peut permettre des prédictions en y ajoutant des facteurs d'incertitude.

Elle s'appuie aussi sur la recherche des indicateurs internes (biomarqueurs ou contaminants dans le sang ou excrétés). C'est une méthode directe qui prend en compte le niveau global de l'exposition humaine, toutes voies confondues (**IPCS, 1993 ; EFSA, 2011**). Les quantités de contaminants ingérés peuvent être estimées à partir de leurs concentrations urinaires.

b)- Caractérisation des dangers

Elle s'appuie sur les normes telles que les doses sans effet observable, les doses journalières ou hebdomadaires tolérables (DJT, DHT), doses journalières admissibles (DJA) pour les substances ajoutées volontairement comme les additifs (pour des substances présentant des effets à seuil), établies à partir des études toxicologiques par différents organismes impliqués dans la législation. Dans le cas des substances présentant un effet sans seuil (cancérogènes, génoxiques), le principe ALARA (*As Low As Reasonably Achievable*) est appliqué. Les niveaux d'exposition obtenus des analyses sont comparés aux normes établies (**FAO/OMS, 2005**).

c)- Caractérisation du risque

Parmi les méthodes permettant une meilleure appréhension des risques inhérents à l'exposition figurent :

- la détermination de l'indice de risque sanitaire (IR) qui ne requiert pas de connaissance poussée sur la toxicologie d'un mélange de composés.
- la marge d'exposition (MoE) qui permet de comparer le risque présenté par la présence de différentes substances toxiques dans les aliments et de déterminer l'acceptabilité des risques pour les populations.
- la détermination de l'indice de risque global qui combine l'approche par marge d'exposition pour les contaminants avec différents facteurs d'incertitude (**US-EPA, 2000**).

Afin de répondre à notre préoccupation selon laquelle les populations camerounaises sont exposées à des contaminations multiples par les polluants environnementaux à des taux critiques, nous avons mené une étude épidémiologique visant à évaluer le risque sanitaire lié à l'alimentation à Yaoundé, ville cosmopolite ayant présenté des taux élevés de contamination

mycotoxinique (**Domngang *et al.*, 1988 ; Tchouanguép *et al.*, 1994 ; Tchana *et al.*, 2010**), par une approche déterministe (détermination des niveaux de consommation alimentaire et d'exposition) et par la recherche des biomarqueurs d'exposition dans les fluides biologiques usuels. Les contaminants retenus à cet effet sont les métaux lourds (Pb, Cd, Hg, Cu et Zn), le bisphénol A et les mycotoxines.



CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1- MATERIEL

II.1.1- Matériel biologique

Il est constitué :

- Des denrées alimentaires, les rations complètes, des boissons (eaux et jus) provenant des ménages et des restaurants de rues.
- Des urines et/ou sangs des personnes saines, hypertendues et/ou diabétiques.

II.1.2- Réactifs et matériel de laboratoire

Les réactifs utilisés ont été de grade supérieur provenant des firmes Sigma Aldrich (USA, Allemagne), Prolabo (France), Merck (Allemagne), Détroit R&D (Inc., (Etats-Unis), VWR (Belgique), *Romer Labs Diagnostic GmbH Tulln* (Autriche). Les méthodes de leur préparation, le matériel de laboratoire et l'appareillage sont indiqués à l'annexe 1.

Le matériel de laboratoire utilisé, autant que possible, a été spécifiquement traité (lavage et rinçage) avant et après chaque usage avec l'acide nitrique 10% (cas des métaux lourds) ou avec la solution sulfochromique 6,6% (cas du BPA) (au moins 12 heures immersion dans la solution et rinçage abondant avec de l'eau déminéralisée) afin d'éviter d'éventuelles contaminations.

II.2- METHODES

II.2.1- Cadre de l'étude

Pour la représentativité géographique, 23 quartiers dispersés dans les 7 communes d'arrondissement de la ville de Yaoundé (Région du Centre-Cameroun) ont été sélectionnés du fait qu'ils regorgent d'activités susceptibles de générer les pollutions et des restaurants de rue, pour l'évaluation de la contamination alimentaire (enquête et échantillonnage). L'étude a été réalisée entre Février et Mars 2013.

Les études de bio-évaluation des toxiques (collectes des sangs et urines) ont été réalisées à l'Hôpital Centrale de Yaoundé et à la clinique « Les Promoteurs de la Bonne Santé » de Yaoundé sis au quartier Ngoa-ékélé entre Août 2014 et Octobre 2014 et entre Décembre 2014 et Juillet 2015 où nous avons été reçus. De plus ces centres hospitaliers ont un profil évolutif de suivi des personnes souffrant de maladies non transmissibles.

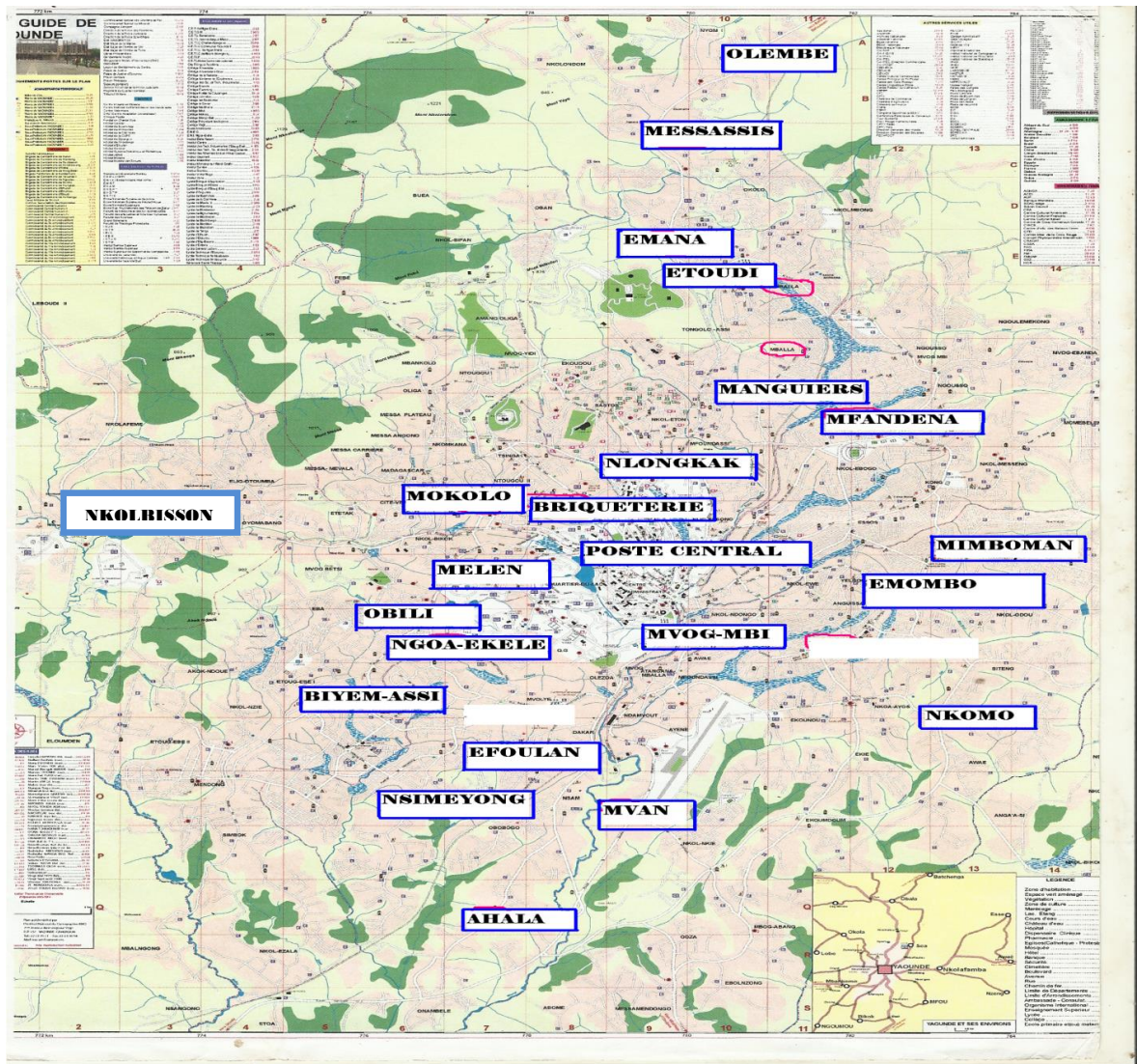


Figure 18 : Carte de Yaoundé présentant les zones d'enquête et de collecte des aliments (Source : Institut National de la Statistique du Cameroun).

II.2.2- Enquête épidémiologique

Cette étude, de type descriptif, transversale et analytique est basée sur une enquête alimentaire, sociale et sur les données cliniques et biologiques.

a)- Populations cibles

L'étude était ouverte aux hommes et femmes adultes potentiellement exposés aux polluants environnementaux de par leurs activités et/ou zones d'activité à risque et aux personnes souffrant de maladies non transmissibles ou non : Les participants étaient retenus sur la base des critères d'inclusion suivants :

- être âgé d'au moins 21 ans et résidant à Yaoundé depuis au moins 5 ans,

- exercer dans les petits métiers (commerçants, mécaniciens, tôliers, soudeurs, chauffeurs de taxi, informaticiens ...), étudiants, salariés (fonctionnaires, ...) et sans emploi,
- être déclaré diabétique, hypertendu ou bien portant (sujets témoins de même tranche d'âge que les malades),
- ayant signé le formulaire de consentement éclairé

Etaient exclus de l'étude, les individus :

- recevant un traitement médicamenteux pouvant influencer sur le système endocrinien,
- ayant des antécédents pancréatiques, pulmonaires, osseux et psychiatriques,
- immunodéficients, souffrant des maladies infectieuses chroniques ou présentant des troubles de nature urologique.

b)- Aspect déontologique et considération éthique

Le protocole d'étude a été approuvé par le Comité National d'Ethique de la Recherche pour la Santé Humaine du Cameroun – Clairance éthique N° 2013/05/252/CNERSH/SP (Annexe 2).

La participation des individus a été faite en respect des règles éthiques notamment le volontariat, la signature du consentement éclairé, la préservation de la santé des participants. Les données recueillies n'étaient pas nominatives. Les personnes ayant accès aux données ont été sensibilisées au respect des règles de confidentialité.

c)- Structure de l'entretien et centres d'intérêt

Dans les zones d'étude, les personnes approchées étaient instruites de la portée de l'étude, en mettant en relief la diversité des polluants alimentaires/environnementaux, les sources d'exposition, les voies d'imprégnation et les risques sanitaires y afférents, les mesures préventives dans l'intérêt d'une éventuelle amélioration de la qualité de vie (Notice d'information, Annexe 3).

d)- Collecte des informations

Un questionnaire consigné dans la fiche d'enquête (Annexe 4) a été élaborée en vue d'identifier les participants et de recueillir les informations sur leurs occupations (statut socioprofessionnel), les habitudes alimentaires (aliments couramment consommés, leurs modes de préparation), les lieux d'alimentation (maison, restaurants de rue) les proportions (quantités) d'aliments consommés et leur fréquence (jour/semaine/mois), l'utilisation des emballages plastiques et leur fréquence, le conditionnement (emballage) des'aliments, la

consommation des stimulants, les affections courantes, les antécédents médicaux et les données cliniques et biologiques (fournies par l'autorité médicale compétente). Une assistance était demandée à un membre de la famille ou garde-malade pour des personnes incluses qui avaient des difficultés de communication.

Les données recueillies ont pour but d'évaluer l'exposition des consommateurs aux métaux lourds et BPA.

II.2.3- Evaluation de la contamination des aliments consommés

a)- Choix des aliments et échantillonnage

Le choix des aliments a été basé sur la hiérarchisation des consommations alimentaires (disponibilité, coût, fréquence de consommation), telles qu'elles soient représentatives de la diète des populations enquêtées. L'échantillonnage a été réalisé dans les zones d'enquête (23 quartiers de Yaoundé) mises en relief précédemment à la figure 18. La méthode retenue a été celle du «repas dupliqué» qui consiste à prélever une portion identique à celle qui est effectivement consommée par les participants. Les aliments et composantes majeures, les rations complètes ou composites ainsi que les boissons (eaux et jus) ont été selon les cas obtenus des ménages ou achetés dans les lieux de restauration/approvisionnement des personnes interviewées, dans leur conditionnement (emballage) naturel. La nature des échantillons est consignée dans le tableau 5 et leurs compositions en annexe 5.

b)- Traitement des échantillons

Les aliments collectés ont été directement acheminés sous réfrigération au Laboratoire de Pharmacologie et Toxicologie de l'Université de Yaoundé I. Ils ont été pesés individuellement tels que consommés. Les aliments ont été broyés selon les cas (rations complètes ou plats composés) jusqu'à l'obtention d'une pâte homogène. Les aliquotes de 100 g ont été constituées et conservées à -20°C dans des flacons en verre hermétiquement fermés. De même 100 ml de boisson (jus et eaux) ont stockés dans les mêmes conditions pour des analyses ultérieures des métaux lourds et BPA.

Tableau 5 : Types d'échantillons collectés et leurs caractéristiques

Echantillons	Méthodes culinaires /Mode de stockage	Aliment de base	Nombre d'échantillons	Nombre de consommateurs
Couscous de maïs+sauce (gombo, choux, «djama-djama », « ndolè ^a »)	Bouilli/Plastique	Céréale (maïs)	12	205
Couscous de manioc + sauce (pistache ^a ,« eru ^a »)	Bouilli/Plastique	Tubercule (farine de manioc)	8	205
Macabo râpé + sauce d'arachide ^a	Bouilli/Plastique	Tubercule (macabo)	7	205
Riz + sauce (tomate, arachide)	Bouilli/Plastique	Céréale (riz)	22 (21)	145
Beignets	Frit/Plastique	Céréale (blé, Maïs)	12 (7)	188
Bouillie	Bouilli/Plastique	Céréale (maïs, riz) /légumineuse (arachide, haricot)	6	170
Haricot	Bouilli, frit/Plastique	Légumineuse (haricot) /tubercule (patate douce)	3	191
Poisson braisé+bâton de manioc	Braise/Plastique	Poisson,-tubercule (manioc)	5 (2)	107
Saucisson/pâté/jambon	Conserve/Boîte		4	23
Sardine	Conserve/Boîte		4 (2)	141
Tomate	Conserve/Plastique, Boîte		7 (3)	80
Lait (liquide)	Bouteille/Plastique		6 (4)	203
Huile raffinée /huile de palme	Bouteille/Plastique		6 (7)	196
Jus	Bouteille/Plastique		11 (12)	120
Eau minérale	Bouteille/Plastique		4 (3)	36
Eau en sachet	Sachet/Plastique		15 (16)	199
Eau du puits ^a	Sachet/Plastique		3	31
Eau de source	-/Plastique		8 (5)	31
Eau de robinet ^a	-/Plastique		7 (5)	251
Total			150 (130)	

^a: Echantillons provenant des ménages. Les nombres d'échantillons entre parenthèse sont spécifiques au BPA.

II.2.3.1- Analyse des métaux lourds alimentaires

a)- Minéralisation des échantillons

Les échantillons ont été minéralisés par voie humide à chauffage reflux (**Afri-Mehennaoui et Mehennaoui, 2004**). Cette méthode permet d'obtenir la matière minérale par oxydation complète de la matière organique sous l'effet de la chaleur et d'une combinaison d'acides concentrés.

Protocole de minéralisation

A 2 g d'aliment ou de jus introduit dans un ballon, sont ajoutés 20 ml de l'eau régale

(acide nitrique (75%) + acide chlorhydrique (36%) : 1:3 v/v). Le ballon est mis à chauffer dans un dispositif à reflux à 80°C jusqu'à obtention d'une solution claire qui marque la fin de la minéralisation (2-3 heures). Une fois refroidi, le minéralisât est filtré sur papier Whatman et transféré dans une fiole jaugée de 50 ml, puis ramené au trait de jauge avec de l'eau déminéralisée et conservé à +4°C en même temps que 50 ml de chaque échantillon d'eau non minéralisée. Les échantillons ont été minéralisés en double pour leur analyse en plomb (Pb), cadmium (Cd), mercure (Hg), cuivre (Cu) et zinc (Zn).

b)- Dosage des métaux lourds : plomb, cadmium, mercure, cuivre et zinc

Les métaux ont été dosés dans les minéralisâts par spectrophotométrie d'absorption atomique (Buck Scientific, In., Fort Point St., USA) (AOAC, 1997).

Principe

Lorsque les atomes d'un élément sont dispersés dans une flamme (1700 à 2550 °C), il se forme une vapeur atomique constituée d'atomes neutres, libres ou à l'état fondamental qui émettent des radiations de longueur d'onde déterminée. Si la lumière de raie recherchée est émise et passe à travers la flamme, les atomes vont absorber à la longueur d'onde λ qui leur est appropriée. La quantité de radiation absorbée est proportionnelle à la concentration de l'élément à doser dans la prise d'essai.

Protocole de dosage

Brièvement, une prise d'essai de minéralisât (25 ml) est introduite dans la flamme air-acétylène du spectrophotomètre où elle est vaporisée et atomisée. La lampe à cathode creuse est choisie en fonction de la longueur d'onde de l'élément à doser. Les longueurs d'onde de 288,8 nm, 217 nm, 253,7 nm, 324,8 nm et 213,9 nm ont été utilisées respectivement pour le Cd, Pb, Hg, Cu et Zn. La lampe à cathode qui éclaire la flamme communique la densité optique de l'élément contenu dans la flamme au dispositif électronique qui affiche la valeur obtenue en se plaçant à la longueur d'onde du métal à doser.

c)- Détermination de la teneur en métaux lourds des échantillons

La concentration du métal est lue après étalonnage de l'appareil avec les solutions standards de métaux de concentrations connues préparées à partir des solutions stocks de 1000 ppm soit: 2,5 ; 5,0 ; 10 ; 15 et 20 mg/kg pour le Pb, 5 ; 10 ; 15 ; et 20 mg/kg pour le Cd et le Hg, 1 ; 2 ; 3 ; 4 et 5 mg/kg pour le Cu et le Zn contre le blanc constitué d'une solution d'acide

nitrique 1%. Les courbes d'étalonnage des densités optiques en fonction de la concentration de chaque métal (Annexe 6) ont permis de déterminer la teneur (T) des métaux dans les échantillons selon la formule suivante :

$$T = \frac{(C_m - C_b) \times VT}{m}$$

Où T = Concentration finale du métal (mg/kg ou mg/l) ; C_m = Concentration en métal (mg/l) dans le minéralisât ; C_b = Concentration du métal dans le blanc (mg/l) ; VT = Volume total du minéralisât ; m = Masse (g) de l'échantillon.

II.2.3.2- Analyse du bisphénol A alimentaire

a)- Extraction du BPA des échantillons

Différents protocoles fournis avec le kit ELISA (Détroit R&D, Inc., Michigan États Unis) ont été utilisés pour l'extraction du BPA dépendamment de la nature de l'échantillon.

- **Extraction du BPA dans les aliments :** A 1 g d'aliment pesé dans un erlenmeyer, sont ajoutés 4 ml d'eau distillée. Après homogénéisation, une goutte d'acide acétique (99 %) y a été ajoutée suivi de 4 ml d'acétate d'éthyle pour extraire le BPA. L'ensemble a été vigoureusement agité au vortex, laissé au repos à température ambiante pendant 5 min puis centrifugé (3000 tours/min, 5 min). Le surnageant (phase organique) récupéré a été re-extrait deux fois de suite dans les mêmes conditions à l'acétate d'éthyle. Les différents extraits organiques ont été combinés et évaporés à sec sous hotte (BURDINOLA S.T. 1800). Les résidus d'extraction ont été conservés à -20°C pour le dosage ultérieur du BPA.

Les extraits huileux (échantillons d'huile et sardines) repris dans l'hexane ont été vigoureusement vortexés par intermittence pendant 2 heures et centrifugés (3000 tours/min, 5 min). La phase hexanique supérieure a été récupérée et ré-extraite 3 fois de suite avec l'acétonitrile selon la méthode décrite par Lim *et al.* (2009). Les phases inférieures (acétonitrile) ont été combinées et évaporées à sec sous hotte et les résidus d'extraction conservés à -20°C pour le dosage immunoenzymatique du BPA. Afin de valider la ré-extraction des résidus huileux, les prises d'essai des résidus huileux repris dans l'hexane ont été parallèlement enrichis de 100 µl de solution standard de BPA de 1000 pg/ml d'une part et 100000 µl/ml d'autre part et ré-extraits à l'acétonitrile comme précédemment. Les taux de récupérations ont varié de 95 à 99%.

- **Extraction du BPA dans les échantillons d'eaux :** Comme précédemment décrit, le BPA a été extrait de chaque échantillon d'eau (1 ml) 3 fois de suite avec 1 ml d'acétate d'éthyle.

- **Extraction du BPA dans les échantillons de jus :** A 1 g de jus contenu dans un erlen, ont été ajoutés successivement 3 ml d'eau distillée, 1 goutte d'acide acétique (99%). Après homogénéisation du mélange au vortex, l'extraction du BPA a été effectuée 3 fois de suite avec 4 ml d'acétate d'éthyle comme précédemment décrit.

b)- Détermination de la teneur en BPA des échantillons

Le BPA a été dosé enzymatiquement au moyen du kit ELISA (Bisphenol A ELISA kit - Détroit R&D, Inc., Michigan, États-Unis ; dont le contenu est indiqué à l'annexe 1) ayant une limite de détection de 1 pg/ml. Cette méthode utilise une phase hétérogène constituée d'une microplaque sensibilisée à l'anticorps anti-BPA.

Principe

Cette méthode est basée sur la compétition entre le BPA (échantillon ou étalon) et le BPA couplé à la peroxydase (Bisphénol A horseraperoxidase) (BPA-HRP) pour la fixation d'un nombre de sites limités d'anticorps anti-BPA fixés sur la microplaque de titration. Le BPA-HRP fixé est révélé par ajout du substrat chromogène, le tétraméthylbenzidine (TMB). Il se développe une coloration bleue qui vire au jaune en milieu acide et absorbe à 450 nm. L'intensité de la coloration est inversement proportionnelle à la quantité de BPA dans l'échantillon (Figure 19).

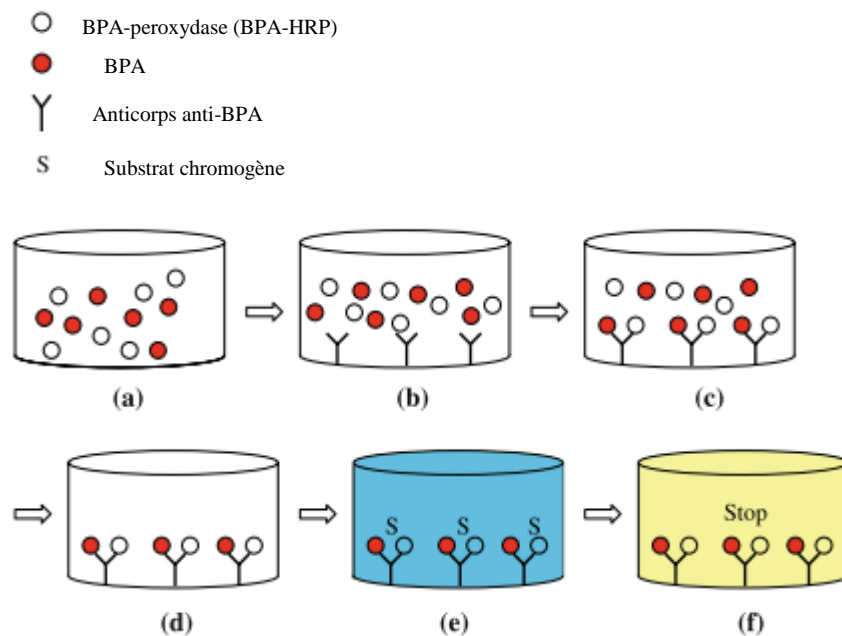


Figure 19 Principe de dosage du BPA par ELISA compétitif.

(a) Mélange BPA et BPA-conjugué à la peroxydase (BPA-HRP); (b) BPA et BPA-HRP en compétition pour la fixation sur l'anticorps ; (c) Fixation du BPA et BPA-conjugué sur l'anticorps; (d) Elimination des composés non fixés par lavage; (e) Coloration bleue développée suite à l'addition du substrat chromogène; (f) Coloration jaune développée suite à l'addition de la solution d'arrêt (Zheng *et al.*, 2006).

Protocole de dosage du BPA

Pour chaque série de titration, une gamme d'étalonnage de BPA (E1 → E6 : 1 ; 10 ; 100 ; 1000 ; 10000 ; 100000 pg/ml) est réalisée à partir d'une solution stock de 100000 pg/ml par dilution dans le tampon de dilution Tris salin fourni dans le kit. Tous les réactifs sont au préalable portés à température ambiante. Les solutions sont préparées extemporanément.

Les résidus d'extraction de chaque échantillon sont repris dans 20 µl d'éthanol (99%) auquel sont ajoutés 500 µl de tampon de dilution. Les différentes solutions étalons et d'échantillons sont disposés sur la plaque comme indiqué dans le tableau 7.

Tableau 6 : Distribution des étalons et extraits d'échantillons dans la microplaque

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BL	BL										
B	B0	B0										
C	E1	E1										
D	E2	E2										
E	E3	E3										
F	E4	E4										
G	E5	E5										
H	E6	E6										

E= Etalon. E1, 1 pg/ml ; E2, 10 pg/ml ; E3, 1000 pg/ml ; E4, 10000 pg/ml ; E5, 100000 V ; E6, 1000000 pg/ml

Blanc
 Fixation maximale du conjugué
 Etalons
 Echantillons

Cent µl de tampon de dilution ont été préalablement introduits dans les puits correspondant au blanc (B_L) et à la fixation maximale (B_O), suivi de cent µl de chaque standard et échantillon dans les puits appropriés. Par la suite, 100 µl du conjugué BPA-HPR ont été ajoutés dans les puits, exception faite des puits de blanc de réaction. Après 2 heures d'incubation à température ambiante (21- 27°C), la plaque a été vidée par retournement, lavée 3 fois de suite avec 400 µl de tampon de lavage au terme duquel elle a été essorée sur du papier adsorbant.

Le substrat TMB (200 µl) a été ensuite introduit dans chaque puits. Après incubation à température ambiante pendant 30 minutes, 50 µl de solution d'arrêt (acide sulfurique 2 N) sont y ont été ajoutés. L'intensité de la coloration jaune développée a été lue à 450 nm à l'aide du lecteur de plaque de microtitration (APPAR V-230). Les dosages ont été effectués en double.

Les pourcentages de fixation des étalons et des échantillons ont été déterminés selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage de fixation} \frac{B}{BO} = \frac{D.O \text{ étalon ou échantillon}}{D.O \text{ de fixation maximale}} \times 100$$

Une courbe d'étalonnage semi-logarithmique (Annexe 6) des pourcentages de fixation en fonction des différentes concentrations de BPA standard (Annexe 1) a permis de déterminer les teneurs en BPA des échantillons.

$$\text{Teneur en BPA (ng/g)} = FD \times [BPA]$$

Avec : FD : Facteur de dilution, [BPA] : Concentration de BPA (pg/ml) obtenue par projection. Les concentrations de BPA supérieures au seuil de quantification ont été enregistrées comme égales à ce seuil pour ne pas sous-évaluer les taux d'exposition.

II.2.3.3- Estimation de l'exposition des populations aux métaux lourds et BPA

a)- Estimation de l'apport journalier

Les denrées alimentaires ont été catégorisées en aliments, jus et eaux. L'apport journalier moyen a été calculé en multipliant la teneur en contaminant (métaux, BPA) d'un aliment par la quantité consommée et sa fréquence de leur consommation journalière (FAO/OMS, 2005). L'apport total a été ensuite obtenu en additionnant les apports de tous les aliments selon la formule suivante :

$$AJM = \frac{\Sigma (T \text{ aliment ou boisson} \times Q \text{ ingéré} \times F \text{ aliment ou boisson})}{30}$$

Avec : AJM : Apport journalier moyen (mg/j) ; T : Teneur en métal (mg/kg ou mg/l) ou BPA (ng/g) de l'aliment ou la boisson ; Q : Quantité d'aliment ou boisson consommée (g) ; F : Fréquence de consommation en jour (j).

b)- Estimation de la dose d'exposition journalière

La dose d'exposition dépend de l'apport journalier des aliments et du poids corporel de l'individu et déterminer comme suit :

$$DEJ = \frac{AJM}{pc}$$

DEJ : Dose d'exposition journalière ; pc : Poids corporel moyen d'un Africain établi à 60,7 kg par l'OMS (2005).

- **Contribution moyenne de chaque groupe de produit à l'exposition totale**

Elle a été déterminée en pourcent (%) comme suit :

$$\text{Contribution des aliments à l'exposition} = \frac{\text{Exposition au polluant (de l'aliment)}}{\text{Exposition totale au polluant}} \times 100$$

II.2.3.4- Caractérisation des risques sanitaires

Elle faite selon les méthodes recommandées par l'*United States Environmental Protection Agency* (US-EPA) (1989, 2000).

a)- Indice de risque sanitaire (IR)

Le risque est considéré comme un indicateur d'une issue sanitaire en relation avec la sécurité sanitaire des aliments. Le principe de base est que les composés du mélange aient au moins un mécanisme d'action commun ou un même organe cible (US-EPA, 1989, 2000). Il a été déterminé suivant cette équation :

$$\text{Indice de risque (IR)} = \frac{\text{DEJ moyenne contaminant}}{\text{PTDI} \times \text{Facteur d'incertitude}}$$

PTDI : Apport journalier provisoire tolérable.

Facteur d'incertitude = 1000. Il tient compte de la sensibilité particulière des individus (variabilité interindividuelle, la durée de l'étude, de la variabilité toxicodynamique et de la biodisponibilité chez l'homme).

Si $IR < 1$, l'exposition n'est pas jugée préoccupante.

Si $IR > 1$, l'exposition est déclarée à risque, mais sans qu'il soit possible de prédire la probabilité de survenue d'un événement.

En cas d'exposition à un mélange de substances toxiques, les indices peuvent être additionnés (US-EPA, 2000).

b)- Marge d'exposition (MoE)

L'approche de la marge d'exposition permet en outre de comparer le risque présenté par la présence de différentes substances toxiques dans les aliments et de déterminer l'acceptabilité des risques pour les populations. Lorsque $MoE > 100$, les risques sont considérées comme acceptables.

$$\text{Marge d'exposition (MoE)} = \frac{1}{IR}$$

La MoE combinée (MoEt) est l'inverse de la somme des inverses des marges d'exposition de chacun des composés, soit :

$$\text{Marge d'exposition combinée (MoEt)} = \frac{1}{\sum \left(\frac{1}{\text{MoE de chaque contaminant}} \right)}$$

De même, lorsque MoEt > 100, le risque est considéré comme acceptable. Plus MoEt est petit, plus le risque est élevé (US-EPA, 1989, 2000).

II.2.4- Recherche des biomarqueurs d'exposition dans le sang et les urines

L'évaluation a été faite chez les personnes saines, diabétiques et/ou hypertendus recrutées à l'Hôpital Centrale de Yaoundé et la clinique « Les Promoteurs de la Bonne Santé »-Yaoundé tel que mentionné dans les sections **II.2.1-** et **II.2.2-**.

II.2.4.1- Prélèvement et traitement du sang et des urines

● Prélèvement de sang et préparation du plasma

Environ 10 ml de sang veineux a été prélevé (par les infirmiers) chez chaque sujet dans un tube EDTA (Ethylène Diamine Tétra Acétique) entre 7 h et 10 h. Les prélèvements ont été transporté sous réfrigération au laboratoire Pharmacologie et Toxicologie de l'Université de Yaoundé I, laissés au repos à +4°C, pendant 2 heures à 4°C et centrifugé à +4°C (3000 tours/min, 15 min). Le plasma collecté a été conservé en aliquotes de 1 ml à -20°C pour le dosage du BPA.

● Prélèvement et traitement des urines

La méthode de collecte appliquée a été celle du spot urinaire, recueilli entre 7 h et 10 h dans des flacons en verre de 100 ml remis à cet effet à chaque participant. Ils ont été acheminés sous réfrigération au laboratoire Pharmacologie et Toxicologie de l'Université de Yaoundé I, puis centrifugés (3000 tours/minute, 5 minutes) à 4°C pour éliminer des déchets solides (cellules et impuretés) et conservés ensuite à -20°C en aliquotes de 5 ml pour le dosage ultérieur de la créatinine et du BPA, des mycotoxines et métaux lourds.

II.2.4.2- Analyse du bisphénol A

Cette étude porte sur les personnes saines diabétiques et hypertendues. La détermination du BPA dans le sang et les urine a été faite à l'aide du kit ELISA (Détroit R&D, Inc., Michigan-États-Unis) dont le contenu est indiqué en annexe 1.

a)- Extraction du BPA plasmatique

La méthodologie appliquée a été celle décrite dans le kit ELISA. A chaque échantillon de plasma (1 ml) préalablement ajusté à pH 4 avec de l'acide acétique (99%), a été ajouté 1 ml d'acétate d'éthyle. Le mélange a été homogénéisé au vortex et centrifugé à 22°C (2000

tours/min, 10 min). La phase organique supérieure a été collectée et transférée dans un tube en verre. La phase inférieure aqueuse a été ré-extraite deux fois de suite avec 1 ml d'acétate d'éthyle comme précédemment. Les différents extraits organiques ont été combinés, évaporés à sec sous hotte et les résidus d'extraction ont été conservés à -20°C pour le dosage ultérieur du BPA.

b)- Extraction du BPA urinaire

La méthodologie utilisée a été celle décrite dans le kit ELISA. A 250 µl de chaque échantillon d'urine ont été ajoutés 750 µl de tampon de dilution (fourni dans le kit ELISA). Le mélange a été homogénéisé et scindé en 2 aliquotes de 500 µl pour l'extraction du BPA libre et du conjugué BPA-glucuronide.

• Extraction du BPA libre

Dans le premier aliquote a été ajouté 125 µl de solution de β-glucuronidase (1mg/ml dans le tampon citrate 1 M, pH 5,5); suivi immédiatement de 500 µl d'acétate d'éthyle (extraction au temps 0). Le mélange a été vigoureusement agité au vortex et centrifugé à 22°C (4900 tours/min, 15 min). La phase organique supérieure (d'acétate d'éthyle) a été récupérée et mise dans un tube en verre sec trempé dans un bac à glace pour empêcher toute action enzymatique.

• Extraction du BPA conjugué

Dans le second aliquote, a été ajouté 125 µl de solution enzymatique, homogénéisé au vortex, puis incubé à 37°C sous agitation continue pendant 3 heures. Le BPA a été extrait avec 500 µl d'acétate d'éthyle et l'opération s'est poursuivie comme précédemment décrite. Tous les extraits organiques (BPA libre et conjugué) ont été combinés et évaporés à sec sous hotte. Les différents résidus d'extraction ont été conservés à -20°C pour le dosage du BPA.

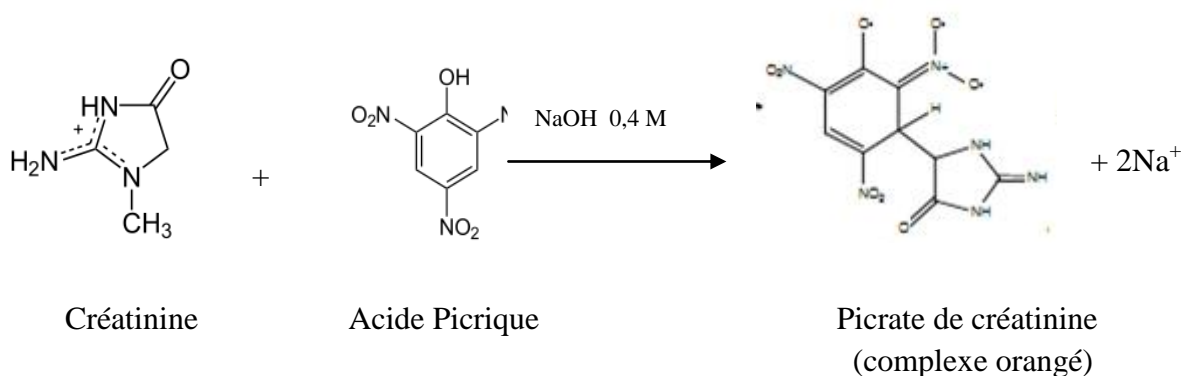
c)- Dosage du BPA dans le plasma et les urines

i)- Dosage de la créatinine urinaire

La créatinine a été dosée selon la méthode de Bartels *et al.*, (1972).

Principe

En milieu alcalin, la créatinine forme avec l'acide picrique un complexe créatinine-picrate jaune orangé qui absorbe à 492 nm. L'intensité de la coloration développée est proportionnelle à la concentration de la créatinine dans le milieu réactionnel.



Mode opératoire

Dans un tube ont été introduits 1 ml de solution de travail (acide picrique 8,8 mM dans NaOH 0,4 M) et 100 µl d'étalon de créatinine (15 mg/l) ou d'échantillon d'urine dilué 10 fois. L'eau distillée a été utilisée pour la mesure du blanc. Après homogénéisation au vortex, les densités optiques ont été lues à 492 nm après 20 et 80 secondes. Les dosages ont été réalisés en triple. La formule suivante a permis de déterminer la concentration de la créatinine.

$$[\text{Créatinine}] (\text{mg/l}) = \frac{\Delta\text{DO échantillon}}{\Delta\text{DO étalon}} \times [\text{étalon créatinine}]$$

$\Delta\text{DO} = \text{DO} (80 \text{ secondes}) - \text{DO} (20 \text{ secondes})$

ii)- Dosage du BPA dans le plasma et les urines

Le BPA a été dosé enzymatiquement par ELISA. Le principe, la procédure de dosage et de détermination de la concentration ont été décrits en section **II.2.4.2- ; b)**. Les dosages ont été effectués en double.

Expression de la teneur en BPA total dans les urines

La concentration de BPA total urinaire obtenue à partir de la courbe d'étalonnage (Annexe 6) a été ajustée à la concentration de la créatinine urinaire (annexe 7) (**LaKind et Naiman, 2008**) selon la formule suivante :

$$[\text{BPA} - \text{U}] (\mu\text{g/g de créatinine}) = \frac{[\text{BPA}]_{\text{total}} (\mu\text{g/l})}{[\text{Créatinine}] (\text{g/l})}$$

d)- Estimation de la consommation journalière prédite de BPA (DEJp)

Les données toxicocinétiques du BPA chez l'homme ont montré que le BPA est en majorité éliminé dans les urines sous forme de BPA-glucuronide et que son élimination

complète a lieu en 24 h (**Dekant et Völkel, 2008 ; Thayer et al., 2015**). Par ailleurs, la concentration de BPA total dans un spot urinaire a été démontrée similaire à celle des urines de 24 h. Ajustée à la créatinine, cette concentration est assimilée à l'apport journalier moyen de BPA dans l'estimation d'une exposition alimentaire (**LaKind et Naiman, 2008 ; Christensen et al., 2012**). La quantité prédite de BPA ingérée quotidiennement par les participants a été de ce fait déterminée en appliquant la formule suivante :

$$[DE]p = \frac{[BPA - U]}{p.c}$$

[DE]p: Dose d'exposition journalière prédite de BPA ($\mu\text{g}/\text{kg p.c}/\text{j}$).

[BPA-U] : Concentration urinaire de BPA ($\mu\text{g}/\text{g}$ de créatinine)

p.c : poids corporel moyen (60,7 kg) d'un Africain adulte (**OMS, 2005**).

II.2.4.3- Recherche des biomarqueurs de mycotoxines et des métaux lourds

Cette évaluation a été faite dans les urines des personnes saines et hypertendues recrutées à la clinique «Les Promoteurs de la Bonne Santé» de Yaoundé selon les principes mentionnés en **II.2.2-**.

a)- Analyse des mycotoxines urinaires

L'analyse des mycotoxines dans les échantillons d'urine collectés a été effectuée au Centre de Chimie Analytique du Département d'Agro-Biotechnologie - Université des Ressources Naturelles et des Sciences de la Vie de Vienne en Autriche.

i)- Extraction des mycotoxines dans les échantillons d'urine

Les échantillons d'urine congelés ont été équilibrés à température ambiante et centrifugés (5600 tours/min, 3 min) pour éliminer les déchets solides. Cinq cent μl de surnageant ont été mis à incuber à 37°C avec 500 μl de tampon phosphate (200 mM, pH 7.4) contenant 3000 U de β -glucuronidase pour la déconjugaison des mycotoxines-glucuronides, pendant 16 h de temps (**Turner et al., 2010**). Ensuite, on fait passer 1 ml de ce mélange sur une colonne Oasis PRiME HLB® SPE (Waters, Milford, MA) pré-équilibrée avec 1 ml de méthanol (MeOH) et 1 ml de H_2O distillée. Après 3 lavages de la colonne avec 500 μl de H_2O distillée, les mycotoxines sont éluées 3 fois de suite avec 200 μl d'acétonitrile. Les éluats recueillis ont été évaporés à sec sous courant d'azote à température ambiante et reconstitués

avec 470 µl de solvant de dilution (ACN 10%, HAc 0,1%) auquel sont ajoutés 30 µl de d'étalon interne (solution de travail multi-standard dont la préparation est indiquée en Annexe 1) pour le dosage ultérieur des mycotoxines (Sarkanj *et al.*, 2018).

ii)- Dosage des mycotoxines dans les urines par UHPLC-ESI-MS/MS

Le système de chromatographie liquide ultra haute performance UHPLC (Agilent 1290 ; Waldbronn, Allemagne) couplé à la spectrométrie de masse en tandem MS/MS (Sciex QTrap®6500 ; Foster City, CA) équipé d'une source d'ionisation par pulvérisation électrique ou électronébulisation (ESI) (Turbo V) a été utilisé pour la détection des mycotoxines (Sarkanj *et al.*, 2018).

Principe du système UHPLC-ESI- MS/MS

- La chromatographie liquide est une méthode de séparation des composés d'un mélange sur une colonne ici en phase inverse (phase stationnaire non polaire et solvant polaire). Injecté à l'entrée de la colonne, ce mélange est dilué dans la phase mobile qui l'entraîne à travers elle sous une pression bien définie. Les solutés dans la phase mobile sont inégalement retenus par la phase stationnaire dans la traversée de la colonne.

- L'ionisation par électronébulisation (ESI) est une méthode d'obtention des ions de phase liquide dans la phase gazeuse pour qu'ils puissent être échantillonnés par le spectromètre de masse. L'électronébulisation peut opérer en mode positif ou négatif.

- La spectrométrie de masse tandem (mode MS/MS) permet la fragmentation d'un analyte en ions par collision sur des molécules de gaz située dans une chambre de collision. Ce mode permet d'obtenir des informations quant à la structure et la stabilité en phase gazeuse de l'ion sélectionné. Le principe du spectromètre de masse réside dans la séparation des molécules chargées (ions) en fonction de leur rapport masse/charge (m/z). Les composés ont des modèles de fragmentation distincts qui fournissent des informations structurelles pour les détecter de façon spécifique.

Protocole de dosage des mycotoxines par le système UHPLC-MS/MS

L'analyse des échantillons a été faite selon la méthode décrite par Sarkanj *et al.*, (2018). Brièvement, les analytes d'intérêt ont été séparés à 35°C sur une colonne Atlantis T3 HSS (2,1 x 100 mm, Waters, Wexford, Irlande dont la taille de particule est de 1,8 µm). L'éluant A (eau distillée) et l'éluant B (ACN) ont tous été acidifiés avec l'acide acétique 0,1%. Les gradients de solvants sont obtenus en faisant varier la proportion des solvants A et B.

Après une période initiale de 2 min à 90% A, le pourcentage de B est augmenté linéairement à 50% jusqu'à la minute 15. Ensuite, l'éluant B est ramené à 95% jusqu'à la min 18 où un temps de rétention de 4 min est observé, puis la colonne est rééquilibrée avec l'éluant A à 90% pendant 3 min. Le débit des solvants a été de 100 µl/min. Après injection de 10 µl (étalon ou échantillon), la boucle d'injection est lavée pendant pour minimiser le transfert. L'effluent de la colonne a été transféré soit vers le spectromètre de masse pour être analysé (minutes 5 à 22,5) soit vers les déchets via une vanne à six voies.

L'ESI-MS/MS a été effectué en mode de surveillance de réactions multiples programmées (sMRM), avec une fenêtre de détection de 180 secondes dans des polarités tant positives que négatives en réalisant pour chaque analyte deux réactions de fragmentation (transitions individuelles) contrôlées. Un essai chromatographique consistait en deux expériences MS/MS où les deux modes d'ionisation fonctionnaient simultanément en utilisant un changement rapide de polarité.

Toutes les mesures ont été effectuées dans les conditions suivantes : température de 550°C, pression de gaz de séparation 30 psi (69 kPa d'azote maximum, 99,5% d'azote), pression de gaz d'ions 1 (gaine gazeuse) 80 psi (345 kPa d'azote), pression de gaz d'ions 2 (gaz de séchage) 80 psi (345 kPa d'azote), gaz de collision élevé (azote), tension de pulvérisation ionique en mode négatif réglée à -4500 V et 4500 V en mode positif.

iii) Détermination quantitative des mycotoxines

Chaque mycotoxine présente dans les échantillons a été quantifiée en comparant son pic à ceux des standards correspondants. Cette quantification a été faite en utilisant comme blanc de réaction, des urines vierges auxquelles a été ajouté un mélange de mycotoxines de concentrations connues (EC, 2002). Les concentrations à injecter ont été sélectionnées en prenant en compte la gamme d'étalonnage (calibrage), les limites de détection (LOD) et quantification (LOQ) de chaque analyte. Ces valeurs limites ont été respectivement calculées sur la base d'un rapport signal sur bruit (S/N) de 3: 1 et 10: 1 à partir de chromatogrammes d'urine enrichis en utilisant l'Analyst® S-to-N-Script. Le rendement apparent (RA) a été calculé selon la formule suivante (Malachova *et al.*, 2014):

$$RA (\%) = \frac{\text{Surface moyenne pic échantillon}}{\text{Surface moyenne pic du solvant de dilution des standards}} \times 100$$

iv) Estimation de la dose d'exposition journalière des mycotoxines

L'estimation de l'exposition journalière des participants aux mycotoxines a été faite à partir de leurs concentrations urinaires et en se basant sur les données de la toxicocinétique des mycotoxines (**Gambacorta et al., 2013**). L'équation suivante a été appliquée (**Solfrizzo et al., 2014**).

$$DEJ \text{ mycotoxine} = \frac{C \times V}{\text{Poids corporel} \times E}$$

Avec, DEJ : Dose d'exposition journalière prédite estimée ($\mu\text{g/kg}$ de poids corporel/j).

C : Concentration urinaire du biomarqueur d'exposition

V : Volume urinaire de 24 heures. Le volume moyen de 1500 ml/j pour un adulte standardisé par la *International Commission on Radiological Protection's* (ICRP) (2002) a été utilisé.

E : Taux d'excrétion urinaire moyen de la mycotoxine sur 24 h. Le poids corporel moyen 70 kg a été utilisé.

b)- Analyse des métaux dans les urines

L'analyse des métaux dans les échantillons d'urine collectés a été effectuée au Laboratoire de Toxicologie du Département des Sciences Vétérinaires et de l'Environnement de l'Ecole de Médecine Vétérinaire de l'Université d'Hokkaido au Japon.

Les matériels et instruments de laboratoire utilisés ont été lavés avec de l'acide nitrique à 2% (HNO_3) et rincés abondamment à l'eau distillée pour éviter toute contamination.

i)- Digestion des échantillons d'urine

La méthode utilisée a été celle décrite par Nakagawa *et al.* (2003). Les échantillons d'urine (1 ml) ont été séchés pendant 48 h dans une étuve à 50°C. Ces derniers ont été placés dans des récipients de digestion prélavés, puis digérés en utilisant 6 ml d'acide nitrique 60% et 1 ml de peroxyde d'hydrogène 30%. Les tubes de digestion ont été bouchés et placés sur une plaque tournante à 10 positions, puis soumis à un système de digestion par micro-ondes avec programmation graduelle de chauffage jusqu'à 200°C (Speed Wave MWS-2, Berghof, Allemagne). Après refroidissement, les solutions digérées ont été transférées dans des tubes gradué de 15 ml et ajustées à un volume final de 10 ml avec de l'eau bidistillée pour le dosage des métaux.

ii)- Dosage des métaux par ICP-MS

Les concentrations des métaux ont été déterminées par spectrométrie de masse à plasma inductif (ICP-MS: série 7700, Agilent Technologies, Tokyo, Japon). C'est une technique d'analyse multi-élémentaire reposant sur la séparation, l'identification et la quantification des éléments constitutifs d'un échantillon en fonction de leur masse.

• Principe du système ICP-MS

Cette technique est basée sur l'analyse de radiations émises par des atomes excités au contact du plasma. L'échantillon injecté dans le système génère des ions au niveau du plasma porté à 6000-8000°C, par nébulisation. Le spectromètre de masse qui reçoit les radiations émises sépare ces ions en fonction de leur rapport masse/charge.

Le contrôle de qualité analytique a été effectué à l'aide des matériaux de référence certifiés DORM-3 (protéines de poisson, Conseil national de recherches du Canada, Ottawa, Canada) et DOLT-4 (foie de chien de mer, Conseil national de recherches du Canada). L'analyse répétée de ces matériaux de référence a montré de bonnes récupérations (95% à 105%) avec une limite de détection de 0,001 µg/l. Les résultats obtenus du spectromètre ont été calculés en mg/l. Les échantillons ont été analysés en double.

II.2.5- Analyses statistiques des données

Les données issues des enquêtes et des prélèvements ont été saisies sur Microsoft Excel 2007. Le logiciel *Statistical Package for Social Sciences* (SPSS) version 20.0 a été utilisé pour analyser les données de consommation alimentaire, de la bio-évaluation du BPA. Les données de consommation issues du questionnaire de fréquence ont permis par croisement avec les teneurs des contaminants dans les aliments de calculer la dose d'exposition journalière (DEJ) et de caractériser les risques liés à la consommation. Les logiciels MedCalc version 14 et GRAPHPAD INSTAT ont permis l'analyse des données liées aux mycotoxines et métaux lourds urinaires. La distribution normale a été examinée par le test de Kolmogorov-Smirnov. La comparaison des variables non paramétriques a été faite au moyen des tests de Mann-Whitney U, Kruskal-Wallis. Le test *t* de Student et ANOVA à un facteur ont permis d'analyser les données ayant une distribution normale. Les associations entre les teneurs en contaminants et les différents groupes ont été examinées par les tests de Khi-deux et Pearson. Les valeurs $p < 0,05$ ont été considérées comme statistiquement significatives.



CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSIONS

III.1. RESULTATS

III.1.1- Evaluation de l'exposition alimentaire aux métaux lourds et BPA

III.1.1.1- Caractéristiques de la population d'étude

• Les caractéristiques de base de la population d'étude (n =251, 21-65 ans) est indiquée dans le tableau 7. Cette population est constituée à 70% des personnes exerçant dans le secteur informel (commerçants, mécaniciens, tôliers, soudeurs, chauffeurs de taxi, informaticiens...) s'alimentant en majorité (76%) à la fois dans les ménages et restaurants de rue, suivis des étudiants. des étudiants (16%), salariés (12%) et autres (3%). On note une corrélation significative (p = 0,001) entre le statut professionnel et le lieu de restauration (Kamnang, 2013 ; Maliedje, 2013). La fréquence de consommation des stimulants (bières, whisky, thé et café) est statistiquement plus marquée dans le groupe des petits métiers.

Tableau 7 : Caractéristiques générales de la population d'étude

Caractéristiques	Hommes (n =195)	Femmes (n = 56)	Groupes socioprofessionnels* (%)				Total (n = 251)
			Salariés (n = 29)	Etudiants (n = 39)	Petits métiers (n = 176)	Autres (n = 7)	
Age (ans)	21-61	21-61	24 – 55	21 – 38	21 – 65	21 – 61	21-- 65
Moyenne	29,93	29,77	32,62	25,15	30,21	37	29,89
Lieux de restauration*							
Ménage (%)			11 (38)	16 (33)	18 (10)	3 (43)	49 (19,52)
Restaurants de rue (%)			5 (17)	2 (5)	25 (14)	1 (14)	33 (13,15)
Restaurants de rue /ménage (%)			13 (45)	21 (54)	133 (76)	3 (43)	169 (67,33)
Consommation de stimulants : Nombre - fréquence (%)							
Bière ¹			17 (7,9)	23 (11,95)	77 (55,38) ^{a, c, d}	2 (4,38)	119 (47,4)
Whisky ²			8 (4,78)	6 (7,97)	33 (47,8) ^{b, d}	3 (4,38)	50 (19,92)
Thé ³			9 (5,97)	22 (8,76)	100 (39,84) ^c	5 (4, 38)	136 (54,2)
Café ⁴			3 (3,98)	5 (7,96)	55 (21,91) ^d	4 (1,59)	67 (26,7)

La proportion des participants consommant les stimulants est calculée selon la formule $(n \times 100)/N$ (US EPA, 2000), où N représente la taille de la population et n la fréquence absolue de la caractéristique d'intérêt. ^a : Significatif comparé aux valeurs de 1 ; ^b : Significatif lorsque comparé aux valeurs de 2 ; ^c : Significatif lorsque comparé aux valeurs de 3 ; ^d : Significatif comparé aux valeurs de 4. Test de Kruskal-Wallis. Significatif (p < 0,05). * : Corrélation significative entre lieu de restauration et statut professionnel (p=0,001).

• L'utilisation du matériel à risque pour la cuisson, la gestion des aliments au sein de la population reste statistiquement identique (Tableau 8).

Tableau 8 : Profil d'utilisation du matériel potentiellement à risque par la population d'étude

Utilisation du matériel à risque	Population (%)	Fréquence absolue* (%)
Emballage plastique	251 (100)	100
Cuisson dans le plastique	114 (45,42)	84,86
Cuisson dans la cocotte	251 (100)	100
Emballage repas chaud dans le plastique	251 (100)	74,10
Réchauffage repas dans le plastique	117 (46,61)	77,1
Conservation dans la matière plastique	251 (100)	92,82
Consommation dans la matière plastique	250 (100)	100
Consommation d'aliments en cannette	221 (88,04)	79,68

* : Fréquence d'utilisatin par mois

III.1.1.2- Teneurs en métaux lourds et BPA des aliments

Le Pb a été détecté dans 93% d'échantillons (0,019-1,77 ppm) suivi du Cu 91% (0,01-4,68 ppm), Zn 88% (0,014-2447,04 ppm), Hg 81% (0,03-10,56 ppm), Cd 70% (0,01-4,68 ppm) et le BPA dans 99,23% d'échantillons (0,007-52 ppb). Le nombre moyen de contaminants par échantillon est de 4,96. Environ 52,7% d'échantillons contiennent concomitamment le Pb, Cd, Hg et BPA.

La figure 20 présente le profil de contamination des échantillons provenant des ménages et restaurants de rue. Seule la fréquence de contamination en Cd diffère dans les deux sites ($p < 0,05$). La figure 21 montre les profils de contamination des échantillons d'eau, jus et aliments par les métaux lourds et BPA. On note une différence de prévalence du Pb et Zn dans les aliments, Cd et Cu dans les jus et les aliments.

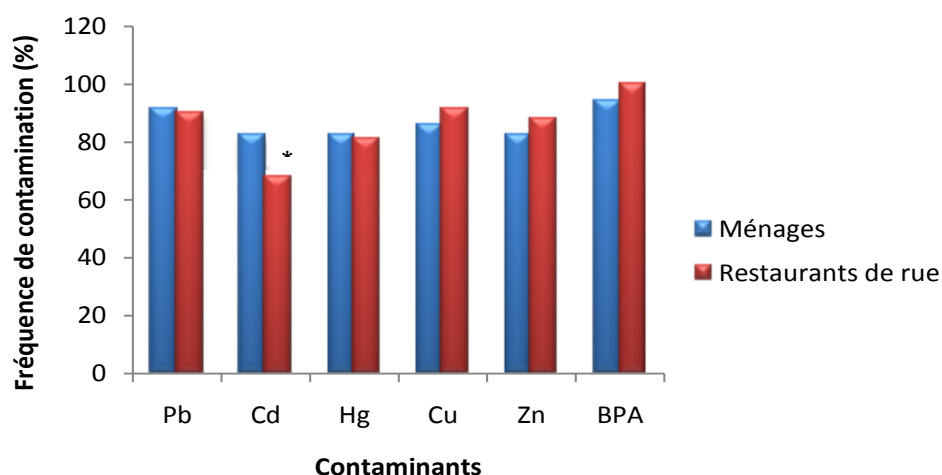


Figure 20 : Profil de contamination des échantillons issus des ménages et restaurants de rue.

* : Différence significative par rapport au lieu de restauration ($p < 0,05$). Test de Mann-Withney.

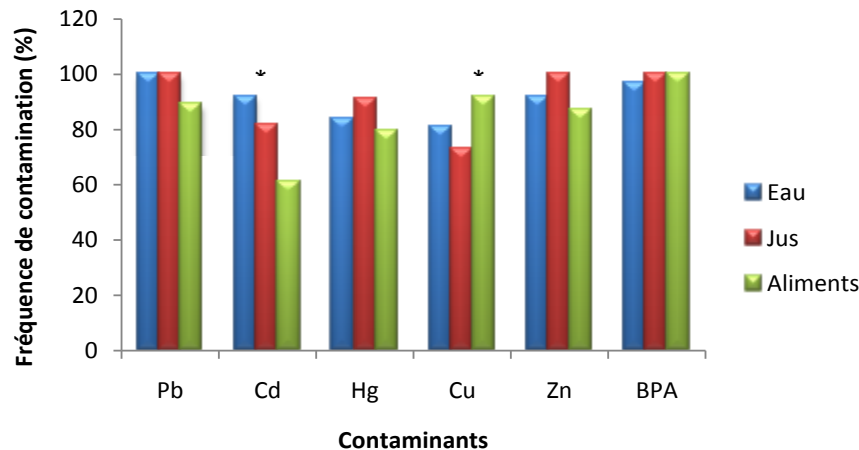


Figure 21: Profil de contamination des différents groupes d'échantillons.

* : Fréquence significativement différente du Cd des aliments et du Cu des aliments par rapport aux jus à $p < 0,05$.

Les concentrations moyennes des métaux lourds et BPA en fonction des lieux de restauration et groupes d'échantillons sont présentées dans le tableau 9. Les valeurs les plus élevées ont été retrouvées dans les échantillons de rue. Seules les teneurs en Pb, Cu et Zn ont varié significativement ($p = 0,001$).

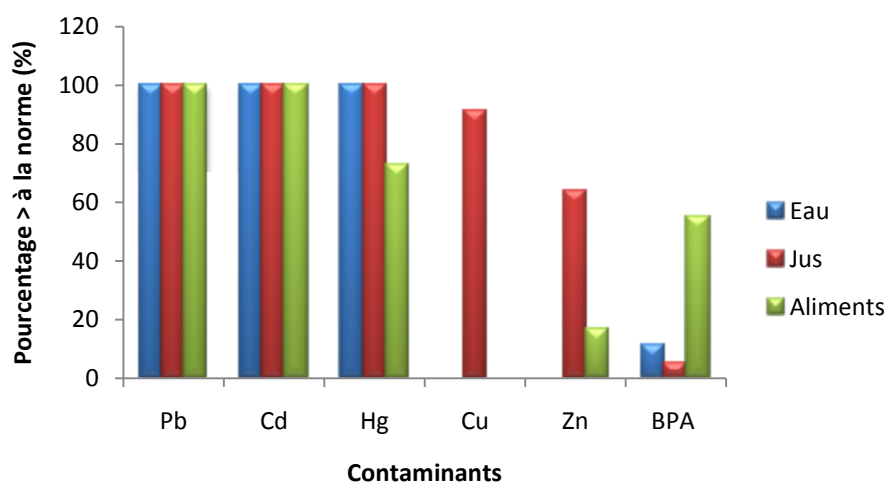
Concernant les échantillons d'eau, la concentration maximale de Pb (0,9 ppm) a été détectée dans l'eau minérale, celle du Cd (0,58 ppm), Hg (1,13 ppm), Cu (2,02 ppm), Zn (0,41 ppm) dans l'eau en sachet et BPA (52 ppb) dans les eaux du robinet (moyenne, 21,79 ppb). Les teneurs moyennes ne diffèrent pas significativement au sein d'un groupe d'échantillon ($p > 0,05$).

Concernant les jus, aucune différence n'a été observée entre les teneurs moyennes en contaminants ($p > 0,05$). Les teneurs maximales de Cd (4,68 ppm), Hg (0,83 ppm), Cu (40,32 ppm), Zn (16,71 ppm) ont été retrouvées dans les échantillons conditionnés dans les bouteilles plastiques et celles du Pb (1,34 ppm) et BPA (3,25 ppb) dans ceux contenus dans les sachets.

Dans les aliments, les teneurs en Pb (0,02 - 1,77 ppm), Cu (0,03 - 38,56 ppm), Zn (1,73 - 2447,04 ppm) et BPA (0,0007 - 52 ppb) ont varié significativement ($p < 0,05$) (Tableau 9). Le taux le plus élevé de Pb (1,77 ppm) a été retrouvé dans l'huile raffinée, celui du Cd (3,5 ppm) dans les composites de couscous de maïs/*ndolè*, Hg (10,56 ppm) dans le macabo râpé/sauce arachide, Cu (38,56 ppm) dans le couscous de manioc/sauce pistache, Zn (2447,04 ppm) dans le *water fufu/eru* et BPA (52 ppb) dans le jambon, sardine, tomate en sachet, les composites de maïs/*ndolè*, maïs/gombo, macabo râpé/sauce arachide, riz/sauce

arachide et haricot frit. On a observé une différence significative ($p < 0,05$) entre les teneurs en Pb, Cu, Zn et BPA.

Les niveaux de contamination des échantillons d'eau et d'aliments par le cuivre et ceux du zinc dans les échantillons d'eau ont été inférieurs aux normes (WHO/EC, 2006) tel qu'indiqué à la figure 22.



		Pb	Cd	Hg	Cu	Zn	BPA
Normes	Eau	0,01*	0,003*	0,001*	2*	3*	0,6**
	Jus	0,05*	0,4-0,5*	0,01*	5*	5*	
	Aliments	0,1*	0,05*	0,1*	100*	300*	

*: WHO/EC (2006), **: Limite de migration spécifique (Commission Européenne, 2004).

Figure 22 : Pourcentage d'échantillons ayant des teneurs en contaminants supérieures aux valeurs tolérées.

Tableau 9: Profil des concentrations des métaux lourds et BPA dans les lieux de restauration et groupes d'échantillons.

Variantes Métaux /BPA	Contaminants	Pb (ppm)	Cd (ppm)	Hg (ppm)	Cu (ppm)	Zn (ppm)	BPA (ppb)
Echantillons analysés (n=150/130)	Positif (%)	139(93)	105(70)	122(81)	135(90)	131(87)	129(99,23)
	Min-Max (ppm)	0,019-1,77	0,01-4,68	0,03-10,56	0,004-40,32	0,014-2447,04	0,007-52
	Moyenne	0,47	0,67	0,45	8,41	126,16	12,03
Lieux de restauration							
Ménages (n=22/16)	Positif (%)	20(91)	18(82)	18(82)	19(86)	18(82)	15(93,75)
	Min-Max (ppm)	0,02-1,22	0,02-0,97	0,04-0,92	0,02-17,64	0,02-557,2	0,13-52
	Moyenne	0,21	0,18	0,36	1,95	27,44	19,92
Restaurants de rue (n=128/114)	Positif (%)	115(90)	87(68)	104(81)	116(91)	113(88)	114(100)
	Min-Max (ppm)	0,019-1,77	0,01-4,68	0,03-10,56	0,004-40,32	0,014-2447,04	0,0074-52
	Moyenne	0,5	0,76	0,46	9,51	143,12	10,59
	<i>Valeur-P</i>	<i>0,001</i>	<i>0,054</i>	<i>0,559</i>	<i>0,001</i>	<i>0,001</i>	<i>0,742</i>
Groupes d'échantillons							
Eau (n=37/32)	Positif (%)	37(100)	34(91,9)	31(83,8)	30(81)	34(91,9)	31(96,87)
	Min-Max (ppm)	0,019-0,9	0,01-0,58	0,03-1,13	0,004-2,02	0,014-0,41	0,13-52
	Normes	0,01*	0,003*	0,001*	2*	3*	0,6**
	Moyenne	0,19	0,14	0,38	0,13	0,1	10,39
	<i>Valeur-P</i>	<i>0,334</i>	<i>0,184</i>	<i>0,198</i>	<i>0,116</i>	<i>0,247</i>	<i>0,301</i>
Jus (n=11/12)	Positif (%)	11(100)	9(81,81)	10(90,9)	11(100)	8(72,72)	100(100)
	Min-Max (ppm)	0,18-1,34	0,6-4,68	0,03-0,83	2,29-40,32	3,31-16,71	0,287-3,25
	Norme	0,05*	0,4-0,5*	0,01*	5*	5*	0,6**
	Moy ± SD	0,85	1,71	0,35	18	7,36	1,017
	<i>Valeur-P</i>	<i>0,361</i>	<i>0,408</i>	<i>0,522</i>	<i>1</i>	<i>0,357</i>	<i>0,435</i>
Aliments (n=102/86)	Positif (%)	91(89,21)	62(60,78)	81(79,41)	94(92,15)	89(87,25)	86(100)
	Min-Max (ppm)	0,2-1,77	0,13-3,5	0,03-10,56	0,03-38,56	1,73-2447,04	0,007-52
	Norme	0,1*	0,05*	0,1*	100*	300*	0,6**
	Moyenne	0,54	0,76	0,49	10,36	184	13,45
	<i>P-value</i>	<i>0,001</i>	<i>0,582</i>	<i>0,488</i>	<i>0,033</i>	<i>0,001</i>	<i>0,001</i>

Min : Minimum. Max : Maximum. Tests de Kruskal-Wallis et Mann-Whitney U ; significativement différent à $p < 0,05$. *: Norme établie par WHO/EC (2006).

** : Limite de migration spécifique (Commission Européenne, 2004). (Kamngang, 2014 ; Maliedje, 2014).

III.1.1.3- Teneurs en métaux lourds et BPA des aliments en fonction du conditionnement

Les teneurs en métaux lourds et BPA des échantillons en conserve et ceux contenus les emballages plastiques ont varié significativement ($p < 0,05$) en ce qui concerne le Pb, Cu, Zn, et BPA. Les valeurs les plus élevées ont été retrouvées dans les échantillons conditionnés dans la matière plastique (Tableau 10).

Tableau 10 : Teneurs en métaux lourds (ppm) et BPA (ppb) des aliments en fonction de l'emballage.

Polluant	Type d'emballage	Positif	Min	Max	Moyenne	Valeur-p
Pb	Plastique (n=133)	119	0,19	1,77	0,43	0,027
	Conserve (n=17)	16	0,02	1,7	0,74	
Cd	Plastique (n=133)	95	0,1	4,67	0,69	0,845
	Conserve (n=17)	10	0,19	1,82	0,57	
Hg	Plastique (n=133)	110	0,03	10,56	0,47	0,325
	Conserve (n=17)	12	0,03	1,7	0,30	
Cu	Plastique (n=133)	118	0,004	40,32	7,64	0,001
	Conserve (n=17)	17	2,93	30,73	14,32	
Zn	Plastique (n=133)	114	0,14	2447,04	119,31	0,001
	Conserve (n=17)	17	16	670	179,72	
BPA	Plastique (n=121)	120	0,007	52	9,50	0,009
	Conserve (n=9)	9	0,1066	52	39,91	

Min: Minimum. Max: Maximum. Test de Mann-Withney. Significatif à $p < 0,05$.

III.1.1.4- Estimation du niveau d'exposition aux métaux lourds et BPA

a)- Estimation des apports journaliers des métaux lourds et BPA

Les apports journaliers moyens (AJM) en métaux lourds et BPA estimés par groupe d'échantillons sont présentés dans le tableau 11. Une différence significative ($p < 0,05$) a été observée via la consommation d'eau entre l'AJM du mercure (0,19 mg/j) et les AJM du Pb (0,09 mg/j), Cd, Cu et Zn (0,07 mg/j), et aucune à travers les jus et les aliments ($p > 0,05$). Les apports journaliers moyens du Cd, Cu et Zn à travers les jus et les aliments ont été significativement différents ($p < 0,05$) de ceux du Pb et Hg. Par ailleurs la différence entre les

AJM de BPA à travers l'eau (5,65 mg/j) et les aliments (1548,6 mg/j) a été très significative ($p = 0,001$) comparée à l'apport des jus (0,073 mg/j).

Les apports journaliers moyens (AJM) les plus élevés en Pb (0,96 mg/j) et Hg (1,84 mg/j) ont été pourvus par l'eau de robinet, alors que ceux du Cd (1,15 mg/j), Cu (5,42 mg/j), Zn (601,6 mg/j) et BPA (16633,34 µg/j) ont été fournis par les composites de riz/sauce arachide.

Tableau 11: Apport journalier moyen des métaux lourds (mg/j) et BPA (µg/j) par les différents groupes d'échantillons

Contaminant	Groupes d'échantillons					
	Eau (1)		Jus (2)		Aliment (3)	
	AJM ⁺ (Min-Max)	Contribution (%)	AJM ⁺ (Min-Max)	Contribution (%)	AJM ⁺ (Min-Max)	Contribution (%)
Pb	0,09 (0,003-0,96)	40,91	0,07 (0,01-0,12)	31,82	0,06 (0,001- 0,38)	27,27
Cd	0,07 ^d (0,002-0,58)	1,58	0,14 ^b (0,032-0,44)	45,16	0,1 ^c (0,005-1,15)	32,26
Hg	0,19 ^{ad} (0,005-1,84)	65,52	0,03 (0,002-0,08)	10,34	0,07 (0,001-1,72)	24,14
Cu	0,07 ^d (0,001-0,8)	2,78	1,34 ^b (0,12-3,76)	53,17	1,11 ^c (0,047-5,42)	44,05
Zn	0,06 ^d (0,002-0,6)	0,2	0,59 ^{bd} (0,017-1,56)	1,96	29,45 ^{cd} (0,097-601,6)	97,84
BPA	5,65 ^{ad} (0,001-72,03)	0,491	0,073 ^d (0,019-0,231)	0,006	1548,6 ^{ad} (0,29-16633,34)	99,51

⁺Moyenne, Tests Kruskal-Wallis et Mann-Withney U. Valeur significative à $p < 0,05$, ^a: Différents comparés aux valeurs de (1); ^b: Différents comparés aux valeurs de (2); ^c: Différents comparés aux valeurs de (3); ^d: Différents comparés aux valeurs de (1), (2) et (3); AJM: Apport journalier moyen.

b)- Niveaux d'exposition des participants aux métaux lourds et BPA

L'exposition de la population a été estimée en se basant sur les apports journaliers évalués et le poids corporel moyen de 60.7 kg pour un adulte africain (OMS, 2005).

L'exposition moyenne de la population par rapport au sexe est présentée au tableau 12. Les niveaux d'exposition aux métaux lourds du 50^{ème} au 95^{ème} percentile des moyens et grands consommateurs sont significativement supérieurs aux valeurs tolérées (JECFA, 2000 ; EVM, 2003) dans les deux sexes. Les niveaux d'exposition au BPA sont inférieurs au seuil toléré (4

$\mu\text{g/kg pc/j}$). Ils diffèrent tous par rapport au sexe ($p < 0,05$). La distribution des expositions aux métaux et BPA par rapport au sexe sont représentées à la figure 23 (a-f).

La contribution relative de chaque groupe de produit à l'exposition des participants est indiquée dans le tableau 13 et les allures respectives par rapport aux métaux et BPA sont représentées aux figures 24 à 29.

L'eau de robinet a été la source majeure d'exposition au Pb et Hg ; les composites de couscous de maïs, de manioc, de riz, macabo, haricot ont été des sources majeures de Cd, Zn, Cu et BPA.

Les niveaux d'exposition dans les groupes socioprofessionnels et par rapport au sexe sont consignés dans le tableau 14. Par ailleurs, on note un lien significatif entre l'exposition aux Pb, Hg et le statut professionnel ($p < 0,05$). Les doses moyennes d'exposition du moyen (50^{ème} percentile) au fort (95^{ème} percentile) sont plus élevées chez les travailleurs du secteur informel et Autres.

Tableau 13 : Contributions relatives de chaque groupe de produit à l'exposition des participants aux métaux lourds et BPA

Echantillons	Aliment de base	Pb (mg/j)	Contribution(%)	Cd (mg/j)	Contribution (%)	Hg (mg/j)	Contribution(%)	Cu (mg/j)	Contribution(%)	Zn (mg/j)	Contribution(%)	BPA (µg/j)	Contribution (%)
Couscous de maïs +sauce (gombo, choux, « djama-djama », « ndolè ^a »)	Céréale (maïs)	0,47	13,17	0,361	14,38	0,24	10,4	7,671	26,92	86,913	17,9	2493,98	16,72
Couscous de manioc + sauce (pistache ^a , « eru ^a »)	Tubercule (farine de manioc)	0,062	1,74	0,273	10,87	0,205	8,9	3,864	13,56	197,48	40,68	2090,13	14,01
Macabo râpé + sauce d'arachide ^a	Tubercule (macabo)	0,111	3,11	0,311	12,39	0,462	20	2,034	7,14	0,427	0,088	2076,12	13,92
Riz + sauce (tomate, arachide)	Cereale (riz)	0,189	5,3	0,296	11,79	0,132	5,71	2,38	8,35	109,62	22,6	2638,8	17,7
Beignets	Cereale (blé, Maïs)	0,095	2,7	0,177	7,05	0,07	3,1	1,318	4,62	28,215	5,81	136,65	0,916
Bouillie	Cereale (maïs, riz) - legumineuse (arachide, haricot)	0,043	1,21	0,124	4,94	0,024	1,04	1,201	4,21	15,167	3,12	77,4	0,52
Haricot	Legumineuse (haricot)/ tubercule (patate douce)	0,039	1,1	0,17	6,77	0,064	2,8	1,933	6,78	3,489	0,72	1770,54	11,87
Poisson braisé + baton de manioc	Poisson,-tubercule (manioc)	0,023	0,65	0,025	0,99	0,022	0,96	0,625	2,19	12,308	2,53	219,10	1,47
Saucisson/pâté/jambon		0,033	0,92	0,016	0,63	0,001	0,043	0,333	1,17	7,283	1,5	209,61	1,405
Sardine		0,017	0,48	0,017	0,67	0,021	0,91	0,333	1,17	6,879	1,41	1125,59	7,55
Tomate		0,017	0,48	0,037	1,47	0,012	0,519	0,480	1,68	2,414	0,497	946,58	6,35
Lait (liquide)		0,075	2,1	0,036	1,43	0,025	1,1	2,042	7,17	12,247	2,52	1071,98	7,19
Huile raffinée /huile de palme		0,109	3,1	0,058	2,31	0,055	2,4	1,325	4,65	1,59	0,33	20,11	0,135
Jus		0,129	3,61	0,263	10,47	0,050	2,19	2,616	9,18	1,13	0,233	0,073	0,0005
Eau minérale		0,068	1,9	0,015	0,59	0,019	0,83	0,002	0,007	0,008	0,0016	0,142	0,000952
Eau en sachet		0,035	0,98	0,032	1,27	0,077	3,34	0,035	0,13	0,025	0,005	0,073	0,0005
Eau du puits ^a		0,026	0,73	0,04	1,59	0,151	6,54	0,010	0,035	0,042	0,008	0,0565	0,0004
Eau de source		0,025	0,7	0,010	0,39	0,028	1,22	0,003	0,01	0,005	0,001	6,46	0,04332
Eau de robinet ^a		2	56,02	0,251	10	0,646	28	0,293	1,03	0,226	0,047	29	0,1944
Exposition alimentaire		3,57		2,51		2,31		28,5		485,5		14912,39	
			100		100		100		100		100		100

^a: Type d'échantillons provenant des ménages

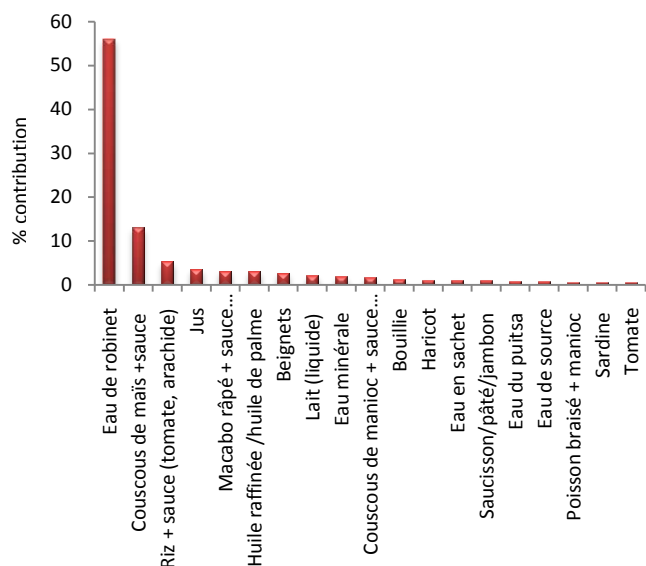


Figure 24: Contribution des aliments à l'exposition au plomb

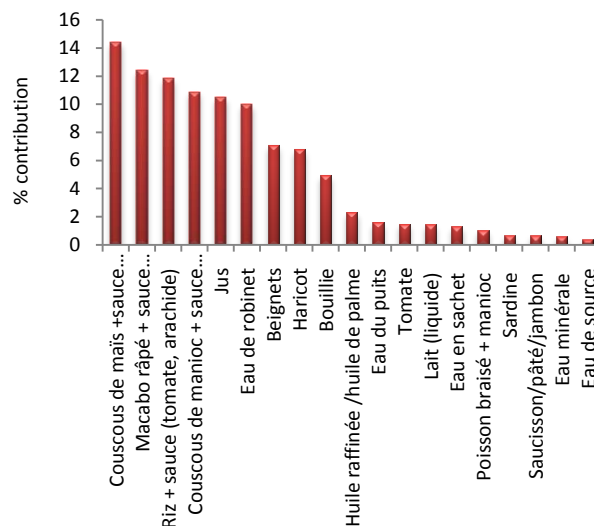


Figure 25: Contribution des aliments à l'exposition au cadmium

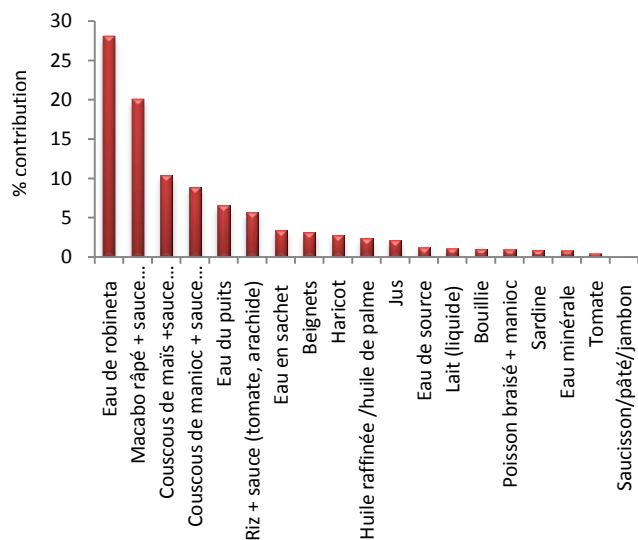


Figure 26: Contribution des aliments à l'exposition au mercure

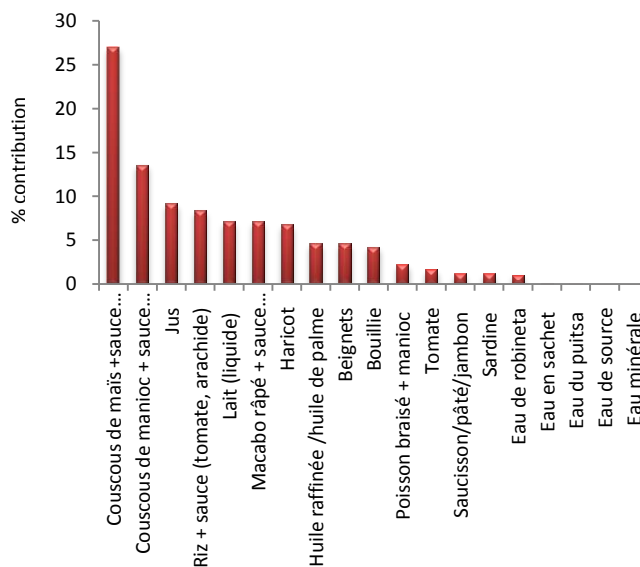


Figure 27: Contribution des aliments à l'exposition au cuivre

Figures 24-27 : La contribution des aliments à l'exposition aux métaux a été déterminée sur la base des apports journaliers des aliments et de leur fréquence de consommation. Elle ne représente pas les aliments les plus contaminés. Sources majeures d'exposition : Pb et Hg, eau de robinet. Cd et Cu, composites de maïs.

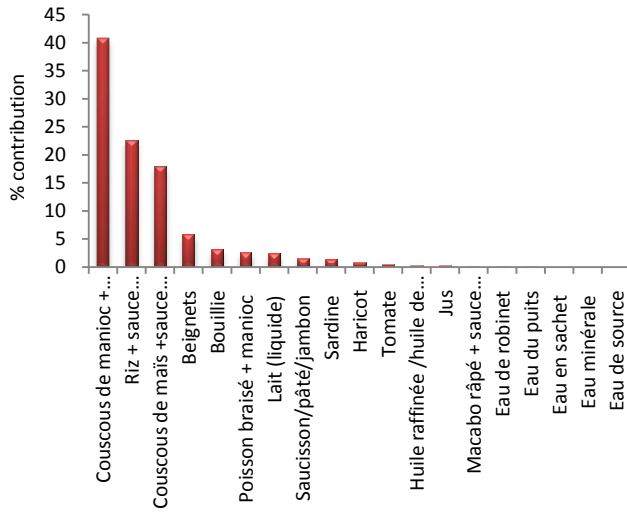


Figure 28: Contribution des aliments à l'exposition au zinc

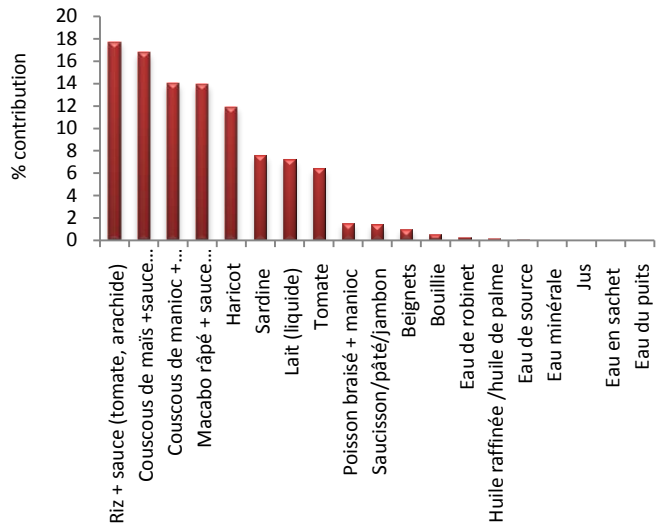


Figure 29: Contribution des aliments à l'exposition au BPA

Figures 28-29 : La contribution des aliments à l'exposition aux métaux a été déterminée sur la base des apports journaliers des aliments et de leur fréquence de consommation. Elle ne représente pas les aliments les plus contaminés. Zn, composites de manioc. BPA, composites de riz.

Tableau 14: Doses d'exposition journalière moyenne et fort centile ($\mu\text{g}/\text{kg p.c}/\text{j}$) de la population d'étude par rapport au statut professionnel

Polluants	Salariés			Etudiants			Petits métiers			Autres			Valeur -p	PTDI
	Min-Max	50 ^{ème} %ile	95 ^{ème} %ile	Min-Max	50 ^{ème} %ile	95 ^{ème} %ile	Min-Max	50 ^{ème} %ile	95 ^{ème} %ile	Min-Max	50 ^{ème} %ile	95 ^{ème} %ile		
Pb														
Femmes	9,22-30,09	14,18	27,69	4,13-23,92	15,11	22,94	3,75-70,57	19,73	35,721	20,52-3,59	20,79	27,93	0,044	3,6*
Hommes	6,76-24,64	13,74	21,77	5,84-43,57	18,28	33,02	5,041-51,91	16,45	32,94	15,74-23,49	17,82	22,86		
Moyenne	16,83			14,79			19,31			20,85				
Cd														
Femmes	12,99-51,51	19,56	42,87	8,58-10,42	15,94	29,72	5,96-133,33	20,96	62,65	24,23-38,38	28,15	37,35	0,378	1*
Hommes	9,15-26,28	14,27	25,13	5,38-70,75	22,17	49,04	5,103-69,42	21,80	41,51	8,07-30,93	24,41	30,81		
Moyenne	20,94±21,02			19,84			23,97			27,52				
Hg														
Femmes	10,18-23,51	16,75	22,99	6,29-41,21	17,49	34,78	4,55-53,23	22,31	41,64	26,19-32,72	31,98	32,64	0,001	0,23*
Hommes	7,99-40,8	16,05	30,02	5,61-57,03	22,80	49,64	1,826-63,13	21,08	44,05	12,53-35,07	25,32	34,75		
Moyenne	18,51			14,94			23,82			23,6				
Cu														
Femmes	112-531	192,2	439,94	62-322	146,8	284,98	45-1352	194,94	618,6	207-344	256,4	355,2	0,776	160**
Hommes	63-27	136,34	251,25	51-744	195,28	422,54	38-1030	191,67	191,67	64-285	227,3	282,02		
Moyenne	200			200			220			250				
Zn														
Femmes	776-5733	2125	4453,44	1079-4419	2029,53	4314,6	697-5834	2548,69	4905,6	2505-5003	4029,4	4905,6	0,153	700**
Hommes	835-4186	2184,78	3542,94	511-6831	2387,91	5934,4	210-8813	2569,35	5975,8	646-6055	2978,5	5670,3		
Moyenne	2460			2370			2970			3760				
BPA														
Femmes	0,13-1,05	0,437	0,94	0,04-1,20	0,32	0,95	0,05-1,62	0,596	1,383	0,69-1,24	0,797	1,193	0,271	4***
Hommes	0,03-1,84	0,563	1,189	0,05-1,82	0,633	1,184	0,002-3,591	0,550	1,684	0,58-1,16	0,693	1,085		
Moyenne	0,56			0,578			0,656			0,84				

% ile : Percentile. PTDI : Apport journalier provisoire tolérable. *: PTDI établi conjointement par la *FAO / WHO Expert Committee on Food Additives* (JECFA) 2000, ** Safe Upper Level recommandé par le Groupe Expert sur les Vitamines and Minéraux (EVM (2003), ***: PTDI par la EFSA (2015).
Test ANOVA. Significatif à $p < 0,05$.

c)- Exposition globale et risques sanitaires dans la population d'étude

Les expositions globales moyennes au Pb (18,37 µg/kg.pc/j), Cd (23,10 µg/kg.pc/j), Hg (21,74 µg/kg.pc/j), Cu (210 µg/kg.pc/j), Zn (2830 µg/kg.pc/j) ont excédé significativement ($p = 0,001$) les normes respectives à l'exception du BPA (0,622 µg/kg.pc/j) (Tableau 15).

Les indices de risques sanitaires (IR) estimés pour chaque contaminant de même que leur somme ne laisse présager aucun danger (< 1). Les marges d'exposition (MoE) de la population au Pb, Cu et Zn sont > 100 donc acceptables, et celles relatives au Cd, Hg et BPA sont préoccupantes (< 100). La marge d'exposition globale de la population au mélange simultané des contaminants est < 100 (0,00078).

Tableau 15: Vue synoptique sur les apports journaliers moyens, niveaux d'exposition aux métaux lourds et BPA et les risques sanitaires dans la population d'étude.

Exposition globale de la population (n = 251)						
Polluants	AJM [†]	DEJ [†]	valeur- <i>p</i> [*]	PTDI	IR	MoE
	HM (mg/j), BPA (µg/j) (Min-Max)	(µg/kg pc/j) (Min-Max)				
Pb	1,1 (0,22-4,23)	18,37 (3,75-70,57)	0,001	3,6*	0,0051	196,07
Cd	1,4 (0,31-8,09)	23,10 (5,2-133,33)	0,001	1*	0,0231	43,29
Hg	1,32 (0,11-3,83)	21,74 (1,83-63,13)	0,001	0,23*	0,0945	10,58
Cu	12,85 (2,27-81;10)	210 (30-1350)	0,001	160**	0,0013	769,23
Zn	170,28 (12,60-534,88)	2830 (210-8810)	0,001	700**	0,004	250
BPA	37,759 (0,151-217,997)	0,622 (0,0025-3,591)	0,269	4***	0,1555	6,430
∑ IR					0,2835	
MoEt						0,00078

[†]Moyenne. ANOVA. Significatif à $p < 0,05$, AJM: Apport journalier moyen, DEJ: Dose d'exposition journalière moyenne, PTDI: Apport journalier provisoire tolérable. *: PTDI établi conjointement par la *FAO / WHO Expert Committee on Food Additives* (JECFA) 2000, ** Safe Upper Level recommandé par le Groupe Expert sur les Vitamines et Minéraux (EVM (2003), ***: PTDI par la EFSA (2015), IR: Indice de Risque sanitaire (à risque si > 1), MoE: Marge d'exposition, MoEt : Marge d'exposition combinée (> 100 , acceptable et à risque si < 100) (US-EPA, 1989, 2000). HM : Métaux lourds

Conclusion partielle

-Les taux de contamination des aliments par les métaux lourds (70-93%) et le BPA (99,23%) sont assez élevés avec des teneurs parfois largement supérieures aux normes.

-Environ 52% des échantillons contiennent simultanément le Pb, Cd, Hg et BPA.

-L'eau de robinet est la source majeure d'exposition au Pb et Hg.

-Les aliments à base de maïs, manioc, riz, macabo, haricot sont des sources majeures d'exposition aux Cd, Zn, Cu et BPA.

-Les niveaux moyennes d'exposition aux métaux lourds sont supérieurs aux valeurs tolérées contrairement au BPA. Les hommes seraient plus exposés que les femmes.

-L'exposition de la population à la contamination multiple des aliments par les métaux lourds et le BPA serait à risque.

III.1.2- Evaluation du bisphénol A dans le sang et les urines

III.1.2.1- Caractéristiques de la population d'étude

Cent un individus âgés de 27 à 86 ans dont 70 malades et 31 témoins, composés de fonctionnaires (46,53%), commerçants (22,77%), agriculteurs (12,87%) et autres (15,84%) ont participé à cette étude. Leur répartition en fonction du statut médical et par rapport au sexe est indiquée dans le tableau 16. Il n'y a pas de différence entre les âges des malades et le contrôle ($p > 0,05$).

Tableau 16: Répartition des participants en fonction du statut médical

Statut médical	Femmes (n = 57)		Hommes (n = 44)		Total (%)
	Age (ans) (Moyenne)	Nombre (%)	Age (moyenne)	Nombre (%)	
HTA	28-80 (54,15)	33 (56,89)	32-74 (53,8)	25 (43,10)	58 (57,42)
DIA	68-86 (77)	2 (33,33)	62-73 (66,5)	4 (66,67)	6 (5,94)
HTA/DIA	62-71 (66,5)	2 (33,33)	46-71 (63,75)	4 (66,67)	6 (5,94)
Témoins	27-62 (41,9)	20 (64,51)	27-64 (38,27)	11 (35,48)	31 (30,69)

HTA : Hypertendu ; DIA : Diabétique.

III.1.2.2- Concentrations du BPA dans le plasma et les urines

Les analyses sanguines (n=101) ont montré que 94,82% d'hypertendus et 100% de diabétiques, diabétiques/hypertendus et personnes saines ont été positifs au BPA. Les concentrations plasmatiques de BPA (BPA-P) comprises entre 0,00015 et 11,25 µg/l (Tableau 17) n'ont pas varié significativement par rapport au statut médical, l'âge et le sexe ($p > 0,05$). Les valeurs les plus élevées ont été retrouvées chez les sujets hypertendus.

Le BPA a été détecté dans 72,85% de prélèvements urinaires des sujets malades et 58,06% des sujets témoins. Les concentrations ajustées à la créatinine urinaire (BPA-U) ont varié de 0,00016 à 215,25 µg/g créatinine, avec une différence significative chez les sujets diabétiques par rapport aux témoins ($p = 0,035$). Aucune différence n'a été observée entre les taux de BPA-P, BPA-U et l'âge ou le sexe ($p > 0,05$).

Tableau 17 : Concentrations de BPA plasmatique (BPA-P) et BPA urinaire (BPA-U) chez les sujets malades et sains

Statut médical	BPA plasmatique (µg/l)			BPA urinaire (µg/g créatinine)			
	Positif (%)	Min-Max (Moyenne)	Valeur-p	Positif (%)	Min-Max (Moyenne)	Valeur-p	
HTA (n = 58)	Femmes (n = 33)	33 (100)	0,0024-1,42 (0,43)	0,897	23 (74,17)	0,00016-118,09 (28,46)	0,095
	Hommes (n = 25)	22 (88)	0,00016-11,25 (1,11)		19 (71,16)	0,0357-161,44 (24,42)	
	Total	55 (94,82)	0,77		42 (72,41)	24,44	
DIA (n = 6)	Femmes (n = 2)	2 (100)	0,0315-0,075 (0,053)	0,310)	2 (100)	11,99-18,78 (15,38)	0,035
	Hommes (n = 4)	4 (100)	0,096-1,12 (0,61)		2 (50)	20,76-215,25 (92,27)	
	Total	6 (100)	0,33		4 (66,67)	53,82	
HTA/DIA (n = 6)	Femmes (n = 2)	2 (100)	3,67-5,55 (4,61)	0,432	2 (100)	4,18-9,91 (7,05)	0,068
	Hommes (n = 4)	4 (100)	0,00015-0,64 (0,23)		3 (75)	39,80-117,02 (68,14)	
	Total	6 (100)	2,42		5 (83,33)	37,59	
Témoins (n = 31)	Femmes (n = 20)	20 (100)	0,00015-7,50 (0,97)		14 (70)	1,59-166,18 (33,16)	
	Hommes (n = 11)	11 (100)	0,0105-4,87 (0,88)		4 (36,36)	0,92-82,39 (29,79)	
	Total	31 (100)	0,92		18 (58,06)	31,54	
Total	98 (97,02)			69 (68,32)			

Min : minimum ; Max : Maximum ; HTA : Hypertendu ; DIA : Diabétique. Test de Mann-Whitney, Student *t* test. Significatif à $p < 0,05$. (Huitkeu, 2014).

III.1.2.3- Détermination de la dose d'exposition prédite de BPA (DEJp)

Elle a été faite à partir des concentrations urinaires de BPA (BPA-U) des participants en prenant en compte le poids moyen d'un adulte africain (OMS, 2005).

Les doses d'exposition prédite comprises entre 0,000049 et 5,37 $\mu\text{g/kg pc/j}$ (Tableau 18) ont varié significativement ($p < 0,05$) chez les patients HTA et DIA par rapport aux sujets sains. Aucune corrélation n'a été établie entre les DEJp et le statut médical ($p > 0,05$). La dose moyenne prédite (DEJp) de 1,05 $\mu\text{g/kg pc/j}$ d'exposition au BPA est inférieure à la dose journalière tolérable (DJT) de 4 $\mu\text{g/kg pc/j}$ (EFSA, 2015) (Tableau 18) et supérieure à la dose moyenne d'exposition (0,622 $\mu\text{g/kg pc/j}$) de la population adulte de Yaoundé (Tableau 15). Cependant, la DEJp moyenne au 95^{ème} percentile (4,046 $\mu\text{g/kg pc/j}$) des grands consommateurs retrouvés parmi les hypertendus est équivalente à la norme.

Tableau 18 : Doses d'exposition moyennes prédites (DEJp) de BPA et concentrations plasmatiques prédites (BPAéq) dans les différents groupes.

Statut Médical		DEJp ($\mu\text{g/kg pc/j}$)					BPAéq $\mu\text{g/l}$	Valeur-p
		Min	Max	Moy	50ème %ile	95ème %ile		
HTA (n = 42)	Femmes (n = 23)	0,000049	4,07	0,88	0,366	3,989	0,00072	0,014
	Hommes (n = 19)	0,000063	5,31	1,09	0,344	4,797	0,00131	
	Total			0,98	0,366	4,071	0,00095	
DIA (n = 4)	Femmes (n = 2)	0,24	0,322	0,28	0,287	0,322	0,00039	0,042
	Hommes (n = 2)	1,06	2,85	1,72	1,261	2,692	0,00207	
	Total			1,01	1,064	2,533	0,00138	
HTA/DIA (n = 5)	Femmes (n = 2)	0,02	0,32	0,22	0,221	0,237	0,00026	0,062
	Hommes (n = 3)	1,06	5,37	2,66	1,371	4,973	0,0032	
	Total			1,44	1,261	4,573	0,00167	
Témoins (n = 18)	Femmes (n = 14)	0,082	3,74	0,91	0,250	3,041	0,00109	
	Hommes (n = 4)	0,087	3,78	1,39	0,323	3,041	0,00167	
	Total			1,15	0,255	3,754	0,00121	
DEJp moyenne							1,05±1,4 $\mu\text{g/kg pc/j}$	
DEJ de la population de Yaoundé à travers l'alimentation							0,622 $\mu\text{g/kg pc/j}$	
Dose journalière tolérable (DJT) (EFSA, 2015)							4 $\mu\text{g/kg pc/j}$	

Moy : Moyenne. Min : Minimum, Max : Maximum. HTA : Hypertendu. DIA : Diabétique. DJT : Dose Journalière Tolérable. BPAéq : Concentration plasmatique moyenne de BPA prédite à l'équilibre. pc : Poids corporel. Test de Mann-Whitney, Student *t* test, test de Pearson. Test significatif à $p < 0,05$.

Les concentrations plasmatiques prédites de BPA (BPAéq) qui résultent des DEJp ont varié 0,00026 à 0,0032 µg/l et ont été significativement ($p < 0,05$) inférieures aux concentrations plasmatiques mesurées (BPA-P) indiquées au Tableau 17.

III.1.3- Biomarqueurs des mycotoxines et les métaux lourds dans les urines

III.1.3.1- Caractéristiques de la population d'étude

L'étude a porté sur 91 participants âgés de 29 à 85 ans dont 68 sujets hypertendus dont 38 (41,75%) anciens, 30 (32,97%) nouveaux (< 8mois) ainsi répartis par rapport à la durée de prise en charge médicamenteuse et 23 (25,28%) sujets témoins (Tableau 19). Il n'y a pas eu de différence entre les âges des malades et le contrôle ($p > 0,05$). Parmi les participants, 47,25% étaient obèses, 36,26% en surpoids et 16,48% avaient un poids normal. Les données de l'enquête indiquent que 62,63% consomment régulièrement de l'alcool et 7,69% sont des fumeurs.

Tableau 19 : Répartition des participants en fonction du statut médical, des facteurs de risque et du sexe.

Statut Médical	Femmes (n = 50)			Hommes (n = 41)		
	Age(Ans) (Moyenne)	Nombre (%)	Ob (SP)	Age (moyenne)	Nombre (%)	Ob (SP)
HTA_A (n=38)	29-85 (58,47)	21 (55,26)	6 (8)	39-76 (56,82)	17 (44,73)	8 (5)
HTA_N (n=28)	30-74 (57,70)	20 (33,33)	11 (7)	39-70 (49,8)	10 (33,33)	4 (6)
Témoins (n=23)	28-72 (53,55)	9 (39,14)	7 (2)	38-63 (51,14)	14 (60,86)	7 (5)
Total	56,76	50 (54,94)	24 (17)	53,66	41 (45,05)	19 (16)

HTA_A : Hypertendu ancien ; HTA_N : Hypertendu nouveau. Surpoids (SP) ($25 \leq \text{IMC} \leq 29,9$). Obèse (Ob) ($\text{IMC} \geq 30$), Normal $18,5 \leq \text{IMC} \leq 24,5$. IMC : Indice de masse corporel. (Doumani, 2016)

III.I.3.2- Biomarqueurs d'exposition aux mycotoxines

Les mycotoxines (6) et métabolites (5) ont été détectés dans les urines avec des taux de récupération variant entre 72 et 105%..

Tableau 20: Caractéristiques de performance du système UPHPLC-MS/MS : limites de détection de quantification.

Biomarqueurs	Rendement (%)
Aflatoxine M ₁ (AFM ₁)	105
Fumonisine B ₁ (FB ₁)	74
Ochratoxine A (OTA)	84
Déoxynivalénol (DON)	97
Dé-époxy-déoxynivalénol (DOM-1)	85
Zéaralénone (ZEN)	70
α-Zéaralénol (α-ZOL)	72
β-Zéaralénol (β-ZOL)	79
Nivalénol (NIV)	96
Citrinine (CIT)	96
Dihydrocitrinone (DHC)	90

a)- Profils et concentrations des biomarqueurs de mycotoxines

Des 91 échantillons d'urine collectés, 89 ont été analysés. Onze mycotoxines y ont été détectées dont 6 réglementées : OTA (80%), ZEN (80%), DON (72%), AFM₁ (42%), NIV (36%) et FB₁ (10%). L'analyse des résultats montre que la distribution des mycotoxines n'est pas normale pour toutes les variables. Les concentrations moyennes ont varié de 0,01 µg/l (OTA) à 15,93 µg/l (DON). Les valeurs maximales ont varié de 0,0949 µg/l (OTA) à 758,76 µg/l (DON).

b)- Moyenne des mycotoxines détectées par individu et par groupe

Tous les prélèvements contiennent au moins deux 2 biomarqueurs d'exposition, avec un nombre moyen de 5,9 par individu (Figure 30). Bien qu'il soit plus élevé dans le groupe témoin que chez les hypertendus anciens et nouveaux, la différence n'est pas significative (p

= 0,180, Kruskal-Wallis). Il ne varie pas non plus en fonction du statut d'obésité et surpoids ($p = 0,62$) (Figure 31) et du sexe ($p = 0,5$) (Figure 32). La présence simultanée de 7 mycotoxines : NIV, DON, ZON, AFM1, FB1, CIT, OTA a été mise en évidence chez un même individu dont 6 au total (3 patients HTA_N et 3 témoins) (métabolites de DON, ZEN et CIT non dénombrés).

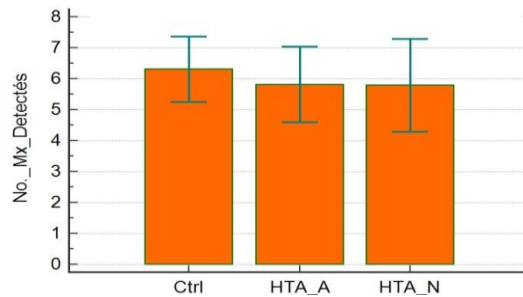


Figure 30 : Nombre moyen de mycotoxines par individu en fonction du statut médical. No_MX : Nombre de mycotoxines. Ctrl : Contrôle. HTA (_A et _N) : Hypertendus anciens et nouveaux. Pas de différence significative ($p=0,180$). Test de Kruskal-Wallis.

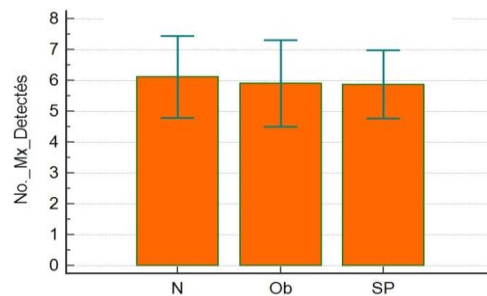


Figure 31 : Nombre moyen de mycotoxines par individu en fonction de l'obésité (Ob) et surpoids (SP). N : Normal. No_MX : Nombre de mycotoxines. Différence non significative ($p=0,62$) entre les sujets obèses et en surpoids par rapport à la normale. Test de Kruskal-Wallis.

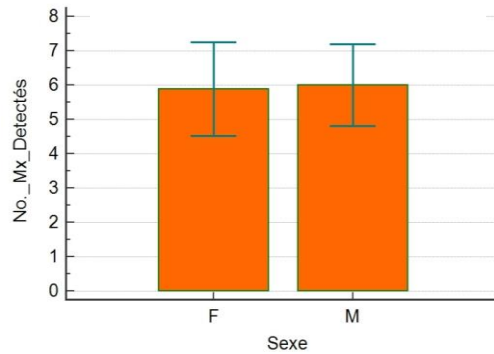


Figure 32 : Nombre moyen de mycotoxines par individu en fonction sexe.
 No_MX : Nombre de mycotoxines. F : Féminin. M : Masculin. Pas de différence significative ($p=0,15$). Test Mann-Whitney U.

c)- Concentrations des biomarqueurs de mycotoxines chez les participants

Les concentrations des biomarqueurs de mycotoxines sont présentées dans le tableau 22. Les valeurs ne varient pas significativement par rapport au sexe dans les différents groupes ($p= 0,108$). Aucune différence ($p > 0,05$) n'a été observée entre les concentrations moyennes des biomarqueurs dans les groupes HTA_A ($4,54 \mu\text{g/l}$) et HTA_N ($1,13 \mu\text{g/l}$) par rapport au groupe contrôle ($2,05 \mu\text{g/l}$).

Cependant, la figure 33 et les données de ce tableau montrent que les sujets du groupe HTA_A excrètent plus de mycotoxines que les autres.

Tableau 22 : Concentrations moyennes des biomarqueurs de mycotoxines en fonction du statut médical.

Concentrations urinaires des biomarqueurs (µg/l)													
Sous-Population	Sexe	Moy (Max)	NIV	DON	DOM-1	DHC	α-ZOL	β-ZOL	ZEN	AFM ₁	FB ₁	CIT	OTA
HTA_A (n = 38)	Femmes (n = 21)	Moy (Max)	0,217 (1,59)	2,586 (13,6)	0,1302 (2,14)	0,435 (1,65)	0,057 (1,667)	-	0,1112 (0,404)	0,0085 (0,0373)	0,0363 (0,261)	0,114 (0,771)	0,0074 (0,0946)
	Hommes (n = 17)	Moy (Max)	0,147 (0,928)	47,03 (758,76)	0,2511 (1,15)	0,468 (2,26)	-	-	0,0786 (0,169)	0,011 (0,0654)	0,0654 (0,543)	0,262 (2,15)	0,0033 (0,0102)
HTA_N (n = 28)	Femmes (n = 20)	Moy (Max)	0,0355 (0,242)	2,716 (12,4)	1,288 (27,41)	0,295 (1,72)	0,00023 (0,0043)	0,0099 (0,198)	0,0484 (0,18)	0,0162 (0,2095)	0,0553 (0,83)	0,104 (0,785)	0,0044 (0,0102)
	Hommes (n = 8)	Moy (Max)	0,163 (0,891)	1,883 (5,7)	0,0155 (0,124)	0,745 (1,84)	-	0,0419 (0,424)	0,0874 (0,395)	0,0284 (0,206)	0,0293 (0,126)	0,1158 (0,328)	0,0048 (0,0111)
Contrôle (n = 23)	Femmes (n = 9)	Moy (Max)	0,143 (0,422)	3,612 (12,4)	0,196 (1,76)	0,276 (1,01)	-	-	0,0454 (0,237)	0,0056 (0,0209)	0,0679 (0,176)	0,129 (0,516)	0,00295 (0,0075)
	Hommes (n = 14)	Moy (Max)	0,627 (4,36)	2,389 (6,67)	1,0643 (14,9)	6,351 (96)	0,0336 (0,383)	0,0296 (0,307)	0,150 (1,1)	0,0086 (0,0387)	0,0483 (0,366)	0,1979 (1,44)	0,0038 (0,022)

Les moyennes ont été calculées en excluant les valeurs < aux limites de détection (LOD) et quantification (LOQ). Moy : Moyenne. Max : Maximum. Aflatoxine M₁ (AFM₁), Fumonisine B₁ (FB₁), Ochratoxine A (OTA), Déoxynivalénol (DON), Dé-époxy-déoxynivalénol (DOM-1), Zéaralénone (ZEN), α-Zéaralénol (α-ZOL), β-Zéaralénol (β-ZOL), Nivalénol (NIV), Citrinine (CIT), Dihydrocitrinone (DHC). Valeurs non significatives par rapport au sexe dans les différents groupes (p = 0,108 ; GRAPHPAD INSTAT). ^a : Prévalence totale des HTA_A (65,78%). ^b : Prévalence totale des HTA_N (53,05%). ^c : Prévalence totale des témoins (54,63).

d)- Estimation de la consommation journalière des mycotoxines réglementées

Elle a été calculée à partir des concentrations urinaires des biomarqueurs. Cette estimation tient compte du fait que les métabolites détectés reflètent l'exposition aux composés parents. Ainsi, l'AFM₁; α -ZOL et β ZOL ; DOM-1 ; DHC reflètent respectivement l'exposition à l'AFB₁, à la ZEN, au DON et CIT. Les doses d'expositions journalières déterminées sont présentées dans le tableau 23. IL en ressort que 100% des consommations journalières estimées pour NIV, DON, FB₁; 98,5% pour OTA et 80,8% pour ZEN sont supérieures aux normes (SCF, 2000 ; 2003, Solfrizzo *et al.*, 2011), mais sans différence significative ($p = 0,999$) dans les différents groupes par rapport au contrôle et au sexe.

Les niveaux d'exposition moyenne dans la population d'étude, tous supérieurs aux doses tolérables sont de 49,46 $\mu\text{g/kg pc/j}$ pour NIV ; 743,04 $\mu\text{g/kg pc/j}$ pour DON ; 6,88 $\mu\text{g/kg pc/j}$ pour ZEN ; 17,84 $\mu\text{g/kg pc/j}$ pour AFB₁ ; 42,08 $\mu\text{g/kg pc/j}$ pour FB₁ et 3,6 $\mu\text{g/kg pc/j}$ pour OTA. Aucun seuil tolérable n'est établi pour les aflatoxines considérées comme substances présentant des effets cancérogènes et génotoxiques sans seuil (Solfrizzo *et al.*, 2014).

Aucun lien n'a été observée entre les niveaux d'exposition et l'incidence de l'hypertension artérielle chez les sujets malades quelque soit le sexe ($p > 0,05$).

Tableau 23 : Niveaux moyens des expositions estimées aux mycotoxines réglementées dans la population d'étude ($\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{j}$).

Sous-population			NIV	DON	ZEN	AFB ₁	FB1	OTA
HTA_N	Femmes	Min-Max	3,428-340,71	13,68-1022,55	0,107-68,87	5,16-39,96	68,57-215,1	0,50-65,52
	Hommes	Min-Max	1,688-198,85	9,173-55424,8	0,85-9,84	9,94-70,07	90,65-447,52	0,15-8,40
HTA_A	Femmes	Min-Max	3,21-64,93	10,15-353,38	0,075-3,47	6,53-14	54,56-128,57	0,0089-9,14
	Hommes	Min-Max	10,92-51,85	9,32-1992,48	0,071-22,01	14,75-275	2,32-505,21	0,57-14,75
Témoins	Femmes	Min-Max	16,54-90,42	41,57-944,36	0,082-13,80	15-22,39	36,26-145,05	0,558-6,15
	Hommes	Min-Max	27,85-897,85	5,30-1178,64	0,075-67,13	26,52-41,46	63,87-301,64	0,388-18,13

Les moyennes ont été calculées en excluant les valeurs < aux LOD et LOQ. Aflatoxine B₁ (AFB₁), Fumonisine B₁ (FB₁), Ochratoxine A (OTA), Déoxynivalénol (DON), Zéaralénone (ZEN), Nivalénol (NIV), Citrinine (CIT). Valeurs non significative par rapport au sexe (p = 0,999 ; GRAPHPAD INSTAT). Min : Minimum, Max : Maximum

III.1.3.3- Evaluation des métaux lourds dans les urines

a)- Profil de contamination des urines des participants

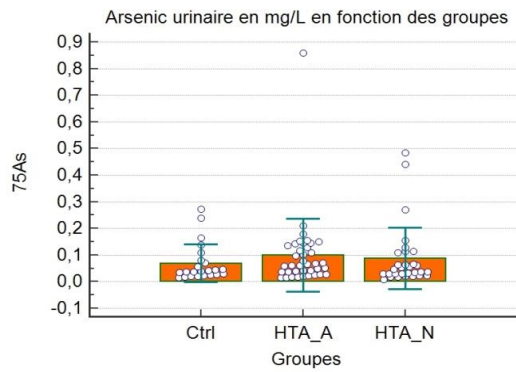
Plus d'une dizaine de métaux a été détectée dans les échantillons d'urine avec des taux de récupérations compris entre 95 et 105%. Mais nous n'avons retenu que quatre du fait de leur toxicité : plomb (Pb), cadmium (Cd), cuivre (Cu) et arsenic (As). La prévalence du Cu, As et Pb a été de 100% et 36,26% pour le Cd. L'arsenic a été le métal ayant la concentration urinaire la plus élevée (0,860 mg/l), suivi du Cu (0,240 mg/l).

b)- Concentrations moyennes des métaux dans les différents groupes

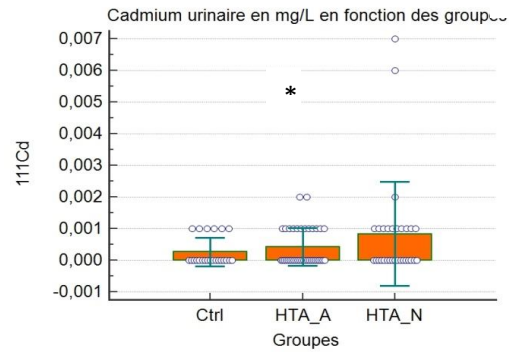
Les taux d'As, Cd, Pb n'ont pas été différents dans les groupes HTA_A et HTA_N par rapport au contrôle ($p > 0,05$) contrairement à ceux du Cu ($p = 0,03$) (Figure 34, a-d). Comparés aux valeurs de référence dans une population dite non exposée (**Guidotti et al., 2008**), les taux d'As, Cu, Cd ont été supérieurs chez 27,47%; 8,79% et 5,49% des participants respectivement. Les sujets du groupe contrôle excrètent significativement moins ($p < 0,04$) les métaux que ceux des groupes HTA_N et HTA_A.

c)- Concentrations des métaux lourds par rapport au sexe

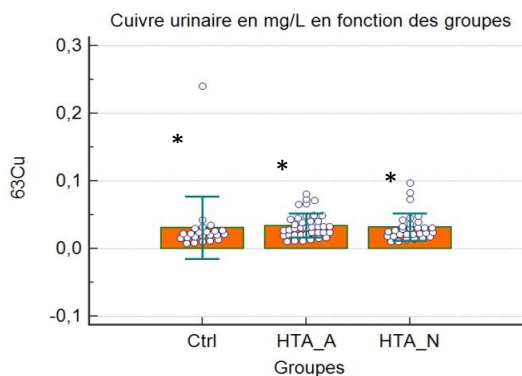
Les teneurs en Cd ont varié significativement ($p = 0,001$) par rapport au sexe contrairement aux taux d'As, Cu, Pb ($p > 0,05$). Les résultats montrent que l'excrétion des métaux (total des métaux) n'est pas différente par rapport au sexe ($p > 0,05$) bien que les taux les plus élevés d'As et Cd aient été retrouvés chez les femmes (Figure 35-e).



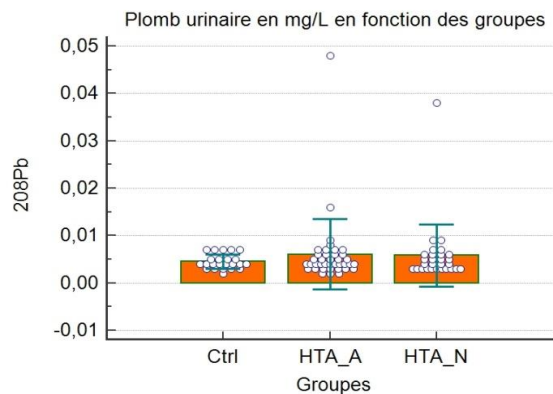
(a)



(b)



(c)



(d)

Figure 34 : Concentrations urinaires de l'arsenic (a), cadmium (b), cuivre (c), plomb (d)
Figure 35 : Concentrations urinaires de l'arsenic (a), cadmium (b), cuivre (c), plomb (d) en fonction du sexe. F : Féminin, M : Masculin.

d)- Quelques multi-contaminations aux mycotoxines et métaux rencontrées

Tous les échantillons d'urines contiennent au moins 5 contaminants potentiellement toxiques (mycotoxines et métaux). Nous avons relevé entre autres, les contaminations multiples suivantes :

- 4 cas de présence concomitante de 9 contaminants : AFM₁, FB₁, DON, ZEN, OTA, NIV, CIT, As, Pb dont 2 HTA_N et 2 témoins.

-2 cas de présence concomitante de 10 contaminants : AFM₁, FB₁, DON, ZEN, OTA, NIV, CIT, As, Pb, Cd dont 1 HTA_N et 1 témoin.

L'AFM₁ est un métabolite et les autres mycotoxines sont des composés parents.

III.2- DISCUSSION

III.2.1- Evaluation de la contamination des aliments par les métaux lourds et bisphénol A

Durant l'enquête, les personnes les plus accessibles ont été celles œuvrant dans l'informel (70%) (commerçants, mécaniciens, tôliers, soudeurs, chauffeurs de taxi, informaticiens...), s'alimentant majoritairement à la fois dans les restaurants de rue et dans les ménages (76%), suivis des étudiants (54%) et salariés (45%) (Tableau 7). Ceci, certainement dû à la proximité des restaurants de rue de leurs sites d'activité, la disponibilité et l'accessibilité (coût moindre) aux aliments. Ceux les plus affectionnés ont été les composites de couscous de maïs, manioc et de macabo, suivis des haricots et beignets (Tableau 5).

Les résultats des analyses alimentaires ont montré une forte prévalence des métaux lourds et BPA, dans les échantillons collectés dans les ménages et restaurants de rue (Figure 20, Tableau 9). Les teneurs les plus élevées en métaux et BPA respectivement, 8 à 105,6 fois et 86,66 fois supérieures aux normes (**WHO/EC, 2006 ; EC, 2004**) ont été retrouvées dans les échantillons de rue. Ces niveaux élevés d'occurrence seraient dus à une contamination soit naturelle des aliments de base et/ou intrants composant le repas, ou à l'amplification de la pollution des repas à travers les rejets atmosphériques divers issus des poussières, revêtement de la chaussée, gaz d'échappement liés au trafic routier, incinération des déchets (**Bortey-Sam et al., 2015a ; Corrales et al., 2015**). En Effet, **Abdulmajid et al.**, (2014) ont observé dans une étude menée en Espagne une augmentation de la teneur en plomb (de 0,5400 à 2,1000 µg/g) et en cadmium (de 0,1431 à 0,2398 µg/g) après 2 h d'exposition environnementale des aliments vendus dans les rues. Les teneurs élevées en Zn détectées pourraient également provenir des aliments sources de ce métal (céréales, viandes, oléagineux, poissons, choux).

Les teneurs moyennes en Pb, Cd et Hg dans 100% d'échantillons d'eau contaminés (sachet d'eau, eau du robinet, eau de puits, eau de source et eau minérale) ont excédé de 19-380 fois et celles du BPA dans 35,5% d'échantillons de 1-22,41 fois les limites permises (**WHO/EC, 2006 ; EC, 2004**) (Tableau 9). Les teneurs maximales en Cu, Zn, Hg et Cd ont été fournies par l'eau en sachet et celle du Pb par l'eau minérale. Ces niveaux de contamination en métaux ont été plus élevés que ceux obtenus au Nigeria (**Abdullahi et al., 2016**) et en Ouganda (**Bamuwanye et al., 2017**). Les eaux en sachet vendues dans les rues de Yaoundé et apprivoisées par les populations sont d'origines douteuses et dénuées de tout

contrôle de qualité. L'origine d'une telle contamination est multiple. Elle pourrait provenir des systèmes d'adduction ou d'approvisionnement d'eau potable, des matériaux de conservation (plastiques, bonbonnes, bouteilles plastiques), de la lixiviation des polluants des déchets divers et leur drainage par les eaux de ruissellement vers les nappes phréatiques par infiltration (eaux de source et de puits) (**Ahoussi et al., 2010 ; Makinwa et al., 2015**).

Les teneurs moyennes en métaux lourds dans les échantillons de jus ont été 1,4 à 350 fois supérieures aux normes (**WHO/EC, 2006**) et 41,66% d'échantillons positifs en BPA ont excédé de 1 à 5,4 fois la limite de migration spécifique de 0,6 ppb (**CE, 2004**). A l'exception du plomb, les niveaux élevés non significatifs ($p > 0,05$) de métaux ont été déterminés dans les échantillons en bouteille (plastique). Des données similaires ont été rapportées au Nigéria (**Engwa et Osuji, 2015**). Cette contamination pourrait survenir à tous les stades de la chaîne de production : qualité des matières premières et intrants, traitement, transformation, conditionnement, conditions de stockage et de distribution (**Biney et al., 1995 ; Buldini et al., 2002, Corrales et al., 2015**).

Quant aux aliments, 100% d'échantillons contaminés au Pb, Cd ; 72,54% au Hg ont eu des teneurs moyennes dépassant de 0,6 à 15 fois les limites tolérées (**WHO/EC, 2006**) et de 22,4 fois dans le cas du BPA (63,95%) (Figure 22). De cette forte fréquence et niveaux de contamination, on pourrait spéculer sur l'accumulation de ces contaminants dans la chaîne alimentaire. Les échantillons analysés sont constitués principalement de céréales, tubercules, oléagineux, légumineuses qui constituent la base de l'alimentation de la population en général. Les repas servis sont composés de plusieurs matières susceptibles d'être contaminés (Annexe 5). Les sites de culture et intrants utilisés, la grande malléabilité des produits de base, la proximité des décharges et/ou des incinérations des déchets, les émissions des véhicules, l'état sanitaire des eaux de cuisson, la nature des ustensiles de cuisine utilisés, les conditionnements et conditions de stockage des aliments peuvent avoir contribué à augmenter les niveaux de contamination enregistrés (**Biney et al., 1995 ; ANSES, 2013 ; Weidenhamer et al., 2014 ; Abdulmajid et al., 2014 ; Bortey-Sam et al., 2015a et b**). Par ailleurs, les métaux lourds tels que le Pb, Cd, Hg, Zn et BPA rentrent dans les processus de fabrication et/ou des engrais et pesticides, des récipients et emballages plastiques, des ustensiles de cuisine, des canettes et tuyaux d'adduction d'eau et leur revêtement (**Biney et al., 1995; Vandenberg et al., 2010 ; Weidenhamer et al., 2014**). Les eaux de robinet, de puits et de source sont utilisées comme boisson, pour la cuisson et le traitement des aliments tel que le

rouissage des tubercules de manioc et au vue de leurs niveaux de pollution, elles auraient amplifié le degré de contamination des aliments. Nous avons en effet constaté durant l'enquête que les aliments prêts à la consommation vendus (les composites) dans les rues étaient en général dans des contenants en plastique et servis prêts à emporter dans les emballages plastiques. Ces derniers se sont révélés plus contaminés que les aliments en conserve (Tableau 10). Les métaux sont des polluants conservatifs et peuvent s'accumuler (bioamplification) dans la chaîne trophique (**Chang et al., 2014**). Des concentrations de l'ordre de 13000 ppb ont été détectées dans les poissons frais (**Corrales et al., 2015**). Ces contaminants ont la capacité de migrer du contenant au contenu et ce favorisé par la chaleur, les variations de pH, le vieillissement des matériaux et la durée du stockage (**Brede et al., 2003 ; Vandenberg et al., 2010 ; Weidenhamer et al. 2014**). Brede et al., (2003) ont observé une augmentation de la teneur en BPA de l'eau stockée dans le biberon de 0,13 ng/ml à 18,47 ng/ml après 6 mois d'usage. Par ailleurs, des investigations faites sur les ustensiles de cuisine au Cameroun ont montré que des quantités substantielles de Pb, Cd, Al, Zn peuvent migrer des cocottes et louches artisanales couramment utilisées dans les ménages pendant la cuisson vers les aliments (**Weidenhamer et al. 2014**).

L'eau de robinet a été la principale source d'exposition au Pb et Hg (contributions respectives 56,02% et 28%) alors que les composites de couscous de maïs, couscous de manioc, de riz et de macabo, jus ont été des principaux pourvoyeurs de Cd, Zn, Cu et en plus des haricots, produits en conserve ou cannettes pour le BPA (Tableau 13, Figures 24 -29). L'estimation la dose journalière des métaux lourds et BPA a montré une différence d'exposition par rapport au sexe ($p < 0,05$). Les doses d'exposition du 50^{ème} percentile des moyens consommateurs au 95^{ème} percentile des grands consommateurs plus élevées chez les hommes (5 à 193 fois) que chez les femmes (3 à 125 fois) sont supérieures aux valeurs tolérées respectives (**JECFA, 2000**) contrairement à celles relatives au BPA (**EFSA, 2015**). Cependant, la dose d'exposition la plus élevée de BPA dans la population (5,391 µg/kg pc/j) représente 89,775% de la limite tolérée de 4 µg/kg pc/j. Ce qui laisse spéculer que les hommes sont plus exposés que les femmes (Tableau 12, Figure 23 a-f). Selon les données de l'enquête, les hommes s'alimentent fréquemment dans les restaurants de rue. De plus, ils ont un engouement pour les aliments qui se sont révélés comme sources majeures d'exposition (composites) aux métaux lourds et BPA, probablement pour leur caractère assouvissant en rapport avec leurs activités. Un lien a été observé entre les niveaux d'exposition au Pb, Hg et

le statut professionnel (Tableau 14). De plus, les doses d'exposition au 50^{ème} et 95^{ème} percentile montrent que les travailleurs du secteur informel et Autres seraient les plus exposés.

Les doses moyennes d'exposition globale de la population au Pb, Cd, Hg ont été 5 ; 23 et 94 fois respectivement supérieures aux normes établies par la JECFA (2000). Celles du Cu et Zn ont dépassé de 1,3 et 4 fois respectivement les valeurs recommandées par le Groupe des Experts sur les Vitamines et Minéraux (EVM, 2003) et celle du BPA a été inférieure à la législation (EFSA, 2015) (Tableau 16). Cependant les marges d'exposition (MoE) de la population qui permettent d'apprécier le niveau de risque sanitaire présenté par chaque contaminant (ici sans danger, car < 1), montrent que celles relatives au Cd, Hg, BPA et au cumul des contaminants (MoEt) sont à un niveau inacceptable (< 100) et constitueraient un risque important pour la santé. La consommation régulière de tels aliments contaminés pourrait conduire à long terme à l'accumulation des métaux lourds toxiques et BPA dans l'organisme et y exercer des effets délétères à travers le stress oxydatif, la perturbation endocrine et les modifications de l'épigénome. Ces effets peuvent survenir à des concentrations de l'ordre nanogramme (Baccarelli et Bollati, 2009 ; Hammi, 2010; Ye *et al.*, 2016). Leur potentiel toxique peut être influencé par d'autres facteurs tels que la consommation des stimulants (alcool, café, thé, tabac) (Tableau 7) tel que relevée pendant l'enquête, ou des agents infectieux (Manfo *et al.*, 2014).

III.2.2- Evaluation du BPA chez les sujets sains, diabétiques et hypertendus

Les résultats des analyses des prélèvements sanguins (BPA-P) montrent une exposition ubiquitaire des participants au BPA (97,02%) (0.00015 – 11,25 µg/l) avec un taux moyen global de 1,04 µg/l. Les personnes saines (100%) sont autant imprégnées que les malades (88-100%) indépendamment du sexe (Tableau 17). Cette bio-prévalence concorde avec la fréquence de contamination alimentaire par le BPA (99,23%) évaluée dans cette étude (tableau 9). Cette forte imprégnation au BPA est similaire à celle obtenue dans d'autres pays (USA, Japon, Corée, Egypte, Allemagne, Espagne ...) (Vanderberg *et al.*, 2010). Cependant les concentrations moyennes de BPA-P indépendamment du statut médical (Tableau 17) sont plus élevées que celles relevées chez les américains sains (femme : 0,64 ng/ml ; homme : 1,49 ng/ml) Les études toxicocinétiques menées chez les américains volontaires des deux sexes ont montré que le pic plasmatique de BPA (18,29 µg/l) est atteint après environ 80 minutes d'administration orale 90 µg de BPA /kg et que le BPA circulant est presque exclusivement

sous forme conjuguée (BPA-glucuronide), suggérant ainsi sa faible biodisponibilité (**Völkel et al., 2002**). Ce qui suppose que pour se retrouver au niveau maximal de BPA-P 11,25 µg/l que nous avons déterminé, il faut avoir consommé environ 55 µg de BPA/kg/j. Or l'exposition alimentaire globale évaluée à Yaoundé dans cette étude nous amène à une consommation journalière de BPA de 0,622 µg/kg/j (Tableau 15). Ceci suggère que le niveau d'exposition au BPA ne serait pas seulement liée à l'alimentation.

Par ailleurs le BPA a été détecté dans 68,31% de prélèvements urinaires des participants (0,00016 - 215,25 µg/g de créatinine) (Tableau 17) et témoignerait d'une exposition récente comme l'ont prouvé diverse études (**Völkel et al., (2002 ; Dekant et Völkel, 2008 ; Thayer et al., 2015)**). Aucune corrélation n'a été établie entre le BPA-P et le BPA-U. Les niveaux d'excrétion urinaire (BPA-U) chez les patients hypertendus (femmes : 28,46 µg/g de créatinine, hommes : 24,42 µg/g de créatinine) et diabétiques (femmes : 15,38 µg/g de créatinine ; hommes : 92,27 µg/g de créatinine) par rapport au contrôle (femmes : 33,16 µg/g de créatinine, hommes : 29,79 µg/g de créatinine) pourraient être dûs à une différence de mode de vie et à l'état sanitaire. Ces observations sont soutenues par les valeurs obtenues chez les américains des deux sexes (hypertendus : 43,4 - 51,5 µg/g de créatinine, diabétiques 11 - 16,1 µg/g de créatinine) (**Anoop et Srinivas, 2012**), chez des sujets sains en Egypte (1,06-18,95 µg/g de créatinine) (**Nahar et al., 2012**) et au Ghana (1.06-18.95 µg/g de créatinine) (**Karalius et al., 2014**). Un lien positif ($p = 0,035$) a été observée dans cette étude entre les teneurs en BPA-U des sujets diabétiques par rapport aux témoins. De plus une micro-albuminurie signe de néphropathie et susceptible d'être provoquée par le BPA (**Zhong et al., 2010**) a été observée chez 79,20% de patients (**Huitkeu, 2014**). Ces résultats s'accordent avec les données obtenues dans d'autres pays (**Vanderberg et al., 2010 ; Anoop et Srinivas, 2012 ; Anoop et al., 2012**). Lorsqu'on se réfère aux résultats du groupe contrôle, les niveaux élevés de BPA-P et BPA-U pourraient également être liés à d'autres paramètres à savoir : la différence interindividuelle d'exposition au BPA, l'accumulation de BPA dans l'organisme suite à des expositions répétées (**Melzer et al., 2010 ; Collet et al., 2015**), une déconjugaison de BPA-glucuronide par l'enzyme β -glucuronidase présente dans nombreux organes cibles, en l'occurrence la β -glucuronidase vésicale (**Ho, 1995 ; Ginsberg et Rice, 2009**). En effet, Ho (1995) a montré que l'activité hydrolytique de cette enzyme au niveau vésical augmente lorsqu'il y a une nécrose tubulaire, ou une hypertension vraie. Le BPA libre qui en résulte de par son caractère lipophile pourrait réintégrer la circulation systémique à

travers un cycle vésico-hépatorenal conduisant à un niveau d'exposition interne (BPA-P) plus élevée tel qu'observé chez les patients hypertendus en général (Tableau 17).

Les concentrations de BPA urinaires ont permis d'estimer la consommation journalière prédite (DEJp) (0,22 - 2,66 µg/kg pc/j) par les participants (Tableau 18). Ces niveaux de consommation journalière sont supérieurs à ceux rapportés (39 - 56 ng/kg pc/j) chez les adultes dans les études similaires réalisées en Europe (EFSA, 2015). La DEJp moyenne (1,05 µg/kg pc/j) représente 26,25% de la dose journalière tolérable de BPA (4 µg/kg pc/j) (EFSA, 2015) et excède de 1,68 fois la consommation journalière de BPA (0,622 µg/kg, pc/j) à travers l'alimentation (Tableau 15). Au 95^{ème} percentile des forts consommateurs, 4% des sujets HTA_A se retrouvent à une dose d'exposition supérieure à la norme (EFSA, 2015). Ces niveaux d'exposition pourraient à long terme aggraver l'état sanitaire des participants.

La quasi-totalité des participants consomment les aliments en conserve, utilisent les contenants en plastique pour la conservation et/ou l'emballage des aliments chauds ou non (Tableau 8). Ils manipulent selon leurs activités, des matériaux (ordinateurs, téléphones portables, électriques, de revêtement des voitures, optiques, médicaux, papiers thermiques ...) qui font partie des domaines d'application de BPA (Vanderberg *et al.*, 2010 ; ANSES, 2013). Le BPA présents dans ces matériaux est susceptible de migrer dans l'aliment et cette migration est plus importante lorsque la température augmente, les matériaux sont utilisés à de nombreuses reprises ou le milieu (contenu) est alcalin (Brede *et al.*, 2003). Le BPA peut également contaminer l'homme par passage transcutané. Cette imprégnation au BPA est favorisée lorsque la peau est humide (Biedermann *et al.*, 2010). Aussi, l'exposition des participants par voie aérienne à travers les rejets industriels, gaz d'échappement, poussières et incinération des déchets, pourrait avoir contribué au niveau élevé de BPA-P (ANSES, 2013 ; Corrales *et al.*, 2015). Les concentrations plasmatiques prédites de BPA (BPA_{éq}) très réduites (0,00026 à 0,0032 µg/l) par rapport aux teneurs plasmatique (0,00015 – 11,25 µg/l) mesurées, suggèrent une exposition multiforme des participants au BPA.

Plusieurs études ont montré que quelque soit la voie d'exposition, les effets délétères du BPA sont liés aux concentrations plasmatiques de BPA libre et non à la dose ingérée. Le BPA de par son activité hormono-mimétique provoquerait même à faible dose (nanomole) des troubles hormonaux et fonctionnels dans l'organisme, la perturbation du fonctionnement des

canaux ioniques sensibles aux œstrogènes à travers des mécanismes épigénétiques et le stress oxydatif (**Hong et al., 2009 ; Zhong et al., 2010 ; Melzer et al., 2010**).

III.2.3- Biomarqueurs de mycotoxines et des métaux lourds chez les sujets sains et Hypertendus

a)- Profil et concentrations des biomarqueurs de mycotoxines dans les urines

Les résultats relèvent une forte prévalence (100%) de la contamination multiple des participants par les mycotoxines (Tableau 21). En effet, 11 biomarqueurs (molécules mères et/ou métabolites) ont été détectés dans les urines dont 6 mycotoxines réglementées (OTA, AFM₁, DON, ZEN, FB₁ NIV) reconnues préoccupantes pour leurs propriétés toxiques avérées (**CAST, 2003 ; Wild et Gong, 2010**). Plusieurs études ont montré que la contamination humaine par les mycotoxines se fait principalement par la voie alimentaire (**Riley et al., 2012 ; Solfrizzo et al., 2014**) et est corrélée à leur excrétion urinaire (**Gambacorta et al., 2013**). En considérant l'excrétion globale des composés parents et leurs métabolites (DON + DOM-1, ZEN + α -ZOL + β -ZOL) dans l'évaluation du profil d'exposition, nous constatons que les sujets du groupe contrôle (54,63%) sont autant exposés que les malades HTA_N (53,05%), et moins que ceux du groupe HTA_A (65,78%) (Tableau 22). Le nombre moyen de biomarqueurs urinaires (5,9) (Figure 30) et les taux moyens des mycotoxines (Figure 33) n'ont pas significativement différents ($p > 0,05$).

La zéaralénone, la déoxynivalénol, l'ochratoxine A ont été plus présentes dans les urines (>80%) que l'AFM₁ (42%), NIV (36%) et FB₁ (10%). La faible excrétion de la FB₁ peut s'expliquer par le fait qu'elle est faiblement absorbée et est transportée via les chylomicrons dans la lymphe (**Voss et Riley, 2013**) contrairement aux autres qui sont rapidement absorbées par diffusion passive après ingestion (**Studer-Rohr et al., 2000 ; Gaumy et al., 2001 ; Eriksen et al., 2003 ; Bbosa et al., 2013**). De plus l'isoforme du cytochrome P450 (CYP1A2) qui métabolise l'AFB₁ en AFM₁ est très sensible aux faibles doses d'aflatoxine qui correspondraient à celles ingérées avec les aliments (**Forrester et al., 1990 ; Crespi et al., 1991**). Cependant, ces taux de prévalence sont supérieurs à ceux déterminés au Cameroun (**Abia et al. (2013c)**) chez des personnes saines : DON (37%), NIV (17%), OTA (10%), AFM₁ (3%), FB₁ (3%) et patients HIV positifs : DON (43%), OTA (17%), NIV (14%), AFM₁ (10%), ZEN (5%), FB₁ (3%) et au Nigéria chez des individus ne

présentant aucun problème hépatique, rénal ou métabolique à savoir OTA (28,3%), AFM₁ (14,2%), ZEN (6,7%), DON (5%) (**Ezekiel et al., 2014**).

Pour la première fois, la présence simultanée de 7 biomarqueurs (non inclus les métabolites de DON, ZEN et CIT) constitués de NIV, DON, ZON, AFM₁, FB₁, CIT, OTA (dont 6 mycotoxines réglementées) a été mise en évidence chez un même individu dont 6 au total (3 patients HTA_N et 3 témoins) alors que le maximum jusqu'alors rencontré est de 5 (AFM₁, FB₁, OTA, DON et NIV) (**Abia et al., 2013c** ; **Solfrizzo et al., 2014**). Ceci s'expliquerait par des expositions élevées des participants aux mycotoxines, mais également par les différences de sensibilité des méthodes d'analyse appliquées. En effet, la chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse en tandem d'ionisation par électro-ébulisaison (Système AB Sciex QTrap 5500-LC-MS/MS) utilisée par **Abia et al. (2013c)** et **Ezekiel et al. (2014)** a été développée pour l'analyse multi-analyte correspondant à des niveaux d'exposition moyens et élevés. Les limites de détection de cette méthode (LOD) variaient de 0,05 µg/l (AFM₁) à 4 µg/l (DON) et les limites de quantification (LOQ) de 0,17 µg/l (AFM₁ et OTA) à 13 µg/l pour DON. La méthode que nous avons appliquée (**Sarkanj et al., 2018**) et qui est comparable à celle utilisée par **Solfrizzo et al. (2014)** est une variante de la précédente (Système Sciex QTrap 6500-LC-MS/MS). Elle intègre une énergie de collision plus élevée et les standards internes radioactifs qui la rendent ultra sensible et permet de plus, la détection des mycotoxines à très faible dose calquant l'exposition chronique. Ses limites de détection ont varié de 0,0003 µg/l (OTA) à 0,05 µg/l (FB₁ et DON) et les limites de quantification de 0,001 (AFM₁) à 0,15 µg/l pour FB₁ et DON (Tableau 20).

Les mycotoxines détectées sont produites par des champignons appartenant aux genres *Aspergillus* et *Fusarium* (**Bennett et Klich, 2003** ; **Schatzmayer et Streit, 2013**) dont le foisonnement (prévalence > 70%) a été mis en évidence dans notre environnement chaud et humide, favorable à la mycotoxinogénèse dans les substrats investis (**Domngang et al., 1984** ; **Ngoko et al., 2008**; **Njobeh et al., 2009**). Il s'est avéré que ces mycotoxines sont celles retrouvées dans les denrées de base dans l'alimentation des camerounais (maïs, arachides, manioc, haricot et leurs produits de transformation prêts à la consommation), à des fréquences (30 à 100%) et teneurs parfois très élevées et en co-contamination (**Domngang et al., 1988** ; **Ngoko et al., 2008** ; **Essono et al., 2009**; **Njobeh et al., 2010** ; **Tchana et al., 2010** ; **Abia et al., 2013a et b** ; **Ediage et al., 2014**).

Les divergences des niveaux de contamination des participants par les mycotoxines (Tableaux 22) pourraient être soutenues : par les habitudes de vie des uns et des autres, par les niveaux de contamination des aliments ingérés, par les différences interindividuelles en rapport avec la toxicocinétique des mycotoxines ingérées, par l'état sanitaire des participants. Bien qu'aucune différence n'ait été observée entre les teneurs en biomarqueurs par rapport au statut médical, les données indiquent néanmoins que les sujets HTA_A excrètent plus de mycotoxines (taux moyen 4,54 µg/l) que les sujets témoins (taux moyen 2,05 µg/l) et HTA_N (1,13 µg/l) (Figure 33) et pourrait également se justifier par leur prise en charge médicamenteuse qui inclue les diurétiques.

Les niveaux moyens d'exposition alimentaire estimés ont dépassé de 70 fois (NIV), 743 fois (DON), 34 fois (ZEN), 21 fois (FB₁) et 211 fois (OTA) les valeurs tolérées (SCF, 2002 ; 2003 ; Solfrizzo *et al.*, 2011) et celui de l'AFB₁ sans seuil (17,84 µg/kg pc/j) sont supérieurs à ceux obtenus au Nigéria, excepté la fumonisine (35µg/kg pc/j) (Ezekiel *et al.*, 2014) et en Italie (Solfrizzo *et al.*, 2014) confirmant ainsi le fait que l'exposition alimentaire varie en fonction des données climatiques et des habitudes alimentaires (Williams *et al.*, 2004 ; Atehnkeng *et al.*, 2008). On pourrait dire que les habitudes alimentaires des participants indépendamment du groupe (d'après les données de l'enquête), les ont disposé à des ingestions répétées de toxines et que les sources d'exposition de NIV, OTA n'auraient pas ou suffisamment été explorées. Aucun seuil limite n'a été établi pour les aflatoxines considérées comme des composés cancérigènes et génotoxiques sans seuil (Solfrizzo *et al.*, 2014) et le principe ALARA (*As Low As Reasonably Achievable*) lui est appliqué. Selon le Comité conjoint FAO/WHO, l'ingestion de 1 ng d'aflatoxines/kg p.c./j (largement < 17,84 µg/kg pc/j) augmenterait l'incidence du cancer du foie de 0,013 cancer par an pour 100 000 personnes. Une exposition alimentaire des populations à la dose d'OTA de 1,21 µg/j a été impliquée dans les épidémies de néphropathie en Europe (Abouzed *et al.*, 2002). Il n'est pas exclu que les expositions simultanées aux mycotoxines potentialisent leurs effets toxiques dans l'organisme (Mary *et al.*, 2015) et que ces effets soient influencés par la consommation des stimulants (alcool, cigarette) telle qu'enregistrée pendant l'enquête.

III.2.4- Profil et concentrations des métaux lourds dans les urines

L'analyse des urines révèle une forte imprégnation (100%) des participants aux métaux lourds (Tableau 24). Comparés à la population dite non exposée (**Guidotti et al., 2008**), les résultats montrent à travers la distribution des métaux que les participants du groupe contrôle sont autant imprégnés au Cu, As et Pb (100%) et moins au Cd (26%) que ceux des groupes HTA_A (36,84%) et HTA_N (46,4%) (Tableau 25, Figure 34). Cependant, les niveaux d'excrétion du Pb ont été tous inférieurs aux valeurs de référence (0 - 0,0832 mg/l) et à la norme (0,05 mg/l) (**Guidotti et al., 2008 ; ACGIH, 2008**) alors que ceux d'As, Cu, Cd ont excédé les valeurs de référence chez 27,47%; 8,79% et (5,49%) respectivement, justifiant une exposition externe des participants à ces métaux. De prime abord, la pollution de notre environnement à travers les rejets atmosphériques émanant des incinérations des déchets ménagers et autres, de la combustion des carburants (gaz d'échappement) et charbons (des revêtements de la chaussée), des poussières qui drainent des particules métalliques etc., rend inévitable l'exposition/contamination par ingestion ou inhalation et aurait contribuer à cette imprégnation (**Hornig et al., 2002 ; De Rosa et al., 2003**). Les métaux lourds sont également utilisés dans les revêtements des systèmes de distribution d'eau potable, la fabrication des engrais, biocides (pesticides, herbicides, conservateurs), des produits cosmétiques, carburants, des matières plastiques qui sont d'usage courant... (**Biney et al., 1995**). Toutes ces matières vraisemblablement indispensables aux activités diverses des Hommes, ne peuvent qu'entretenir l'exposition. Leur absorption est influencée par leur nature, leur spéciation chimique, l'état nutritionnel et favorisée par carences alimentaires en métaux essentiels et autres nutriments (vitamines) essentiels à l'organisme (**Kippler et al., 2007**).

Les taux d'excrétion des métaux obtenus indépendamment du groupe, sont inférieurs à ceux déterminés dans une étude similaire au Nigéria (**Ekan et al., 2014**) et en Taïwan dans l'évaluation d'une exposition professionnelle (**Hornig et al., 2002**). L'excrétion du cuivre a été significative ($p = 0,03$) dans les groupes HTA_A et HTA_N par rapport aux témoins (Figure 34-c) et par rapport aux facteurs de risque que sont l'obésité et le surpoids ($p = 0,01$) (Figure 36-c) alors que celle du cadmium l'a été par rapport au sexe (0,001). Par ailleurs, plusieurs auteurs s'accordent sur le fait que les métaux lourds toxiques tels que, le Cd, As, Hg seraient obésogènes (**Newbold et al., 2009 ; Hotcamp, 2012**). De plus les métaux lourds sont persistants et cumulatifs et la filtration glomérulaire serait liée à la charge corporelle des

métaux et aux quantités récemment absorbées, à l'état sanitaire, au vieillissement rénal, à la variabilité génétique (Stenge et Pierre, 1998 ; Olsson *et al.*, 2002 ; Kippler *et al.*, 2007). Tous ces facteurs mis ensemble pourraient justifier les niveaux d'excrétion élevés relevés chez quelques participants par rapport aux normes et les différences d'excrétion par rapport au statut médical. En effet, les niveaux d'excrétion d'As ont été supérieurs à la norme (0,130 mg/l) (Guidotti *et al.*, 2008) chez 23,68% des sujets HTA_A (0,142-0,860 mg/l), 17,58% des sujets HTA_N (0,156-0,483 mg/l) et 13% des participants du groupe contrôle (0,164-0,272 mg/l). Par ailleurs, la teneur en cadmium chez 7,14% des patients uniquement du groupe HTA_N (0,006-0,007) ont excédé la limite d'excrétion recommandée (0,005 mg/l) (ACGIH, 2008) (Figure 34). D'autre part les malades HTA_A excrètent significativement ($p < 0,04$) plus de métaux (5,325 mg/l) que ceux des groupes HTA_N (3,757 mg/l) et contrôle (2,752 mg/l).

Nous avons recherché dans les mêmes échantillons d'urine les biomarqueurs des mycotoxines et les métaux lourds. L'exploitation des données met en évidence pour la première fois la présence simultanée de 10 contaminants potentiellement toxiques chez un même individu dont 2 au total (1 HTA_N et 1 contrôle) : AFM₁, FB₁, DON, ZEN, OTA, NIV, CIT, As, Pb, Cd ; et entre autres combinaisons, 9 contaminants ; AFM₁, FB₁, DON, ZEN, OTA, NIV, CIT, As, Pb chez 4 participants (2HTA_N et 2 contrôles). Certes, la présence de ces contaminants environnementaux dans les urines ne signifie pas nécessairement qu'ils sont à l'origine de la maladie ou qu'ils vont la provoquer mais, les niveaux d'imprégnation des populations constituent un risque pour la santé publique.

Précédemment, l'évaluation des charges alimentaires en métaux lourds (Pb, Cd, Hg, Cu, Zn) et BPA a mis en évidence des niveaux de contamination 8 à 105,6 fois et 86,66 fois respectivement supérieurs aux normes (WHO/EC, 2006 ; EC, 2004) (Tableau 10), conduisant aux marges d'exposition inacceptables pour le Cd, Hg, BPA, et une marge d'exposition globale de la population au mélange des contaminants située dans la zone à risque (< 100). De même l'imprégnation de la population au BPA (sérique) a été élevée (97,02%) et pourrait également être due aux expositions aérienne, cutanée et alimentaire.

L'exposition des populations d'étude à ces polluants environnementaux (métaux lourds, BPA, mycotoxines) et des camerounais en général à travers cette étude est une réelle préoccupation au vu de la recrudescence des maladies non transmissibles ayant l'allure d'une épidémie au Cameroun (OMS, 2014 ; 2016). En effet, la prévalence du diabète a augmenté de 9,1% entre 1990 et 2003, celle de l'hypertension artérielle de 14,8% entre 1994 à 2008 et celle

du cancer est en hausse de 1,5% par an (**OMS, 2014**). Il est à craindre un effet synergique ou potentialisant voire additif des effets sanitaires de ces contaminants à travers les désordres métaboliques et les anomalies de l'ADN qu'ils sont susceptibles d'induire (**De Coster et van Larebeke, 2012 ; Baccarelli et Bollati, 2009 ; Mauvais-Jarvis *et al.*, 2013**).



CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

CONCLUSION GENERALE

Au terme de notre étude dont l'objectif principal était d'évaluer l'exposition des populations adultes de Yaoundé aux polluants alimentaires et environnementaux en relation avec les maladies non transmissibles (diabète et hypertension), nous avons observé :

Concernant l'exposition alimentaire aux métaux lourds et BPA,

1) Une forte prévalence des métaux lourds (70-93%) et BPA (99,23%) dans les échantillons d'aliments, avec pour une première, une multi-contamination des aliments (52,7%) au Pb, Cd, Hg et BPA.

Les niveaux moyens d'exposition de la population d'étude aux métaux lourds uniquement ont excédé (1,3 à 94 fois) les doses journalières tolérées. Les marges d'exposition (MoE) de la population au Cd, Hg, BPA et celle de la multi-contamination alimentaire (MoEt) sont à un niveau inacceptable (< 100) et constitueraient un risque important pour la santé à long terme.

Concernant l'évaluation de l'exposition au BPA chez les sujets étudiés,

2) Une forte imprégnation (97,02%) de la population d'étude au BPA. Les sujets sains ont été autant imprégné que les malades.

Les doses journalières prédites d'exposition au BPA ont excédé les limites recommandées chez environ 4% des participants; suggérant une exposition alimentaire significative.

Les concentrations plasmatiques prédites de BPA ont été largement inférieure aux concentrations plasmatiques mesurées, suggérant une exposition multiforme (alimentaire, inhalation et/ou cutanée) des participants au BPA.

La néphropathie observée 79,20% de patients pourrait être due à une exposition chronique au BPA bien qu'il n'y ait aucune relation entre le BPA-P et l'état sanitaire (diabète, hypertension).

Concernant la contamination multiple aux mycotoxines et métaux lourds des sujets,

3) La prévalence de la multi-contamination des participants par les mycotoxines et les métaux lourds est de 100%. Quelque soit le statut on note un minimum de 5 contaminants par individu. Les personnes saines sont autant contaminées par les mycotoxines et métaux lourds

ques les malades. Les hypertendus anciens les excrètent plus et les niveaux d'excrétion seraient liés à l'état sanitaire.

Dix (10) contaminants potentiellement toxiques entre autres combinaisons, ont été mis en évidence pour la première fois chez un même individu dont 2 au total: AFM₁, FB₁, DON, ZEN, OTA, NIV, CIT, As, Pb, Cd (1 HTA_N et 1 contrôle).

Tous ces résultats indiquent une exposition multiple des populations de Yaoundé aux métaux lourds, BPA et mycotoxines réglementées, quel que soit l'état de santé. Des mesures s'imposent pour la réduction de cette l'exposition eu égard à la recrudescence des maladies non transmissibles au Cameroun.

RECOMMANDATIONS

- Avant tout ravitaillement en eau de robinet laisser couler pendant un moment les premières eaux
- Eviter l'utilisation de la matière plastique pour la cuisson et l'emballage ou consommation des repas chauds
- Eviter la consommation des boissons conditionnées dans les emballages plastiques exposés au soleil.
- Bien trier les oléagineux et céréales destinés à la cuisson afin d'éliminer les graines moisies chargées de mycotoxines.

PERSPECTIVES

- Organiser des campagnes de sensibilisation et d'éducation des populations sur les risques liés aux polluants environnementaux pour une meilleure hygiène de vie.
- Etendre cette étude de multi-contamination et bio-surveillance aux couches les plus vulnérables que sont les enfants.
- Procéder à une classification des risques d'exposition par rapport aux statuts des populations, à leurs activités, au genre et aux activités anthropiques courantes dans la ville de Yaoundé et susceptibles de contribuer au déterminisme de l'exposition des aliments et des populations.
- Etudier l'effet cocktail des polluants *in vitro* en mettant à contribution l'effet protecteur des plantes médicinales déjà prouvé dans notre laboratoire.

A decorative horizontal scroll graphic with a light gray background and a dark gray border. The scroll is unrolled in the center, with the text 'REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES' written in bold black capital letters. The left and right ends of the scroll are rolled up, and there are small circular details at the top and bottom corners of the unrolled section.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- A.O.A.C (Official methods of analysis of the Association of Official Chemist) (1997). AOAC Inc, Arlington 16 ed, 11 (37): 3-4.
- Abdulmajid, N., Baustista, S., Chavez, E., Dimaano, W. and Barcelon, E. (2014). Heavy metal assessment and sensory evaluation of street vended foods. *International Food Research Journal*, 21: 6, 2127-213.
- Abia W.A., Simo G.N., Warthb B., Sulyokb M., Krskab R., Tchana, A. and Moundipa P.F. (2013b). Determiation of multiple mycotoxins levels in poultry feeds from Cameroon. *Japanese J. Vet.Res.*61: S33-S39.
- Abia W.A., Warth B., Sulyok M., Krska R., Tchana A.N., Njobeh P.B., Turner P.C., Kouanfack C., Eyongetah M., Dutton M.F. and Moundipa PF. (2013c). Bio-monitoring of mycotoxin exposure in Cameroon using a urinary multi-biomarker approach. *Food Chem. Toxicol.* 62, 927–934.
- Abia, W. A., Warth, B., Sulyok, M., Krska, R., Tchana, A. N., Njobeh, P. N., Dutton, M. F. and Moundipa, P. F. (2013a). Determiation of multi-mycotoxin occurrence in cereals, nuts and their by-products and estimation of human dietary mycotoxin exposure in Cameroon. *Food Control*, 31:438-453.
- Abondo A., Essomba R., Ngbangako M., Essama O. J. L., Mbakop A. (1984). La pathologie cancéreuse au Cameroun: Aperçu sur les aspects épidémiologiques. *Cahier de l'IMPM*. 1, 40p.
- Abouzied, M.M., Horvath, A.D., Podlesny, P.M., Regina, N.P., Metodiev, V.D., Kamenova-Tozeva, R.M., Niagolova, N.D., Stein, A.D., Petropoulos, E.A., Ganev, V.S. (2002). Ochratoxin A concentrations in food and feed from a region with Balkan Endemic Nephropathy. *Food Addit. Contam.* 19: 8, 755-764.
- ACGIH, Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents and Biological Exposure Indices, American Conference of Governmental Industrial Hygienists, Cincinnati, OH, 2008.
- Adejumo T.O., Hettwer U., Karlovsky P. (2007). Occurrence of *Fusarium* species and trichothecenes in Nigerian maize, *Int. J. Food Microbiol.* 116: 3, 350-357.
- Afri-Mehennaoui F-Z. and Mehennaoui S. (2004). Comparaison de trois techniques d'extractions pour la détermination des éléments traces métalliques dans les sédiments de l'oued Rhumel et son affluent l'oued Boumerzoug en zone urbaine (Constantine). *Sciences & Technologie*, 12: 20-38.
- AFSSA (Agence de Française de Sécurité Sanitaire). (2009). Rapport final. Evaluation des risques liés à la présence de mycotoxines dans les chaînes alimentaires humaine et animale. 308p. <http://www.afssa.fr>
- Ahoussi E.K., Soro N., Kouassi A.M., Soro G., Koffi Y.B. and Zade S.P. (2010). Application des méthodes d'analyses statistiques multivariées à l'étude de l'origine des métaux lourds (Cu^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} et Pb^{2+}) dans les eaux des nappes phréatiques de la ville d'Abidjan. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 4 : 5, 1753-1765.
- Akan J.C., Sodipo O.A., Liman Y. and Chellube Z.M. (2014). Determiation of heavy metals in blood, urine and water samples by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission spectrophotometer and fluoride using ion-selective electrode. *J. Anal. Bioanal. Tech.* 5: 217 doi:10.4172/2155-9872.1000217
- Allen S.J., Wild C.P., Wheeler J.G., Riley E.M., Montesano R., Bennett S., Whittle H.C., Hall A.J. and Greenwood B.M. (1992). Aflatoxin exposure, malaria and hepatitis B infection in rural Gambian children. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 86, 426-430.

- Amzal B., Julin B., Vahter M., Wolk A., Johanson G. and Akesson A. (2009) - Population toxicokinetic modeling of cadmium for health risk assessment. *Environ. Health Perspect.* 117: 8, 1293-1301.
- Anoop S. and Srinivas T. (2012): Urinary Bisphenol A and hypertension in a Multiethnic sample of US adults. *Journal of Environmental and Public Health.* Article ID481641, 5 pages doi: 10.1155/2012/481641
- Anoop S., Srinivas T., and Charumathi S. (2012): Bisphenol A and Peripheral Arterial Disease: Results from the NHANES. *Environmental Health Perspectives* 120(9): 1297-1300.
- ANR (Agence Nationale de la Recherche). (2012). Contaminants et environnement : constater, diffuser, décider. Les Cahiers de l'ANR. N°6. 163p.
- ANSES. (2013). Evaluation des risques du bisphénol A (BPA) pour la santé humaine : Avis de l'Anses, rapport d'expertise collective. *Tome 1, Edition scientifique.* Mars 2013.
- Atehnkeng J., Ojiambo P.S., Donner M., Ikotun K., Sikora R.A., Cotty P.J., Bandyopadhyay R. (2008). Distribution and toxicity of *Aspergillus* species isolated from maize kernels from three agro-ecological zones of Nigeria. *Int. J. Food Microbiol.* 122, 74-84.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry) (2004). Toxicological profile for copper. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, GA, pp. 1-265.
- Ayalew A., Fehrmann H., Lepschy J., Beck R., Abate D. (2006). Natural occurrence of mycotoxins in staple cereals from Ethiopia. *Mycopathologia.* 162: 1, 57-63.
- Baccarelli A. and Bollati V. (2009). Epigenetics and environmental chemicals. *Curr Opin Pediatr.* 21: 243-251.
- Balzer A., Tardieu D., Bailly J.D. et Guerre P. (2004). Les trichothécènes : nature des toxines, présence dans les aliments et moyens de lutte. *Revue Méd. Vét.* 155 : 6, 299-314.
- Bamuwanye M., Ogwok P., Tumuhairwe V., Eragu R., Nakisozi H. and Ogwang P. E. (2017). Human Health Risk Assessment of Heavy Metals in Kampala (Uganda) Drinking Water. *Journal of Food Research;* 6: 4, 6-16.
- Bartels H., Böhmer M. and Heierli C. (1972). Serum creatinine determination without protein precipitation. *Clinica Chimica Acta.* 37, 193-197.
- Bassey F.I., Fehintola C. Oguntunde F.C., Iwegbue C.M.A, Osabor V.N. and Edem C.A. (2014). Effects of processing on the proximate and metal contents in three fish species from Nigerian coastal waters. *Food Science and Nutrition.* 2: 3, 272-281.
- Bbosa, G.S., David Kitya, D., Lubega, A., Ogwal-Okeng, J., Anokbonggo, W.W. and Kyegombe, D.B. (2013a). Review of the biological and health effects of aflatoxins on body organs and body systems: Aflatoxins-Recent advances and future prospects. *Intechopen Publisher.* 12, 239-265.
- Bennett J.W. and Klich M. (2003). Mycotoxins. *Clinical Microbiology Reviews.* 16: 497-516
- Bennett J.W. and Lee L.S. (1979). Mycotoxins. Their biosynthesis in Fungi: Aflatoxins and other bisfuranoids. *J. Food Prot.* 42: 10, 805-809.
- Berek, L., Petri, I. B., Mesterházy, A., Téren, J. and Molnár, J. (2001). Effects of mycotoxins on human immune functions *in vitro.* *Toxicol. In Vitro.* 15, 25-30.

Betina, V. (1994). Bioactive secondary metabolite of microorganisms. Progress in industrial microbiology. Elsevier, Amsterdam. 30, 468p.

Biedermann S, Tschudin P and Grob K. (2010) Transfer of bisphenol A from thermal printer paper to the skin. *Anal Bioanal. Chem.* 398: 1, 571-576.

Biney C., Amuzu A. T., Calamari D., Kaba N., Mbome I. L., Naeve H., Ochumba O., Osibanjo O., Radegonde V. and Saad M. A. H. (1995). Revue de la pollution dans l'environnement aquatique africain: Etude des métaux lourds. Archives de documents de la FAO, Département de pêches. Rome, pp 25-29.

Bisson M., Houeix N., Gay G., Lacroix G., Lefevre J.P., Magnaud H., Migne V., Morin A. and Tissot S. (2005). Cuivre et ses dérivés. Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques INERIS, 66p.

Bortey-Sam N., Nakayama S. M., Akoto O., Ikenaka Y., Fobil N. J., Baidoo E., Mizukawa H. and Ishizuka M. (2015b). Accumulation of Heavy Metals and Metalloid in Foodstuffs from Agricultural Soils around Tarkwa Area in Ghana, and Associated Human Health Risks. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 12: 8811-8827.

Bortey-Sam N., Nakayama S.M., Ikenaka Y., Akoto O., Baidoo E., Yohannes Y.B., Mizukawa H. and Ishizuka M. (2015a). Human health risks from metals and metalloid via consumption of food animals near gold mines in Tarkwa, Ghana: estimation of daily intakes and target hazard quotients (THQs). *Ecotoxico. Environ. Saf.* 111, 160-167.

Boussabbeh M., Ben Salem I., Prola A., Guilbert A., Bacha H., Abid-Essefi S., Lemaire C. (2015). Patulin induces apoptosis through ROS-mediated endoplasmic reticulum stress pathway. *Toxicol Sci.* 144: 2, 328-337.

Brede, C., Fjeldal P., Skjevraak I., and Herikstad H. (2003). Increased migration levels of bisphenol A from polycarbonate baby bottles after dishwashing, boiling and brushing. *Food Addit Contam.* 20: 7, 684-689.

Brocato J. and Costa M. (2013). Basic mechanics of dna methylation and the unique landscape of the DNA methylome in metal-induced carcinogenesis. *Crit. Rev. Toxicol.* 43 : 6, 1-39.

Buldini P.L., Ricci L. and Sharma J.L. (2002). Recent applications of sample preparations techniques in food analysis. *Journal of Chromatography A.* 975: 1, 47-70.

Burridge, E. (2003). Bisphenol A: product profile. *Eur Chem News*, 2003. 17: p.14-20.

Cao X.L., Perez-Locasb C., Dufresneb G., Clementb G., Popovica S., F. Beraldinb F., Dabekaa R.W. and Feeley M. (2011). Concentrations of bisphenol A in the composite food samples from the 2008 Canadian total diet study in Quebec City and dietary intake estimates *Food Addit. Contam.* 28: 6, 791-798.

Cassereau G. (2001). Contamination des loutres *Lutra lutra* de l'ouest de la France par quelques éléments traces : Cadmium, Cuivre, Mercure, Sélénium et Zinc. Thèse de Doctorat de l'école nationale vétérinaire de Nantes, 146p.

CAST (Council for Agricultural Science & Technology). (2003). Mycotoxins: Risks in plant, animal and human systems. *Task Force Report*, No. 139. Council for CAST, Ames. IA.

Chang C.Y., Yu H.Y., Chen J.J., Li F.B., Zhang H.G and Liu C.P. (2014). Accumulation of heavy metals in leaf vegetables from agricultural soils and associated potential health risks in the Pearl River Delta, South China. *Environ. Monit. Assess.* 186,1547-1560.

- Christensen, K.L., Lorber, M., Koch, H.M., Kolossa-Gehring, M., Morgan, M.K., 2012. Population variability of phthalate metabolites and bisphenol A concentrations in spot urine samples versus 24- or 48-h collections. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 22(6), 632–640.
- Chuisseu D.D.P., Abia W.A., Zibi S.B., Simo K.N., Ngantchouko N.C.B., Tambo E., Tchana N.A., Moundipa F.P. and Jeanne Ngogang J. (2018). Safety of breast milk vis-a-vis common infant formula and complementary foods from Western and Centre Regions of Cameroon from mycotoxin perspective. *RAAdvFoodSci.* 1 : 1, 23-31.
- CIRC Centre international de recherche sur le cancer (2011). Agents reviewed by the IARC Monographs - Volumes 1-100B. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/PDFs/index.php>
- Clarkson T.W. (2002). The three modern faces of mercury. *Environ. Health Perspect.* 110: 1, 11-23.
- Collet S.H., Picard-hagen N., Lacroix M.Z., Puel S., Vigué C., Bousquet-melou A., Toutain P-L. et gayrard V. Allometric scaling for predicting human clearance of bisphenol A. *Toxicology and Applied Pharmacology.* Vol. 284, n° 3, pp. 323-329. Mai 2015.
- Comité Européen (CE) (2006). No 1881/2006 de la commission du 19 décembre 2006 portant sur la fixation de teneurs maximales pour certains contaminants dans les denrées alimentaires. 34p.
- Corrales J., Kristofco L.A., Steele W.B., Yates B.S., Breed C.S., Williams E.S., Brooks B.W. (2015). Global assessment of Bisphenol A in the environment: review and analysis of its occurrence and bioaccumulation. *Dose Response Int. J.* 2015, 1-29.
- Cousins R., Liuzzi J.P. and Lichten L.A. (2006). Mammalian zinc transport, trafficking, and signals. *J. Biol. Chem.* 281:24085-24089.
- CSHPF (Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France) (1999). Les mycotoxines dans l'alimentation : évaluation et gestion du risque, eds TEC & DOC.
- De Coster S. and van Larebeke N. (2012). Endocrine-disrupting chemicals: associated disorders and mechanisms of action. 10.1155/2012/713696.
- De Rosa M, Zarrilli S, Paesano L, Carbone U, Boggia B, et al. (2003) Traffic pollutants affect fertility in men. *Hum Reprod* 18: 1055-1061.
- Dekant, W., Völkel, W., 2008. Human exposure to bisphenol A by biomonitoring: methods, results and assessment of environmental exposures. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 228, 114–134.
- Demierre A.L., Peter R., Oberli A. and Bourqui-Pittet M. (2012). Dermal penetration of bisphenol A in human skin contributes marginally to total exposure. *Toxicology Letters*, 213: 3, 305-308.
- Doi K. and Uetsuka K. (2011). Review: Mechanisms of mycotoxin-induced neurotoxicity through oxidative stress-associated pathways. *Int. J. Mol. Sci.* 12, 5213-5237.
- Domngang, F. B., Tchana, A. and Moundipa, P. (1988). Aflatoxines dans les aliments prêts à la consommation au Cameroun. *Cam. J. Biol. Sc.* 1, 65-67.
- Domngang, F., Kamdem, L. and Moundipa, P. (1984). Presence d'aflatoxines dans certains aliments consommés au Cameroun. *Annals of the Faculty of Science (Biology and Biochemistry), University of Yaounde I, Cameroon*, 2:93-101.
- Doull J. M. D., Curtis D., Klassen D. and Amdur M. O. (1980). *The basic science poison*. 2nd ed. Copyright, Macmillian Publ. Co. Inc. 11-137

Duong, C.N., Ra, J.S., Cho, J., Kim, S.D., Choi, H.K., Park, J.H., Kim, K.W., Inam, E., Kim, S.D., (2010). Estrogenic chemicals and estrogenicity in river waters of South Korea and seven Asian countries. *Chemosphere* 78: 3, 286-293.

Durou C., Mouneyrac C. and Amiard-Triquet C. (2005). Tolerance to metals and assessment of energy reserves in the polychaete *Nereis diversicolor* in clean and contaminated estuaries. *Environmental Toxicology*, 20, 23-31.

Ediage E.N., Hell K. and De Saeger S. (2014). A comprehensive study to explore differences in mycotoxin patterns from agro-ecological regions through maize, peanut, and cassava products: a case study, Cameroon. *J Agric Food Chem.* 62 : 20, 4789-4797.

Edmonds J.S., Nomachi M., Terasaki M., Morita M., Skelton B.S. and White A.H. (2004). The reaction of bisphenol A 3,4-quinone with DNA. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 319: 2, 556-561.

EFSA (2018). Bisphénol A: la Commission Européenne renforce les restrictions dans les emballages alimentaires. <https://m.actu-environnement.com/efsa/> - Février 2018.

EFSA (European Food Safety Authority). (2015). Scientific opinion on the risks to public health related to the presence of bisphenol A in food stuffs: executive summary. EFSA panel on food contact materials, enzymes, flavorings and processing aids. European Food Safety Authority, Parma, Italy, *Eur. Food Saf. Auth. J.* 13: 1, 3978.

EFSA. (2009) - Scientific opinion: Cadmium in food Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain (Question No EFSA-Q-2007-138). *EFSA J.* 980, 1-139.

EFSA. (2011). Overview of the procedures currently used at EFSA for the assessment of dietary exposure to different chemical substances. *The EFSA Journal.* 9: 12, 2490.

el Kady I.A and Youssef M.S.(1993) Survey of mycoflora and mycotoxins in Egyptian soybean seeds. *J. Basic Microbiol.* 33, 371-378.

Engwa A. G. and Osuji A. G. (2015). Determination of some soft drink constituents and contamination by some heavy metal in Nigeria. *Toxicology Reports.* 2, 384-390.

EPA (Environmental Protection Agency). (2012). Survey of Bisphenol A and Bisphenol-A-diglycidylether polymer. Danish Environmental Protection Agency. Strandgade 29. ISBN no. 978-87-93026-14-8. 116p.

EPA (Environmental Protection Agency). (2013). Survey of Bisphenol A and Bisphenol-A-diglycidylether polymer. Environmental Project No. 1483. ISBN no. 978-87-93026-14-8. 116p.

Eriksen, G.S., Pettersson, H and Lindberg, J.E. (2003). Absorption, metabolism and excretion of 3-acetyl DON in pigs. *Arch. Tierernahr.*, 57: 5, 335-45.

Essono G., Ayodele M., Akoa A., Foko J., Filterborg O. and Olembo S. (2009). Aflatoxin-producing *Aspergillus* spp. and aflatoxin levels in stores cassava chips as affected by processing practices. *Food Control.* 20:7, 648-654.

European Commission (EC) (2002). EC Decision No. 2002/657/EC of 14 August 2002 implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results, *Off. J. Eur. Union.* L221 (2002) 8–36.

EVM (2003). Safe upper levels for vitamins and minerals of the Export Group on Vitamins and Minerals. Food Standard Agency. <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/vitmin>.

- Ezekiel C.N., Warth B., Ogara I.M., Abia W.A., Ezekiel V.C., Atehnkeng J., Sulyok M., Turner P.C., Tayo G.O., Krska R., Bandyopadhyay R. (2014). Mycotoxin exposure in rural residents in northern Nigeria: A pilot study using multi-urinary biomarkers. *Environment International*. 66, 138–145.
- FAO/OMS. (2010). Toxicological and Health Aspects of Bisphenol A. Ottawa. 60p. ISBN 978 92 14 156427 4.
- FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organization) (2005). Dietary exposure assessment of chemicals in food. Annapolis, Maryland, USA, 88p.
- Faucet, V., A. Pfohl-Leszkowicz, J. Dai, M. Castegnaro and Manderville R.A. (2004). Evidence for covalent DNA adduction by ochratoxin A following chronic exposure to rat and subacute exposure to pig. *Chem. Res. Toxicol.* 17,1289-1296.
- Favier A. (2003). Le stress oxydant : intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique. *Actual. Chim.* 269-270, 108-115.
- Filténborg, O., Frisvad, T. C. and Samson, R. A. (2000). Specific association of fungi in foods and influence of physical environmental factors. In: *Introduction to Food- and Airborne Fungi 6th Edition*. Samson, R. A., Hoekstra, E. S., Frisvad, J. C. and Filténborg, O. (Eds.). Central bureau voor Schimmelcultuur, Utrecht. 306-320.
- Fu, P. and Kawamura, K. (2010). Ubiquity of bisphenol A in the atmosphere. *Environ. Pollut.* 158, 3138-3143.
- Gambacorta, L.; Solfrizzo, M.; Visconti, A.; Powers, S.; Cossalter, A.M.; Pinton, P.; Oswald, I.P. (2013). Validation study on urinary biomarkers of exposure for aflatoxin B1, ochratoxin A, fumonisin B1, deoxynivalenol and zearalenone in piglet. *World Mycotoxin J.* 6, 299–308.
- Gaumy, J.L., Bailly, J.D., Burgat, V., Guerre, P. (2001). Zéaralénone : propriétés et toxicité expérimentale. *Revue Méd. Vét.* 152, 219-234.
- Ginsberg G. and Rice D. C. (2009). Does rapid metabolism ensure negligible risk from Bisphénol A, *Environmental Health Perspective*. 117: 11, 639-1643.
- Gong Y.Y., Cardwell K., Hounsa A., Turner P.C., Hall A.J., Wild C.P. (2002). Dietary aflatoxin exposure and impaired growth in young children from Benin and Togo: cross sectional study. *Br. Med. J.* 325: 7354, 20-21.
- Gong, H., Zhang, X., Cheng, B., Sun, Y., Li, C., Li, T., Zheng, L., and Huang, K. (2013). Bisphenol A accelerates toxic amyloid formation of human islet amyloid polypeptide: a possible link between bisphenol A exposure and type 2 diabetes. *PLoS ONE* 8, e54198.
- Gross-Steinmeyer, K., Weymann, J., Hege, H. G., and Metzler, M. (2002). Metabolism and lack of DNA reactivity of the mycotoxin ochratoxin a in cultured rat and human primary hepatocytes. *Journal Of Agricultural And Food Chemistry*. 50, 938-945.
- Guidotti T.L., McNamara J. and Moses M.S. (2008). The interpretation of trace element analysis in body fluids. *Indian J. Med. Res.* 128, 524-532.
- Guilbot A., Jemmali M. (1970). Conditions de production de l'aflatoxine : Influence de composants du milieu de culture sur-la production de la toxine. *Cah. Nut. Diet.* 5 : 2, 51-52.
- Hammi H. (2010). La pollution des eaux par les métaux lourds. Les IIIème Olympiades Tunisiennes de Chimie.30p.

- Hawkins, L. K., Windham, G. L. and Williams, W. P. (2005). Effect of different postharvest drying temperatures on *Aspergillus flavus* survival and aflatoxin content in five maize hybrids. *Journal of Food Protection*, 68:1521–1524.
- Hendrickse R. G., Coulter J. B. S., Lamplugh S. M., Macfarlane S. B. J., William T. E., Omer M. I. A. and Suliman G. I. (1982). Aflatoxin and kwashiorkor: a study in Sudanese children. *Br. Med. J.* 285, 843-846.
- Hendrickse R.G., Maxwell S.M. (1989). Aflatoxins and child health in the tropics. *Toxicol. Toxin Rev.* 8, 31-41.
- Ho K.J. (1995). Absolute concentration of urinary endogenous β -glucuronidase determined by an ELISA method as a sensitive but non-specific indicator for active renal parenchymal damage. *British journal of urology*. 75: 1, 78–84.
- Hong Y.C., Park E.Y., Park M.S., Ko J.A., Oh S.Y., Kim H., Lee K.H., Leem J.H., Ha E.H. (2009) Community level exposure to chemicals and oxidative stress in adult population. *Toxicology Letters* 184, 139-144.
- Hornig C.J., Jin-Lian Tsai J.L., Hornig P.H, Lin S.C., Shinine-Ren Lin S.R. and Cherng-Chyi Tzeng C.C. (2002). Determination of urinary lead, cadmium and nickel in steel production workers. *Talanta*. 56, 1109–1115
- Hu J, Mao Y, White K. Renal cell carcinoma and occupational exposure to chemicals in Canada. *Occup Med* 2002 ; 52 : 157-64.
- Hudson G.J., Wild C.P., Zarba A. and Groopman J.D. (1992). Aflatoxins isolated by immunoaffinity chromatography from foods consumed in The Gambia, West Africa. *Nat Toxins*. 1, 100 –105.
- Huitkeu G.W.L. (2014). Bioévaluation de l'exposition au BPA de quelques patients diabétiques ou hypertendus à Yaoundé. Mémoire de Master de Biochimie– Université de Yaoundé I. 45p.
- Hussaini A.M., Timothy A.G., Olufunmilayo H.A., Ezekiel A.S. and Godwin H.O. (2007). Fungi and some mycotoxins contaminating rice (*Oryza sativa*) in Niger state, Nigeria. *Afr. J. Biotechnol.* 699–108.
- IAEA (International Atomic Energy Agency). (2008). Assessments of levels and health effect of airborne particulate matter in mining, metal refining and metal working industries using nuclear and Related Analytical Techniques IAEATEC- DOC 1576.
- IARC. (1993). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks of Chemicals to Humans. Volume 31: Some food additives, feed additives and naturally occurring substances. IARC, Lyon.
- ICRP (International Commission on Radiological Protection's) (2002). Basic Anatomical and Physiological Data for Use in Radiological Protection Reference Values. ICRP Publication 89. *Ann. ICRP*. 32: 3-4.
- Ignatius, C.M., Francis, E.E., Emeka, E.N., Elvis, N.S., Ebele, J.I. (2010). Bisphenol A and environmental estrogen in potable water sources in Enugu municipality, South East Nigeria. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 85: 5, 534-537.
- INERIS (Institut National de l'Environnement Industriel et des Risques). (2016). Information réglementaire : Substitution BPA. <http://www.ineris.fr/substitutionbpa/fr/information-reglementaire>.

- IPCS (International Programme on Chemical Safety). (1993). Biomarkers and risk assessment : concepts and principles. WHO, Geneva (Switzerland), 92 p.
- Iwegbue C. M. A., Nwozo S. O., Overah C. L., Bassey F. I. and Nwajei G.E. (2013). Concentrations of selected metals in some ready-to-eat-foods consumed in Southern Nigeria: Estimation of dietary intakes and target hazard quotients. *Food Science and Technology*, 1 : 1, 1-7.
- Lockey J.E., Schenker M.B., Howden D.G., Meules M.J.A., Saracci R., Sprince N.L. and Harber P.L.(1988). Current issues in occupational lung disease, *Am. Rev.Respir. Dis.* 138, 1047–1050.
- Jaishankar M., Tseten T., Anbalagan N., Mathew B.B., Beeregowda K.N. (2014). Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdiscip Toxicol.* 7: 2, 60–72.
- Järup L. and Akesson A. (2009). Current status of cadmium as an environmental health problem. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 238 : 3, 201-208.
- JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) (2000). Safety evaluation of certain food additives and contaminants. *WHO Food Additives series.* 44, 273-312.
- JECFA. (1999). Evaluation of certain food additives and contaminants. Forty-nine report. WHO Technical Report Series N°. 884, p69-77, Geneva, 1999.
- Jin T., Nordberg M., Frech W., Dumont X., Bernard A., and Ye T.T. (2002). Cadmium biomonitoring and renal dysfunction among a population environmentally exposed to cadmium from smelting in China (ChinaCad). *Biometals.* 15, 397-410.
- Jomova K., Valko M. (2011). Advances in metal-induced oxidative stress and human disease. *Toxicology.* 283: 2-3, 65-87.
- Kaaya A.N., Warren H., Adipala E., Kyamanywa S., Agona J.A., Bigirwa G. (2001). Mould incidence and mycotoxin contamination of maize and groundnuts in Mayuge and Kumi districts of Uganda. *Afr. Crop. Sci. Conf. Proc.* 5, 507–512.
- Kamdem L. et Percebois G. (1980). Conditions de production d'aflatoxines et d'acide kojique par les souches d'*Aspergillus* et *Penicillium* isolées du revêtement cutané humain. *Bull. Acad. Soc. Lorr. Sci.* 19, 11-20.
- Kamnang D.N.R. (2013). Evaluation de l'exposition alimentaire de la population de Youndé aux métaux lourds. Mémoire de Master de Biochimie – Université de Yaoundé I. 54p.
- Kananke T.C., Wansapala J. and A. Gunaratne A. (2015). Effect of processing methods on heavy metal concentrations in commonly consumed green leafy vegetables available in Sri Lankan market. *Pakistan Journal of Nutrition* 14 : 12, 1026-1033.
- Karalius, V.P., Harbison, J.E., Plange-Rhule, J., Mora, N., Dugas, L.R., Vail, L., Tuchman, N.C., Forrester, T., Luke, A., 2014. Bisphenol A found in humans and water in three geographic regions with distinctly different levels of economic development. *Environ. Health Insights.* 8, 1-3.
- Kubwabo, C., Kosarac I., Stewart B., Gauthier B.R., Lalonde K., and Lalonde P.J. (2009). Migration of bisphenol A from plastic baby bottles, baby bottle liners and reusable polycarbonate drinking bottles. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 26: 6, 928-937.
- Kuiper G.G., Lemmen J.G., Carlsson B., Corton J.C., Safe S.H., Van Der Saag P.T.,*et al.* (1998). Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. *Endocrinology* 139, 4252-4263.

- Kwon O., Soung N. K., N.R. Thimmegowda N. R., Jeong S. J., Jang J. H., Moon D., Chung J. K., Lee K. S., Kwon Y. T., Erikson R. L., Ahn J. S., and Bo Yeon Kim B. Y. (2012). Patulin induces colorectal cancer cells apoptosis through EGR-1 dependent ATF3 up-regulation. *Cell Signal.* 24 : 4, 943–950.
- LaKind J.S. and Naiman D.Q. (2008). Bisphenol A (BPA) daily intakes in the United States: estimates from the 2003–2004 NHANES urinary BPA data. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 18, 608-615.
- Lanwer Y.S., Bernard A. and Cardenas A. (1992). Monitoring of early nephrotoxic effects of industrial chemicals. *Toxicol. Lett.* 64, 33-42.
- Lefèvre G., Beljean-Leymarie M., Beyerle F., Bonnefont-Rousselot D., Cristol J.P., Thérond, P. and Torreilles J. (1998). Evaluation de la peroxydation lipidique par le dosage des substances réagissant avec l'acide thiobarbiturique. *Annales de Biologie Clinique*, 56 : 3, 305-319.
- Li J., Ma M. and Wang Z. (2010). *In vitro* profiling of endocrine disrupting effects of phenols. *Toxicol. In Vitro.* 24, 201-207.
- Liao, C. and Kannan, K. (2013). A survey of bisphenol A and other bisphenol analogues in food stuffs from nine cities in China. *Food Addit. Contam.* 31: 2, 319-329.
- Links J.M., Schwartz B.S., Simon D., Bandeen-Roche K. and Stewart W.F. (2001). Characterization of toxicokinetics and toxicodynamics with linear systems theory: application to lead-associated cognitive decline. *Environmental Health Perspectives*, 109, 361–368.
- Lorber M., Schechter A., Paepke O., Shropshire W., Christensen K., and Birnbaum L. (2015). Exposure assessment of adult intake of bisphenol A (BPA) with emphasis on canned food dietary exposures. *Environ Int.* 77: 55–62.
- Makinwa, T.T. and Uadia, P.O. (2015). A survey of the level of Bisphenol A in effluents, soil leachates, food samples, drinking water and consumer products in South Western Nigeria. *World Environ.* 5: 4, 135-139.
- Malachová A., Sulyok M., Beltrán E., Berthiller F., Krska R. (2014). Optimization and validation of a quantitative liquid chromatography–tandem mass spectrometric method covering 295 bacterial and fungal metabolites including all regulated mycotoxins in four model food matrices, *J. Chromatogr. A.* 1362, 145–156. doi:10.1016/j.chroma.2014.08.037.
- Maliedje T.A. (2013). Evaluation de l'exposition alimentaire de la population de Youndé aux métaux lourds. Mémoire de Master de Biochimie – Université de Yaoundé I. 47p.
- Manfo F.P.T., Nantia E.A., Wang K.L., Moundipa PF and Mathur P.P. (2014) Heavy metal-induced toxicity on male reproductive function. In: Mathur PP (Ed), Contemporary Topics in Life Sciences, Narendra Publishing House, pp 1-26.
- Maresca, M., Mahfoud, R., Garmy, N., Fantini, J. (2002). The mycotoxin deoxynivalenol affects nutrient absorption in human intestinal epithelial cells. *J. Nutr.* 132, 2723-2731
- Mary V.S., Valdehita A., Navas J.M. and Rubinstein H.R. (2015). Effects of aflatoxin B1, fumonisin B1 and their mixture on the aryl hydrocarbon receptor and cytochrome P450 1A induction. *Food Chem. Toxicol.* 75, 104-111.
- Mauvais-Jarvis, F., Clegg, D. J., and Hevener, A. L. (2013). The role of estrogens in control of energy balance and glucose homeostasis. *Endocrine reviews*, 34: 3, 309–338.
- McCallum J.L, Tsao R, Zhou T. (2002). Factors affecting patulin production by *Penicillium expansum*. *J. of Food Protection.* 65: 12, 1937-1942.

- Melzer D., Rice N. E., Lewis C., Henley We, Galloway T. S., (2010): association of urinary Bisphenol A concentration with heart disease: evidence from NHANES 2003/06. *PLoS One* 5: e8673
- Merrill J.r., A.H., Sullards, M.C., Wang, E., Voss, K.A. and Riley, R.T. (2001). Sphingolipid metabolism: roles in signal transduction and disruption by fumonisins. *Environ. Health Persp.* 109: 2, 283–289.
- Micco C.C., Brera C., Miraglia M; and Onori R. (1987). HPLC determination of the total content of aflatoxins in naturally contaminated eggs and free conjugate forms. *Food Add. Contamin.* 4: 4, 407-414.
- MINSANTE (2011). Plan stratégique national de prévention et contrôle des maladies chroniques non transmissible 2011-2015 au Cameroun. Yaoundé. République du Cameroun.
- Miyakoda, H., Tabata, M., Onodera, S. and Takeda, K. (2000). Comparison of conjugative activity, conversion of bisphenol A to bisphenol A glucuronide, in fetal and mature male rat. *Journal of Health Science* 46: 4, 269-274.
- Moriyama K., Tagami T., Akamizu T., Usui T., Saijo M., Kanamoto N., Hataya Y., Shimatsu A., Kuzuya and Nakao K. (2002): Thyroid hormone action is disrupted by bisphenol A as an antagonist. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 87: 11, 5185-5190.
- Nahar, M.S., Soliman, A.S., Colacino, J.A., Calafat, A.M., Battige, K., Hablas, A., Siefeldin, I.A., Dolinoy, D.C., Rozek, L.S. (2012). Urinary Bisphenol A concentrations in girls from rural and urban Egypt. A pilot study. *Environ. Health.* 79, 11-20.
- Nakagawa J., Tsuchiya Y., Yashima Y., Tezuka M. and Fujimoto Y. (2004). Determination of trace levels of elements in urine by inductively coupled plasma mass spectrometry. *J. Health Sci.* 50: 2, 164-168.
- Nalbone G., Cicolella A. et Laot-Cabon S. (2013). Perturbateurs endocriniens et maladies métaboliques : un défi majeur en santé publique. *Santé publique.* 25 : 1, 45-49.
- Ndiaye B, Diop Y.M. and Diouf A. (1999). Recherche et dosage des aflatoxines dans l'huile de pression artisanale préparée dans les régions de Diourbel et Kaolack (Senegal). (Measurement and levels of aflatoxins in smallscale pressed peanut oil prepared in the Diourbel and Kaolack regions of Senegal). *Dakar Med.* 44, 202-205.
- Neri F, Donati I, Veronesi F. (2010). Evaluation of *Penicillium expansum* in usual and less common fruit hosts. *Int. J. of Food Microbiol.* 143: 3, 109-117.
- Neumann P.Z. and Sass-Kortsak A. (1967). The state of copper in human serum: evidence for an amino acid-bound fraction. *Journal of Clinical Investigation*, 46: 4, 646-658.
- Ngoko, Z., Daoudou, H., Imele, P. T., Kamga, S., Mendi, M., Mwangi, R., Bandyopadhyay, R. and Marasas, W. F. O. (2008). Fungi and mycotoxins associated with food commodities in Cameroon. *Journal of Applied Biosciences*, 6, 164-168.
- Njobeh, P. B., Dutton, M. F., Koch, S. H., Chaturgoon, A. A., Stoev, S. D. and Seifert, K. (2009). Contamination with storage fungi of human food from Cameroon. *International Journal of Food Microbiology*, 135, 193–198.
- Njobeh, P.B., Dutton, M.F., Koch, S.H., Chaturgoon, A.A., Stoev, S.D. and Mosonik, J.S. (2010). Simultaneous occurrence of mycotoxins in human food commodities from Cameroon. *Mycotoxin Res.* 26, 47–57.

- Norred W.P, Plattner R.D, Chamberlain W.J. (1993). Distribution and excretion of [14C] fumonisin B1 in male Sprague-Dawley rats. *Nat. Toxin.* 1, 341-346.
- NRC (*National Research Council*). (1983). Committee on the Institutional Means for Assessment of Risks to Public Health. Risk Assessment in the Federal Government: Managing the process." Ed National Academy Press Washington DC (USA). 191 p.
- Nuttall K.L. (2004). *Review: Interpreting Mercury in Blood and Urine of Individual Patients. Annals of Clinical and Laboratory Science.*34 : 3, 235-250.
- O'Brien, E. and Dietrich, D. R. (2005). Ochratoxin A: The continuing enigma. *Critical Reviews in Microbiology*, 35: 33–60.
- Okereke Chioma J., Eka B. Essien and Wegwu M. O. (2016). Human health risk assessment of heavy metal contamination for population via consumption of selected vegetables and tubers grown in farmlands in rivers state, South-South Nigeria. *J. Anal. Pharm. Res.*, 3: 6, 1-10.
- Olsson I.M., Bensryd I., Lundh T., Ottosson H., Skerfving S. and Oskarsson A. (2002). Cadmium in blood and urine--impact of sex, age, dietary intake, iron status, and former smoking--association of renal effects. *Environ. Health. Perspect.* 110 : 12, 1185-1190.
- Omar H.M. Mycotoxins-induced oxidative stress and disease. (2013). Mycotoxin and Food Safety in Developing Countries. 63-92. <http://dx.doi.org/10.5772/51806>.
- OMS (Organisation Mondiale de la Santé) (2014). Profils des pays pour le cancer. 2p. https://www.who.int/cancer/country-profiles/cmr_fr/.
- OMS (2016). Profil sanitaire analytique- Cameroun. African Health Observatory/Ministère de la Santé Publique-Cameroun. 145p.
- OMS (2017). Cadre régional pour l'intégration des services essentiels de lutte contre les maladies non transmissibles dans les soins de santé primaire. Comité Régional d'Afrique. 67^{ème} session Victoria Falls, République du Zimbabwe, 28 août-1^{er} septembre 2017. AFR/RC67/12, 1-20.
- OMS (2005). Surveillance of chronic disease risk factors: country-level data and comparable estimates. Global Infobase Team: The SuR Report 2. (WHO, Geneva), 14p.
- OMS (2011). Cameroun : Maladies non transmissibles. Profils de pays, 2011. 1p.
- OMS-IPCS (World Health Organisation International Programme on chemical Safety). (1998). Copper. Environmental Health criteria N°200. <http://www.inchem.org/fullist.htm>.
- Oruc H.H. and Sonal S. (2001). Determination of aflatoxin M₁ levels in cheese and milk consumed in Bursa, Turkey. *Vet. Hum. Toxicol.* 43, 292-293.
- Oyelami O.A., Maxwell S.M., Adelusola K.A., Aladekoma T.A., Oyelese A.O. (1997). Aflatoxins in the lungs of children with kwashiorkor and children with miscellaneous diseases in Nigeria. *J. Toxicol. Environ. Health.*51: 623– 628.
- Pfohl-Leskowicz, A., and Manderville, R. (2007). Review on Ochratoxin A: an overview on toxicity and carcinogenicity in animals and humans. *Mol Nutr Food Res.* 51, 61-99.
- Radisch B., Luck W. and Nau H. (1987) - Cadmium concentrations in milk and blood of smoking mothers. *Toxicol Lett*, 36: 2, 147-152.

- Ray P.D., Yosim A., and RebeccaC.Fry R.C. (2014). Incorporating epigenetic data into the risk assessment process for the toxic metals arsenic, cadmium, chromium, lead, and mercury: strategies and challenges. *Frontier in Genetics / Epigenomics and Epigenetics*. 5 : 201, 1-26.
- Reddy K.R.N., Reddy C.S. and Muralidharan K. (2009). Detection of *Aspergillus spp.* And aflatoxin B1 in rice in India. *Food Microbiol.* 26 27-2631.
- Reddy M.S., Mehta B., Dave S., Joshi M., Karthikyan L., Sarma V.K.S., Basha S., Ramachandraiah G. et Bhatto., 2007. -Bioaccumulation of heavy metals in some commercial fishes and crabs of the Gulf of Cambay, India-. *Current Science*, Vol.92, pp.1489-1491.
- Riley, R.T., Torres, O., Showker, J.L., Zitomer, N.C., Matute, J., Voss, K.A., Gelineau-van Waes, J., Maddox, J.R., Gregory, S.G. and Ashley-Koch, A.E. (2012). The kinetics of urinary fumonisin B1 excretion in humans consuming maize-based diets. *Mol. Nutr. Food Res.* 56, 1445–1455.
- Sarkanj B., Ezekiel C.N., Turner P.C., Abia W.A., Rychlik M., Krska R., Sulyok M., Warth B. (2018). Ultra-sensitive, stable isotope assisted quantification of multiple urinary mycotoxin exposure biomarkers. *Analytica Chimica Acta*. 1019:84-92
- Satarug S., Baker J.R., Urbenjapol S., Haswell-Elkins M., Reilly P.E., Williams D.J., Moore M.R. (2003). A global perspective on cadmium pollution and toxicity in non-occupationally exposed population. *Toxicol Lett.* 137, 65–83.
- Säumel I., Kotsyuk I., Hölscher M., Lenkerei C., Weber F. and Kowarik I. (2012). How healthy is urban horticulture in high traffic areas? Trace metal concentrations in vegetable crops from plantings within inner city neighbourhoods in Berlin, Germany. *Environmental Pollution*.165:124-132.
- SCF (Scientific Committee on Food), 2002. Opinion of the Scientific Committee on Food on *Fusarium* toxins. Part 6: Group Evaluation of T-2 Toxin, HT-2 Toxin, Nivalenol and Deoxynivalenol: SCF/CS/CNTM/MYC/27 Final. Available: http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out123_en.pdf
- SCF (Scientific Committee on Food), 2003. Updated opinion of the Scientific Committee on Food on Fumonisin B1, B2 and B3: SCF/CS/CNTM/MYC/28 Final. [accessed 18 October 2012]. Available: http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out185_en.pdf
- Schatzmayr G. and Streit E. (2013). Global occurrence of mycotoxins in the food and feed chain: facts and figures. *World Mycotoxin Journal*. 6 : 3, 213 – 222.
- Schollenberger M., Müller H.M., Rühle M., Suchy S., Planck S., Drochner W. (2005). Survey of *Fusarium* toxins in foodstuffs of plant origin marketed in Germany. *Int. J. Food Microbiol.*, 97 : 3, 317-326.
- Solfrizzo M., Gambacorta L. and Visconti A. (2014). Assessment of multi-mycotoxin exposure in Southern Italy by urinary multi-biomarker determination. *Toxins*. 6, 523-538.
- Solfrizzo, M.; Gambacorta, L.; Lattanzio, V.M.T.; Powers, S. and Visconti, A. (2011). Simultaneous LC-MS/MS determination of aflatoxin M1, ochratoxin A, deoxynivalenol, de-epoxydeoxynivalenol, α and β -zearalenols and fumonisin B1 in urine as a multi-biomarker method to assess exposure to mycotoxins. *Anal. Bioanal. Chem.* 401, 2831–2841.
- Soriano, S., Alonso-Magdalena, P., García-Arévalo, M., Novials, A., Muhammed, S.J., Salehi, A., Gustafsson, J.-A., Quesada, I., and Nadal, A. (2012). Rapid Insulinotropic Action of Low Doses of Bisphenol-A on Mouse and Human Islets of Langerhans: Role of Estrogen Receptor β . *PLoS ONE* 7, e31109.

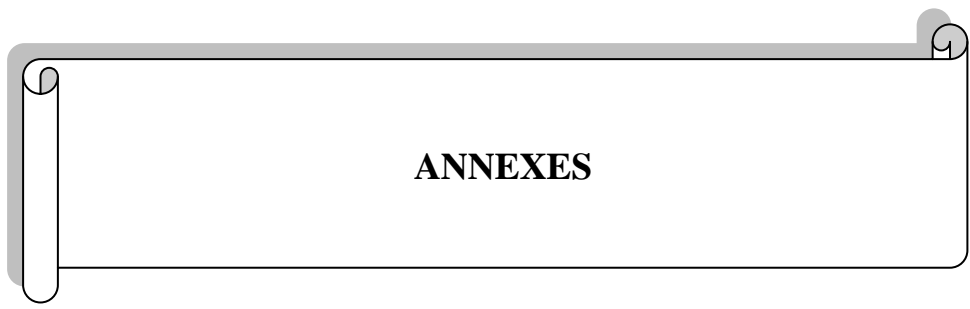
- Stack D.E., Conrad J.A. and Mahmud B. (2017). Structural identification and kinetic analysis of the in vitro products formed by reaction of Bisphenol A 3,4-quinone with N-acetylcysteine and glutathione. *Chem. Res. Toxicol.* XXXX, XXX, XXX–XXX. DOI: 10.1021/acs.chemrestox.7b00239
- Stengel B. et Pierre S. (1998). Néphrotoxicité d'origine ixtrogène, professionnelle ou environnementale. *Expertise collective Inserm-insuffisance rénale chronique.* 8, 1-36.
- Streit E., Schatzmayr G., Tassis P., Tzika E., Marin D., Taranu I., Tabuc C., Nicolau A., Aprodu I., Puel O. and Oswald I.P. (2012). Current situation of mycotoxin contamination and co-occurrence in Animal Feed - Focus on Europe. *Toxins*, 4: 788-809.
- Studer-Rohr, I., Schlatter, J., and Dietrich, D. R. (2000). Kinetic parameters and intraindividual fluctuations of ochratoxin A plasma levels in humans. *Archives Of Toxicology* 74, 499-510.
- Sydenham E.W., Marasas W.F., Thiel P.G., Shephard G.S. and Nieuwenhuis J.J. (1991). Production of mycotoxins by selected *Fusarium graminearum* and *F. crookwellense* isolates. *Food Addit. Contam.* 8, 31-41.
- Tchana, N. A., Moundipa, P. F. and Tchouanguep, F. M. (2010). Aflatoxin contamination in Food and body fluids in relation to malnutrition and cancer status in Cameroon. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7: 178-188
- Tchouanguep, M. F., Tchana, A. and Moundipa, F. P. (1994). Aflatoxins in chicken feeds and naturally contaminated eggs. *Microbiologie et Hygiene Alimentaire*, 6:7-12.
- Thayer K.A., Doerge D.R., Hunt D., Schurman S.H., Twaddle N.C., Churchwell M.I., Garantziotis S., Kissling G.E., Easterling M.R., Bucher J.R., and Birnbaum L.S. (2015). Pharmacokinetics of Bisphenol A in Humans Following a Single Oral Administration. *Environ Int.* 83, 107–115.
- Torres A.D., Rai A.N. and Hardiek M.L. (2000). Mercury intoxication and arterial hypertension: report of two patients and review of the literature. *Pediatrics*, 105, 3, E34.
- Ueno Y. and Tashiro F. (1981). α -zearalenol: a major hepatic metabolite in rats of zearalenone, an estrogenic mycotoxin of *Fusarium species*. *J. Biochem.* 89, 563-571.
- US EPA (2000) United States Environmental Protection Agency. Supplementary guidance for conducting health risk assessment of chemical mixtures, EPA/630/R-00/002, Washington DC, 209p.
- US-EPA (United-States Environmental Protection Agency). (1989). Risk assessment guidance for Superfund. Volume I: Human health evaluation manual (Part A). US-EPA, Washington DC (USA), 248 p.
- Vanderberg L. N., Chahoul I., Heinden J. J., Padmanabhan V., Paumgartten F. J., Schoenfelder G., (2010): Urinary, circulating, and tissue biomonitoring studies indicate widespread exposure to Bisphenol A. *Environmental Health Perspective*, 118:1055-1070.
- Venza M., Visalli M., Biondo C., Oteri R., Agliano F., Morabito S., Caruso G., Caffo M., Diana Teti D. and Venza I. (2014). Epigenetic effects of cadmium in cancer: focus on melanoma. *Current Genomics.* 15, 420-435.
- Völkel W., Colnot T., Csanády G.A. (2002). Metabolism and kinetics of Bisphenol A in humans at low doses following oral administration. *Chemical Research in Toxicology*, 15, 1281-1287.
- Voss K. A. and Riley R.T. (2013). Fumonisin toxicity and mechanism of action: overview and current perspectives. *Food Safety.* 1: 1, 49-69.

- Voss, K.A., Smith, G.W. and Haschek, W.M. (2007). Fumonisin: Toxicokinetics, mechanism of action and toxicity. *Animal Feed Science and Technology*, 137:299–325
- Wang J.S., Qian G.S. and Zarba A. (1996). Temporal patterns of aflatoxin-albumin adducts in hepatitis B surface antigen-positive and antigen-negative residents of Daxin, Qidong county, People's Republic of China. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 5, 253-261.
- Wei, Y.H., Lu, C.Y., Lin, T.N., and Wei, R.D. (1985). Effect of ochratoxin A on rat liver mitochondrial respiration and oxidative phosphorylation. *Toxicology*. 36, 119-130.
- Weidenhamer J.D., Kobunski P. A., Kuepouo G., Corbin R. W. and Gottesfeld P. (2014). Lead exposure from aluminum cookware in Cameroon. *Science of the Total Environment*, 496, 339–347.
- Wild C.P. and Gong Y.Y. (2010). Mycotoxins and human disease: a largely ignored global health issue. *Carcinogenesis* 31 : 1, 71–82.
- Wild, C. P. and Turner, P. C. (2002). The toxicology of aflatoxins as a basis for public health decisions. *Mutagenesis*, 17, 471-481.
- Williams J.H., Phillips T.D., Jolly P.E., Stiles J.K., Jolly C.M. and Aggarwal D. (2004). Human aflatoxicosis in developing countries: a review of toxicology, exposure, potential health consequences, and interventions. *Am. J. Clin. Nutr.* 80, 1106–1122.
- Wilson R.T., Wang J., Chinchilli V., Richie J.P., Virtamo J., Moore L.E. and Albanes D. (2009). Vitamin D and Flavonoids in Relation to Renal Cell Cancer Among Smokers. *American Journal of Epidemiology*, 170: 6, 717-729.
- Wilson, D. M. and Payne, G. A. (1994). Factors affecting *Aspergillus flavus* group infection and aflatoxin contamination of the crops. In: Eaton, D. L. and Groopman, J. D. (eds) *The Toxicology of Aflatoxins: Human Health, Veterinary, and Agricultural Significance*. San Diego, CA: Academic Press, 309–325.
- Wu, W., Bates, M. A., Bursian, S. J., Link, J. E., Flannery, B. M., Sugita-Konishi, Y., Watanabe, M., Zhang, H. and Pestka, J. J. (2013). Comparison of emetic potencies of the 8-ketotrichothecenes deoxynivalenol, 15-acetyldeoxynivalenol, 3-acetyldeoxynivalenol, fusarenon X, and nivalenol. *Toxicol. Sci.* 131, 279–291.
- Ye B., Kim B., Jeon M., Kim S., Kim H., Jang T., Chae H., Choi W., Ha M. and Hong Y. (2016). Evaluation of mercury exposure level, clinical diagnosis and treatment for mercury intoxication. *Annals of Occupational and Environmental Medicine*. 28: 5.
- Yiannikouris , A., Jouany, J.P. (2002). Mycotoxins in feeds and their fate in animals: a review. *Anim. Res.*: 51, 81-99.
- Zalko D, Soto A.M., Dolo L., Dorio C., Rathahao E. (2003). Biotransformations of bisphenol A in a mammalian model: answers and new questions raised by low-dose metabolic fate studies in pregnant CD1 mice. *Environ. Health Perspect.* 111 ? 309-319.
- Zalko D., Jacques C., Duplan H., Bruel S., Perdu E. (2010). Viable skin efficiently absorbs and metabolizes Bisphenol A. *Chemosphere*, 82: 3, 424-430.
- Zheng, M. Z., Richard, J. L. and Binder, J. (2006). A review of rapid methods for the analysis of mycotoxins. *Mycopathologia*, 161, 261-273.
- Zhong G.W., Luo Y.H., Li W. (2010). Role of epigenetic regulatory mechanisms in the mechanism of essential hypertension. *Cur. Hypertens. Reviews*. 6, 282-284.

Zhu L., Zhang B., Dai Y., Li H. and Xu W. (2017). A Review: Epigenetic Mechanism in Ochratoxin A Toxicity Studies. *Toxins*. 9 : 113, 1-11.

Zhu, J.Q., Zhang, L.S., Hu, X., Xiao, Y., Chen, J.S., Xu, Y.C., Fremy, J. and Chu, F.C., (1987). Correlation of dietary aflatoxin B 1 levels with excretion of aflatoxin M 1 in human urine. *Cancer Res.* 47, 1848-1852.

Zinedine A., Soriano J. M., Molto J. C., Manes J. (2007). Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations and intake of zearalenone: An oestrogenic mycotoxin, *Food and Chemical Toxicology*. 45, 1-18.



Annexe 1 : Matériel de laboratoire et réactifs

1- Matériel et appareils

- Glacière, réfrigérateur, congélateur
- Mortier en porcelaine
- Montage à reflux
- Papier filtre spécial métal (Wathman), Papier absorbant
- Centrifugeuse réfrigérée 5804R de marque Eppendorf
- Balance à précision (JA-310 NAPCO)
- pH mètre (PHS-550)
- Spectrophotomètre (SHIMADZU UV-120-01 et GENESYS)
- Bain marie à thermostat (UNITRONIC 320 OR)
- Agitateur magnétique (HEIDOLPH MR-1000)
- Vortex (KARL HECHT D-97647 SONDHEIM)
- Tensiomètre -Glycomètre
- Lecteur de plaque (APPAR V230)
- Chronomètre
- La spectrophotométrie d'absorption atomique (Buck Scientific, In., Fort Point St., USA)
- Le système de chromatographie liquide ultra haute performance UHPLC (Agilent 1290 ; Waldbronn, Allemagne) couplé à la spectrométrie de masse en tandem MS/MS (Sciex QTrap®6500 ; Foster City, CA) équipé d'une source d'ionisation par pulvérisation électrique ou électronebulisation (ESI) (Turbo V) a été utilisé pour la détection des mycotoxines.
- Seringues stériles - Embouts
- Tubes secs - Gans de soin
- Tubes EDTA - Portoir
- Béchers - Garrots
- Baguette et barreau aimanté - Alcool éthylique
- Erlen Meyer - Spatule
- Fioles jaugées - Eprouvette
- Pipettes, micropipettes et pipettes pasteurs - Coton
- Flacons en verres

2- Réactifs

Les réactifs utilisés de grade supérieur proviennent des grandes firmes telles Sigma Aldrich (USA, Allemagne), Prolabo (France), Merck (Allemagne), VWR (Belgique), *Romer Labs Diagnostic GmbH Tulln* (Autriche).

Acide chlorhydrique 36%.

- Acide nitrique 75%.
- Sulfate de cuivre 5 fois hydraté.
- Sulfate de zinc 7 fois hydraté.
- Sulfate de plomb.
- Sel de chlorure de mercure.
- Sulfate de cadmium 8 fois hydraté.
- Eau déminéralisée.
- Kit ELISA pour le dosage du Bisphénol A (Détroit R&D, Inc., Michigan - Etats Unis) contenant : une plaque de microtitration de 96 puits sensibilisée à l'anticorps anti-BPA, une solution stock de BPA standard (2 µl), le conjugué BPA peroxydase de 12 µl 1000X concentré, un tampon de dilution Tris-salin (25 ml) 10X concentré, un tampon Tris-salin de dilution du conjugué (15 ml) 1X concentré, un tampon Tris-salin de lavage (25 ml) 10X concentré, une solution de tétra-méthylbenzidine (substrat) (24 ml).

a)- Analyse des métaux lourds par spectrométrie d'absorption atomique

Préparation du réactif (eau régale) pour la digestion

- L'eau régale (aqua regia) : Acide nitrique 75% et acide chlorhydrique 36% 1:3 (v/v)

Préparation des solutions stocks à 1000 ppm (1 g/l) pour chaque métal

- 3,93 g de sulfate de cuivre 5 fois hydraté (M=249,6 g/mol) dans 1l d'eau déminéralisée.
- 4,39 g de sulfate de zinc 7 fois hydraté (M=287,4 g/mol) dans 1l d'eau déminéralisée.
- 1,46 g de sulfate de plomb (M=303,26 g/mol) dans 1l d'eau déminéralisée.
- 1,35 g de sel de chlorure de mercure (M=271,5 g/mol) dans 1l d'eau déminéralisée.
- 6,84 g de sulfate de cadmium 8 fois hydraté (M=769,51 g/mol) dans 1l d'eau déminéralisée.

b)- Dosage du BPA

Le Wash Buffer

La solution de 10X Wash Buffer (25ml) fournie par le kit a été homogénéisé avec l'agitateur magnétique à température ambiante jusqu'à obtenir une solution incolore. Puis, 225ml d'eau distillée a été ajouté, homogénéisé et conservé au réfrigérateur.

Le HPR *conjugate*

Le BPA-*conjugate* (0,012ml) fourni par le kit a été dilué avec 12ml de la solution HPR-Buffer et homogénéisé.

La solution de dilution (*Sample Dilution Buffer (SDB)*)

La solution de SDB (25ml) fournie dans le Kit a été diluée dans 225ml d'eau distillée et homogénéisé.

Tampon citrate, pH 5,5

Dissoudre 6,30 mg d'acide citrique dans 30 ml d'eau distillée.

Dissoudre 8,82 mg de tris sodium citrate dans 30 ml d'eau distillée.

Titrer la solution de tris sodium citrate obtenue avec la solution d'acide citrique.

Solution d'acide sulfurique 2N

Diluer de 1110 µl d'acide sulfurique à 36 N dans 18,89 ml d'eau distillée.

Préparation des solutions standards de BPA

Standards	C (pg/ml)	V	Dilution en série
N°6	100000	1,998	2µl de solution stock
N°5	10000	0,9	0,1 de solution N°6
N°4	1000	0,9	0,1 de solution N°5
N°3	100	0,9	0,1 de solution N°4
N°2	10	0,9	0,1 de solution N°3
N°1	1	0,9	0,1 de solution N°2

C (pg/ml) = Concentration finale

V = Volume de solution de dilution à ajouter

Solution sulfochromique

Dissoudre 10 g de dichromate de potassium dans 10 ml d'eau distillée. Y ajouté progressivement 90 ml d'acide sulfurique concentré et homogénéiser. La solution obtenue est brune et perd son efficacité lorsqu'elle vire au vert.

c)- Dosage des mycotoxines par UHPLC-ESI-MS/MS

Les mycotoxines standards : (nivalénol (NIV), ^{13}C -NIV, déoxynivalénol (DON), ^{13}C -DON, dé-époxy-DON (DOM-1), ochratoxine A (OTA), ^{13}C -OTA, aflatoxine M₁ (AFM₁), ^{13}C - AFM₁, citrinine (CIT), fumonisine B₁ (FB₁), ^{13}C -FB₁, ^{13}C -zéaralenone (ZEN)) proviennent de la *Romer Labs Diagnostic GmbH Tulln* (Autriche) et ZEN, α - and β -zéaralénol (ZEL) de Sigma (Autriche). L'alternariol deutéré [$^2\text{H}_4$] (AOH) a été synthétisé en interne selon **Asam et al., (2009)**. β -glucuronidase from *E.coli* Type IX-A (Sigma-Aldrich, G7396-2MU) Les étalons de nature solide (α - and β -ZEL; [$^2\text{H}_4$] AOH) ont été dissouts dans l'ACN 99%. Les standards liquides ont été livrés dans l'ACN ou le mélange ACN/H₂O pour la FB₁. Tous ont été stockés à -20°C.

• Solution de travail multi-standard de mycotoxines

Une solution de travail multi-standards dans l'acétonitrile (ACN) a été préparée et contenait: (NIV (1500 ng/ml), DON (1500 ng/ml), DOM-1 (1500 ng/ml), FB₁ (300 ng/ml), α - et β -ZEL (300 ng/ml), ZEN (300 ng/ml), CIT (300 ng/ml), DHC (300 ng/ml), Alternariol (AOH) (300 ng/ml), AFM₁ (30 ng/ml), OTA (30 ng/ml). Extemporaneément ont été préparés un mélange d'étalons d'isotopes ^{13}C et [$^2\text{H}_4$] deutéré stables composé de : ^{13}C -NIV (3,75 ng/ml), ^{13}C -DON (3,75 ng/ml), ^{13}C -OTA (0,04 ng/ml), ^{13}C -AFM₁ (0,008 ng/ml), ^{13}C -FB₁ (0,38 ng/ml), ^{13}C -ZEN (0,38 ng/ml) et [$^2\text{H}_4$] AOH (3,33 ng/ml) selon la méthode décrite par **Sarkanj et al., (2018)**.

Annexe 2 : Fiche d'enquête

EVALUATION DE L'EXPOSITION DE LA POPULATION CAMEROUNAISE AUX POLLUANTS ENVIRONNEMENTAUX

SECTION 1: IDENTIFICATION

1.1	Date de l'interview	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> / <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> JJ / MM / AA
1.2 a	Nom(s) et Prénom(s)	
1.3	Sexe	Masculin = 1 Féminin = 2
1.4	Code du patient	<input type="text"/>
1.5	Contact	Tel : E-mail :
1.6	Age	<input type="text"/> <input type="text"/>
1.7	Ville/Durée de résidence habituelle	
1.8	Quartier	
1.9	Statut professionnel	Fonctionnaire = 1 Salarié du secteur privé = 2 Elève- Etudiant = 3 Sans emploi = 4 Petits métiers = 5 Retraité = 6 Autre = 7
Vie Professionnelle		
1.10	Profession / Métier : Fonctionnaire Mécanicien Informaticien Maintenancier informatique Agriculteur Enseignant Ouvrier (industrie à préciser, bâtiment) Caissier Artisan Soudeur Chargeur de batterie Tôlier Commerçant (type à préciser) Autres (à préciser)	Durée/Description (Préciser le matériel couramment utilisé pour votre travail)
	Depuis combien de temps ?	
	Combien d'heures de travail par jour ?	
	Portez-vous un matériel de protection pendant votre service ? Oui <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>	
	Si oui le(s) quel(s) ? Et ce depuis combien de temps ?	
	Affections courantes dans l'exercice de votre métier/service ? Toux <input type="checkbox"/> Démangeaisons <input type="checkbox"/> Céphalés/maux de tête <input type="checkbox"/> Diarrhée <input type="checkbox"/> paludisme <input type="checkbox"/> Douleurs abdominales <input type="checkbox"/> Fatigue <input type="checkbox"/> Somnolence <input type="checkbox"/> Vertiges <input type="checkbox"/> Irritation des yeux <input type="checkbox"/> Coulees des larmes <input type="checkbox"/> Rhume <input type="checkbox"/> Brûlures <input type="checkbox"/> coupures <input type="checkbox"/> Autres à préciser	



Assessment of Dietary Exposure and Health Risk to Multiple Heavy Metals amongst Some Workers in Yaoundé, Cameroon

Angèle N. Tchana¹, Nina D. Kamnang¹, Arielle T. Maliedje¹, Faustin T. Manfo², Frederic N. Njyou¹, Wilfred A. Abia¹, Edouard A. Nantia³ and Paul F. Moundipa¹

1. Laboratory of Pharmacology and Toxicology, Department of Biochemistry, Faculty of Science, University of Yaoundé I, P.O. Box 812, Yaoundé, Cameroon

2. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Faculty of Science, University of Buea, P.O.Box 63, Buea, Cameroon

3. Department of Biochemistry, Faculty of Science, University of Bamenda, P.O.Box 39, Bamili, Cameroon

Abstract: This study reports on the dietary exposure of people in Yaoundé, Cameroon to heavy metals: lead (Pb), cadmium (Cd), mercury (Hg), copper (Cu) and zinc (Zn). One hundred and fifty table-ready food, water and soft drink samples were collected from households and street restaurants in Yaoundé and analyzed for heavy metals contents using atomic absorption spectrophotometer. Lead (93%, range 0.019-1.77 ppm), Cd (70%, range 0.01-4.68 ppm), Hg (81%, range 0.03-10.56 ppm), Cu (90%, range 0.004-40.32 ppm) and Zn (87%, range 0.014-2,447.04 ppm) were detected in studied samples. Maximum level of each metal exceeded its corresponding European Commissions legislative limits. Samples from street restaurants were most tainted with heavy metals. The highest average daily intakes (ADIs) of Pb (0.96 mg/day) and Hg (1.84 mg/day) were through tap water, while Cd (1.15 mg/day), Cu (5.42 mg/day) and Zn (601.6 mg/day) were through rice/peanut sauce mixed food. The ADI for Cd and Hg was each higher than its respective PTDI (provisional tolerable daily intake) as defined by JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) and EVM (Expert Group on Vitamins and Minerals). The estimated average daily exposure dose of each detected metal significantly ($p = 0.001$) exceeded its corresponding PTDI. However, the health risk index was < 1 for all studied samples and it was found to be safe, indicating there is a relative absence of health risks associated with the ingestion of contaminated foods, water and soft drinks. Notwithstanding, the detected levels and ADI being higher than legislative limits and PTDI respectively speculates need for awareness raising towards reducing exposure levels to heavy metals in Cameroon.

Key words: Dietary exposure, food, water and soft drink contamination, heavy metals, Cameroon.

1. Introduction

Heavy metals are environmental pollutants prevalent in the surroundings as a result of natural and anthropogenic activities. Human exposure to heavy metals occurs through industrial activities, water supplies, automobile exhausts, disposal current, consumer products, application of fertilizers in soil, pesticides, urban effluents, and food [1, 2]. Some heavy metals (Zn and Cu) are essential for normal cell

physiology when present in low amounts, but exhibit toxicity to living organisms when taken up in high quantity, or if the mechanisms of elimination are impaired. Other heavy metals such as Pb, Cd, and Hg have no known benefit to human physiology, and are essentially referred to as toxicants or "toxic metals". Heavy metals enter the food chain where they tend to bioaccumulate particularly because of the ability of plants to uptake the chemicals [3-5].

The presence of heavy metals in the animal production chain can result from consumption of contaminated agricultural commodities and/or related products. Animal feed can also be intentionally

Corresponding author: Paul F. Moundipa, Ph.D., professor, research field:

supplemented with mineral raw materials during breeding [6, 7]. Heavy metals have also been reported in commercially available foods [8], given the likelihood of contamination of some commonly used raw materials (meat, plants).

They can enter the body by inhalation, dermal absorption, or ingestion [9]. Once into the organism they slowly accumulate in target organs such as the kidneys, lungs, liver, teeth, bones, brain and keratinized tissues such as hair and nails [4, 10, 11]. Heavy metals can form metal ion and induce reactive oxygen species (ROS) production, with subsequent lipid peroxidation, DNA damages and protein denaturation [12, 13]. These toxicity mechanisms are common in some pathologies such as the reproductive system and development disorders, neurodegenerative diseases, metabolic diseases, kidney disorders and respiratory problems [4, 14-16]. Being ubiquitous and not easily biodegradable, heavy metals can persist in the environment and notably in the food chain with important human health risks. Indeed, many health implications such as cancer [17, 18], Alzheimer's disease, Parkinson's disease [15, 19] caused by consumption of food contaminated with Hg, Pb, Cd, etc., have been reported.

Previous studies also highlighted sources, potential human health risks and high concentrations of heavy metals in commonly consumed foods and items in some developing countries like Bangladesh [20, 21], Ghana [2, 6, 22], Nigeria [6, 23], Uganda [24], Cameroon [25, 26]. Considering the susceptibility of to heavy metals exposure and insufficient data related to exposure levels, there is need to get information on the heavy metals dietary exposure levels amongst Cameroonians. The aim of this study was to determine the extent to which the population of Yaoundé in Cameroon is exposed to heavy metals in their diets, water and/or soft drinks commonly prepared at homes and/or bought from small road-side restaurants for direct consumption.

2. Materials and Methods

2.1 Reagents and Equipment

The reagents used in the experiment were high grade and purchased from Sigma Aldrich (USA), Prolabo (France), Merck (Germany). Demineralized water was used wherever needed. Working standard solutions (100 ppm in 1% nitric acid) of Pb, Cd, Hg, Cu and Zn were prepared from the stock solutions having 1,000 ppm followed by appropriate dilution. Atomic absorption spectrophotometer (Buck Scientific, In., Fort Point St., USA) was used for metals determination. Glassware and tubes were pre-washed with 10% nitric acid solution to avoid additional metal contamination of samples.

2.2 Study Site and Study Population

A descriptive cross-sectional survey was conducted in 2013 among the population (age between 21 and 65 years) in all the 23 districts of Yaoundé, Center region of Cameroon. Yaoundé is the administrative capital of Cameroon, and the second cosmopolitan city in the country after Douala (the economic capital). Yaoundé is characterized by wide diversified individually owned small road-side restaurants that attempting to provide foods and related services to the busy population of Yaoundé, working in diversity of jobs life and in Yaoundé solely to fend for themselves and families. Thus, the study population was essentially people leaving and working in the city of Yaoundé, regardless of their occupations, e.g., students, employees, informal sectors workers (traders, mechanics, sheet metal workers, welders, taxi drivers ...), and/or unemployed.

2.3 Survey on Foods/Snacks, Water and Soft Drinks Consumptions

Semi-structured (and food frequency) questionnaires were used to collect information on lifestyle, nutritional habits, the origin of various foodstuffs,

food preparation method, food consumption intake/amounts and frequency (per day/week/month), amount ingested, storage behavior, medical background from each participants (those who had signed the informed consent form).

2.4 Sampling

One hundred and fifty (150) samples consisted of mixed food dishes, food items and beverages (Table 1) were randomly collected or purchased from households and/or small road-side restaurants in Yaoundé from February to March 2013. Solid and liquid samples that were not pre-packaged e.g., tap water, foods in plates ready for consumption, were mixed thoroughly prior to sample collection. Pre-packaged samples e.g., soft drinks in coked bottles, sardine in cans, sachet/bottled water, were collected in their natural packaging as found in the

study households and/or small road-side restaurants (i.e., in plastic bags, cans). Both non- and pre-packaged samples collected were immediately placed into an ice cooler, and transferred to the Laboratory of Pharmacology and Toxicology of the University of Yaoundé I, where samples were pre-processed before analysis. Each solid sample was weighed, meanwhile, mixed food dishes such as paste with sauce commonly eaten in combination were mixed to make a single sample of the final consumed food. Each of the weighed solid samples was then milled, and after thorough mixing, a sub-sample (100 g) was placed in sterile glass container, sealed and preserved at -20 °C until analysis of heavy metals. Similarly, each liquid sample (beverages) was mixed thoroughly and a sub-sample (100 mL) was placed in sterile glass bottle, sealed and preserved at -20 °C until analysis of heavy metals.

Table 1 Sample types collected from all 23 districts in Yaoundé, Centre Region of Cameroon.

Sample type	Number of samples	Food-base	Cooking method /Storage material
Corn paste + (Okra soup, cabbage sauce, “djama-djama”, “ndolé” [†] sauce)	12	Cereals (corn)	Boiling/Plastic
Cassava paste + (egusi sauce ^a , “eru” [†])	8	Tuber (cassava flour)	Boiling/Plastic
Cocoyam paste + peanut sauce ^a	7	Tuber (cocoyam), leguminous (peanut)	Boiling/Plastic
Rice + (stew soup, peanut sauce)	22	Cereals (rice)	Boiling/Plastic
Doughnut	12	Cereals (wheat, corn)	Frying/Plastic
Porridge	6	Cereals (corn, rice), leguminous (peanut, beans)	Boiling/Plastic
Beans	3	Leguminous (beans), tuber (sweet potato)	Boiling, frying/Plastic
Fish + cassava paste	5	Fish, tuber (cassava)	Roasting/Plastic
Sausage/pie meat	4	-	Preserved/Can
Sardine	4	-	Preserved/Can
Tomato	7	-	Preserved//Plastic, Can
Milk [†]	6	-	Bottled/Plastic
Refined oil/Palm oil	6	-	Bottled/Plastic
Soft drink [†]	11	-	Bottled/Plastic
Mineral water [†]	4	-	Bottled/Plastic
Sachet water [†]	15	-	Package/Plastic
Spring water [†]	3	-	Package/Plastic
Water-well ^{a†}	8	-	-/Plastic
Tap water ^{a†}	7	-	-/Plastic
Total	150		

^a: Samples originating from households; [†]: liquid samples.

2.5 Heavy Metals Analysis

Wet digestion was conducted on 2 g of food or soft drink samples introduced in a flask, except water samples, with 20 mL of aqua regia (nitric acid (75%)/hydrochloric acid (36%): 1:3 v/v). The flask was placed in a reflux device and heated at 80 °C for 2 to 3 hours until the solution become clear [27]. The digest was allowed to cool and transferred into a measuring flask using specific Whatman filter paper for metals. The filtrate was then made up to 50 mL using demineralized water and stored at the same time with 50 mL each water sample at 4 °C. Samples were mineralized in duplicate for Cd, Pb, Hg, Cu and Zn determination by atomic absorption spectrophotometry [28]. Briefly, 25 mL of mineral deposit of the test sample was introduced into the air-acetylene flame (lamp current of 4 mA) of the spectrophotometer in which it was vaporized and atomized. Wavelengths of 288.8 nm, 217 nm, 253.7 nm, 324.8 nm, and 213.9 nm were used respectively for Cd, Pb, Hg, Cu and Zn. Concentration (ppm) of metal was read after calibration of the instrument with known concentrations of the metals solutions: 2.5, 5.0, 10, 15, 20 ppm and reagent blank for Pb; 5.0, 10, 15, 20 ppm and reagent blank for Cd and Hg; and 1, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 ppm and reagent blank for Cu and Zn.

2.6 Exposure Assessment Calculations

2.6.1 Calculating the Average Daily Intake (ADI) of Heavy Metals

The studied samples were broadly categorized into food, water and soft drink. The ADI of a metal in a food was determined by multiplying the average content of the metal in food by the averaged consumed amount of food and frequency of consumption [29], using the following formula:

$$ADI = \Sigma (T \text{ food or beverages} \times Q \text{ ingested} \times F \text{ food}) / 30$$

where, ADI = average daily intake of metal (mg/day); T = heavy metal content in the food ingested (mg/kg

or mg/L); Q ingested = weight of the food consumed (g) and F = frequency of consumption of a food over 30 days.

2.6.2 Estimation of Daily Exposure to Heavy Metals in the Study Population

Average daily exposure dose (ADED). The daily exposure dose of heavy metals (DED) was calculated using the following formula [29] and the survey data:

$$ADED = ADI/bw$$

where ADED = the average daily exposure dose to heavy metal ($\mu\text{g/kg bw/day}$) and bw = body weight of individual (kg). The average body weight of 60.7 kg for African (adult) as established by WHO [30] was used in this study.

Contribution rate of metal exposure. The contribution rate of metal exposure from collected samples was determined as followed:

$$\text{Food contribution rate of metal exposure} = (\text{metal exposure of the sample} / \text{total dietary metal exposure}) \times 100\%$$

Health risk index (HRI). The potential HRI to consumers which refers to the ratio of the daily exposure dose of metals to the oral reference dose was determined according to EPA [31] as followed:

$$HRI = (ADED/PTDI) \times 10^{-3}$$

where PTDI is the provisional tolerable daily intake reference dose of the metal and 10^{-3} factor of uncertainty (conversion factor). HRI > 1 indicates a reason for health concern.

2.7 Statistical Analyses

The software statistical package for social sciences (SPSS 20.0) was used for data analysis. Data were presented as mean \pm standard deviation. Mann-Whitney *U*, Kruskal-Wallis for non-normally distributed data, analysis of variance (ANOVA) and Student *t*-tests for parametric data were used to compare groups. Correlation analysis was done using Chi-square test. A *p*-value < 0.05 was considered statistically significant.

2.8 Ethical Statement

The experimental procedure was approved by the Cameroon National Ethics Committee of Research for Human Health (No. 2013/05/252/CNERSH/SP).

3. Results

3.1 Characteristics of the Population

The studied population (251 individuals) was mostly informal sector workers (70%) followed by students (16%), employees (12%) and others (3%). About 67% of participants used to eat both in small road-side or street restaurants and households, while 22% and 11% eat in households, small road-side restaurants, respectively (Fig. 1). There was a significant correlation between the catering and status of participants ($p = 0.001$), with people involved in small businesses feeding mainly in the small road-side or street restaurant (Fig. 1).

3.2 Levels of Heavy Metals in Food and Foodstuff Samples

The contamination profile of samples as well as the mean concentrations of heavy metal in broader groups regarded to guidelines is summarized in Table 2. Lead was detected in 93% of samples (range 0.019-1.77 ppm), Cd in 70% (range 0.01-4.68 ppm), Hg in 81% (range 0.03-10.56 ppm), Cu in 90% (range

0.004-40.32 ppm) and Zn in 87% of samples (range 0.014-2,447.04 ppm). Highest levels of metals were recorded in samples from the small road-side restaurants and were 8 to 105.6 folds more than permitted [32, 33]. Differences in Pb, Cu and Zn values were significant ($p = 0.001$) between the studied household and small road-side restaurant foods.

The average concentrations of metals in water samples varied from 0.019 to 0.9 ppm for Pb, 0.01 to 0.58 ppm for Cd, 0.03 to 1.13 ppm for Hg, 0.004 to 2.02 ppm for Cu and 0.014 to 0.41 ppm for Zn with no significant difference ($p > 0.05$). The concentrations of Pb, Cd and Hg in 100% positive samples were higher than recommended [32, 33]. and were in the following respective ranges in specify samples: sachet water (0.019-0.83 ppm, 0.02-0.58 ppm and 0.03-1.13 ppm); tap water (0.02-0.48 ppm, 0.07-0.27 ppm and 0.27-0.92 ppm); water from wells (0.02-0.38 ppm, 0.02-0.38 ppm and 0.24-0.89 ppm); spring water (0.06-0.42 ppm, 0.07-0.13 ppm and 0.1-0.51 ppm); and mineral water (0.02-0.9 ppm, 0.01-0.16 ppm and 0.06-0.83 ppm).

The average concentrations of metals in soft drink samples were not significantly different ($p > 0.05$). The concentrations of metals in bottled soft drink and sachet soft drink ranged respectively as followed: Pb (0.54-1.28; 0.18-1.34 ppm), Cd (1.24-4.68; 0.6-2.35 ppm),

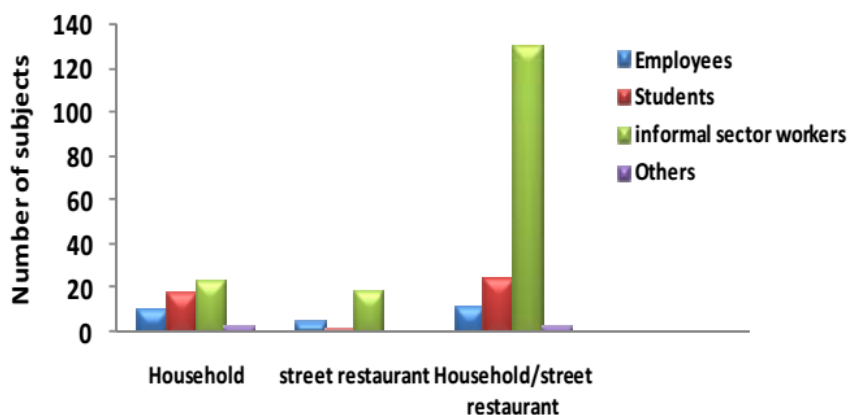


Fig. 1 Distribution of participants (n = 251) by feeding milieu.

Table 2 Occurrence and mean concentrations of heavy metals in samples groups.

Heavy metal	Pb	Cd	Hg	Cu	Zn	
Sample analyzed (<i>n</i> = 150)	Positive (%)	139 (93)	105 (70)	122 (81)	135 (90)	131 (87)
	Mean range (ppm)	0.019-1.77	0.01-4.68	0.03-10.56	0.004-40.32	0.014-2,447.04
Feeding milieu						
Household (<i>n</i> = 22)	Positive (%)	20 (91)	18 (82)	18 (82)	19 (86)	18 (82)
	Mean range (ppm)	0.02-1.22	0.02-0.97	0.04-0.92	0.02-17.64	0.02-557.2
	Mean ± SD	0.21 ± 0.21	0.18	0.36 ± 0.01	1.95 ± 0.26	27.44 ± 0.21
Street or small road-side restaurant (<i>n</i> = 128)	Positive (%)	115 (90)	87 (68)	104 (81)	116 (91)	113 (88)
	Mean range (ppm)	0.019-1.77	0.01-4.68	0.03-10.56	0.004-40.32	0.014-2,447.04
	Mean ± SD	0.5	0.76 ± 0.18	0.46 ± 0.22	9.51 ± 3.06	143.12 ± 49.73
	<i>p</i> -Value	0.001	0.054	0.559	0.001	0.001
Sample group						
Water (<i>n</i> = 37)	Positive (%)	37 (100)	34 (91.9)	31 (83.8)	30 (81)	34 (91.9)
	Mean range (ppm)	0.019-0.9	0.01-0.58	0.03-1.13	0.004-2.02	0.014-0.41
	Mean ± SD	0.19 ± 0.23	0.14 ± 0.12	0.38 ± 0.32	0.13 ± 0.34	0.1 ± 0.11
	(%) Above guideline	100	100	100	-	-
	Guidelines (ppm)	0.01*	0.003*	0.001*	2*	3*
	<i>p</i> -Value	0.334	0.184	0.198	0.116	0.247
Soft drinks (<i>n</i> = 11)	Positive (%)	11 (100)	9 (81.81)	10 (90.9)	11 (100)	8 (72.72)
	Mean range (ppm)	0.18-1.34	0.6-4.68	0.03-0.83	2.29-40.32	3.31-16.71
	Mean ± SD	0.85 ± 0.4	1.71 ± 1.42	0.35 ± 0.28	18 ± 12.41	7.36 ± 6.11
	(%) Above guideline	100	100	100	90.9	63.63
	Guidelines (ppm)	0.05*	0.4-0.5*	0.01*	5*	5*
	<i>p</i> -Value	0.361	0.408	0.522	1	0.357
Food (<i>n</i> = 102)	Positive (%)	91 (89.21)	62 (60.78)	81 (79.41)	94 (92.15)	89 (87.25)
	Mean range (ppm)	0.02-1.77	0.13-3.5	0.03-10.56	0.03-38.56	1.73-2,447.04
	Mean ± SD	0.54 ± 0.43	0.76 ± 0.95	0.49 ± 1.14	10.36 ± 8.02	184 ± 432
	(%) Above guideline	100	100	72.54	-	16.66
	Guidelines (ppm)	0.1*	0.05*	0.1*	100*	300*
	<i>p</i> -Value	0.001	0.582	0.488	0.033	0.001

SD: Standard deviation, *: Permissible limits [32, 33]. Analysis of variables was done by Kruskal-Wallis and Mann-Whitney *U* tests. Significance at *p*-value < 0.05

Hg (0.04-0.83; 0.03-0.67 ppm), Cu (5.37-40.32; 2.29-35.5 ppm) and Zn (9.66-16.71; 3.31-10.61 ppm). The levels of Pb, Cd and Hg in samples exceeded the allowances [32, 33].

In food group samples, the concentrations ranged from 0.02 to 1.77 ppm for Pb, 0.13 to 3.5 ppm for Cd, 0.03 to 10.56 ppm for Hg, 0.03 to 38.56 ppm for Cu and 1.73 to 2,447.04 for Zn, and differed significantly (*p* < 0.05) for Pb, Cu and Zn. The maximum levels for Pb, Cd, Hg, Cu and Zn were found respectively in refined oil, corn paste/vegetable sauce mixed food, cocoyam paste/peanut sauce mixed food, cassava paste/egusi

sauce mixed food and cassava paste/vegetable mixed food (water “fufu/eru”).

3.3 Heavy Metal Contents according to Storage Behaviour

The concentrations varied significantly (*p* < 0.05) depending on the natural packaging of samples collected as found in the field (Table 3), as far as Pb, Cu and Zn were concerned. Levels of heavy metals were generally higher in samples stored in plastic bags relative to those in can, the two storage material mostly encountered in the feeding areas.

Table 3 Levels of heavy metals (ppm) according to storage behavior.

Heavy metal	Storage material	Number of positive samples	Mean ± SD (range)	p-Value
Pb	Plastic (n = 133)	119	0.43 (0.19-1.77)	0.027*
	Can (n = 17)	16	0.74 (0.02-1.7)	
Cd	Plastic (n = 133)	95	0.69 ± 0.75 (0.1-4.67)	0.845
	Can (n = 17)	10	0.57 ± 0.75 (0.19-1.82)	
Hg	Plastic (n = 133)	110	0.47 ± 0.42 (0.03-10.56)	0.325
	Can (n = 17)	12	0.30 ± 0.41 (0.03-1.7)	
Cu	Plastic (n = 133)	118	7.64 ± 7.12 (0.004-40.32)	0.001*
	Can (n = 17)	17	14.32 ± 7.12 (2.93-30.73)	
Zn	Plastic (n = 133)	114	119.31 ± 178.96 (0.14-2,447.04)	0.001*
	Can (n = 17)	17	179.72 ± 178.9 (16-670)	

Mean ± SD: Mean ± Standard deviation, *: significantly different for $p < 0.05$.

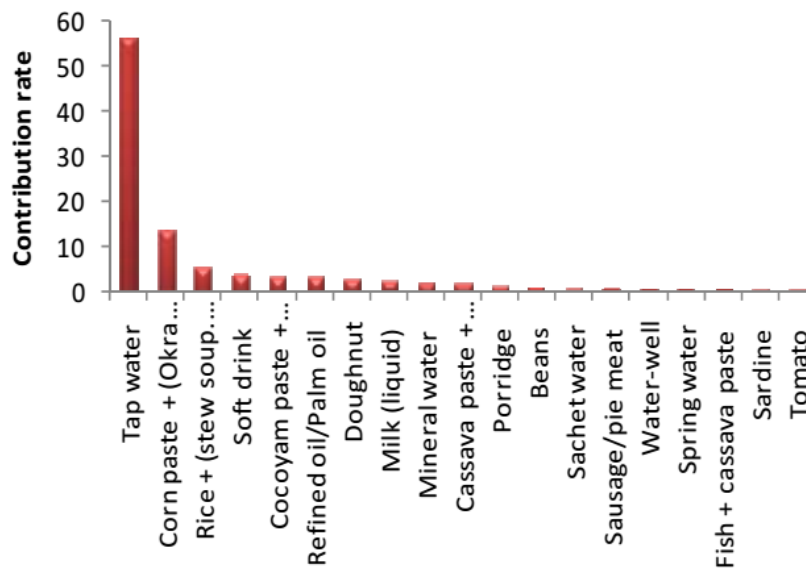


Fig. 2 Contribution of sample types lead exposure.

3.4 Estimated ADI of Heavy Metals in Sample Groups

Daily intake of heavy metals was estimated and presented in Table 4 below. A significant difference ($p < 0.05$) was observed between the ADI of Hg (0.19 mg/d) through water consumption and Pb (0.09 mg/d), Cd (0.07 mg/d), Cu (0.07 mg/d), Zn (0.07 mg/d). There was no such significant difference with regard to soft drink and food group samples. Dietary intake of Cd, Cu and Zn through soft drink consumption (0.14; 1.34 and 0.59 mg/d respectively) and food consumption (0.1; 1.11 and 29.45 mg/d respectively) were significantly different ($p < 0.05$) when compared

to those of Pb (0.07 and 0.06 mg/d) and Hg (0.03 and 0.07 mg/d).

3.5 Exposure Level of Participants to Heavy Metals

Considering an average body weight of 60.7 kg adult Cameroonian, and on the basis of the food survey questionnaire data, the estimated daily heavy metal exposures in the studied population are presented in Figs. 2-6. The average exposure dose of Pb, Cd, Hg, Cu and Zn in the population was estimated to be 18.37 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{bw}/\text{d}$; 23.10 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{bw}/\text{d}$; 21.74 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{bw}/\text{d}$; 210 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{bw}/\text{d}$ and 2,830 $\mu\text{g}/\text{kg}\cdot\text{bw}/\text{d}$ and were significantly different ($p = 0.001$),

Assessment of Dietary Exposure and Health Risk to Multiple Heavy Metals amongst Some Workers in Yaoundé, Cameroon

meanwhile, their health risk indexes (HRIs) were all below one (Table 4) and relative contribution rates of sample are presented in Table 5. The exposure doses in the categorized groups of participants presented in

Table 6 showed a positive association ($p < 0.05$) between professional status and exposure levels of Pb and Hg. Individuals working in small business and others were the most exposed.

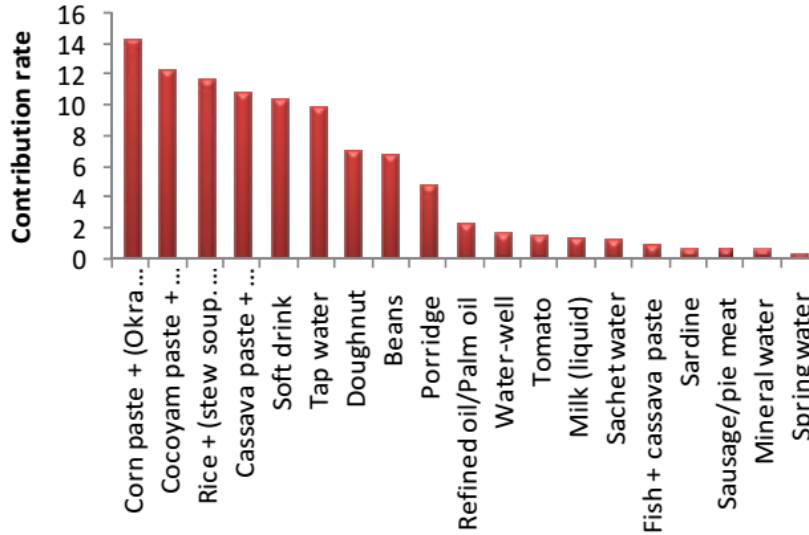


Fig. 3 Contribution of sample types to cadmium exposure.

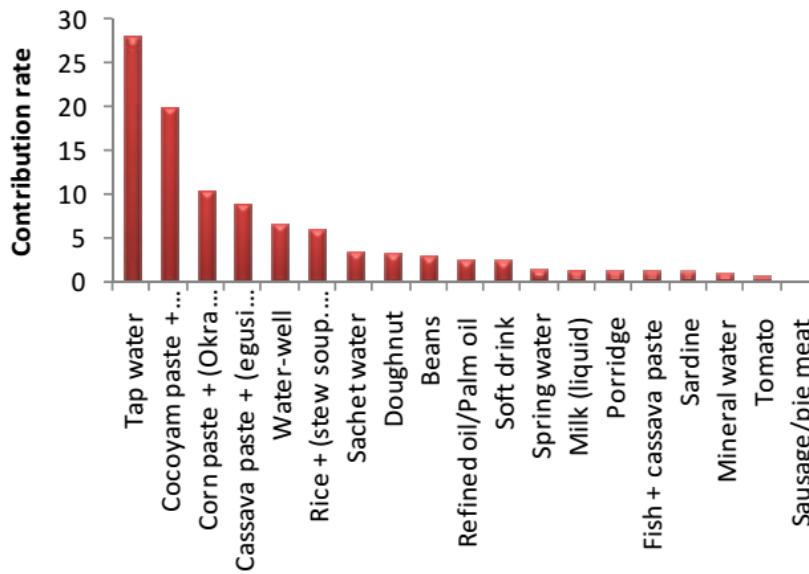


Fig. 4 Contribution of sample types to mercury exposure.

Assessment of Dietary Exposure and Health Risk to Multiple Heavy Metals amongst Some Workers in Yaoundé, Cameroon

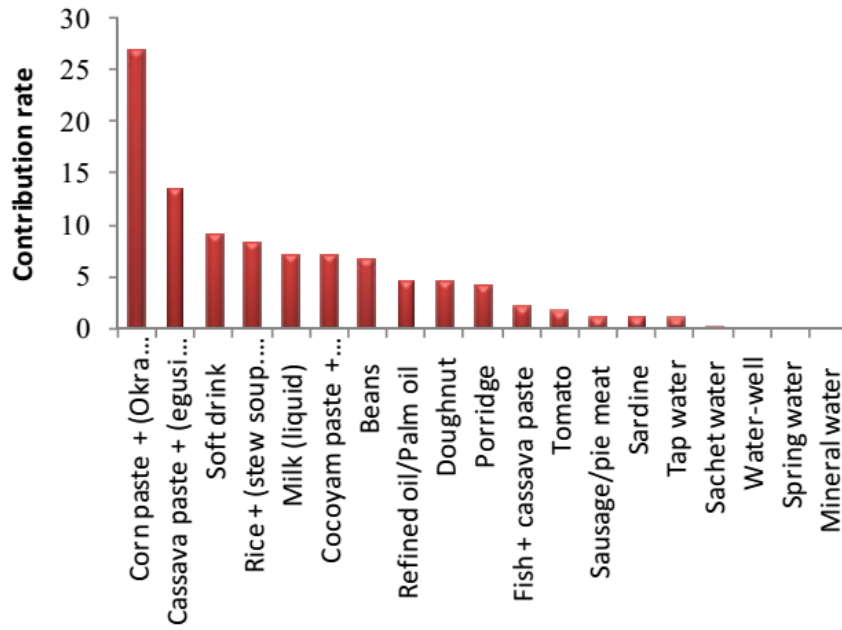


Fig. 5 Contribution of sample types to copper exposure.

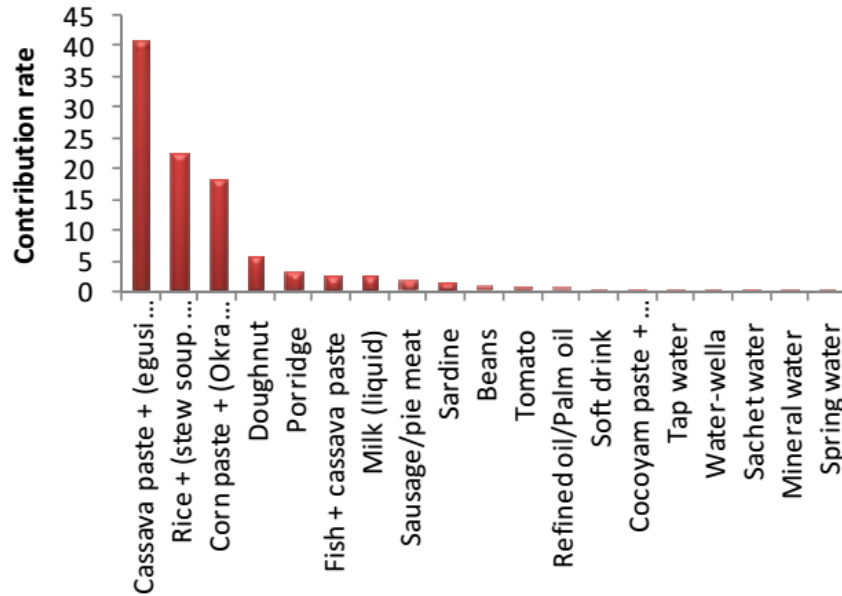


Fig. 6 Contribution of sample types to zinc exposure.

Table 4 ADI of metals in samples group and estimated average daily intake and exposure dose to heavy metals in the study population.

Heavy metal	Sample groups						Estimated daily exposure dose in the study population (<i>n</i> = 251)				
	Water (1)		Soft drink (2)		Food (3)		ADI (mg/d)	ADED (µg/kg.bw/d) (range)	<i>p</i> -Value *	PTDI (µg/kg.bw/d)	HRI
	ADI (mg/d) (range)	Contribution rate (%)	ADI (mg/d) (Range)	Contribution rate (%)	ADI (mg/d) (Range)	Contribution rate (%)					
Pb	0.09 ± 0.18 (0.003-0.96)	40.91	0.07 ± 0.37 (0.01-0.12)	31.82	0.06 ± 0.77 (0.001-0.38)	27.27	1.1 ± 0.49 (0.22-4.23)	18.37 ± 8.30 (3.75-70.57)	0.001	3.6*	0.0051
Cd	0.07 ^d ± 0.12 (0.002-0.58)	1.58	0.14 ^b ± 0.14 (0.032-0.44)	45.16	0.1 ^c ± 0.19 (0.005-1.15)	32.26	1.4 ± 0.81 (0.31-8.09)	23.10 ± 13.62 (5.2-133.33)	0.001	1*	0.0231
Hg	0.19 ^{ad} ± 0.34 (0.005-1.84)	65.52	0.03 ± 0.23 (0.002-0.08)	10.34	0.07 ± 0.19 (0.001-1.72)	24.14	1.32 ± 0.65 (0.11-3.83)	21.74 ± 10.91 (1.83-63.13)	0.001	0.23*	0.0945
Cu	0.07 ^d ± 0.34 (0.001-0.8)	2.78	1.34 ^b ± 0.99 (0.12-3.76)	53.17	1.11 ^c ± 1.21 (0.047-5.42)	44.05	12.85 ± 8.93 (2.27-81.10)	210 ± 140 (30-1,350)	0.001	160**	0.0013
Zn	0.06 ^d ± 0.13 (0.002-0.6)	0.2	0.59 ^{bd} ± 0.58 (0.017-1.56)	1.96	29.45 ^{cd} ± 116.3 (0.097-601.6)	97.84	170.28 ± 93.01 (12.60-534.88)	2,830 ± 1,550 (210-8,810)	0.001	700**	0.004

Mean ± SD: Mean ± standard deviation, significantly different at $p < 0.05$ in samples analyzed, ^a: Different when compared to values of (1); ^b: Different when compared to values of (2); ^c: Different when compare to values of (3); ^d: Different when comparing values of (1), (2) and (3); ADI: average daily intake, ADED: average daily exposure dose, PTDI: provisional tolerable daily intake, * PTDI established by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives [34], ** safe upper level recommended by the Expert Group on Vitamins and Minerals (EVM) [35]; HRI: Health Risk Index.

Table 5 Mean heavy metal daily exposure (mg/d) and relative contribution rate (%) of samples.

Sample type	Food-base	Pb (mg/d)	Contribution rate	Cd (mg/d)	Contribution rate	Hg (mg/d)	Contribution rate	Cu (mg/d)	Contribution rate	Zn (mg/d)	Contribution rate
Corn paste + (Okra soup, cabbage sauce, "djama-djama", "ndolè ^a " sauce	Corn food-base	0.47	13.17	0.361	14.38	0.24	10.4	7.671	26.92	86.913	17.9
Cassava paste + (egusi sauce ^a , "eru ^a "	Tuber (cassava flour)	0.062	1.74	0.273	10.87	0.205	8.9	3.864	13.56	197.48	40.68
Cocoyam paste + peanut sauce ^a	Tuber (cocoyam)	0.111	3.11	0.311	12.39	0.462	20	2.034	7.14	0.427	0.088
Rice + (stew soup, peanut sauce)	Cereals (rice)	0.189	5.3	0.296	11.79	0.132	5.71	2.38	8.35	109.62	22.6
Doughnut	Cereals (wheat, corn)	0.095	2.7	0.177	7.05	0.07	3.1	1.318	4.62	28.215	5.81
Porridge	Cereals (corn, rice), leguminous (peanut, beans)	0.043	1.21	0.124	4.94	0.024	1.04	1.201	4.21	15.167	3.12
Beans	Leguminous (beans), tuber (sweet potatoes)	0.039	1.1	0.17	6.77	0.064	2.8	1.933	6.78	3.489	0.72
Fish + cassava paste	Fish, tuber (cassava)	0.023	0.65	0.025	0.99	0.022	0.96	0.625	2.19	12.308	2.53
Sausage/pie meat		0.033	0.92	0.016	0.63	0.001	0.043	0.333	1.17	7.283	1.5
Sardine		0.017	0.48	0.017	0.67	0.021	0.91	0.333	1.17	6.879	1.41
Tomato		0.017	0.48	0.037	1.47	0.012	0.519	0.480	1.68	2.414	0.497
Milk (liquid)		0.075	2.1	0.036	1.43	0.025	1.1	2.042	7.17	12.247	2.52
Refined oil/Palm oil		0.109	3.1	0.058	2.31	0.055	2.4	1.325	4.65	1.59	0.33
Soft drink		0.129	3.61	0.263	10.47	0.050	2.19	2.616	9.18	1.13	0.233
Mineral water		0.068	1.9	0.015	0.59	0.019	0.83	0.002	0.007	0.008	0.0016
Sachet water		0.035	0.98	0.032	1.27	0.077	3.34	0.035	0.13	0.025	0.005
Water-well ^a		0.026	0.73	0.04	1.59	0.151	6.54	0.010	0.035	0.042	0.008
Spring water		0.025	0.7	0.010	0.39	0.028	1.22	0.003	0.01	0.005	0.001
Tap water ^a		2	56.02	0.251	10	0.646	28	0.293	1.03	0.226	0.047
Dietary exposure		3.57		2.51		2.31		28.5		485.5	
			100		100		100		100		100

^a: Sample type from households.

Assessment of Dietary Exposure and Health Risk to Multiple Heavy Metals amongst Some Workers in Yaoundé, Cameroon

Table 6 Estimated average daily exposure dose of heavy metals in the studied population.

Professional status	ADED in the study population ($\mu\text{g}/\text{kg}$ bw/d) (range)				
	Pb	Cd	Hg	Cu	Zn
Employees	16.83 \pm 15.32 (7.63-33.32)	20.94 \pm 21.02 (5.1-70.75)	18.51 \pm 18.02 (4.55-57.03)	0.2 \pm 0.1 (0.05-1.35)	2.46 \pm 2.55 (0.21-6.83)
Students	14.79 \pm 15.55 (3.75-70.57)	19.84 \pm 20.45 (5.2-133.33)	14.94 \pm 14.24 (1.83-43.64)	0.2 \pm 0.5 (0.04-0.74)	2.37 \pm 2.15 (0.7-8.81)
Informal Sector Workers	19.31 \pm 16.69 (5.04-51.91)	23.97 \pm 19.58 (5.38-69.05)	23.82 \pm 24 (4.9-63.13)	0.22 \pm 0.2 (0.04-1.08)	2.97 \pm 3.25 (0.33-7.41)
Others	20.85 \pm 19.52 (9.69-24.75)	27.52 \pm 26.23 (10.12-36.23)	23.6 \pm 23.10 (11.67-28.68)	0.25 \pm 0.28 (0.08-0.33)	3.76 \pm 3.3 (1.77-4.24)
<i>p</i> -Value	0.044	0.378	0.001	0.776	0.153
PTDI	3.6*	1*	0.23*	160**	700**

Values are presented as mean \pm standard deviation, significantly different at $p < 0.05$; ADED: average daily exposure dose; PTDI: provisional tolerable daily intake; *: PTDI established by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives [34]; ** safe upper level recommended by the Expert Group on Vitamins and Minerals (EVM) [35].

4. Discussion

The present study investigated the exposure of the population ($n = 251$) from all 23 districts in the capital city of Cameroon, Yaoundé, to heavy metals originating from foods/snacks, water and/or soft drinks. Hazardous naturally occurring heavy metals (Cd, Pb and Hg) which are toxic at low concentrations, as well as trace elements or essential metals (Cu and Zn) which are useful to the body at low concentrations, were concerned. The procedure was used for exposure/health risk assessment, included food survey, chemicals determination in popularly table-ready foodstuffs and estimation of dietary exposure dose of the population.

From the food survey, 33% of students, 20% of employees and 5% of others fed mainly in households probably due to their request programme. The observation that covers 70% of studied participants (Fig. 1) either get their foods, water and/or soft drinks from small-road-side restaurants (70%) or from both household and small-road side restaurants (76%) may be partly explained by the proximity to, the affordability and flexibility of the small road-side restaurants-foods, water and/or soft drinks in addition to the nature of their activities and location of these restaurants which are generally around their workplaces. Similarly, considering the busy nature of

city life (each person working hard to meet up with city demands—bills, rents, family), it is obvious that many people will go in for fast foods and/or lunch bowls. This may be part of the influential factors towards the continuous expose of studied participants to heavy metals in their diets, water and/or soft drinks. Additionally, the observed high levels of contamination by heavy metals may partly be due to the generally inadequate knowledge on basic food safety and foods hygiene by the small road-side-food sellers especially as their restaurants are exposed along the major runways. This can be supported by the findings from the study conducted in Spain [36], that revealed an increased content of lead (from 0.5400 to 2.1000 $\mu\text{g}/\text{g}$) and cadmium (from 0.1431 to 0.2398 $\mu\text{g}/\text{g}$) in small road-side vended foods after 2 hours exposure to environment. Furthermore, exposure to the metals could be accentuated by the poor quality of the final-consumed foods considering local restaurant sellers generally wrap the foods, even while still hot, with wrapping papers, which are plastic in nature and may further contaminate the foods.

The average contents of Pb, Cd and Hg in 100% contaminated water samples (sachet water, tap water, water from wells, spring water and mineral water) were 19-380 times higher than the permissible limits [32, 33] (Table 2), with the exception of Zn and Cu

contents. Maximum levels of Cu, Zn, Hg and Cd in water were provided by sachet water and Pb by mineral water. Metals levels in this study were higher than reported in Nigeria [37] and Uganda [24]. Sachets water currently sold and consumed by the majority of small road-side business people or sachet water vendors in the streets of Yaoundé is from doubtful origins. This sachet water speculatively may likely be produced in households from tap water and/or groundwater. As such, contamination of the sachet water could originate from multiple sources, including contaminated soil, the use of heavy metals in the domestic drinking water supply systems [38], the manufacturing process of plastic material into which some analyzed samples were packaged [1, 39]. Runoff from urban storms and leaching of metals from household waste and soluble metal residues could also bring in heavy metals into the ground waters (spring and well water) [40].

The average contents of heavy metals in bottle soft drink samples and sachet soft drink were 1.4 to 350 times higher than the standards of 0.05 mg/kg for Pb, 0.4-0.5 mg/kg for Cd, 0.001 mg/kg for Hg, 5 mg/kg for Cu and Zn recommended [32, 33]. With the exception of lead, the significantly ($p > 0.05$) high levels of heavy metals revealed in bottled soft drink samples could be due to their uptake and accumulation at any point of the production chain: soil contamination, handling of raw materials and state of water utilized, storage conditions, processing and/or packaging [39, 41]. A similar observation was reported in Nigeria [42] where Pb (0.17 to 3.39 mg/L), Hg (0.29 to 11.32 mg/L) and Cd (0.149 mg/L) were detected in soft drink with highest levels found in bottled samples.

When considering food samples, the average heavy metal contents of 100% contaminated samples with Pb and Cd, 72.54% with Hg and 16.66% with Zn exceeded from 0.6 to 15.2 folds the standards [33] excepted Cu (Table 2). The wide handling of foods and applications of heavy metals, incineration and/or

the presence of garbage dumps, one may speculate high accumulations of heavy metals in food chains, in other food commodities, in water utilized during cooking process or production, and likelihood that, atmospheric pollution, urban wastes, vehicle emissions, poor packaging of meals may have contributed to extending the level of contamination recorded in some samples [22, 36, 43]. Heavy metals including Pb, Cd, Hg and Zn are reported to be used in the manufacturing process of plastics, kitchen utensils, preserved and cans coating [1, 44]. It resulted from the survey sheets that artisanal aluminum cookware and ladles, tap water and water from wells were commonly used in cooking process and plastic materials for storage. Findings from this present study indicate a significant variation ($p < 0.05$) between samples levels of Pb and Cd and the storage material used (Table 3). The metals may have migrated into food. In addition, investigation on these kitchen utensils in Cameroon [44] revealed that substantial amounts of Pb, Cd and other metals can migrate from artisanal cookware during cooking and enter the food. Furthermore, the repeated re-heating of food packaging in plastics, or through or through the cookware as recorded during the survey may also increase the potential for metals build-up in the food.

Daily estimated intake of metals from analyzed samples showed that, water was the most dietary source of Pb and Hg (40.91% and 65.52% respectively). Soft drink contributed for 45.16% and 53.17% to Cd and Cu intake respectively while food contributed for 97.84% to zinc intake (Table 4). Despite the fact that refined oil, soft drink, cocoyam paste/peanut sauce and cassava paste (water "fufu")/"eru" provided highest concentrations of Pb, Cd and Cu, Hg, Cu and Zn respectively, the main source of dietary exposure to lead and mercury was tap water (contribution rate 56.02 and 28%, respectively), followed respectively by corn-rice-food-bases and cocoyam-corn food-bases. The main source of dietary cadmium exposure was

corn food-base followed by cocoyam-rice food-bases; corn food-base for copper followed by cassava food-base and soft drink; cassava food-base for zinc followed by rice-corn food-bases (Table 5, Figs. 2-6). Taken all together, tap water was likely to have provided highest daily intake of Pb, Cd, Hg, Cu and Zn due to its most frequent usages such as intake as drinking water, use in preparation/processing and cooking and the high content of metals recorded in the analyzed samples.

The daily exposure dose of the study population was derived from ADI, and showed significant ($p < 0.05$) variations between different heavy metals (Table 4) and some participants (informal sector workers and others) (Table 6). The daily exposure values of Pb, Cd and Hg were up to 5.1; 23.1 and 94.5 times respectively higher than the regulated provisional tolerable daily intake (PTDI) [34] (Table 4). The daily exposure doses of Cu and Zn were 1.3 and 4 times respectively than the safe upper levels recommended [35]. Despite these observations, the health risk index indicated no level of concern for Pb, Cd, Hg, Cu and Zn ($HRI < 1$). However, regular consumption of such contaminated food may lead to bioaccumulation of the heavy metals in the body at levels exceeding the PTDI, which may have negative health implications. The adverse effects of heavy metals as endocrine disruptors and/or inducers of serious long-term illnesses such as cancer, metabolic diseases, neurodegenerative diseases, infertility, etc., is well documented [4, 15, 16].

5. Conclusions

This investigation showed high occurrence frequencies of heavy metals in foods (food items, ready-to-eat foods), water from different sources (tap, mineral, spring, wells) and soft drinks commonly consumed by individuals in Yaoundé-Cameroon. Those from street restaurants infatuated by workers from informal sector were the most contaminated. They are sufficient evidence to suggest through this

pilot study that, Cameroonians are exposed to heavy metals at levels above the acceptable PTDI thresholds. The main source of exposure to Pb and Hg was tap water, and the staple cereals and tubers food-base for Cd, Cu and Zn. The health risks levels of the population towards these metals were found to be safe (< 1). However, further or continuous exposure may lead to health implication. A correlation study of heavy metals and other environmental toxicants in food to levels of suitable biomarkers to accurately estimate the degree of human exposure via urine, educational intervention to control foods contamination in order to reduce human exposure including susceptible populations, such as children to these toxic substances is necessary.

Acknowledgements

The authors are grateful to the participants for their cooperation, to Dr. Akindeh for the assistance during data analysis and the Institute of Research for Agriculture and Development (IRAD), Yaoundé for atomic absorption analysis.

References

- [1] Biney, C., Amuzu, A. T., Calamari, D., Kaba, N., Mbome, I. L., Naeve, H., et al. 1995. "Revue de la pollution dans l'environnement aquatique africain: Etude des métaux lourds." In *Archives de documents de la FAO, Département de pêches*. Rome, pp. 25-9.
- [2] Bortey-Sam, N., Nakayama, S.M., Ikenaka, Y., Akoto, O., Baidoo, E., Yohannes, Y. B., et al. 2015. "Human Health Risks from Metals and Metalloid via Consumption of Food Animals near Gold Mines in Tarkwa, Ghana: Estimation of Daily Intakes and Target Hazard Quotients (THQs)." *Ecotoxico. Environ. Saf.* 111: 160-7.
- [3] Wong, J. W. 1996. "Heavy Metal Contents in Vegetables and Market Garden Soils in Hong Kong." *Environmental Technology* 17: 407-14.
- [4] Manfo, F. P. T., Nantia, E. A., Wang, K. L., Moundipa, P. F., and Mathur, P. P. 2014. "Heavy Metal-Induced Toxicity on Male Reproductive Function." In *Contemporary Topics in Life Sciences*, edited by Mathur, P. P., Narendra Publishing House, pp. 1-26.
- [5] Okereke Chioma, J., Essien, E. B., and Wegwu, M. O. 2016. "Human Health Risk Assessment of Heavy Metal Contamination for Population via Consumption of

- Selected Vegetables and Tubers Grown in Farmlands in Rivers State, South-South Nigeria." *J. Anal. Pharm. Res.* 3 (6): 1-10.
- [6] Adei, E., and Forson-Adaboh, K. 2008. "Toxic (Pb, Cd, Hg) and Essential (Fe, Cu, Zn, Mn) Metal Content of Liver Tissue of Some Domestic and Bush Animals in Ghana." *Food Addit Contam Part B Surveill.* 1 (2):100-5.
- [7] Hosseini, M., Nabavim S. M., Nabavim S. N., and Pour, N. A. 2015. "Heavy Metals (Cd, Co, Cu, Ni, Pb, Fe, and Hg) Content in Four Fish Commonly Consumed in Iran: Risk Assessment for the Consumers." *Environ Monit Assess.* 187 (5): 237.
- [8] DEFRA (Department of Environment, Food and Rural Affairs). 1999. *Total Diet Study—Aluminium, Arsenic, Cadmium, Chromium, Copper, Lead, Mercury, Nickel, Selenium, Tin and Zinc*. London: The Stationery Office.
- [9] Cambra, K., Martinez, T., Urzelai, A., and Alonso, E. 1999. "Risk Analysis of a Farm Area near a Lead- and Cadmium-Contaminated Industrial Site." *Journal of Soil Contain* 8: 527-40.
- [10] Hammi, H. 2010. La pollution des eaux par les métaux lourds. Les IIIème Olympiades Tunisiennes de Chimie.
- [11] Ye, B., Kim, B., Jeon, M., Kim, S., Kim, H., Jang, T., et al. 2016. "Evaluation of Mercury Exposure Level, Clinical Diagnosis and Treatment for Mercury Intoxication." *Annals of Occupational and Environmental Medicine* 28: 5.
- [12] Melila, M., Poutouli, W., Amouzou, K., Tchangbedji, G., Tchaou, M., Doh, A., et al. 2012. "Induction du stress oxydatif chez l'homme suite à la bioconcentration des éléments traces métalliques (cadmium et plomb) par voie trophique à Kpémé (Sud du Togo)." *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 6 (3): 1263-70.
- [13] Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew Blessy, B., and Beeregowda, K. N. 2014. "Toxicity, Mechanism and Health Effects of Some Heavy Metals." *Interdiscip Toxicol.* 7 (2): 60-72.
- [14] Curtin, J. F., Donovan, M., and Cotter, T. G. 2002. "Regulation and Measurement of Oxidative Stress in Apoptosis." *Journal of Immunological Methods* 265: 49-72.
- [15] Jomova, K., and Valko, M. 2011. "Advances in Metal-Induced Oxidative Stress and Human Disease." *Toxicology* 283 (2-3): 65-87.
- [16] Maherou, J., Norest, S., and Ferrier, L. 2013. *Les métaux lourds, quels risques pour la santé?* ASEF, p. 7.
- [17] Long, X. X., Yang, X. E., Ni, W. Z., Ye, Z. Q., He, Z. L., Calvert, and Stoffella, J. P. 2003. "Assessing Zinc Thresholds for Phytotoxicity and Potential Dietary Toxicity in Selected Vegetables Crops." *Commn. Soil Science of Plant Analogy* 34 (9-10): 1421-34.
- [18] Bwa, J., Bergkvist, L., Bottai, M., and Akesson, A. 2012. "Dietary Cadmium Exposure and Risk of Postmenopausal Breast Cancer: A Population-Based Prospective Cohort Study." *Cancer Research* 72 (6): 145.
- [19] Chen, P., Miah, M. R., and Aschner, M. 2016. "Metals and Neurodegeneration." *F1000Research* 5 (366): 1-12.
- [20] Saha, N., and Zaman, M. R. 2012. "Evaluation of Possible Health Risks of Heavy Metals by Consumption of Foodstuffs Available in the Central Market of Rajshahi City, Bangladesh." *Environ. Monit. Assess.* 185: 3867-78.
- [21] Islam, M. S., Ahmed, M. K., Habibullah-Al-Mamun, M., Islam, K. N., Ibrahim, M., and Masunaga, S. 2014. "Arsenic and Lead in Foods: A Potential Threat to Human Health in Bangladesh." *Food Additives & Contaminants: Part A* 31: 1982-92.
- [22] Bortey-Sam, N., Nakayama, S. M., Akoto, O., Ikenaka, Y., Fobil, N. J., Baidoo, E., et al. 2015. "Accumulation of Heavy Metals and Metalloid in Foodstuffs from Agricultural Soils around Tarkwa Area in Ghana, and Associated Human Health Risks." *Int. J. Environ. Res. Public Health* 12: 8811-27.
- [23] Iwegbue, C. M. A., Nwozo, S. O., Overah, C. L., Bassey, F. I., and Nwajei, G. E. 2013. "Concentrations of Selected Metals in Some Ready-to-Eat-Foods Consumed in Southern Nigeria: Estimation of Dietary Intakes and Target Hazard Quotients." *Food Science and Technology* 1 (1): 1-7.
- [24] Bamuwamyé, M., Ogwok, P., Tumuhairwe, V., Eragu, R., Nakisozi, H., and Ogwang, P. E. 2017. "Human Health Risk Assessment of Heavy Metals in Kampala (Uganda) Drinking Water." *Journal of Food Research* 6 (4): 6-16.
- [25] Fonge, B. A., Tening, A. S., Egbe, A. E., Awo, E. M., Focho, D. A., Oben, P. M., et al. 2011. "Fish (*Arius heudelotii* Valenciennes, 1840) as Bioindicator of Heavy Metals in Douala Estuary of Cameroon." *African Journal of Biotechnology* 10 (73): 16581-8.
- [26] Bonglaison, J. N., Mbofung, C. M. F., and Lantum, D. N. 2011. "Intake of Lead, Cadmium and Mercury in Kaolin-Eating: A Quality Assessment." *J. Med. Sci.* 11: 267-73.
- [27] Afri-Mehennaoui, F-Z., and Mehennaoui, S. 2004. "Comparaison de trois techniques d'extractions pour la détermination des éléments traces métalliques dans les sédiments de l'Oued Rhumel et son affluent l'oued Boumerzoug en zone urbaine (Constantine)." *Sciences & Technologie* 12: 20-38.
- [28] A.O.A.C. 1997. "Official Methods of Analysis of the Association of Official Chemist." *AOAC Inc, Arlington 16 ed*, 11 (37): 3-4.
- [29] FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organization). 2005. *Dietary Exposure Assessment of Chemicals in Food*. report of a joint FAO/WHO consultation, Annapolis, Maryland, USA.

- [30] WHO (World Health Organization). 2005. "Surveillance of Chronic Disease Risk Factors: Country Level Data and Comparable Estimates." Global Infobase Team: SuR Freport 2 (WHO, Geneva), p. 14.
- [31] EPA (Environmental Protection Agency). 1989. Guidance Manual for Assessing Human Health Risks from Chemically Contaminated, Fish and Shellfish, US Environmental Protection Agency, Washington DC EPA-503/8-89-002.
- [32] WHO (OMS: Organisation Mondiale de la Santé). 2006. Norme de l'OMS sur l'eau potable. Lenntech.
- [33] European Commission (EC). 2006. "Setting Maximum Levels for Certain Contaminants in Foodstuffs." Official Journal of the European Union L364/5 Commission Regulation (EC) No. 1881/2006.
- [34] JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). 2000. "Safety Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants." *WHO Food Additives Series* 44: 273-312.
- [35] EVM. 2003. "Safe Upper Levels for Vitamins and Minerals of the Export Group on Vitamins and Minerals." Food Standard Agency. <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/vitmin>.
- [36] Abdulmajid, N., Baustista, S., Chavez, E., Dimaano, W., and Barcelon, E. 2014. "Heavy Metal Assessment and Sensory Evaluation of Street Vended Foods." *International Food Research Journal* 21 (6): 2127-31.
- [37] Abdullahi, S., Ndikilar, C. E., Suleiman, A. B., and Hafeez, H. Y. 2016. "Assessment of Heavy Metals and Radioactivity Concentration in Drinking Water Collected From Local Wells and Boreholes of Dutse Town, North West, Nigeria." *Journal of Environment Pollution and Human Health* 4 (1): 1-8.
- [38] EPA (Environmental Protection Agency). 2008. "Public Health Goal for Copper in Drinking Water." Office of Environmental Health Hazard Assessment; Pesticide and Environmental Toxicology branch, Oakland, California, 1: 70.
- [39] Buldini, P. L., Ricci, L., and Sharma, J. L. 2002. "Recent Applications of Sample Preparations Techniques in Food Analysis." *Journal of Chromatography A* 975 (1): 47-70.
- [40] Ahoussi, E. K., Soro, N., Kouassi, A. M., Soro, G., Koffi, Y. B., and Zade, S. P. 2010. "Application des méthodes d'analyses statistiques multivariées à l'étude de l'origine des métaux lourds (Cu^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} et Pb^{2+}) dans les eaux des nappes phréatiques de la ville d'Abidjan." *International Journal of Biological and Chemical Science* 4 (5): 1753-65.
- [41] Galadima, A., And Garba, Z. N. 2012. "Heavy Metal Pollution in Nigeria: Causes and Consequences." *Elixir Pollut.* 45: 7917-22.
- [42] Engwa, A. G., and Osuji, A. G. 2015. "Determination of Some Soft Drink Constituents and Contamination by Some Heavy Metal in Nigeria." *Toxicology Reports* 2: 384-90.
- [43] Cossa, D., and Ficht, A. 1999. *La dynamique du mercure, Programme scientifique Seine Aval*. Editions Ifremer, Plouzané, France, p. 26.
- [44] Weidenhamer, J. D., Kobunski, P. A., Kuepouo, G., Corbin, R. W., and Gottesfeld, P. 2014. "Lead Exposure from Aluminum Cookware in Cameroon." *Science of the Total Environment* 496: 339-47.