



HAL
open science

Impact des perturbateurs endocriniens sur la fertilité : étude comparative

Clémence Lefranc

► **To cite this version:**

Clémence Lefranc. Impact des perturbateurs endocriniens sur la fertilité : étude comparative. Gynécologie et obstétrique. 2018. dumas-02087918

HAL Id: dumas-02087918

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02087918>

Submitted on 2 Apr 2019

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

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



UNIVERSITÉ DE PICARDIE JULES VERNE
FACULTÉ DE MÉDECINE D'AMIENS



Année 2018

N° 2018 - 105

**IMPACT DES PERTURBATEURS
ENDOCRINIENS SUR LA FERTILITÉ : ÉTUDE
COMPARATIVE DE COUPLES FERTILES ET
INFERTILES**

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Spécialité : Gynécologie Médicale

Présentée et soutenue publiquement le 19 septembre 2018

Par

Clémence LEFRANC

Président du Jury : **Monsieur le Professeur Henri COPIN**

Membres du Jury : **Madame le Professeur Rachel DESAILLOUD**
Monsieur le Professeur Moncef BEN KHALIFA
Madame le Docteur Florence SCHEFFLER

Directrice de Thèse : **Madame le Docteur Rosalie CABRY-GOUBET**

REMERCIEMENTS

À mon Président de jury

Monsieur le Professeur Henri COPIN

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

Histologie-Embryologie-Cytogénétique

Chef du Service de Médecine et Biologie de la Reproduction et de Cytogénétique et CECOS de
Picardie

Pôle « Femme-Couple-Enfant »

Chevalier dans l'Ordre des Palmes Académiques

Je vous remercie de me faire l'honneur de présider mon jury de thèse.

Soyez assuré de ma reconnaissance et de mon profond respect.

À mon juge

Madame le Professeur Rachel DESAILLOUD

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier

Endocrinologie, Diabétologie et Maladies Métaboliques

Vous me faites l'honneur de juger mon travail de thèse et je vous en remercie. Vous avez accompagné mes tout premiers pas de médecin et avez su développer ma curiosité pour l'endocrinologie. Merci pour votre grande pédagogie et votre patience à m'expliquer les axes hormonaux.

À mon juge

Monsieur le Professeur Moncef BEN KHALIFA

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

Biologie et Médecine du Développement et de la Reproduction

Vous me faites l'honneur de juger ce travail.

Soyez assuré de mes sincères remerciements et de mon profond respect.

À ma directrice de thèse

Madame le Docteur Rosalie CABRY-GOUBET

Maître de Conférences des Universités – Praticien Hospitalier

Histologie, Embryologie et Cytogénétique

Médecine et Biologie de la Reproduction, Cytogénétique et CECOS de Picardie

CHU Amiens Picardie, Centre de Biologie Humaine

Je te remercie d’avoir accepté de diriger mon travail de thèse et d’avoir partagé avec moi ton expérience et tes précieux conseils pour l’élaboration de ce travail. Merci également pour ton accompagnement dans l’acquisition des compétences en Gynécologie Médicale et en Médecine de la Reproduction ces quatre dernières années. Travailler et se former à tes côtés a toujours été un plaisir. Reçois bien le témoignage de mon profond respect.

À mon juge

Madame le Docteur Florence SCHEFFLER

Praticien hospitalier

Médecine et Biologie de la Reproduction, Cytogénétique et CECOS de Picardie

CHU Amiens Picardie, Centre de Biologie Humaine

Je te remercie profondément de l'honneur que tu me fais en jugeant ce travail. Merci de ton accompagnement perpétuel tout au long de ce cursus, de ta disponibilité et de ta bonne humeur. Reçois le témoignage de ma plus grande considération.

- Madame le Docteur Aviva DEVAUX.

Merci pour votre implication et votre aide dans ce travail.

Merci à tous ceux qui m'ont entourée tout au long de ces études et sans qui mon parcours n'aurait pas été le même.

- Papa et Maman.

Merci de m'avoir permis de m'engager dans ce projet un peu fou des études de médecine, d'avoir cru en moi et de m'avoir accompagné mois après mois, années après années, dans mes moments de doutes, de craintes, de réussites ou d'échecs parfois. Merci d'avoir participé à mon éveil sur le monde et de m'avoir transmis vos valeurs humaines si importantes à mes yeux. Enfin, merci pour tous les bons week-end passés à la maison quand je décide de rentrer au bercail.

- Maxou et Marie, Juju.

Merci d'être toujours là, d'avoir cru en moi, et de m'avoir accueilli si souvent durant mes sessions de cours parisiens !

- A mes grands-parents.

Merci de votre amour et de vos regards bienveillants.

- Merci à Alice et Loulou.

Mes neveux chéris, qui m'ont permis des pauses rigolotes pendant les dernières lignes de rédaction de ce travail.

- A Caro, Amandine, Thomas, Marie-Charlotte, mes cousins, leurs conjoints et leurs enfants et à mes oncles et tantes.

Je vous remercie de faire de notre famille un clan si uni et joyeux.

- A mes collègues et amies connues au fil des stages, Aurélie, Héloïse, Camille, Claire, Mathilde, Charlotte.

Apprendre à vous connaître et travailler à vos côtés a été un plaisir. Sortir et profiter de la vie ensemble l'est encore davantage et le restera j'en suis sûre. Merci à Hélo, Aurélie et Pierre pour les mythiques « mardi soirs ». Merci à Mathilde qui a aidé à mon avancement sur la rédaction et à Arthur qui égaye les journées de travail dans notre cagibi. A mes autres co-GM croisés au fil des

ans, Anaïs, Pauline, Marion, Maïté, Albane avec qui nous savons profiter des sessions de cours parisiens pour ses déjeuners en terrasse et des visites du sud de la France pour le DESC.

- A toute l'équipe du service de Médecine et Biologie de la Reproduction.

Merci de votre aide et de votre soutien quotidien dans ce beau projet que nous portons ensemble chaque jour.

- A mes amis de Caen.

Merci à Caro avec qui j'espère avoir d'autres occasions d'explorer des contrées inconnues car « partir c'est crever un pneu »! Merci à Iris ma chirurgienne préférée pour ses proverbes délicieux (« l'infini c'est long surtout vers la fin »). Merci à Camille et Etienne, ma 2^{ème} famille à Caen, et à Camille, Anne-Eva, Ombeline et Marie avec qui il y a eu tant de révisions, de BU, de colles mais aussi de craquages, de soirées, de Garsouilles, et de pic-niques à la plage.

- A mes amis de Saint-Lô City.

Merci à La Mare et La Chlo, Lisette et Ali, mes Bigoodies, mes racines, « Friendship never ends » ! Merci aussi à Kiki, Manon et Tom pour tous les bons moments et les bonnes soirées vécues ensemble, d'avoir toujours été présents, d'avoir accompagner chacun de mes pas, certains depuis la classe préparatoire, jusqu'au bout de cet incroyablement long projet, d'avoir compris mes absences quand je ne me rendais pas disponible et d'avoir été là quand j'en avais besoin.

- A mes nombreux colocs.

Merci à Albane, Anne-Gaëlle et Marie avec qui j'ai découvert Amiens et la Picardie. Merci à Chloé, Claire, Julia et Coco (et Franquette pour ses ronrons) dans la grande coloc à 5! Un remerciement spécial à Chloé, ma coloc préférée, qui m'a supportée à l'époque et a choisi de me subir encore aujourd'hui au quotidien, qui s'occupe de moi et m'aide beaucoup dans tous mes projets. A Noémie, Marie, Mathurin, Florian, les colocs d'amis, les amis de colocs, mes ex ou futurs colocs... Merci d'égayer mes soirées et week-end et d'être comme ma famille à Amiens !

- A mes collègues connus en stage tout au long de cet internat.

Emilie, Marie-Pauline et Marie, Amélie et Guillaume, merci de m'avoir aidé à tenir un stéthoscope quand cela faisait longtemps ! A l'équipe d'endocrinologie à Amiens : Marine, à ton soutien en HDJ au début de mon internat et à ta joie de vivre. Merci aussi à Suzanne, Ornella, Anne-Charlotte et Soumaya pour votre bonne humeur.

- Aux Niçois pas plus niçois que moi !

Merci Marie-Pascale pour ton amitié si pure. Merci Inès pour ta douceur. Merci Carole pour ta gnaque. Mon inter-Chu à Nice restera un souvenir délicieux et cela grâce à vous.

- A Jean.

Tu es arrivé dans ma vie quelques mois seulement avant le dénouement de ce projet. Depuis ce jour, tu as fait mon bonheur à chaque heure et embelli ma vie. Merci.

ABRÉVIATIONS

AMP : Assistance Médicale à la Procréation

AMH : Hormone Anti-Müllérienne

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CMR : Agents Cancérogènes Mutagènes ou toxiques pour la Reproduction

CO : Monoxyde de Carbone

CPP : Comité de Protection des Personnes

DDE : DichloroDiphényldichloroÉthylène

DDT : DichloroDiphénylTrichloroéthane

DES : Diéthylstilbestrol

DNC : Délai Nécessaire à Concevoir

FIV : Fécondation In Vitro

FSH : Follicule Stimulating Hormone

IC : Intervalle de Confiance

ICSI : Injection Intra Cytoplasmique de Spermatozoïde

IMC : Index de Masse Corporelle

LH : Luteinizing Hormone

OR : Odds Ratio

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PCB : PolyChloroBiphényles

PE : Perturbateur Endocrinien

PHRC : Protocole Hospitalier de Recherche Clinique

ppm : particules par minute

PPS : Produits Phytosanitaires

RCIU : Retard de Croissance Intra-utérin

ROS : Reactive Oxygen Species

SAU : Surface Agricole Utile

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS	2
ABRÉVIATIONS	10
I. INTRODUCTION	12
1. Définition des Perturbateurs Endocriniens	12
2. Perturbateurs endocriniens et Reproduction.....	14
3. Les pesticides, principaux perturbateurs endocriniens	18
4. Le tabac, une autre source d'exposition aux perturbateurs endocriniens	20
5. Définition des objectifs de l'étude.....	20
II. MATÉRIEL ET MÉTHODE	22
III. RÉSULTATS	25
1. Analyse de la population	25
2. Exposition professionnelle de la population étudiée aux pesticides.....	28
3. Exposition domestique de la population étudiée aux pesticides.....	30
4. Exposition de la population étudiée au tabagisme.....	34
IV. DISCUSSION	38
1. Exposition professionnelle aux produits phytosanitaires et fertilité.....	39
1.1 Impact de l'exposition professionnelle aux PPS sur la fertilité masculine.....	40
1.2 Impact de l'exposition professionnelle aux PPS sur la fertilité féminine.....	42
1.3 Impact de l'exposition professionnelle aux PPS sur l'AMP et la grossesse.....	44
2. Exposition domestique aux produits phytosanitaires et fertilité.....	45
2.1 Impact de l'exposition domestique aux PPS sur la fertilité masculine.....	46
2.2 Impact de l'exposition domestique aux PPS sur la fertilité féminine.....	48
2.3 Impact de l'exposition domestique aux PPS sur l'AMP et la grossesse.....	50
3. Exposition au tabac et fertilité.....	51
3.1 Impact du tabagisme sur la fertilité masculine	53
3.2 Impact du tabagisme sur la fertilité féminine	54
3.3 Impact du tabagisme sur la grossesse et l'AMP	55
4. Limites de l'étude.....	56
CONCLUSION	58
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	59
ANNEXES	67

I. INTRODUCTION

1. Définition des Perturbateurs Endocriniens

Depuis la deuxième moitié du XX^{ème} siècle, l'agriculture intensive et l'industrialisation massive ont mené à la dispersion croissante dans l'environnement de produits chimiques susceptibles de porter atteinte à la santé humaine dans l'environnement. Parmi eux, il a été identifié des substances aux propriétés de « Perturbateurs Endocriniens » (PE).

Selon la définition de l'OMS, les PE sont des substances chimiques d'origine naturelle ou artificielle étrangères à l'organisme qui peuvent interférer avec le fonctionnement du système endocrinien et induire ainsi des effets délétères sur cet organisme ou sur ses descendants (1). Pour rappel, le système endocrinien est un système de communication de l'organisme constitué de différentes glandes régulant de nombreuses fonctions physiologiques par l'intermédiaire des hormones sécrétées dans la circulation sanguine. De manière normale, l'hormone va agir en se fixant à son récepteur dans les cellules du tissu cible. Après liaison, le complexe hormone-récepteur est internalisé au sein du noyau de la cellule puis se fixe sur une région spécifique du promoteur du gène hormono-dépendant entraînant l'expression du gène. Les modes d'action des PE sont multiples. Ils peuvent agir à chaque niveau du fonctionnement hormonal (cf Figure 1, (2)) :

- Par effet agoniste en mimant les effets des hormones naturelles en se fixant sur le récepteur hormonal
- Par effet antagoniste en bloquant les effets des hormones naturelles en empêchant leur liaison avec le récepteur hormonal
- Par altération de la structure de l'hormone naturelle
- Par altération du taux de récepteur hormonal disponible ou en interférant avec le transport ou l'élimination des hormones
- En interférant avec les activités enzymatiques concourant à la synthèse hormonale, ou avec l'internalisation ou la liaison à l'ADN du complexe hormone-récepteur.

La moindre perturbation du système endocrinien modifie l'équilibre hormonal nécessaire au bon fonctionnement de l'organisme.

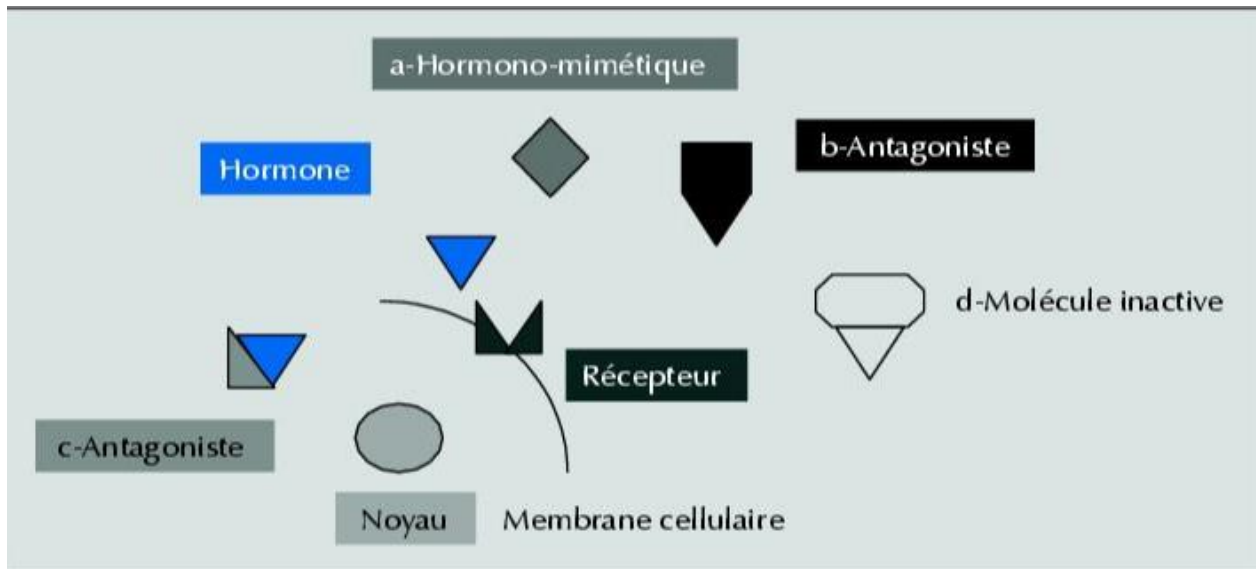


Figure 1 : Mécanisme direct de perturbation de la fonction endocrinienne. Le perturbateur endocrinien (a ou b) peut se fixer sur le récepteur à la place de l'hormone naturelle, il imite ou inhibe ainsi l'hormone et perturbe le fonctionnement normal de l'organisme. Sophie Desmots, Catherine Brulez, Emmanuel Lemazurier. *Perturbateurs de la fonction endocrinienne et santé : un point non exhaustif sur les connaissances. Environnement, Risques & Santé. 2005;4(3):195-204.*

On dénombre aujourd'hui plus d'un millier de PE dans l'environnement. De manière large, on peut classer les substances perturbatrices du système endocrinien en 3 classes :

- Les hormones de synthèse, agents chimiques développés pour perturber de manière intentionnelle le système endocrinien comme le 17α -éthynylestradiol
- Les composés naturels comme les phytoœstrogènes (génistéine, coumestrol) retrouvés dans une grande variété de plantes
- Les produits chimiques de synthèse destinés à diverses applications comme le dieldrine, l'endosulfan, les dioxines, les PCBs, etc.

Leurs usages sont très variés et ils sont retrouvés un peu partout. Ce sont certains pesticides dans l'alimentation, le bisphénol A dans les boîtes de conserve, les phtalates dans le plastique, le parabène dans les shampooings, ou encore le triclosan dans le dentifrice. Leur large utilisation conduit à retrouver de faibles quantités de ces produits, appelés résidus, dans l'environnement et dans l'alimentation. Aux Etats-Unis, il a été retrouvé des traces de pesticides

ou de leurs métabolites dans des échantillons de sang ou d'urine chez 90 % de la population (3). Les sources d'exposition sont multiples via l'air, l'eau et le sol, ainsi que les voies de contamination qui peuvent être cutanées, respiratoires et digestives. Si les effets délétères sur la santé d'une exposition aiguë sont relativement bien connus, ceux d'une exposition chronique à faibles doses suscitent de nombreuses interrogations.

2. Perturbateurs endocriniens et Reproduction

Au fil des années, des effets des PE sur la santé animale et humaine ont été mis en évidence. En 1962, Rachel Carson dénonçait dans son ouvrage appelé « *Silent Spring* » les effets de l'épandage massif du dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT), un insecticide puissant, sur la reproduction des aigles des Grands Lacs aux Etats-Unis (4). En 1985, on remarquait des anomalies de développement gonadique marquées et des troubles de sécrétion androgénique chez des alligators vivant dans un lac de Floride pollué au dichlorodiphényldichloroéthylène (DDE), le métabolite du DDT (5).

Chez l'humain, la prescription du diéthylstilbestrol ou DES, plus communément connu sous le nom de Distilbène® a permis de comprendre l'importance cruciale de la fenêtre d'exposition en période fœtale ou néonatale pour les conséquences des PE sur la reproduction. Cet œstrogène de synthèse, chimiquement proche du DDT, était prescrit aux femmes enceintes en France entre 1948 et 1977 afin de diminuer les risques de fausses-couches. Il est à l'origine de nombreuses anomalies génitales chez les enfants nés de ces grossesses : malformations génitales, cancers du vagin et de l'utérus, stérilité chez les filles ; hypospades, cryptorchidies, hypotrophies testiculaires et oligospermie chez le garçon.

En 1976, l'explosion d'une usine chimique provoque la dispersion d'un nuage de dioxine sur la région de Seveso en Italie. Les études sur la cohorte de Seveso mettent en avant une augmentation de l'incidence de l'endométriose, source d'infertilité, associée à une élévation des taux de dioxine plasmatique, et une perturbation du sex-ratio dans les mois suivant l'accident avec un ratio observé de 48 naissances de filles pour 26 de garçons. Chez les hommes, l'exposition dans l'enfance a entraîné une baisse de la numération et de la mobilité spermatique avec baisse de l'oestradiolémie et élévation de la FSH plasmatique à l'âge adulte (6).

Outre ces catastrophes ayant soulevé des interrogations sur les effets des perturbateurs endocriniens, il est aussi constaté une recrudescence de certains cancers et de maladies. Elles sont aussi bien hématologiques (lymphomes de Hodgkin, leucémie, myélome multiple), neurologiques (maladie de Parkinson, d'Alzheimer, sclérose latérale amyotrophique), que touchant les organes reproductifs (cancer des testicules, de la prostate, malformations congénitales de type hypospadias et cryptorchidie (6,7), regroupés sous le terme de syndrome de dysgénésie testiculaire (8) ou responsables d'avances pubertaires (9), notamment dans des zones de très forte exposition, comme au contact de cultures entretenues à l'aide du glyphosate, un herbicide utilisé à l'échelle mondiale (10). L'augmentation rapide de la fréquence de ces anomalies ainsi que leurs recrudescences particulièrement ciblées à des aires géographiques d'exposition laissent supposer que des facteurs environnementaux et/ou des changements de mode de vie peuvent être impliqués dans leurs genèses.

En parallèle, en France et dans d'autres pays, de nombreuses études mettent en évidence une altération marquée des paramètres spermatiques. En effet, la concentration du sperme en spermatozoïdes aurait baissé d'un tiers entre 1989 et 2005 soit à la vitesse de 2% par an selon une étude française (11–13). Cette altération du sperme est plutôt préoccupante car elle est évolutive et persistante depuis une cinquantaine d'années. Toutefois, les spécialistes ignorent si cela est en cause dans l'infertilité observée dans nos sociétés modernes (en France, une estimation de l'évolution de l'infertilité donnait des chiffres de 14% en 1991 contre 24% en 2012 (14)).

Dans le monde, l'infertilité touche environ 80 millions de personnes. En France comme dans les pays occidentaux, c'est environ 15 % des couples, soit un couple sur six, qui consulte pour une difficulté à procréer (15).

Nous rappelons que l'infertilité est une maladie du système reproductif défini par l'impossibilité d'obtenir une grossesse clinique après douze mois ou plus de rapports sexuels réguliers non protégés. Les étiologies de l'infertilité sont multiples. Il est fréquent de retrouver des causes génétiques, hormonales constitutionnelles, anatomiques ou infectieuses. Cependant, dans 10 à 20 % des cas, l'origine de l'infertilité est idiopathique.

L'hypothèse est émise d'une responsabilité au moins partielle des perturbateurs endocriniens dans le « déclin séculaire de la qualité du sperme » et le syndrome de dysgénésie

testiculaire ou encore la baisse de l'âge moyen de la puberté féminine et donc potentiellement dans certains troubles de la fertilité humaine.

Plusieurs études semblent confirmer l'effet néfaste de certains perturbateurs endocriniens sur la fonction de reproduction. Dans l'étude de De Cock, il est démontré que l'exposition de couples travaillant en milieu agricole à des pesticides augmenterait le délai nécessaire pour concevoir (16). Lors de l'exposition à des composés organochlorés, dont le DDT, premier insecticide organochloré largement utilisé par les armées américaines pendant la Seconde Guerre Mondiale jusqu'à son interdiction en 1972 aux Etats-Unis, la même conclusion est observée (17)

L'action des PE peut se voir sur tous les organes de l'axe hypothalamo-hypophysogonadique (cf Figure 2). Les effets observés peuvent être de type œstrogénique, androgénique ou anti-androgénique par liaison des perturbateurs endocriniens aux récepteurs des hormones stéroïdes. Les perturbateurs de type oestrogénique peuvent causer des anomalies structurelles ou fonctionnelles chez le mâle et la femelle au cours du développement alors que les substances de type androgénique affectent essentiellement les femelles et les anti-androgéniques essentiellement les mâles. D'après différentes observations, l'action des PE varie selon la période d'exposition. Il semble exister des périodes de vulnérabilité de l'individu qui sont notamment les périodes prénatales, post-natales, à la puberté et pendant la période péri-conceptionnelle. Les effets perturbateurs endocriniens peuvent agir à faibles doses. Il a été évoqué un « effet cocktail » des PE c'est-à-dire que plusieurs composés à faibles doses agissant sur les mêmes mécanismes biologiques pourraient ensemble perturber l'organisme sans que chacun, pris isolément n'ait d'effet. En outre, il semblerait que la courbe dose-effet soit en « U inversé » traduisant un effet non monotone qui pourrait apparaître à des doses faibles et disparaître à fortes doses. Le risque est de considérer qu'en l'absence d'effet à fortes doses, une substance n'aurait pas d'effet à faibles doses.

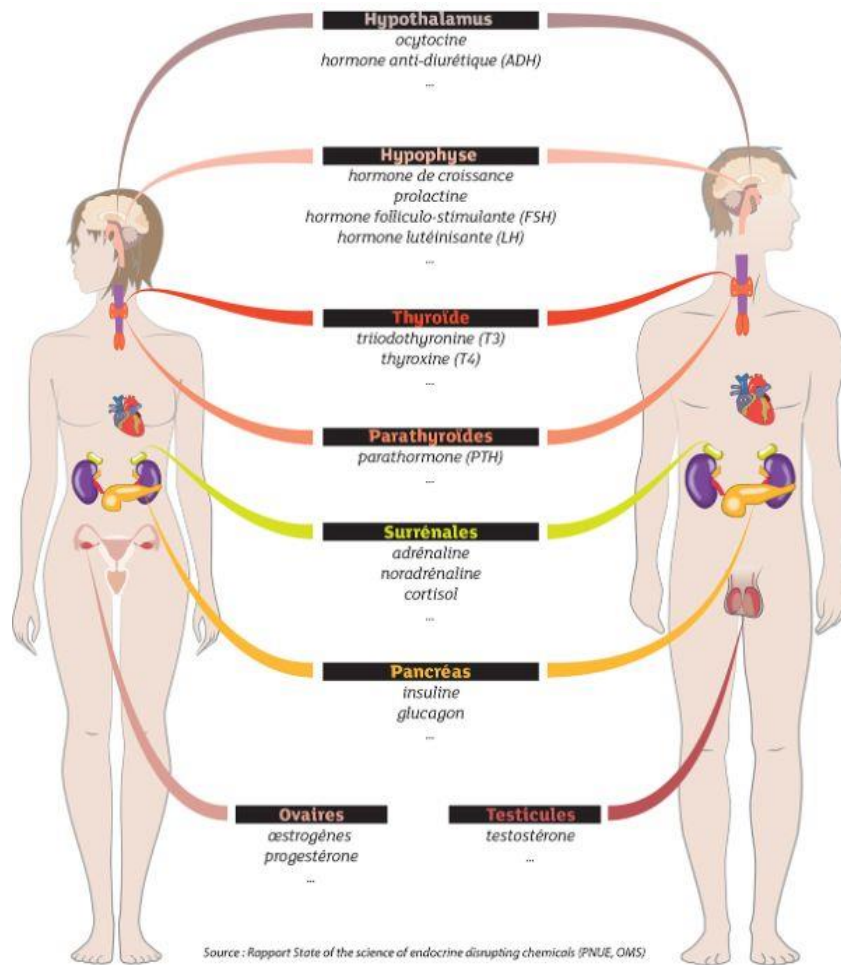


Figure 2 : Principaux organes du système endocrinien et hormones qui y sont associées

Les PE ont plus récemment montré une capacité à provoquer des anomalies de la reproduction sur plusieurs générations par des modifications épigénétiques. L'exposition à faibles doses de rates gestantes à la vinclozoline, un antifongique antiandrogénique ou au métoxychlore, un pesticide organochloré, durant la phase de détermination du sexe gonadique a induit une diminution des paramètres spermatiques et de la fertilité chez le rat adulte. Ces effets ont été transmis aux générations suivantes (jusqu'à la 4^{ème}) par altération de la méthylation de l'ADN au niveau des lignées germinales (18–21). L'effet délétère des PE se manifesterait non seulement chez l'individu exposé mais se transmettrait aussi à la descendance sur plusieurs générations successives.

Dans la littérature, les études tentant de mettre en évidence un lien causal entre l'exposition aux PE et les troubles de la fertilité humaine sont de plus en plus nombreuses. Chez la femme, deux études semblent montrer que la présence urinaire de phtalates, autre composé classé dans les PE, serait corrélée à une baisse de réserve ovarienne objectivée par un compte folliculaire antral et une AMH moindres (3,22). Aussi chez l'homme, la présence urinaire de Bisphénol A, composé retrouvé dans les bouteilles plastiques, les canettes et autres contenants alimentaires, serait corrélée à une diminution de la concentration, de la vitalité et de la mobilité spermatique (23). Le bisphénol A serait également associé à un taux plus élevé de fausses-couches à répétition (24).

Cependant, divers obstacles rendent difficile à démontrer un lien de cause à effet certain entre l'exposition aux PE et une baisse de fertilité : long délai d'action, exposition difficile à quantifier, expositions multiples concomitantes à différents types de perturbateurs endocriniens. Leur étude est complexe et les conclusions des travaux sont parfois contradictoires.

3. Les pesticides, principaux perturbateurs endocriniens

Parmi les substances suspectées d'induire des modifications du système hormonal, les pesticides sont très fréquemment cités. Cette exposition touche non seulement les travailleurs mais également les particuliers qui manipulent ce type de produits sans prendre les précautions nécessaires ou sont exposés via air ou l'alimentation.

Les pesticides sont également appelés produits phytosanitaires ou phytopharmaceutiques. Ils regroupent de nombreuses substances utilisées dans la lutte contre les nuisibles : insecticides, fongicides, herbicides, etc. Environ 1 000 substances actives différentes sont répertoriées et mises sur le marché, soit 100 à 150 groupes chimiques. La mise en place de la procédure communautaire d'évaluation a conduit au retrait du marché de 74 % des substances autorisées dans au moins un état membre de l'Union Européenne avant 1993. Il reste aujourd'hui environ 300 substances actives phytosanitaires. Les principales familles de pesticides classées selon leur composition chimique sont : les organochlorés comme le dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT), le lindane, l'endosulfan, le chlordane, chlordécone ou le méthoxychlore ; les organophosphorés comme le parathion, le malathion, et le glyphosate ; les carbamates tels que le

carbaryl et le carbofurane ; les pyréthroïdes comme la perméthrine et les triazines comme l'atrazine. Les organophosphorés présentent souvent un effet oestrogénique sauf le DDE et la vinclozoline qui sont plutôt anti-androgéniques. Les organophosphorés ont une action neurotoxique par inhibition sur l'acétylcholine estérase mais ils inhibent aussi les cytochromes P450 impliqués dans le catabolisme des oestrogènes leur conférant un effet oestrogénique.

Ils sont utilisés en agriculture mais ont également de nombreux autres usages, tels que l'entretien des voiries, des parcs communaux ou encore la lutte contre les insectes indésirables domestiques.

Les pesticides sont actuellement suspectés d'être à l'origine de troubles de la reproduction et de la fertilité, de troubles métaboliques, cardiovasculaires, et de certains cancers (25). Ils pourraient avoir un impact même à doses d'exposition faibles à tous les stades de la vie, voire à des stades très précoces comme lors de la vie in utéro. Compte tenu du délai très variable et parfois très long entre l'exposition et l'apparition des troubles incriminés, il est parfois très difficile de prouver un lien de cause à effet.

La France est le premier consommateur européen de pesticides avec une moyenne de 100 000 tonnes de substances actives vendues chaque année depuis les années 1980 pour 25 millions d'hectares cultivés (26). En 2008 en France, environ 90 % des tonnages de pesticides vendus l'ont été pour des usages agricoles (27).

Notre centre d'Assistance Médicale à la Procréation (AMP) se situe dans l'ancienne région Picardie, au sein des Hauts de France, région de tradition agricole où les terres cultivées correspondent à 60% des sols du territoire, soit près de deux fois plus que la moyenne nationale (34%). 40% de la Surface Agricole Utile (SAU) est dédiée à la culture du blé, activité hautement consommatrice de pesticides avec les cultures de maïs et de colza. Il faut également noter que l'agriculture biologique couvre seulement 0.7% de la SAU en Picardie contre 4 % de moyenne nationale en 2012. La population se concentre dans de petites communes et seuls 29% des habitants vivent dans des communes de plus de 10 000 habitants contre 48,7% en France métropolitaine, ce qui fait d'elle une population majoritairement rurale. La Picardie est aussi le siège d'une industrie traditionnelle. Les principales filières sont la chimie, la plasturgie, la métallurgie, la mécanique et l'agro-alimentaire.

4. Le tabac, une autre source d'exposition aux perturbateurs endocriniens

En ce qui concerne le tabac, la cigarette et sa fumée contiennent plus de 1 500 composés différents dont plusieurs perturbateurs endocriniens. Malgré de nombreuses campagnes de prévention et la hausse du prix du tabac, 27 % de la population française fume quotidiennement (28). En Picardie, ce pourcentage est légèrement supérieur avec 33% des hommes et 30% des femmes chez les 18-75 ans (29). Si on s'intéresse aux populations en âge de procréer, chez les 15-34 ans, 34.7% des femmes et 46.7% des hommes sont fumeurs (29). En outre, l'âge de la première cigarette est de plus en plus précoce : un tiers des fumeuses quotidiennes en Picardie déclare avoir commencé à fumer entre 14 et 15 ans (29). La part de fumeuses de plus de 10 cigarettes par jour de la tranche 25-34 ans et celle des fumeurs de plus de 10 cigarettes par jour de la tranche 25-29 ans est sensiblement plus élevée qu'au niveau national (16.2% contre 9.7% pour les femmes et 52.4% contre 43.2% pour les hommes)(29).

La cigarette contient du cadmium et de l'arsenic qui ont montré une activité de perturbateur endocrinien. Les effets du tabac sur la reproduction et la fertilité ont été étudiés. Dans la littérature, l'exposition au tabac semble induire une augmentation du délai de conception, une altération des paramètres spermatiques (30), une altération de la perméabilité tubaire (31), une augmentation des fausses-couches, des mort-nés et des grossesses extra-utérines (32,33).

5. Définition des objectifs de l'étude

L'objectif principal de notre étude est de comparer l'exposition aux perturbateurs endocriniens de couples infertiles pris en charge au centre d'Assistance Médicale à la Procréation du CHU d'Amiens à celle de couples fertiles ayant conçu spontanément et accouché dans le service de Gynécologie Obstétrique du même CHU. Nous avons décidé de nous intéresser plus spécifiquement à l'exposition aux pesticides et au tabac qui semblent être deux sources d'exposition importantes de nos patients aux perturbateurs endocriniens. Nous suivrons trois axes d'études qui sont : l'exposition professionnelle aux pesticides, l'exposition domestique aux pesticides et l'exposition au tabac.

Notre objectif secondaire est de concevoir une plaquette d'information destinée au grand public concernant les bonnes pratiques au quotidien afin de prévenir les troubles de fertilité et/ou

d'augmenter les chances de concevoir des couples en âge de procréer ou suivis en Assistance Médicale à la Procréation.

II. MATÉRIEL ET MÉTHODE

Nous avons choisi de comparer des couples fertiles et infertiles sur leur exposition à différents perturbateurs endocriniens afin de voir si le statut fertile ou infertile pouvait être lié à une différence d'exposition. Il s'agissait d'une étude analytique comparative unicentrique dont les inclusions se sont déroulées de manière prospective au CHU d'Amiens entre janvier 2013 et décembre 2017. A l'inclusion, chaque participant à l'étude se voyait remettre un questionnaire détaillé destiné à évaluer son exposition professionnelle, domestique directe et indirecte à différents perturbateurs endocriniens et ses habitudes de vie dont la consommation tabagique. La distribution des questionnaires et les informations données aux couples étaient réalisées par un attaché de recherche clinique de façon standardisée.

Le travail s'inscrivait au sein d'un Protocole Hospitalier de Recherche Clinique (PHRC) sur le thème « Reproduction et Environnement » au sein du laboratoire de Biologie de la Reproduction du CHU d'Amiens. Il étudiait plus largement l'effet des perturbateurs endocriniens sur la fertilité en recherchant une relation éventuelle entre les dosages des 20 pesticides les plus utilisés en Picardie ainsi que la cotinine et la nicotine dans les milieux suivants (urines, plasma, cheveux, air expiré mais aussi liquide de ponction folliculaire, liquide séminal et détection du CO de l'air expiré) et les paramètres des tentatives d'AMP à la fois féminins, masculins, embryologiques et les issues des tentatives. Cette étude a obtenu l'approbation du Comité Consultatif de Protection des Personnes NORD OUEST II. Chaque participant à l'étude a signé un consentement éclairé autorisant l'analyse anonymisée des données du questionnaire et des prélèvements réalisés sur sa personne (cf Annexe 2).

Les critères d'inclusion pour la population étaient un âge de la femme compris entre 18 et 35 ans afin de limiter le facteur confondant lié aux effets de l'âge sur la fonction ovarienne. Pour l'homme, l'âge à l'inclusion allait de 18 à 45 ans. Seuls les couples ayant une indication de FIV avec ICSI étaient inclus car cette technique permet d'évaluer la maturation ovocytaire le jour de la ponction. Le couple devait maîtriser la langue française et être affilié à la Sécurité sociale.

Parmi les critères d'exclusion, on comptait la présence d'une sérologie infectieuse positive (VIH, hépatite B ou C active) pour l'un des membres du couple. En effet, les couples sérodivergents pouvaient avoir recours à l'AMP non pas pour infertilité mais pour éviter la contamination du partenaire. Les bilans spermatiques révélant une oligoasthénospermie

sévère avec des troubles hormonaux importants chez l'homme ou une numération en spermatozoïdes du sperme inférieure à cinq millions par millilitre ont également été exclus. Ces exclusions permettaient de s'affranchir des conséquences de ces anomalies sur la qualité embryonnaire. Les couples bénéficiant d'un don de gamètes (don d'ovocytes ou don de sperme) et d'un transfert embryonnaire aux stades deux pronucléés ou blastocyste ont également été exclus de l'étude.

Le groupe des couples « infertiles » a été inclus à partir de couples ayant consulté dans le service d'AMP du CHU Amiens Picardie pour infertilité primaire ou secondaire. L'infertilité était avérée par l'absence d'obtention d'une grossesse après douze mois de rapports sexuels réguliers sans usage de contraceptif. Un questionnaire standardisé individuel a été remis à chaque membre du couple au moment de la première ou deuxième tentative d'AMP (FIV ou ICSI). Il était rempli sur place le jour de la ponction ovocytaire. Lors de la tentative, divers prélèvements utiles aux dosages des perturbateurs endocriniens étaient recueillis pour les besoins du PHRC (urines, plasma, cheveux, sperme et liquide folliculaire).

Le groupe des couples « fertiles » a été constitué à partir de couples ayant obtenu naturellement et en moins d'un an une première ou une deuxième grossesse, et dont la femme accouchait à la maternité du CHU Amiens Picardie. Un questionnaire standardisé individuel a été remis à chaque membre du couple lors de leur séjour en maternité. Il était rempli sur place. La réalisation de prélèvements urinaires, sanguins et de cheveux était proposée mais n'était pas obligatoire.

Concernant le questionnaire, il a permis de recueillir des informations d'ordre général (caractéristiques démographiques telles que l'âge, l'Indice de Masse Corporelle (IMC), les antécédents médicaux, les éventuels traitements en cours, etc.), des données concernant la vie reproductive (le délai d'infertilité pour les infertiles, ou de recherche de grossesse pour les fertiles, les antécédents de fausses couches du premier trimestre, etc), ainsi que les données suivantes à propos des habitudes de vie (le lieu d'habitat, la profession exercée, la pratique d'une activité sportive, la consommation d'alcool, l'évaluation du niveau d'exposition aux pesticides professionnels ou domestiques, et l'évaluation de l'intoxication tabagique). La totalité du questionnaire est reportée en Annexe 1.

La quantification du monoxyde de carbone (CO) dans l'air expiré a été réalisée à l'aide d'un CO-tester® permettant une mesure indirecte de la consommation de cigarettes. L'heure de la dernière cigarette des sujets tabagiques était notifiée, le délai d'élimination du CO étant normalement de 4 à 5 heures après la dernière cigarette.



CO (ppm)	Consommation de cigarette	Indicateur
0-6 ppm	Tabagisme nul ou faible	Vert
7-10 ppm	Tabagisme modéré	Jaune
11-20 ppm	Tabagisme important	Rouge
>20 ppm	Empoisonnement	Flash rouge

Figure 3: CO tester et son Tableau d'interprétation

L'ensemble des données des questionnaires et des résultats des tentatives d'AMP a été recueilli et analysé avec l'aide d'un statisticien. Pour l'analyse statistique, nous avons utilisé un modèle de régression logistique univarié et un modèle de régression logistique multivarié avec les variables significatives en univarié. Le seuil de significativité pour les modèles univariés est fixé à 20%, et 5% pour le modèle multivarié.

III. RÉSULTATS

Nous avons inclu 90 couples infertiles et 73 couples fertiles dans notre population entre 2013 et 2017. Sur l'ensemble des couples, nous avons pu exploiter 81 questionnaires du groupe infertile et 70 du groupe fertile.

1. Analyse de la population

Les caractéristiques générales des deux populations concernant en particulier l'âge, l'IMC, le niveau d'étude et la catégorie socio-professionnelle sont présentées dans le Tableau 1.

L'âge moyen sexes confondus était de 31.1 ans chez les infertiles et de 29.2 ans chez les fertiles avec une différence qui n'était pas significative ($p=5.5$). Cependant, on retrouvait une différence significative entre les moyennes d'âge dans les sous-groupes de femmes et d'hommes. En effet, les femmes infertiles étaient plus âgées que les femmes fertiles avec en moyenne 30.0 (écart type 3.4, min 22, max 35) ans contre 27.7 ans (écart type 3.5, min 20, max 35 ans, $p=0.0003$). Pour les hommes, le constat était le même avec une moyenne d'âge des hommes infertiles de 32.3 ans (écart type 4.2, min 23, max 42) pour 30.7 ans chez les fertiles (écart type 4.4, min 21, max 41 ans, $p=0.024$).

L'indice de masse corporelle (IMC) moyen était de 24.7 kg/m² chez les infertiles et de 25.2kg/m² chez les fertiles. Il n'y avait pas de différence entre les deux ($p=0.35$). En analyse de sous-groupes, les femmes fertiles avaient un IMC à 25.4 (écart type 5.6, min 17, max 40) et les infertiles à 23.9 (écart type 4.4, min 16, max 37.1). Cette différence n'était pas non plus significative ($p=0.07$). Les IMC des hommes fertiles et infertiles étaient également comparables (24.9 kg/m² chez les fertiles, écart type 3.4, min 18.5, max 39 ; et 25.4 chez les infertiles, écart type 4, min 18, max 40).

Il y avait davantage d'antécédents d'infertilité familiale chez les femmes du groupe infertile (15% contre 2.9% chez les fertiles). Cette différence était statistiquement significative avec un $p=0.02$ (cf Tableau 1).

Tableau 1: Caractéristiques générales des 2 groupes de patients fertiles et infertiles

	Femmes n (%)		Hommes n (%)		p femmes	p hommes
	Infertiles (n=81)	Fertiles (n=70)	Infertiles (n=81)	Fertiles (n=70)		
Age (moyenne en années)	30.0	27.7	32.3	30.7	0.0003	0.024
IMC (moyenne en kg/m ²)	23.9	25.4	25.4	24.9	0.07	0.39
Infertilité familiale	12 (15.0)	2 (2.9)	6 (7.4)	2 (2.9)	0.02	0.24
Niveau d'étude						
• Enseignement supérieur	47 (58)	49 (70)	43 (53.1)	29(41.4)	0.18	0.21
• Lycée	25 (30.9)	16(22.9)	33 (40.7)	35 (50)	0.36	0.33
• Collège	6 (7.4)	3 (4.3)	5 (6.2)	5 (7.1)	0.51	1
• Primaire	0	1 (1.4)	0	0	-	-
• Jamais scolarisé	0	1 (1.4)	0	1 (1.4)	-	-
Catégorie socio-professionnelle :						
• Professions intermédiaires	4 (4.9)	2 (3)	9(11.4)	3 (4.4)	0.69	0.13
• Cadres	11 (13.6)	16(22.9)	15 (18.4)	22(31.4)	0.20	0.03
• Employés	52 (64.1)	41(58.6)	28 (34.5)	29(41.4)	0.59	0.12
• Ouvriers / artisans	9 (11.1)	5 (7.1)	26(32.0)	15(21.4)	0.26	0.09
• Sans emploi	5 (6.1)	4 (5.7)	3 (3.7)	1 (1.4)	0.77	0.62

(-) : effectifs trop faibles

La majorité des participants à l'étude avait suivi un enseignement supérieur. La répartition des différentes catégories de niveaux d'études était comparable au sein des deux groupes d'étude. Pour la catégorie socio-professionnelle, notre population était majoritairement représentée par des employés, et ce de manière comparable dans les deux groupes. Il y avait davantage de professions intermédiaires parmi les hommes infertiles : $p=0.13$ en univarié et $p=0.03$ en multivarié, IC 95% [1.24 ;26.9]. Il y avait significativement plus de cadres dans la population d'hommes fertiles avec 31.9% contre 19.2% chez les infertiles en analyse univariée ($p=0.03$). Cette différence disparaissait en analyse multivariée ($p=0.25$). Par ailleurs, il a été observé un nombre supérieur d'artisans et d'ouvriers chez les hommes infertiles (32.1 % contre 21.4%) mais cette différence n'était pas significative ($p=0.09$).

L'étude descriptive des causes d'infertilité dans le groupe infertile étaient : 33% d'indications masculines pures, 21% de tubaires, 14% d'endométriose, 14% de dysovulations sur ovaires polykystiques, 4% de baisses de la réserve ovarienne, 6% d'indications mixtes et 8% d'infertilité idiopathique. Pour 48 couples sur 81, il s'agissait d'une infertilité secondaire.

La durée d'exposition à la grossesse était en moyenne de 3.9 ans pour les couples infertiles avec un écart type à 1.9 et des durées s'échelonnant de 1 jusqu'à 11 ans. En comparaison, tous les couples fertiles avaient obtenu une grossesse après moins d'un an d'exposition.

L'analyse des antécédents de fausses-couches retrouve des pourcentages de 11% pour le groupe fertile contre 27% pour le groupe infertile. La plupart des couples avait eu moins de 3 fausses-couches consécutives sauf deux couples du groupe fertile et trois couples du groupe infertile.

Au total, pour les caractéristiques générales de la population, les femmes et les hommes du groupe infertile étaient plus âgés que ceux du groupe fertile, les femmes infertiles avaient plus souvent un antécédent d'infertilité familiale que les femmes fertiles, et les professions intermédiaires étaient plus souvent représentées chez les hommes infertiles. Le reste des caractéristiques générales étaient comparables dans les deux populations de couples infertiles et fertiles.

2. Exposition professionnelle de la population étudiée aux pesticides

Aucune différence d'exposition professionnelle aux pesticides n'a été mise en évidence dans notre groupe d'étude que ce soit en termes de métiers à risque d'exposition ou d'usage de pesticides sur le lieu de travail. Devant les faibles effectifs observés dans nos sous-catégories de type d'exposition professionnelle aux pesticides, nous avons décidé de regrouper ces facteurs afin d'augmenter la puissance statistique de l'analyse. En dépit de ces regroupements, il n'a pas été mis en évidence de différence entre l'exposition des groupes fertile et infertile dans notre étude. Tous les résultats sont présentés dans le Tableau 2.

Parmi les hommes infertiles, on observait une tendance à avoir davantage d'agriculteurs (12.3 % contre 5.7 %) et de métiers à risque de contact professionnel avec les pesticides tels que le maraîchage, la vente de fruits et légumes, le travail en jardinerie ou l'horticulture (16.0% contre 10.0%), mais ces résultats n'étaient pas statistiquement significatifs. En ce qui concerne l'usage déclaré de pesticides, les pourcentages entre les hommes fertiles et infertiles étaient sensiblement égaux à 17.1 et 17.3% respectivement. Nous avons retrouvé un usage déclaré supérieur chez les femmes fertiles par rapport aux femmes infertiles avec 14.3 et 8.6% mais sans significativité. Nous avons voulu comparer l'usage de matériels de protection contre la pollution aux produits phytosanitaires. Il n'y avait pas non plus de différence d'usage de combinaisons, de gants ou de masques entre les deux groupes fertiles et infertiles ni du côté des hommes ni du côté des femmes.

Enfin, pour le risque professionnel, nous avons interrogé notre population sur ses horaires de travail et sur l'exposition à la chaleur. Il y avait plus d'hommes infertiles exposés à la chaleur sur le lieu de travail mais cela n'était pas significatif (9.9% contre 2.9%, $p=0.11$). Concernant les horaires de nuit, ceux-ci ne semblaient également pas être associés à l'infertilité chez l'homme ou chez la femme.

Tableau 2 : Exposition professionnelle de la population étudiée aux pesticides

Exposition professionnelle	Femmes n (%)		Hommes n (%)		p	
	Infertiles n = 81	Fertiles n = 70	Infertiles n = 81	Fertiles n = 70	p femmes	p hommes
Facteurs d'exposition professionnelle	8 (9.9)	11 (15.7)	19 (23.5)	14 (20.0)	0.40	0.75
Métiers à risque d'exposition aux PPS	1 (1.2)	2 (2.9)	13 (16.0)	7 (10.0)	0.60	0.39
Agriculture	1 (1.2)	2 (2.9)	10 (12.3)	4 (5.7)	0.60	0.26
Usage de P.phytoprotecteurs	7 (8.6)	10 (14.3)	14 (17.3)	12 (17.1)	0.40	1
Protection :	6 (7.4)	6 (8.6)	19 (23.5)	11 (15.7)	1	0.32
• Gants	5 (6.2)	3 (4.3)	9 (11.1)	6 (8.6)	-	-
• Combinaison	0	1 (1.4)	5 (6.2)	1 (1.4)	-	-
• Masque	1 (1.2)	2 (2.9)	5 (6.2)	4 (5.7)	-	-
Exposition à la chaleur	3 (3.7)	0	8 (9.9)	2 (2.9)	0.25	0.11
Horaires :						
• Uniquement de jour	70 (90.9)	53 (84.1)	66 (82.5)	47 (69.1)	0.34	0.09
• Jour / nuit	7 (8.6)	10 (14.3)	14 (17.3)	21 (30.0)	0.4	0.1

Au total, en ce qui concerne l'exposition professionnelle aux pesticides, nous n'avons pas identifié de différence entre les sous-populations de femmes et d'hommes infertiles et fertiles.

3. Exposition domestique de la population étudiée aux pesticides

Dans notre questionnaire, nous avons cherché à quantifier le taux d'exposition aux pesticides domestiques éventuels. Pour cette catégorie, nous avons également dû regrouper des facteurs de risque à cause d'effectifs relativement faibles. Ainsi nous avons additionner les facteurs d'exposition tels que « pratique régulière du jardinage », « le fait de jardiner avant l'âge de 15 ans » et « l'usage domestique déclaré de produits phytosanitaires ». Nous obtenions pour résultats de zéro à trois facteurs d'exposition présents et avons comparé chaque sous-catégorie au fait de n'avoir aucun facteur d'exposition. Les résultats sont présentés dans les Tableaux 3 et 4.

Le nombre de facteurs d'exposition des hommes et des femmes infertiles aux pesticides domestiques éventuels était identique à celui des hommes et des femmes fertiles. La plupart des sujets de l'étude avait un seul facteur d'exposition et ce de manière similaire dans les sous-groupes fertile et infertile.

D'autres données concernant les habitudes de vie ont été comparées. Concernant l'habitat, nous avons interrogé l'ensemble de la population sur son lieu d'habitat durant l'enfance puis au cours de l'adolescence et à l'âge adulte.

Il n'a pas été retrouvé de différence significative entre les hommes et les femmes des groupes fertiles et infertiles sur le critère de l'habitat dans l'enfance, dans l'adolescence ou à l'âge adulte pour les couples concernés. La tendance observée était que les sujets du groupe infertile étaient plutôt ruraux dans l'enfance et l'adolescence avec par exemple 32.1% des femmes infertiles contre 25.7% des femmes fertiles habitant à la campagne dans l'enfance ($p=0.16$). A l'âge adulte, c'est le même constat avec une population infertile qui était majoritairement rurale avec 55.6% contre 47.1% des couples fertiles, mais cela n'atteignait pas la significativité ($p=0.30$, Tableau 3).

L'un de nos facteurs d'analyse était la pratique du jardinage pour son usage potentiel de pesticides tels que les herbicides ou les insecticides. Sur le plan individuel, le groupe des femmes

infertiles jardinait davantage avec 37% des femmes qui pratiquaient cette activité contre seulement 30% des femmes fertiles. Cette différence n'était pas significative (p=0.46).

	Femmes n (%)		Hommes n (%)		p	
	Infertiles	Fertiles	Infertiles	Fertiles	p femmes	p hommes
Exposition domestique						
Facteurs toxiques domestiques :						
• Aucun facteur	18 (22.2)	19 (27.1)	18 (22.2)	20 (28.6)	-	-
• Un facteur	34 (42)	34 (48.6)	35 (43.2)	27 (38.6)	0.29	0.55
• Deux facteurs	17 (21)	11 (15.7)	19 (23.5)	13 (18.5)	0.62	0.38
• Trois facteurs	12 (14.8)	6 (8.6)	9 (11.1)	10 (14.3)	0.29	0.57
Habitat Enfance :						
• Ville	29 (36.0)	34 (48.6)	34 (42.0)	30 (43.5)	0.11	0.85
• Campagne	52 (64.0)	36 (51.4)	47 (58.0)	39 (55.7)	0.16	0.90
Habitat Adolescence :						
• Ville	34 (42.0)	34 (48.6)	27 (33.4)	32 (42.8)	0.52	0.17
• Campagne	47 (58.0)	36 (45.8)	54 (66.6)	37 (52.8)	0.52	0.12
Habitat Adulte :						
• Ville	36 (44.4)	37 (52.9)	36 (44.4)	37 (52.9)	0.30	0.30
Jardinage :						
	30 (37.0)	21 (30)	31 (38.3)	26 (37.1)	0.46	1

• -avant 15 ans	14 (17.3)	10 (14.3)	12 (14.8)	15 (21.4)	0.75	0.42
-----------------	-----------	-----------	-----------	-----------	------	------

Tableau 3 : Exposition domestique de la population étudiée aux pesticides

Chez les hommes, ce sont respectivement 38.3% et 37.1% chez les infertiles et les fertiles qui pratiquent le jardinage ($p=1$). Nous avons voulu regarder si le fait d'avoir pratiqué cette activité avant l'âge de 15 ans, lors de la période de maturation pubertaire pouvait avoir une incidence. La pratique précoce du jardinage n'était pas significativement différente entre les hommes et les femmes infertiles et fertiles avec des pourcentages de 14.8 contre 21.4 chez les hommes ($p=0.42$), et 17.3 contre 14.3% chez les femmes ($p=0.75$, Tableau 3).

Nous avons également voulu voir si l'entourage direct de l'habitat pouvait interférer avec la fertilité. Nous avons d'abord regardé si la proximité de l'habitat avec des champs cultivés était différente entre les sujets infertiles et fertiles. Aucune différence n'était retrouvée entre les groupes. Les couples infertiles avaient plus souvent un champ cultivé à proximité de leur habitat avec 72.8% des couples infertiles exposés contre 61.4% des couples fertiles mais sans significativité statistique ($p=0.16$). Si on détaille les types de cultures entourant l'habitat du couple, on voit que les champs de blé, de maïs et de colza sont majoritairement représentés autour des maisons des couples infertiles avec des taux à 45.7, 39.5 et 9.9 % contre 34.3, 24.3 et 4.3% chez les couples fertiles. Seules les cultures de maïs étaient significativement plus fréquentes autour de l'habitat des couples infertiles ($p=0.04$, Tableau 4). La proximité d'un aéroport ou d'une autoroute a été recherchée dans l'entourage de l'habitat de notre population. En effet, ces infrastructures sont le lieu d'usage de pesticides en abondance afin d'écartier la présence et la gêne liée à certains nuisibles. L'analyse montrait qu'il y avait plus fréquemment une autoroute ou un aéroport proche de l'habitat des couples infertiles par rapport aux couples fertiles avec 28.4 % contre 21.4 %. Cependant cette différence n'atteignait pas la significativité ($p=0.43$, Tableau 4).

Cette différence n'était pas non plus retrouvée lors de l'analyse de la proximité de l'habitat des couples avec une zone industrielle.

Concernant le logement, 87.7% des couples infertiles et 78.6% des couples fertiles vivaient en maisons individuelles, 12.3% des couples infertiles et 21.4% des couples fertiles vivaient en appartements. Il n'y avait pas de différence significative ($p=0.50$ et 0.30 , Tableau 4).

Tableau 4 : Exposition des couples aux pesticides domestiques

Exposition domestique aux pesticides	Couples infertiles N = 81	Couples fertiles N = 70	p
Proximité du domicile (<1km) :			
• Champs cultivés :	59 (72.8)	43 (61.4)	0.19
Blé	37 (45.7)	24 (34.3)	0.06
Maïs	32 (39.5)	17(24.3)	0.04
Colza	8 (9.9)	3 (4.3)	0.10
P. de terre	7 (8.6)	12 (17.1)	0.19
• Autoroutes/aéroport	23 (28.4)	15 (21.4)	0.43
• Industries polluantes	17 (21.0)	15 (21.4)	1
Logement :			
• Maison individuelle	71 (87.7)	55 (78.6)	0.50
• Appartement	10 (12.3)	15 (21.4)	0.30
Chauffage :			
• Gaz	26 (32.1)	25 (35.7)	0.79
• Electricité	37 (45.7)	35 (50.0)	0.76
• Fioul	14 (17.3)	9 (12.9)	0.61

Nous avons également recueilli le mode de chauffage des couples. Parmi les infertiles, 32.1% utilisaient le gaz, 45.7% utilisaient l'électricité et 17.3% utilisaient le fioul. Parmi les

fertiles ces pourcentages étaient de 35.7%, 50% et 12.9%. Il n'était pas mis en évidence de différence entre les modes de chauffage des couples fertiles et infertiles (Tableau 4).

Au total, dans cette étude, nous avons uniquement pu identifier le fait de loger à proximité direct d'un champ de maïs comme facteur de risque d'infertilité. Les autres sources d'exposition domestique aux pesticides n'ont pas montré de différence en termes de fertilité sur notre population.

4. Exposition de la population étudiée au tabagisme

L'exposition des patients au tabac a été évaluée par différentes questions (cf Annexe 1). L'ensemble des résultats est présenté dans le Tableau 5.

Il n'y avait pas de différence entre les groupes fertiles et infertiles que ce soit entre les femmes fertiles et infertiles ou entre les hommes fertiles et infertiles en ce qui concernait l'antécédent de tabagisme. 60% des femmes et 67% des hommes avaient déjà été fumeurs au cours de leur vie.

En revanche, quand on se limitait à l'analyse des fumeurs actuels, on retrouvait une différence significative entre les femmes. Il y avait davantage de femmes infertiles qui fumaient (35,8%) par rapport aux femmes fertiles (17,1%), et ce, de manière significative, $p=0.01$ (OR 2.7 [1.25-5.82] en analyse univariée). La différence existait toujours en analyse multivariée avec un $p=0.003$, OR 12.4 [3.2-48]. Aucune différence n'était mise en évidence entre les hommes fertiles et infertiles avec respectivement 40 % et 45.7 % de fumeurs actuels, $p=0.6$.

Parmi les non-fumeurs actuels avec antécédent de tabagisme, si on regardait le délai depuis l'arrêt du tabac, on s'apercevait que la population fertile avait stoppé sa consommation tabagique depuis plus longtemps que la population infertile même si ce résultat n'atteignait pas la significativité (1,6 ans pour les femmes non fertiles et 2.3 ans pour les femmes fertiles avec un $p=0.16$; 1.8 ans pour les hommes infertiles contre 2.6 ans pour les hommes fertiles, $p=0.3$).

Nous avons interrogé notre population de fumeurs sur le nombre de cigarettes fumées par jour. La moyenne du nombre de cigarettes fumées entre les femmes fertiles et infertiles était

respectivement de 5.8 et de 2.4 cigarettes par jour avec une différence significative mise en

	Femmes	Hommes	p
--	---------------	---------------	----------

évidence (p=0.002, OR 0.91 [0.86 ;0.97]) en analyse univariée.

Tableau 5 : Exposition de la population étudiée au tabagisme

Exposition au tabac	Infertiles	Fertiles	Infertiles	Fertiles	p	p
					Femmes	Hommes
Antécédent de Tabagisme	48 (59.3)	43 (61.4)	54 (66.7)	48 (68.6)	0.79	0.80
Tabagisme actuel	29 (35.8)	12 (17.1)	37 (45.7)	29 (41.4)	0.01 OR 2.7 [1.25;5.82]	0.60
Nombre d'années de tabagisme	4.0	4.8	5.8	5.2	0.40	0.64
Nombre de cigarettes par jour	2.4	5.8	5.1	6.6	0.002 OR 0.91 [0.86 ;0.97]	0.22
CO expiré (en ppm)	0.4	0.6	1.8	2.9	0.57	0.19
Délai depuis l'arrêt du tabac (années)	1.6	2.3	1.8	2.6	0.3	0.3
Tabagisme passif :						
• Enfance	25 (30.9)	7 (10)	31 (38.3)	9 (12.9)	0.003	0.0008
• Adolescence	26 (32.1)	10 (14.3)	30 (37.0)	11 (15.7)	0.02	0.006
• Age adulte	27 (33.3)	8 (11.4)	31 (38.3)	13 (18.6)	0.003	0.03

L'analyse multivariée retrouve cette différence avec un $p=0.0009$, OR 0.82 [0.72 ;0.92]. Cette différence n'était pas retrouvée entre les hommes fertiles et infertiles qui fumaient respectivement 6.6 et 5.1 cigarettes par jour ($p=0.23$).

Nous avons étudié le nombre total d'années de tabagisme. On ne met pas en évidence de différence entre les hommes et les femmes des deux groupes (cf Tableau 5).

Lorsqu'on regardait la moyenne de CO expiré en particules par minutes (ppm), le taux de monoxyde de carbone expiré était plus faible chez les femmes et les hommes du groupe infertile mais de manière non significative (0.4 contre 0.6 ppm chez les femmes infertiles et fertiles et 1.8 contre 2.9 ppm chez les hommes infertiles et fertiles respectivement).

Nous nous sommes également intéressés au tabagisme passif à différentes périodes de la vie des sujets de l'étude. A toutes les périodes de la vie, la population du groupe infertile a été plus exposée au tabagisme passif que la population fertile, et ce de manière significative. Ceci est d'autant plus vrai dans l'enfance où 30.9 % des femmes infertiles ont été exposées contre seulement 10% des femmes fertiles, $p=0.003$. Même constat pour les hommes avec un pourcentage observé de 38.3 contre 12.9% dans les populations infertiles et fertiles respectivement ($p=0.009$). A l'adolescence et pendant la vie adulte, des différences significatives sont également retrouvées dans tous les sous-groupes avec une prévalence plus élevée de tabagisme passif dans le groupe des infertiles (cf Tableau 5).

Au total dans cette étude, les facteurs de risque d'infertilité liés à l'exposition au tabac étaient le tabagisme actuel et le tabagisme passif dans l'enfance l'adolescence et à l'âge adulte. Un nombre plus élevé de cigarettes fumées par jour était associé au groupe de patients fertiles.

IV. DISCUSSION

Notre étude visait à explorer les facteurs de risque d'infertilité masculine, féminine ou du couple liés à l'exposition aux produits phytosanitaires, qu'elle soit d'origine professionnelle ou domestique, et au tabagisme. Nos travaux permettent de soutenir l'hypothèse que certains comportements personnels et professionnels peuvent être associés à une infertilité de l'homme, de la femme et du couple.

Nous n'avons pas de différence d'âge entre nos groupes fertile et infertile sexes confondus. Cependant, une différence significative sortait en comparant les âges par sexe aussi bien chez les hommes que chez les femmes. En effet, dans les deux sous-groupes, l'âge moyen des sujets infertiles était supérieur. Ces données sont connues dans la littérature. Chez la femme, l'âge est associé à une baisse de fertilité bien identifiée. Le taux de fécondité par mois en fonction de l'âge chute rapidement après 31 ans en comparaison de celui des femmes entre 20 et 30 ans (34). En France, l'âge moyen de l'obtention du premier enfant est de 28.5 ans et il est de 27 ans en Picardie (35). La définition de l'infertilité comprend un délai de douze mois de recherche de grossesse avant de pouvoir utiliser ce terme. Il s'y ajoute le délai de prise en charge entre la première consultation et la première tentative de FIV qui peut expliquer que les femmes infertiles soient plus âgées que les femmes fertiles. En ce qui concerne les hommes, la différence d'âge observée dans notre étude peut également être interprétée à la lumière des données de la littérature. Il a été objectivé une diminution de la quantité et de la qualité du sperme en lien avec l'âge des hommes. Cependant, l'effet de l'âge paternel sur la conception n'est pas univoque et serait dépendant de l'âge maternel. Dans une étude d'Eisenberg étudiant l'effet de l'âge paternel sur le délai de conception, si la femme avait moins de 35 ans, l'âge du père n'influçait pas le délai de conception, en revanche, pour un âge maternel supérieur à 35 ans, le délai de conception augmentait chez les pères de plus de 40 ans par rapport aux moins de 40 ans (36). Les études ont aussi montré que l'âge du père jouait un rôle dans l'augmentation du taux de fausses-couches, de morts fœtales in utero et de maladies autosomiques dominantes probablement par altérations génétiques et génomiques de la lignée germinale masculine (37,38). L'âge supérieur des femmes et des hommes du groupe infertile par rapport au groupe fertile constituait un facteur de confusion pour notre étude sur l'impact des pesticides et du tabac.

Nous avons aussi retrouvé que le fait d'avoir un antécédent familial d'infertilité pour les femmes était un facteur de risque d'infertilité pour elle-même. Ces résultats sont à prendre avec précaution vu l'intervalle de confiance très large aussi bien en univarié qu'en multivarié témoignant du manque de puissance lié aux petits effectifs de réponses positives à cette question.

En ce qui concerne la catégorie socio-professionnelle, des différences étaient également observées. Il y avait moins de cadres parmi les hommes infertiles. En 2006, une étude française rapportait que ne pas avoir eu d'enfant était plus fréquent pour les femmes les plus diplômées et les hommes les moins diplômés. Il y avait également davantage d'ouvriers et d'artisans parmi les hommes infertiles comparé aux hommes fertiles mais cela n'était pas significatif.

1. Exposition professionnelle aux produits phytosanitaires et fertilité

Contrairement aux idées reçues, la pollution n'est plus l'apanage des villes. L'agriculture moderne est responsable d'une pollution environnementale majeure et durable dans le temps par bioaccumulation des pesticides. Les effets toxiques des produits chimiques utilisés en milieu professionnel sur la santé ont été étudiés. L'exposition professionnelle est une source d'exposition importante car généralement intense et prolongée. L'exposition des salariés est réglementée par l'Assurance Maladie via les médecins du travail qui prévoient des dispositifs spécifiques pour les agents chimiques dangereux et les agents cancérigènes mutagènes ou toxiques pour la reproduction (CMR). Cependant, les recommandations de protection sont trop souvent mal appliquées tel que le relevait l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) début 2018, se limitant à des équipements de protection individuel, les formations oubliant tous les travailleurs non permanents et les stagiaires du milieu agricole. Actuellement, un nombre croissant d'études s'intéresse aux conséquences du métier d'agriculteur et de l'usage professionnel de produits phytosanitaires sur la santé et la fertilité. On a déjà pu montrer une augmentation du risque de cancers, tels que des lymphomes non hodgkiniens, tumeurs cérébrales, cancers de la prostate, cancer de l'ovaire, cancer du poumon et mélanomes, pour des niveaux élevés et pour de longues périodes d'exposition professionnelle aux pesticides (39). Aux Etats-Unis, une étude de cohorte appelée Agricultural Health Study (AHS) a été conçue pour analyser l'état de santé de 89 655 sujets dont 52 394 exploitants agricoles applicateurs de pesticides et leurs épouses entre 1993 et

2010 (25,40). Elle a permis de porter des conclusions sur l'augmentation d'incidence de cancers et autres troubles de santé tels que des maladies neurotoxiques, du système immunitaire, néphrologiques, respiratoires mais aussi de la croissance et du développement de l'enfant en lien avec l'exposition à des pesticides.

Concernant la fertilité, les études se multiplient. On a comparé les éléments de vie reproductive de 957 hommes et 101 femmes exerçant le métier d'agriculteur à ceux de 1 408 témoins et montré que le risque de fausses-couches spontanées était significativement plus important chez les femmes agricultrices avec un Odds Ratio à 4,0 IC 95% [1.14–14.01] (41). Devant ces conclusions alertantes, diverses études ont cherché à déterminer quel pouvait être l'impact de cet usage professionnel des pesticides sur la fertilité humaine.

1.1 Impact de l'exposition professionnelle aux PPS sur la fertilité masculine

Dans notre étude, aucune différence entre les facteurs d'exposition professionnelle aux pesticides n'a été retrouvée entre les hommes infertiles et fertiles. Cela contraste avec les données de la littérature qui retrouvent fréquemment un lien, surtout pour des expositions intenses ou prolongées comme lors de la fabrication de pesticides. Au vu des faibles effectifs d'agriculteurs ou de sujets travaillant dans des secteurs exposés aux PPS de l'étude, nous pouvons penser que les effectifs ont été trop faibles pour mettre en évidence une différence significative. Il en est de même pour l'exposition à la chaleur.

Un des premiers cas de prise de conscience de l'effet de l'exposition à des pesticides sur la fertilité provient de l'usage à grande échelle du dibromochloropropane ou DBCP, un nématicide qui était utilisé sur des cultures tropicales. Une « épidémie d'infertilité » chez les ouvriers des usines de production du DBCP et chez les cultivateurs l'utilisant dans les exploitations agricoles a conduit à des explorations spermatiques et sanguines qui ont permis de détecter des cas multiples d'oligozoospermie voire d'azoospermie associés à une élévation des taux plasmatiques des gonadotrophines. Les études sur le rat sont venues confirmer l'effet de ce pesticide au niveau des spermatogonies et également son irréversibilité (42,43). En 2015, une étude in vitro sur un modèle humain constitué à partir de cellules souches pluripotentes orientées sur la spermatogénèse a montré que l'exposition au DBCP induisait une apoptose cellulaire, un

taux de spermatides haploïdes diminué et la formation de ROS (Reactive Oxygen Species) responsables d'un stress oxydatif délétère à la cellule germinale (44). L'effet endocrinien est encore mal compris. Ce pesticide a été interdit d'usage à partir de 1979 aux Etats-Unis.

Un autre insecticide nommé carbaryl a été incriminé. Une étude observationnelle avait détecté une élévation significative des anomalies morphologiques des spermatozoïdes chez les employés d'une plantation utilisant le carbaryl. Les travailleurs embauchés depuis plus d'un an avaient 50.0% de tératozoospermie en comparaison de ceux recrutés depuis moins d'une année qui étaient à 41.9% d'anomalies de la morphologie spermatique ($p < 0.05$). Il n'y avait pas de différence concernant la numération de spermatozoïdes. L'analyse de sujets ayant eu une exposition passée ancienne au carbaryl semblait montrer l'irréversibilité de ses effets sur la morphologie spermatique (45).

Lerda a comparé les paramètres spermatiques de deux groupes d'hommes, l'un exposé à l'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique, l'autre témoin non exposé. Le groupe exposé montrait un pourcentage supérieur d'asthénospermie, de nécrospermie et de tératospermie. Il n'y avait pas de différence de volume spermatique (46). Dans son étude, Lifeng montre une baisse de la numération totale et du pourcentage de spermatozoïdes mobiles progressifs chez les employés exposés au fenvalérate par rapport aux témoins administratifs, par contre il ne met pas en évidence de différence de morphologie ou de concentration en spermatozoïdes par millilitre, de volume et de pH séminal (47). Padungtod a évalué le sperme de travailleurs utilisant l'éthylparathion, un pesticide organophosphoré. Il a retrouvé une réduction significative de la concentration et de la mobilité spermatique mais pas du pourcentage de spermatozoïdes de morphologie normale (48). Il a également montré un risque significativement supérieur d'aneuploïdies (disomie du chromosome 18 et des gonosomes) parmi les exposés (49). Xia a obtenu une conclusion similaire dans son étude sur la génotoxicité du carbaryl. Il a montré que le pourcentage de disomies sur le chromosome sexuel et sur le chromosome 18 était significativement supérieur dans le groupe exposé (50). Enfin, une autre étude a classé des hommes exposés aux pesticides organophosphorés en 3 groupes selon le dosage urinaire obtenu et contrôlé leurs paramètres spermatiques. Il y avait une différence significative sur le volume et la numération totale spermatique entre le groupe le moins exposé et le plus exposé mais pas sur la concentration, la mobilité, la viabilité ou le taux de formes vivantes (51). Bian a également

cherché à évaluer l'effet des pesticides sur l'ADN spermatique entre deux groupes d'hommes, l'un exposé au fenvalérate et l'autre non exposé. Il a pu montrer un taux d'altération de l'ADN spermatique significativement supérieur chez les hommes exposés (52), comme l'avait conclu Xia pour l'exposition au carbaryl (50).

Au total, il semble que l'effet de chaque pesticide sur les paramètres spermatiques soit assez spécifique. Ces différentes études avaient des effectifs réduits de 30 à 60 hommes par groupe environ et des conclusions générales ne peuvent être retenues sur ce type d'échantillon.

En ce qui concerne le délai naturel de conception (DNC), Sallmen (53) a évalué ce paramètre chez 578 couples dont l'homme était agriculteur, rapporté au taux d'exposition aux pesticides (association pyréthrinoïdes carbamates avec des composés organophosphorés). Il a retrouvé une différence avec un ratio de fécondabilité abaissé chez les hommes les plus exposés. Il a aussi montré que l'usage de moyens de protection adaptés rendait comparables les ratios de fécondabilité des travailleurs exposés et des non exposés.

Sur l'ensemble des études évaluant l'impact de l'exposition professionnelle aux pesticides perturbateurs endocriniens sur la fertilité masculine, les conclusions restent controversées. Il semblerait que les pesticides altèrent la spermatogénèse avec des effets variables selon le stade de maturation du gamète au moment de l'exposition. Cela pourrait être responsable d'une diminution de la numération en spermatozoïdes par apoptose induite, d'une augmentation des formes immatures, d'anomalies de morphologie plus fréquentes, d'une diminution de la mobilité et donc au total, d'une baisse de viabilité générale pouvant être à l'origine d'une baisse de la fertilité. Ces constatations sont difficiles à certifier du fait de fluctuations connues de la qualité spermatique chez l'homme notamment saisonnières. Une partie des conséquences de l'exposition professionnelle aux PE semble réversible après arrêt de l'exposition et reprise de la spermatogénèse.

1.2 Impact de l'exposition professionnelle aux PPS sur la fertilité féminine

Dans notre étude, il n'y avait pas d'effet retrouvé de l'exposition professionnelle aux PPS sur le statut fertile ou infertile de la femme. On déplore un manque de données important dans les réponses relatives à l'usage de PPS, peut-être par manque d'information de la population

interrogée sur ce que sont les PPS. Pour l'étude des rythmes de travail (exclusivement de jour ou mixte jour/nuit), cela ne semblait pas impacter la fertilité. Ces données concordent avec une étude récente d'Omrane chez des infirmières dont certaines alternaient des horaires de jour et de nuit.

La littérature dispose de peu d'études sur le sujet de l'exposition professionnelle aux PPS puisque la plupart des métiers à usage professionnel de pesticides sont exercés par des hommes et aussi parce l'étude de la fertilité féminine sous l'angle biologique est plus difficile à évaluer que la fertilité masculine.

Toutefois, en 1999, une étude de fécondabilité des couples d'agriculteurs de l'Ontario a montré que l'exposition féminine à certaines matières actives (glyphosate) ou familles chimiques (organophosphorés) entraînait une augmentation non significative du DNC (54). En Californie, une étude réalisée chez 289 agricultrices n'a pas montré d'association entre le DNC et la concentration maternelle circulante en DDE ou en DDT (55). Cependant, le fait d'utiliser des pesticides professionnellement apparaissait significativement associé à une plus faible fécondabilité (OR=0.8, IC 95% : 0.6, 1.0). L'étude de la cohorte de l'Agricultural Health Study retrouvait un allongement des cycles chez les femmes exposées aux pesticides sans que la distinction soit faite entre l'exposition professionnelle ou domestique (56). En Colombie, la mesure du DNC chez des femmes travaillant dans le secteur de la floriculture avec usage à la fois d'herbicides, de fongicides, d'insecticides et d'acaricides a rapporté une diminution significative de la fécondabilité (57). Au Pays-Bas, l'augmentation du DNC chez des femmes primogrades travaillant dans la floriculture était présent mais non significatif (41). Au Danemark, une étude similaire retrouvait une augmentation du DNC à la limite de la significativité (58).

En ce qui concerne l'âge de la ménopause, plusieurs études concourent à montrer l'avance de l'âge de la sénescence reproductive chez les femmes exposées aux pesticides. Une étude transversale de Grindler a montré que les femmes présentant des taux élevés de β -hexachlorocyclohexane et de mirex avaient un âge moyen plus précoce à la ménopause que les femmes présentant de faibles taux (59). Au contraire, l'AHS a trouvé chez les femmes exposées un âge de ménopause reculé de 5 mois par rapport aux autres femmes (0.77, IC 95% : 0.65, 0.92).

Les résultats des différentes études ne convergent pas clairement vers une conclusion commune probablement du fait de nombreux facteurs de confusion non pris en compte dans les études. Des travaux qui mettraient en relation des dosages de métabolites urinaires ou

plasmatiques de pesticides avec des paramètres objectifs de fertilité féminine tels que la réserve ovarienne, la qualité ovocytaire, endométriale ou embryonnaire seraient intéressants pour étayer l'hypothèse d'un impact direct des PPS sur la fertilité féminine.

1.3 Impact de l'exposition professionnelle aux PPS sur l'AMP et la grossesse

Plusieurs études ont cherché à savoir si l'exposition aux pesticides pouvait allonger le délai de conception sans présumer de l'origine masculine ou féminine du défaut. Certaines études ont analysé des couples d'agriculteurs. De Cock a étudié l'impact sur le délai de conception de l'exposition professionnelle aux pesticides chez des maraîchers aux Pays-Bas en constituant deux groupes de « basse exposition » et de « haute exposition ». Cette étude a montré d'une part que le ratio de fécondabilité diminuait quand l'intensité de l'exposition aux pesticides augmentait. En effet, les techniques associées à une exposition plus intense, comme par exemple le fait qu'une seule personne réalise tout l'épandage, était associé à un ratio de fécondabilité abaissé à 0.46, IC 95% (0.28-0.77). D'autre part, si la recherche de grossesse débutait dans la période des épandages c'est-à-dire entre mars et novembre, le ratio était encore plus bas à 0.42, IC 95% (0.20-0.92) alors qu'il était à 0.82, IC 95% (0.33-2.02) en dehors de la période d'épandage. Quand on interrogeait les couples, on notait que 28% des couples appartenant au groupe à « haute exposition » avaient dû consulter en AMP contre seulement 8% des groupes à « basse exposition » (16). Dans cette étude, la part des conséquences sur la fertilité ne peut être faite entre le côté masculin et féminin. Dans les couples d'agriculteurs, fréquemment, l'homme s'occupe du mélange, du chargement et de l'épandage des pesticides alors que la femme s'occupe de l'élagage, de l'éclaircissement et de la récolte des fruits. Les deux subissent une exposition aux pesticides. L'étude de Sallmen (53) montrait que l'exposition professionnelle de l'homme allongeait le délai de conception, mais ne détaillait pas l'exposition domestique des épouses d'agriculteurs qui pouvait aussi avoir une incidence sur leur fertilité propre. A l'inverse, l'étude de Bretveld comparait le DNC de couples dont la femme ou l'homme étaient agriculteurs à des couples témoins et ne retrouvait pas d'effet de l'exposition professionnelle aux pesticides sur le délai de conception après ajustement sur l'âge maternel, le tabagisme paternel et l'usage de vitamines de grossesse. Cependant, le taux de fausses-couches spontanées avant 20 semaines d'aménorrhée en cas d'exposition maternelle était multiplié par 4 (41).

Outre l'effet de l'exposition sur le délai de conception, il a aussi été étudié les conséquences des pesticides à usage professionnel sur la grossesse et le fœtus. Certaines études ont montré une incidence de l'exposition professionnelle aux pesticides sur certaines malformations génitales notamment sur l'incidence de la cryptorchidie. L'étude de Weidner a retrouvé cette anomalie plus fréquemment chez les fils des femmes qui travaillaient dans l'agriculture mais pas chez les enfants d'hommes agriculteurs. L'incidence de l'hypospadias n'était pas différente chez les fils des sujets exposés aux pesticides professionnels (60). A l'inverse, Nassar retrouvait un risque d'hypospadias multiplié par deux en cas d'exposition professionnelle paternelle à des composés organochlorés (61).

2. Exposition domestique aux produits phytosanitaires et fertilité

L'exposition domestique aux perturbateurs endocriniens est désormais bien connue. De nombreuses substances de notre entourage quotidien agissent sur nos hormones et sur notre fertilité. Une des plus médiatisées a été le bisphénol A retrouvé dans les emballages alimentaires plastiques, les canettes et les tickets de caisse. Il a été montré un lien entre le bisphénol A et l'infertilité devant des taux plasmatiques revenus supérieurs dans un groupe de femmes infertiles par rapport à un groupe de femmes fertiles. Chez les femmes infertiles, on retrouvait aussi une élévation de l'expression des récepteurs nucléaires aux œstrogènes, aux androgènes et aux prégnanes par rapport aux femmes fertiles, ce qui attestait du mécanisme endocrinien de la toxicité de cette substance sur la reproduction. Rouiller-Fabre a également pu montrer *in vitro* l'effet de l'exposition *in utero* de deux types de PE : le bisphénol A et les phtalates, sur le développement du testicule fœtal en utilisant des cultures de tissus testiculaires humains. Son étude a confirmé l'apoptose des cellules germinales du testicule en développement liée aux métabolites du phtalate et la baisse de testostéronémie pour de faibles doses de Bisphénol A déjà constatées chez la souris (62).

Dans notre étude, il a été retrouvé une différence entre les fertiles et infertiles par rapport au lieu d'habitation. En effet, les sujets infertiles habitaient plus fréquemment à proximité directe d'un champ cultivé de maïs. Nous savons que la culture du maïs est parmi celles les plus consommatrices de pesticides. Il semble donc que cette proximité puisse être source de contamination de l'habitat et exercer une action sur le système endocrinien. L'impact du lieu

d'habitation comme facteur d'exposition aux pesticides est étudié dans la littérature et semble pouvoir expliquer des troubles de fertilité (55, 63). Il n'a pas été mis en évidence de différence sur la proximité de l'habitat d'un aéroport, d'une autoroute ou d'une zone industrielle.

Dans ce travail, aucun des facteurs individuels d'exposition aux PPS domestiques n'a montré d'association avec le statut de fertilité que ce soit chez les hommes ou chez les femmes. L'impact de l'usage domestique de produits phytosanitaires pour le jardin n'a pas montré de lien avec l'infertilité, ni le fait de pratiquer le jardinage avant l'âge de 15 ans. Cette donnée est intéressante puisque les particuliers français sont également de grands consommateurs de PPS avec l'achat de 2 000 tonnes de pesticides pour les pelouses et potagers en 2015, soit environ 2% de la consommation française. Il n'a pas non plus été mis en évidence de différence sur le fait d'habiter en zone urbaine ou rurale durant l'enfance ou l'adolescence.

2.1 Impact de l'exposition domestique aux PPS sur la fertilité masculine

Les études concernant l'effet des pesticides aux propriétés de perturbateurs endocriniens sur la fertilité masculine ne manquent pas. La distinction n'est pas toujours faite entre une exposition dans un cadre professionnel ou domestique. Malgré la multiplicité de ces études, des conclusions certaines sont difficiles à obtenir.

En 2002, Dallinga constitue un groupe de cas constitué d'hommes aux paramètres spermatiques altérés et un groupe de témoins. Il réussit à montrer que les taux de PCBs sont significativement plus élevés chez les cas que chez les témoins. Il est un des premiers à observer une corrélation négative entre une exposition à un polluant environnemental à effet perturbateur endocrinien et la qualité spermatique humaine (64).

Les études chez l'animal permettent d'observer l'effet testiculaire et hormonal de l'administration directe de PPS à des doses contrôlées. L'administration de glyphosate chez 32 rats adultes à doses croissantes montre une altération significative de toutes les hormones reproductives (testostérone, LH, FSH et prolactine), et des marqueurs de stress oxydatif. Le glyphosate entraîne également une diminution significative de la numération et de la mobilité spermatique ainsi qu'une tératozoospermie chez les rats les plus exposés. L'étude histologique du

tissu testiculaire permettait de constater des lésions dégénératives sévères de l'architecture testiculaire et tout cela était constaté dès la plus petite dose administrée (65).

Après diverses observations in vitro et chez l'animal, l'étude de Meeker et al. a cherché à confirmer l'effet de deux pesticides, le carbaryl et le chlorpyrifos sur la fertilité masculine humaine à faibles doses d'exposition. Il a su démontrer une corrélation entre les dosages urinaires des métabolites de ces deux substances et les paramètres spermatiques de 272 hommes recrutés dans un centre d'infertilité qui n'avaient aucune histoire d'exposition professionnelle. Il y avait une différence significative avec une baisse de la numération et de la motilité des spermatozoïdes pour les deux substances étudiées mais pas de tératozoospermie (66).

Une autre étude a voulu montrer que le lieu d'habitation pouvait avoir un impact sur les paramètres spermatiques. Il s'agissait d'une étude cas-témoins. La population était sélectionnée dans les états du Missouri, une région très agricole et dans le Minnesota, une région plus urbaine. Les « cas » étaient les hommes dont les paramètres spermatiques étaient bas et les « témoins », ceux dont les paramètres spermatiques étaient normaux (numération, mobilité, morphologie). On a dosé les métabolites urinaires de pesticides chez ces hommes et observé si une différence était détectée entre les cas et les témoins. Au total, chez les hommes du Missouri, il y avait une association significative entre les dosages de métabolites urinaires de pesticides hauts et les paramètres spermatiques altérés, association qui n'était pas retrouvée chez les hommes du Minnesota (63). Ces résultats suggéraient que l'exposition aux pesticides de la région agricole était une des causes possibles des altérations spermatiques observées.

Récemment, les recherches s'intéressent de plus en plus aux phénomènes liés à l'épigénétique. Ainsi, certains travaux ont pu montrer l'action de certains pesticides tel que le Chlordécone ingéré dans l'alimentation, sur la production spermatique de la descendance des sujets exposés (67). En effet, les perturbateurs endocriniens seraient capables d'agir sur les gènes en modifiant leur expression sans toucher directement l'ADN. Ces mécanismes épigénétiques pourraient agir au niveau des cellules germinales du sujet exposé et être transmises à la descendance alors responsables d'effets transgénérationnels. D'après des études chez le rongeur, les effets délétères spermatiques peuvent se transmettre jusqu'à la troisième génération de rats (18,20).

2.2 Impact de l'exposition domestique aux PPS sur la fertilité féminine

La littérature s'est intéressée à l'exposition domestique féminine aux PPS notamment des épouses d'agriculteurs. Leur environnement domestique est souvent contaminé de par la proximité fréquente de l'habitat avec les champs cultivés (les poussières domestiques peuvent être chargées de PPS) et la contamination du domicile par l'agriculteur lui-même (peau, cheveux, vêtements, chaussures). Dans une revue, Deziel a cherché à caractériser l'exposition non professionnelle des femmes aux pesticides, à la fois dans les cas où le mari était agriculteur, selon ses habitudes lorsqu'il revenait au domicile après sa journée de travail, mais aussi lorsque les seuls facteurs d'exposition étaient une proximité de zones de cultures, l'ingestion d'eau ou d'aliments en provenance de ces zones ou l'usage domestique de produits phytosanitaires. Il conclut que cette exposition, minime par rapport à l'exposition professionnelle, est difficile à caractériser du fait de la multiplicité des substances étudiées et des expositions, des faibles taux de détection et de la variabilité limitée des biomarqueurs de pesticides utilisés (68).

Stoker a montré que le carbamate à des doses de 25 et 50 mg/kg altérait la fréquence des pulses de LH, entraînant un retard de l'ovulation chez le rat (69). L'exposition aux pesticides affecte également la capacité de l'ovaire à produire les stéroïdes sexuelles aussi bien chez la femme que dans les modèles animaux. Par exemple, l'exposition au pesticide organochloré nommé heptachlore était associée à une baisse plus lente du rapport de l'oestradiol sur les métabolites de la progestérone après l'ovulation chez la femme (70). Un autre pesticide organochloré, le métoxychlore, a montré une activité anti-œstrogène dans l'ovaire inhibant la croissance folliculaire et induisant une atrophie des follicules antraux par une voie de stress oxydatif se répercutant sur la production d'AMH.

Dans le cadre de l'agricultural Health Study, de nombreuses femmes étudiées étaient épouses d'agriculteurs mais l'étude n'a pas fait de sous-groupes avec les femmes qui étaient elles-mêmes agricultrices. Ces femmes, au contact de pesticides perturbateurs endocriniens dont l'atrazine, le lindane, le manèbe, etc. présentaient un risque augmenté d'avoir des cycles menstruels longs ou une absence de cycles (56). A l'inverse, Windham a montré que les concentrations sanguines croissantes en DDE chez des femmes étaient associées à des cycles menstruels courts par raccourcissement de la phase lutéale et des taux diminués de progestéronémie (71).

Comme dans notre étude, Harley a étudié 289 femmes et montré que l'emploi de pesticides dans un cadre domestique et le fait de résider à proximité d'un champ cultivé apparaissaient significativement associés à une plus faible fécondabilité (55).

En Bretagne, une étude chez 394 femmes enceintes de la cohorte Pelagie a cherché à mesurer l'effet sur la fertilité de l'ingestion de biphényles polychlorés (PCBs) et de pesticides organochlorés retrouvés dans les poissons et fruits de mer. Chevrier a pu mettre en évidence une augmentation du DNC chez les consommatrices de fruits de mer mais pas de poisson. Il a également dosé ces pesticides dans le sang de cordon lors de l'accouchement et a retrouvé une association entre des dosages supérieurs de pesticides (DDE) dans le sang de cordon et un DNC allongé (17).

Dans une étude cas-témoins, Greenlee a comparé des femmes infertiles à des femmes fertiles provenant du même centre médicale et a montré que le fait de préparer et d'appliquer des pesticides au cours des deux années précédant la recherche de conception était un facteur de risque significatif d'infertilité (72).

Récemment, Palmerini a utilisé un modèle in vitro permettant de montrer que l'exposition au Lindane, un pesticide appartenant à la famille des organochlorés, était toxique sur les gap junctions (ou jonctions communicantes) des cellules de la granulosa. Il a été observé une augmentation dose-dépendante de l'expression de la protéine p53 associée à des dommages cellulaires (vacuolisation, fragmentation cytoplasmiques et diminution des connexions intercellulaires etc.) qui pourraient induire une apoptose cellulaire. Sachant que les g jonctions communicantes jouent un rôle critique dans la production de progestérone stimulée par la FSH, les dommages ultra-structuraux mis en évidence pourraient expliquer l'augmentation de la prévalence des pathologies de la reproduction chez les femmes exposées (73). L'étude de Merviel a également montré une action des pesticides sur les gamètes féminins en mettant en évidence une relation très significative ($p < 0.00001$) entre les lieux d'habitation des femmes ayant plus de 75% d'ovocytes à zone centrale de cytoplasme granuleux en ICSI et l'utilisation des pesticides (74).

En outre, diverses études s'entendent sur un lien possible entre l'exposition aux PPS et l'augmentation des cas de syndrome de ovaires polykystiques et d'endométriose qui s'associent à des difficultés de procréation.

2.3 Impact de l'exposition domestique aux PPS sur l'AMP et la grossesse

Certains pesticides ont montré être à l'origine de malformations chez le fœtus lors de l'exposition de la femelle gestante à de faibles doses. Il y a l'exemple du dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT), un insecticide organochloré d'usage très courant à partir des années 1930. Il a rapidement montré ses effets néfastes sur la reproduction animale bien qu'il ait fallu attendre les années 1960 pour découvrir sa reprotoxicité pour l'être humain. Il est interdit d'usage pour l'agriculture dans les pays industrialisés mais certains pays en voie de développement continuent de l'utiliser pour sa grande efficacité contre divers arthropodes vecteurs de maladie (la peste bubonique, le typhus ou encore le paludisme). En outre, du fait de sa bioaccumulation, il appartient à la catégorie des polluants organiques persistants et est toujours retrouvé dans l'environnement où il contamine l'eau et l'alimentation. L'activité du métabolite du DDT est médiée par les récepteurs hormonaux. Il mime l'action des œstrogènes et stimule la production de récepteurs aux œstrogènes. Il est aussi antagoniste sur les récepteurs aux androgènes et inhibe la transcription génique induite par les androgènes aboutissant à des anomalies du développement sexuel masculin surtout lors de périodes de vulnérabilité chez le fœtus, dans l'enfance et pendant la puberté (75,76). Le terme de « syndrome de dysgénésie testiculaire » a été donné pour la première fois par une équipe danoise qui a pensé que la baisse de la qualité du sperme, l'augmentation du cancer germinal du testicule, de l'hypospadias et de la cryptorchidie étaient un seul et même syndrome probablement lié à un trouble du développement foetal testiculaire en lien avec une exposition maternelle à un polluant environnemental hyperœstrogénique ou anti-androgénique (8). D'autres études ont montré que la cryptorchidie était associée à des taux plus élevés de DDE et de PCBs dans le colostrum ou le sang de cordon. Aussi, l'*insuline like peptide 3* (INSL3), une des deux hormones contrôlant la descente testiculaire avec la testostérone, a été retrouvée abaissée dans les sangs de cordon de patients présentant une cryptorchidie idiopathique comparée à des contrôles et était inversement corrélée aux taux du PE étudié (77–79).

Concernant l'impact des pesticides sur les paramètres en AMP, les conséquences semblent importantes. Al Hussaini a analysé des résultats d'ICSI pour indication masculine chez 94 femmes d'un centre d'AMP en les rapportant aux concentrations de huit pesticides dosés dans les liquides folliculaires. Il a montré que tous les pesticides : deux organochlorés (lindane et DDT), trois organophosphatés (le chlorpyrifos, le diazinon et le malathion), le prétilachlore et

deux pyréthroïdes, s'associaient à une épaisseur insuffisante de l'endomètre. Quatre des huit pesticides étaient associés à une baisse du nombre d'ovocytes ponctionnés (chlorpyrifos, prétilachlore, B-cyfluthrine et diazinon). Le prétilachlore et le diazinon diminuaient les taux de fécondation et le développement embryonnaire précoce. Quant au lindane, au DDT, au diazinon, et au chlorpyrifos, ils diminuaient les taux d'implantation. Il n'y avait pas davantage d'anomalies congénitales retrouvées dans les grossesses issues de ces tentatives (80). Dans son étude, Chiu a analysé le régime en fruits et légumes de 325 femmes prises en charge en AMP et a constitué quatre groupes d'exposition aux PPS (de haute à basse exposition) afin de les comparer aux taux de grossesses cliniques et de naissances vivantes. En comparaison des femmes appartenant au groupe de basse exposition, les femmes les plus exposées aux PPS avaient une diminution des probabilités de grossesses cliniques de 18% et de naissances vivantes de 26% (81).

L'exposition aux insecticides domestiques peut montrer des effets délétères sur la santé de la descendance des sujets exposés. Manikkam a montré qu'en exposant des rates gravides lors de la phase de détermination du sexe gonadique à un mélange de perméthrine et de DEET, on pouvait observer une élévation de l'incidence de troubles pubertaires, d'anomalies testiculaires et ovariennes (telles qu'une déplétion en follicule primordiaux et des maladies des ovaires polykystiques) à la 3^{ème} génération. Il a aussi pu identifier les régions de l'ADN méthylées responsables de cet effet épigénétique (82).

Chevrier a analysé le déroulement de la grossesse de femmes bretonnes et comparé ses observations au dosage urinaire d'atrazine ou de son métabolite avant 19 semaines d'aménorrhée : 5.5% de sa population de 579 femmes avait de l'atrazine dans son urine. Les fœtus de femmes exposées avaient alors 1.5 fois plus de retard de croissance intra-utérin et 1.7 fois plus de périmètres crâniens inférieurs au 5^{ème} percentile que les fœtus de femmes non exposées (83).

3. Exposition au tabac et fertilité

Dans notre étude, nous n'avons pas retrouvé de différence entre les groupes par rapport à l'antécédent de tabagisme, qu'il soit stoppé ou toujours actuel. Cependant, si on se limitait à évaluer le tabagisme actuel, on retrouvait de façon significative plus de fumeurs dans le groupe

infertile (40.7%) que dans le groupe fertile (28.6%), et ceci, plus spécifiquement dans les sous-groupes de femmes infertiles (35.8%) et fertiles (17.1%) ($p= 0.001$).

Nous pouvons penser que la population de femmes fertiles vient d'accoucher et a probablement suivi les recommandations d'arrêt du tabac pour la grossesse en cours. Nous pouvons aussi conclure à la participation du tabac à l'infertilité présentée.

Si on s'intéresse au délai depuis l'arrêt du tabac, on s'aperçoit que la population fertile avec antécédent de tabagisme a stoppé sa consommation tabagique depuis plus longtemps que la population infertile, même si ce résultat n'atteint pas la significativité. Ce délai supérieur vis à vis de l'arrêt du tabac pourrait expliquer la meilleure fertilité du groupe. Dans une étude de cas de la littérature, les explorations spermatiques chez un homme après trois mois d'arrêt du tabac montraient une amélioration significative de la qualité: 72 millions contre 29 millions de spermatozoïdes par éjaculat, 79% de mobilité contre 33%, 20% de nécrospermie contre 60%, et 23 millions de spermatozoïdes sélectionnés par éjaculat contre 3 millions (84).

Le taux de CO expiré en ppm montre la consommation tabagique récente des 24 dernières heures. On ne retrouvait pas de différence significative sur le critère du CO expiré. On notait cependant un manque de données important pour ce critère rendant les résultats peu interprétables.

Dans notre étude, on a observé une différence assez nette entre le taux de tabagisme passif des sujets du groupe infertile qui était sensiblement plus élevé et le tabagisme passif de la population du groupe fertile. Plusieurs études ont montré que le tabagisme, même passif, avait une incidence sur la reproduction. En 2015, il s'est servi du recrutement de l'étude WHI et a pu inclure 77805 patientes ayant eu au moins une grossesse qui ont complété un questionnaire relatant leur histoire tabagique (jamais fumé, antécédents de tabagisme passif ou actif...) et leur histoire obstétricale (enfant né vivant, fausse-couche, enfant mort-né ou grossesse extra-utérine). Il a montré que le tabagisme passif comme actif, augmente l'incidence des fausses-couches précoces (OR de 1.17 et de 1.16 respectivement), des mort-nés (OR de 1.55 et 1.44) et des grossesses ectopiques (OR de 1.61 et 1.43) (32). Neal et al. ont montré que le tabagisme passif diminuait autant que le tabagisme actif le taux d'implantation après une FIV, ainsi que le taux de grossesse mais il ne trouvait pas de différence dans le taux de fécondation ou la qualité embryonnaire (85).

3.1 Impact du tabagisme sur la fertilité masculine

Nous n'avons pas retrouvé de différence d'exposition au tabac entre les hommes des groupes fertile et infertile en dehors du tabagisme passif dans l'enfance, l'adolescence et à l'âge adulte. Pourtant, la toxicité du tabagisme sur la fertilité masculine est bien documentée. Le tabagisme masculin impacte la spermatogénèse ainsi que les paramètres spermatiques et altère l'ADN spermatique.

Dans un premier temps, il a été montré le passage de la barrière hémato-testiculaire des substances issues du tabac par la mise en évidence de ses dérivés dans le liquide séminal (86). Plus la consommation de tabac était importante, plus les concentrations plasmatiques et séminales de ses dérivés étaient élevées (87). Aussi, l'intoxication tabagique altère les capacités de réparation de l'ADN de la méiose et entraîne une élévation des aneuploïdies et des disomies comme l'a montré Rubes (88). Ces anomalies chromosomiques sont connues pour provoquer des fausses-couches. En ce qui concerne les paramètres spermatiques, les effets du tabagisme sur le volume spermatique semblent être inexistantes. Certaines études montrent une diminution de la numération spermatique par le tabagisme mais cela est controversé. L'étude de Kunzle qui comparait 655 fumeurs à 1 131 non fumeurs retrouvait des numérations spermatiques/éjaculat de 229 millions versus 278 millions ($p=0,0001$). La même étude montrait un impact négatif du tabagisme sur la mobilité spermatique (30), et Zavos a pu démontrer que les molécules toxiques pour la mobilité spermatique se trouvaient dans les liquides séminaux des hommes fumeurs et non au sein même des spermatozoïdes (89). Les auteurs ne s'accordent pas sur un impact éventuel du tabac sur la morphologie du spermatozoïde. Enfin, le tabagisme pourrait être associé à une majoration du stress oxydatif à l'origine d'une fragmentation de l'ADN spermatique. Le stress oxydatif est objectivé par une leucospermie, une élévation des ROS et une diminution des TAC (Total Antioxidant Capacity) dans le plasma séminal (90,91).

3.2 Impact du tabagisme sur la fertilité féminine

Dans notre population de patientes, les femmes infertiles étaient plus fréquemment fumeuses que les femmes fertiles. Le nombre d'années de tabagisme n'était pas différent entre les deux groupes. Pourtant, les études semblent montrer un effet-durée du tabagisme sur la fertilité comme pour les autres conséquences néfastes du tabagisme sur la santé. Par contre, si nous regardons le nombre de cigarettes fumées par jour, les patientes fertiles fumeuses fumaient davantage quantitativement que les patientes infertiles. Il se pourrait que certaines femmes du groupe fertile aient déclaré leur consommation avant l'arrêt du tabac en vue de la grossesse ou que les femmes du groupe infertile sous-déclarent leur consommation par culpabilité. Enfin, notre étude montre que le tabagisme passif était significativement différent entre les groupes de femmes fertiles et infertiles, et ce, à tous les âges explorés (enfance, adolescence et âge adulte), ce qui semble attester de la toxicité marquée du tabac même en cas de consommation passive involontaire.

Plusieurs études montrent une incidence négative du tabagisme féminin sur la fertilité. Knoll montre en 1995 que les fumées de cigarettes, primaires et secondaires, provoquent une altération du battement ciliaire des trompes de Fallope de rates observées in vitro diminuant ainsi les chances de conception et de grossesse eutopique (31). En 2000, Hull montre un allongement du délai de conception selon le statut tabagique maternel actif ou passif par rapport aux non fumeuses (92). Le tabagisme semble également toucher la réserve ovarienne. Le taux plasmatique d'AMH était significativement inférieur dans le groupe des fumeuses (93). Cette dernière donnée de baisse de réserve ovarienne a été vérifiée par la même équipe dans une seconde étude observant cette fois l'AMH et le compte folliculaire antral qui étaient tous deux abaissés chez les fumeuses par rapport aux non fumeuses. Les taux de FSH étaient également supérieurs chez les fumeuses par rapport aux non fumeuses. En outre, il a été retrouvé de la cotinine, du cadmium et du peroxyde d'hydrogène, tous des composés de la fumée de tabac, dans les liquides folliculaires de femmes fumeuses. Ces composés semblent être à l'origine de troubles de la méiose responsables d'une altération de l'ovocyte. Comme on l'a vu chez l'homme, la concentration de dérivés du tabac du liquide folliculaire augmente de manière proportionnelle avec la quantité de cigarettes fumées (94). D'autre part, les hydrocarbures également présents dans le tabac peuvent interagir avec le récepteur aryl-hydrocarbure. Ce récepteur nucléaire orphelin lie les hydrocarbures aromatiques polycycliques comme la dioxine, le benzopyrène, les PCBs, les

nitrofuranes et interfère avec la signalisation oestrogénique. Il est capable d'activer l'apoptose ovocytaire expliquant ainsi l'insuffisance ovarienne observée (95). Il a aussi été noté que les fumeuses présentaient un âge de survenue de la ménopause plus précoce que les non fumeuses (47.1 ans contre 49.4 ans) (96).

3.3 Impact du tabagisme sur la grossesse et l'AMP

Le tabagisme maternel a des conséquences sur le fœtus et la grossesse. En effet, il a été observé une augmentation du taux de fausses couches spontanées, de ruptures prématurées des membranes et de retards de croissance intra-utérin qui serait dûe à l'hypoxémie liée au monoxyde de carbone et aux thiocyanates du tabac.

Par la suite, d'autres travaux se sont intéressés aux conséquences du tabac sur la fertilité spontanée et l'AMP. Le tabagisme féminin est délétère sur les issues des tentatives d'AMP comme l'a montré l'étude de Freour et al. En effet, comparées à des non fumeuses, les femmes qui fumaient de manière active avaient une moins bonne réponse ovarienne aux traitements par FSH (12.12 ± 5 versus 8.62 ± 4 ovocytes matures ponctionnés) et un moindre taux de grossesses cliniques (29.6 versus 10.0%). Hassa a étudié le taux de fécondation et le développement embryonnaire chez des souris en fonction de l'exposition tabagique (mâle et femelle exposés, exposition du mâle seul, exposition de la femelle seule ou d'aucun des deux). Il a retrouvé des pourcentages abaissés dès qu'il y avait du tabagisme, un pourcentage plus bas si la femelle seule était fumeuse par rapport au mâle seul, et encore plus abaissé si les deux fumaient (97). L'étude de l'incidence du tabagisme sur les résultats en AMP retrouve une baisse du taux de grossesse par cycle, une diminution du nombre et de la qualité ovocytaire, une diminution du taux de fécondation, une diminution de la qualité embryonnaire, un taux diminué d'implantation par embryon et un taux de fausses-couches plus élevé (98).

Enfin, chez le rat, l'exposition au tabac à un équivalent de plus de 10 cigarettes par jour des femelles gestantes réduit la fertilité du mâle adulte à venir en augmentant le taux de cryptorchidie bilatérale. Cette exposition s'accompagne aussi d'une diminution de 20% du nombre total de spermatozoïdes et d'une réduction du volume testiculaire observé chez les rats

devenus adultes (99–101). Du côté du fœtus de sexe féminin, le tabagisme maternel réduit la réserve ovarienne comme démontré chez l'animal (102).

En ce qui concerne l'effet du tabagisme masculin sur les résultats d'AMP, l'intoxication passive ou active par le tabac réduirait de 40% les chances de succès en FIV (98).

4. Limites de l'étude

Notre étude présente un certain nombre de limites qui peuvent expliquer que nous n'ayons pas retrouvé certains résultats attendus.

Nos effectifs étaient faibles ne permettant pas une puissance statistique suffisante pour faire ressortir des différences significatives. Par ailleurs, nos deux groupes d'étude étaient différents sur l'âge ce qui constituait un facteur de confusion important pour l'étude de la fertilité. Dans un prochain travail, le choix d'une étude cas-témoins avec un appariement sur l'âge serait plus pertinent. D'autre part, notre indicateur de mesure repose sur un questionnaire et s'inscrit dans un registre de données déclaratives. Cela induit un biais de mesure certain avec le biais de mémorisation qui diffère entre les deux groupes étudiés. Nous avons également pu remarquer un taux de remplissage des questionnaires décevant malgré l'assistance de notre attaché de recherche clinique. Le taux de remplissage était moins bon parmi les « fertiles » qui étaient naturellement moins motivés par les résultats de l'étude que les infertiles.

Le thème de la part jouée par les pesticides et le tabac dans l'infertilité est complexe à étudier. La preuve d'un lien causal est difficile à obtenir notamment à cause de la diversité des mécanismes d'action en jeu qui ne sont pas encore tous bien compris. Les études épidémiologiques sont nombreuses à avoir rapporté une relation entre l'exposition à un type précis de PE et des troubles de la fertilité mais leur caractère généralement transversal, le nombre élevé et imprécis des facteurs confondants et les difficultés méthodologiques inhérentes aux travaux d'épidémiologie environnementale rendent leur niveau de preuve insuffisant pour en tirer des conclusions générales. Plusieurs caractéristiques de l'exposition peuvent varier et sont à vérifier afin de pouvoir porter des conclusions fiables aux études épidémiologiques (les doses administrées, la fréquence et la durée d'administration, la période de la vie à laquelle les substances sont administrées, la voie d'administration, les co-substances d'exposition, les délais

d'apparition des effets potentiels, certains effets pouvant mettre des années avant d'être observés). L'approche expérimentale in vivo par exposition d'un animal à des PE a permis de reproduire des anomalies du développement génital ou de paramètres de fertilité. Toutefois, il n'est pas exclu qu'il y ait des facteurs de confusion non identifiés comme l'effet d'autres substances concomitamment appliquées. On sait également que le métabolisme des PE comprend une détoxification par les enzymes hépatiques dont le cytochrome P450 et que celui-ci présente des polymorphismes qui pourrait être à la base d'une susceptibilité génétique individuelle. Cela pourrait expliquer que dans une population uniformément exposée, les effets secondaires ne soient observés que pour certains individus. Rouiller-fabre a aussi montré dans une étude in vitro que l'effet d'un PE sur la testostéronémie diffère entre la souris et l'homme : il agit uniquement à forte dose chez la souris alors qu'il peut déjà agir pour des doses faibles chez l'homme (étude sur des cultures de tissus testiculaires humains). Le même produit chimique n'a donc pas les mêmes conséquences d'une espèce à l'autre et il semble risqué de baser nos conclusions sur des études chez l'animal. Toutes ces données rendent les études de forte puissance difficiles à mettre en place dans ce domaine d'étude.

CONCLUSION

La littérature est riche d'études impliquant l'effet des perturbateurs endocriniens sur les différents paramètres pouvant altérer la fertilité. Cependant, les études de méthodologie solide sur la fertilité humaine manquent et les conclusions restent, de ce fait, controversées.

Notre étude se proposait de comparer l'exposition aux pesticides et au tabac de couples fertiles et infertiles de notre centre afin d'essayer de mettre en évidence des facteurs de risque d'infertilité. Il ressort que les couples infertiles habitent plus fréquemment à proximité direct d'un champ de maïs, qu'ils sont plus fréquemment fumeurs et qu'ils avaient plus fréquemment été exposés au tabagisme passif à la fois dans l'enfance, l'adolescence et à l'âge adulte. D'autres facteurs de risque sont l'âge de la femme et de l'homme et les antécédents d'infertilité familiale de la femme. Aucune différence n'a été retrouvée en termes d'exposition professionnelle aux pesticides.

Dans la continuité de ce travail, le PHRC prévoit d'analyser les données objectives concernant les patients inclus, à savoir :

- Du côté masculin, les paramètres du spermogramme, la détermination de la fragmentation de l'ADN spermatique par la technique TUNEL et de l'index de décondensation de l'ADN spermatique. Ils seront comparés avec le statut tabagique des patients et avec les dosages de nicotine et de cotinine dans les liquides séminaux.
- Du côté féminin, l'analyse de la réserve ovarienne sera également comparée au statut tabagique et aux dosages de nicotine et de cotinine dans les liquides folliculaires.
- Du côté AMP, les différents paramètres biologiques des tentatives.

En attendant de plus amples preuves, le corps médical a pour devoir d'instaurer un principe de précaution en informant les populations du danger potentiel des perturbateurs endocriniens et de proposer des solutions de prévention.

Nous avons donc constitué une plaquette d'information à visée préventive à l'intention des couples en âge de procréer, pour sensibiliser à la présence de perturbateurs endocriniens dans les objets de la vie courante et des effets attestés ou suspectés de ces substances. Nous proposons également quelques moyens simples à mettre en place pour en réduire l'exposition (cf Annexe 3).

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. WHO | Effects of human exposure to hormone-disrupting chemicals examined in landmark UN report [Internet]. WHO. [cité 16 juill 2018]. Disponible sur: http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2013/hormone_disrupting_20130219/en/
2. Desmots S, Brulez C, Lemazurier E. Endocrine disrupters and human health: A non-exhaustive review. *Environ Risques Santé*. 1 mai 2005;4(3):195 - 204.
3. Du Y-Y, Guo N, Wang Y-X, Hua X, Deng T-R, Teng X-M, et al. Urinary phthalate metabolites in relation to serum anti-Müllerian hormone and inhibin B levels among women from a fertility center: a retrospective analysis. *Reprod Health*. 23 févr 2018;15(1):33.
4. Carson R. *Silent Spring*. Houghton Mifflin Harcourt; 2002. 404 p.
5. Guillette LJ, Gross TS, Masson GR, Matter JM, Percival HF, Woodward AR. Developmental Abnormalities of the Gonad and Abnormal Sex Hormone Concentrations in Juvenile Alligators from Contaminated and Control Lakes in Florida. *Environ Health Perspect*. août 1994;102(8):680.
6. Mocarelli P, Gerthoux PM, Patterson DG, Milani S, Limonta G, Bertona M, et al. Dioxin Exposure, from Infancy through Puberty, Produces Endocrine Disruption and Affects Human Semen Quality. *Environ Health Perspect*. janv 2008;116(1):70- 7.
7. Trabert B, Longnecker MP, Brock JW, Klebanoff MA, McGlynn KA. Maternal Pregnancy Levels of trans-Nonachlor and Oxychlorane and Prevalence of Cryptorchidism and Hypospadias in Boys. *Environ Health Perspect*. mars 2012;120(3):478 - 82.
8. Sharpe RM, Skakkebaek NE. Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract? *The Lancet*. mai 1993;341(8857):1392 - 6.
9. Parent A-S, Franssen D, Fudvoye J, Gérard A, Bourguignon J-P. Developmental variations in environmental influences including endocrine disruptors on pubertal timing and neuroendocrine control: Revision of human observations and mechanistic insight from rodents. *Front Neuroendocrinol*. 1 juill 2015;38:12 - 36.
10. Séralini G-E, Clair E, Mesnage R, Gress S, Defarge N, Malatesta M, et al. Republished study: long-term toxicity of a Roundup herbicide and a Roundup-tolerant genetically modified maize. *Environ Sci Eur* [Internet]. déc 2014 [cité 17 juill 2018];26(1). Disponible sur: <http://enveurope.springeropen.com/articles/10.1186/s12302-014-0014-5>
11. Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE. Evidence for Decreasing Quality of Semen During Past 50 Years: *Obstet Gynecol Surv*. mars 1993;48(3):200 - 1.
12. Auger J, Kunstmann JM, Czyglik F, Jouannet P. Decline in Semen Quality among Fertile Men in Paris during the Past 20 Years. *N Engl J Med*. 2 févr 1995;332(5):281 - 5.
13. Rolland M, Le Moal J, Wagner V, Royère D, De Mouzon J. Decline in semen concentration and morphology in a sample of 26 609 men close to general population between 1989 and 2005 in France. *Hum Reprod*. févr 2013;28(2):462 - 70.

14. Slama R. La fertilité des couples en France. :5.
15. Thoma ME, McLain AC, Louis JF, King RB, Trumble AC, Sundaram R, et al. Prevalence of infertility in the United States as estimated by the current duration approach and a traditional constructed approach. *Fertil Steril.* avr 2013;99(5):1324-1331.e1.
16. de Cock J, Westveer K, Heederik D, te Velde E, van Kooij R. Time to pregnancy and occupational exposure to pesticides in fruit growers in The Netherlands. *Occup Environ Med.* 1 oct 1994;51(10):693-9.
17. Chevrier C, Warembourg C, Gaudreau E, Monfort C, Le Blanc A, Guldner L, et al. Organochlorine Pesticides, Polychlorinated Biphenyls, Seafood Consumption, and Time-to-Pregnancy: *Epidemiology.* mars 2013;24(2):251-60.
18. Naughton CK. Epigenetic Transgenerational Actions of Endocrine Disruptors and Male Fertility. *Yearb Urol.* janv 2006;2006:224-5.
19. Strazzullo M, Matarazzo MR. Epigenetic Effects of Environmental Chemicals on Reproductive Biology. *Curr Drug Targets.* 2017;18(10):1116-24.
20. Wei Y, Schatten H, Sun Q-Y. Environmental epigenetic inheritance through gametes and implications for human reproduction. *Hum Reprod Update.* 1 mars 2015;21(2):194-208.
21. Anway MD, Cupp AS, Uzumcu M, Skinner MK. Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Science.* 3 juin 2005;308(5727):1466-9.
22. Messerlian C, Souter I, Gaskins AJ, Williams PL, Ford JB, Chiu Y-H, et al. Urinary phthalate metabolites and ovarian reserve among women seeking infertility care. *Hum Reprod Oxf Engl.* janv 2016;31(1):75-83.
23. Li D-K, Zhou Z, Miao M, He Y, Wang J, Ferber J, et al. Urine bisphenol-A (BPA) level in relation to semen quality. *Fertil Steril.* févr 2011;95(2):625-630.e4.
24. Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Sonta S, Makino T, Suzumori K. Exposure to bisphenol A is associated with recurrent miscarriage. *Hum Reprod.* 1 août 2005;20(8):2325-9.
25. Health Outcomes | Agricultural Health Study [Internet]. [cité 24 juill 2018]. Disponible sur: <https://aghealth.nih.gov/collaboration/outcomes.html>
26. La qualité de l'eau et assainissement en France (annexes) [Internet]. [cité 24 juill 2018]. Disponible sur: <https://www.senat.fr/rap/l02-215-2/l02-215-239.html>
27. Inserm. Pesticides : Effets sur la santé [Internet]. Inserm. 2013 [cité 12 juill 2018]. Disponible sur: http://www.ipubli.inserm.fr/bitstream/handle/10608/4820/Chapitre_1.html
28. Santé publique France - Tabagisme en France : 1 million de fumeurs quotidiens en moins [Internet]. [cité 20 août 2018]. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/Actualites/Tabagisme-en-France-1-million-de-fumeurs-quotidiens-en-moins>

29. Baromètre santé – Conduites addictives en Picardie (Les 15-34 ans en 2010) [Internet]. [cité 24 juill 2018]. Disponible sur: <http://www.or2s.fr/index.php/thematiques/tabac/190-barosante-picardie-addiction>
30. Künzle R, Mueller MD, Hänggi W, Birkhäuser MH, Drescher H, Bersinger NA. Semen quality of male smokers and nonsmokers in infertile couples. *Fertil Steril*. févr 2003;79(2):287- 91.
31. Knoll M, Shaoulian R, Magers T, Talbot P. Ciliary Beat Frequency of Hamster Oviducts is Decreased in Vitro by Exposure to Solutions of Mainstream and Sidestream Cigarette Smoke1. *Biol Reprod*. 1 juill 1995;53(1):29- 37.
32. Hyland A, Piazza KM, Hovey KM, Ockene JK, Andrews CA, Rivard C, et al. Associations of lifetime active and passive smoking with spontaneous abortion, stillbirth and tubal ectopic pregnancy: a cross-sectional analysis of historical data from the Women’s Health Initiative. *Tob Control*. juill 2015;24(4):328- 35.
33. Firns S, Cruzat VF, Keane KN, Joesbury KA, Lee AH, Newsholme P, et al. The effect of cigarette smoking, alcohol consumption and fruit and vegetable consumption on IVF outcomes: a review and presentation of original data. *Reprod Biol Endocrinol* [Internet]. déc 2015 [cité 24 juill 2018];13(1). Disponible sur: <http://www.rbej.com/content/13/1/134>
34. Broekmans FJ, Knauff EAH, te Velde ER, Macklon NS, Fauser BC. Female reproductive ageing: current knowledge and future trends. *Trends Endocrinol Metab*. mars 2007;18(2):58- 65.
35. Regards sur la parité en Picardie : Chapitre Santé, Conditions de vie - Maternité, IVG - Insee Picardie Dossier [Internet]. [cité 24 juill 2018]. Disponible sur: <https://www.insee.fr/fr/statistiques/1559719>
36. Eisenberg ML, Meldrum D. Effects of age on fertility and sexual function. *Fertil Steril*. févr 2017;107(2):301- 4.
37. Nybo Andersen A-M, Hansen KD, Andersen PK, Davey Smith G. Advanced Paternal Age and Risk of Fetal Death: A Cohort Study. *Am J Epidemiol*. 15 déc 2004;160(12):1214- 22.
38. Herati AS, Zhelyazkova BH, Butler PR, Lamb DJ. Age-related alterations in the genetics and genomics of the male germ line. *Fertil Steril*. 1 févr 2017;107(2):319- 23.
39. Pesticides et cancer, risques pesticides santé, risque cancer pesticides | Cancer et environnement [Internet]. [cité 24 juill 2018]. Disponible sur: <http://www.cancer-environnement.fr/326-Pesticides.ce.aspx>
40. Alavanja MC, Sandler DP, McMaster SB, Zahm SH, McDonnell CJ, Lynch CF, et al. The Agricultural Health Study. *Environ Health Perspect*. avr 1996;104(4):362- 9.
41. Bretveld RW, Hooiveld M, Zielhuis GA, Pellegrino A, van Rooij IALM, Roeleveld N. Reproductive disorders among male and female greenhouse workers. *Reprod Toxicol*. janv 2008;25(1):107- 14.
42. Whorton D, Krauss R, Marshall S, Milby T. INFERTILITY IN MALE PESTICIDE WORKERS. *The Lancet*. déc 1977;310(8051):1259- 61.

43. Whorton D, Milby TH, Krauss RM, Stubbs HA. Testicular function in DBCP exposed pesticide workers. *J Occup Med Off Publ Ind Med Assoc.* mars 1979;21(3):161- 6.
44. Easley CA, Bradner JM, Moser A, Rickman CA, McEachin ZT, Merritt MM, et al. Assessing reproductive toxicity of two environmental toxicants with a novel in vitro human spermatogenic model. *Stem Cell Res.* mai 2015;14(3):347- 55.
45. Wyrobek AJ, Watchmaker G, Gordon L, Wong K, Moore D, Whorton D. Sperm shape abnormalities in carbaryl-exposed employees. *Environ Health Perspect.* août 1981;40:255- 65.
46. Lerda D, Rizzi R. Study of reproductive function in persons occupationally exposed to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). *Mutat Res Lett.* janv 1991;262(1):47- 50.
47. Lifeng T, Shoulin W, Junmin J, Xuezhao S, Yannan L, Qianli W, et al. Effects of fenvalerate exposure on semen quality among occupational workers. *Contraception.* janv 2006;73(1):92- 6.
48. Padungtod C, Savitz DA, Overstreet JW, Christiani DC, Ryan LM, Xu X. Occupational Pesticide Exposure and Semen Quality Among Chinese Workers: *J Occup Environ Med.* oct 2000;42(10):982- 92.
49. Padungtod C, Hassold TJ, Millie E, Ryan LM, Savitz DA, Christiani DC, et al. Sperm aneuploidy among Chinese pesticide factory workers: scoring by the FISH method. *Am J Ind Med.* août 1999;36(2):230- 8.
50. Xia Y, Cheng S, Bian Q, Xu L, Collins MD, Chang HC, et al. Genotoxic Effects on Spermatozoa of Carbaryl-Exposed Workers. *Toxicol Sci.* 1 mai 2005;85(1):615- 23.
51. Recio-Vega R, Ocampo-Gómez G, Borja-Aburto VH, Moran-Martínez J, Cebrian-Garcia ME. Organophosphorus pesticide exposure decreases sperm quality: association between sperm parameters and urinary pesticide levels. *J Appl Toxicol.* juill 2008;28(5):674- 80.
52. Bian Q, Xu LC, Wang SL, Xia YK, Tan LF, Chen JF, et al. Study on the relation between occupational fenvalerate exposure and spermatozoa DNA damage of pesticide factory workers. *Occup Environ Med.* déc 2004;61(12):999- 1005.
53. Sallmén M, Liesivuori J, Taskinen H, Lindbohm M-L, Anttila A, Aalto L, et al. Time to pregnancy among the wives of Finnish greenhouse workers. *Scand J Work Environ Health.* 2003;29(2):85- 93.
54. Curtis KM, Savitz DA, Weinberg CR, Arbuckle TE. The Effect of Pesticide Exposure on Time to Pregnancy: *Epidemiology.* mars 1999;10(2):112- 7.
55. Harley KG, Marks AR, Bradman A, Barr DB, Eskenazi B. DDT Exposure, Work in Agriculture, and Time to Pregnancy Among Farmworkers in California: *J Occup Environ Med.* déc 2008;50(12):1335- 42.
56. Farr SL, Cooper GS, Cai J, Savitz DA, Sandler DP. Pesticide use and menstrual cycle characteristics among premenopausal women in the Agricultural Health Study. *Am J Epidemiol.* 15 déc 2004;160(12):1194- 204.

57. Idrovo AJ, Sanin LH, Cole D, Chavarro J, Cáceres H, Narváez J, et al. Time to first pregnancy among women working in agricultural production. *Int Arch Occup Environ Health*. juill 2005;78(6):493- 500.
58. Abell A, Juul S, Bonde JPE. Time to pregnancy among female greenhouse workers. *Scand J Work Environ Health*. 2000;26(2):131- 6.
59. Grindler NM, Allsworth JE, Macones GA, Kannan K, Roehl KA, Cooper AR. Persistent Organic Pollutants and Early Menopause in U.S. Women. *Rosenfeld CS, éditeur. PLOS ONE*. 28 janv 2015;10(1):e0116057.
60. Weidner IS, Møller H, Jensen TK, Skakkebaek NE. Cryptorchidism and hypospadias in sons of gardeners and farmers. *Environ Health Perspect*. déc 1998;106(12):793- 6.
61. Nassar N, Abeywardana P, Barker A, Bower C. Parental occupational exposure to potential endocrine disrupting chemicals and risk of hypospadias in infants. *Occup Environ Med*. 1 sept 2010;67(9):585- 9.
62. Rouiller-Fabre V, Habert R, Livera G. Effects of endocrine disruptors on the human fetal testis. *Ann Endocrinol*. mai 2014;75(2):54- 7.
63. Swan SH, Kruse RL, Liu F, Barr DB, Drobni EZ, Redmon JB, et al. Semen Quality in Relation to Biomarkers of Pesticide Exposure. *Environ Health Perspect*. 18 juin 2003;111(12):1478- 84.
64. Dallinga JW, Moonen EJC, Dumoulin JCM, Evers JLH, Geraedts JPM, Kleinjans JCS. Decreased human semen quality and organochlorine compounds in blood. *Hum Reprod Oxf Engl*. août 2002;17(8):1973- 9.
65. Owagboriaye FO, Dedeke GA, Ademolu KO, Olujimi OO, Ashidi JS, Adeyinka AA. Reproductive toxicity of Roundup herbicide exposure in male albino rat. *Exp Toxicol Pathol*. sept 2017;69(7):461- 8.
66. Meeker JD, Ryan L, Barr DB, Herrick RF, Bennett DH, Bravo R, et al. The Relationship of Urinary Metabolites of Carbaryl/Naphthalene and Chlorpyrifos with Human Semen Quality. *Environ Health Perspect*. déc 2004;112(17):1665- 70.
67. Gely-Pernot A, Hao C, Legoff L, Multigner L, D'Cruz SC, Kervarrec C, et al. Gestational exposure to chlordecone promotes transgenerational changes in the murine reproductive system of males. *Sci Rep*. 6 juill 2018;8(1):10274.
68. Deziel NC, Friesen MC, Hoppin JA, Hines CJ, Thomas K, Freeman LEB. A Review of Nonoccupational Pathways for Pesticide Exposure in Women Living in Agricultural Areas. *Environ Health Perspect*. juin 2015;123(6):515- 24.
69. Stoker TE, Perreault SD, Bremser K, Marshall RS, Murr A, Cooper RL. Acute exposure to molinate alters neuroendocrine control of ovulation in the rat. *Toxicol Sci Off J Soc Toxicol*. mars 2005;84(1):38- 48.

70. Luderer U, Kesner JS, Fuller JM, Krieg EF, Meadows JW, Tramma SL, et al. Effects of gestational and lactational exposure to heptachlor epoxide on age at puberty and reproductive function in men and women. *Environ Res.* févr 2013;121:84- 94.
71. Windham GC, Lee D, Mitchell P, Anderson M, Petreas M, Lasley B. Exposure to organochlorine compounds and effects on ovarian function. *Epidemiol Camb Mass.* mars 2005;16(2):182- 90.
72. Greenlee AR, Arbuckle TE, Chyou P-H. Risk Factors for Female Infertility in an Agricultural Region. *Epidemiology.* juill 2003;14:429- 36.
73. Palmerini MG, Zhurabekova G, Balmagambetova A, Nottola SA, Miglietta S, Belli M, et al. The pesticide Lindane induces dose-dependent damage to granulosa cells in an *in vitro* culture. *Reprod Biol.* déc 2017;17:349- 56.
74. Merviel P, Cabry R, Chardon K, Haraux E, Scheffler F, Mansouri N, et al. Impact of oocytes with CLCG on ICSI outcomes and their potential relation to pesticide exposure. *J Ovarian Res* [Internet]. 10 juill 2017 [cité 11 juill 2018];10. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5504732/>
75. Kelce WR, Stone CR, Laws SC, Gray LE, Kemppainen JA, Wilson EM. Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature.* juin 1995;375(6532):581- 5.
76. Lemaire G, Terouanne B, Mauvais P, Michel S, Rahmani R. Effect of organochlorine pesticides on human androgen receptor activation *in vitro*. *Toxicol Appl Pharmacol.* avr 2004;196(2):235 - 46.
77. Brucker-Davis F, Wagner-Mahler K, Delattre I, Ducot B, Ferrari P, Bongain A, et al. Cryptorchidism at birth in Nice area (France) is associated with higher prenatal exposure to PCBs and DDE, as assessed by colostrum concentrations. *Hum Reprod Oxf Engl.* août 2008;23(8):1708- 18.
78. Damgaard IN, Skakkebaek NE, Toppari J, Virtanen HE, Shen H, Schramm K-W, et al. Persistent Pesticides in Human Breast Milk and Cryptorchidism. *Environ Health Perspect.* juill 2006;114(7):1133- 8.
79. Chevalier N, Brucker-Davis F, Lahlou N, Coquillard P, Pugeat M, Pacini P, et al. A negative correlation between insulin-like peptide 3 and bisphenol A in human cord blood suggests an effect of endocrine disruptors on testicular descent during fetal development. *Hum Reprod Oxf Engl.* févr 2015;30(2):447- 53.
80. AL-Hussaini TK, Abdelaleem AA, Elnashar I, Shabaan OM, Mostafa R, El-Baz MAH, et al. The effect of follicular fluid pesticides and polychlorinated biphenyls concentrations on intracytoplasmic sperm injection (ICSI) embryological and clinical outcome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* janv 2018;220:39- 43.
81. Chiu Y-H, Williams PL, Gillman MW, Gaskins AJ, Mínguez-Alarcón L, Souter I, et al. Association Between Pesticide Residue Intake From Consumption of Fruits and Vegetables and Pregnancy Outcomes Among Women Undergoing Infertility Treatment With Assisted Reproductive Technology. *JAMA Intern Med.* 1 janv 2018;178(1):17- 26.

82. Manikkam M, Tracey R, Guerrero-Bosagna C, Skinner MK. Pesticide and insect repellent mixture (permethrin and DEET) induces epigenetic transgenerational inheritance of disease and sperm epimutations. *Reprod Toxicol.* déc 2012;34(4):708- 19.
83. Chevrier C, Limon G, Monfort C, Rouget F, Garlantézec R, Petit C, et al. Urinary Biomarkers of Prenatal Atrazine Exposure and Adverse Birth Outcomes in the PELAGIE Birth Cohort. *Environ Health Perspect.* 1 juill 2011;119(7):1034- 41.
84. Santos EP, López-Costa S, Chenlo P, Pugliese MN, Curi S, Ariagno J, et al. Impact of spontaneous smoking cessation on sperm quality: case report. *Andrologia.* déc 2011;43(6):431- 5.
85. Neal MS, Hughes EG, Holloway AC, Foster WG. Sidestream smoking is equally as damaging as mainstream smoking on IVF outcomes. *Hum Reprod.* 1 sept 2005;20(9):2531- 5.
86. Pacifici R, Altieri I, Gandini L, Lenzi A, Pichini S, Rosa M, et al. Nicotine, cotinine, and trans-3-hydroxycotinine levels in seminal plasma of smokers: effects on sperm parameters. *Ther Drug Monit.* oct 1993;15(5):358- 63.
87. Wong WY, Thomas CM., Merkus HMW., Zielhuis GA, Doesburg WH, Steegers-Theunissen RP. Cigarette smoking and the risk of male factor subfertility: minor association between cotinine in seminal plasma and semen morphology. *Fertil Steril.* nov 2000;74(5):930- 5.
88. Rubes J, Lowe X, Moore D, Perreault S, Slott V, Evenson D, et al. Smoking cigarettes is associated with increased sperm disomy in teenage men. *Fertil Steril.* oct 1998;70(4):715- 23.
89. Zavos Ed.S., Ph.D. PM, Correa Ph.D. JR, Antypas M.D. S, Zarmakoupis-Zavos M.D. PN, Zarmakoupis M.D. CN. Effects of Seminal Plasma from Cigarette Smokers on Sperm Viability and Longevity. *Fertil Steril.* mars 1998;69(3):425- 9.
90. Saleh RA, Agarwal A, Sharma RK, Nelson DR, Thomas AJ. Effect of cigarette smoking on levels of seminal oxidative stress in infertile men: a prospective study. *Fertil Steril.* sept 2002;78(3):491- 9.
91. Sepaniak S, Forges T, Gerard H, Foliguet B, Bene M-C, Monnier-Barbarino P. The influence of cigarette smoking on human sperm quality and DNA fragmentation. *Toxicology.* juin 2006;223(1- 2):54- 60.
92. Hull MG, North K, Taylor H, Farrow A, Ford WC. Delayed conception and active and passive smoking. The Avon Longitudinal Study of Pregnancy and Childhood Study Team. *Fertil Steril.* oct 2000;74(4):725- 33.
93. Freour T, Masson D, Mirallie S, Jean M, Bach K, Dejoie T, et al. Active smoking compromises IVF outcome and affects ovarian reserve. *Reprod Biomed Online.* janv 2008;16(1):96- 102.
94. Neal MS, Zhu J, Holloway AC, Foster WG. Follicle growth is inhibited by benzo-[a]-pyrene, at concentrations representative of human exposure, in an isolated rat follicle culture assay. *Hum Reprod.* 1 avr 2007;22(4):961- 7.

95. Matikainen T, Perez GI, Jurisicova A, Pru JK, Schlezinger JJ, Ryu H-Y, et al. Aromatic hydrocarbon receptor-driven Bax gene expression is required for premature ovarian failure caused by biohazardous environmental chemicals. *Nat Genet.* août 2001;28(4):355-60.
96. Di Prospero F, Luzi S, Iacopini Z. Cigarette smoking damages women's reproductive life. *Reprod Biomed Online.* janv 2004;8(2):246-7.
97. Hassa H, Gurer F, Tanir HM, Kaya M, Gunduz NB, Sariboyaci AE, et al. Effect of cigarette smoke and alpha-tocopherol (vitamin E) on fertilization, cleavage, and embryo development rates in mice: An experimental in vitro fertilization mice model study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* déc 2007;135(2):177-82.
98. Alvarez S. Do some addictions interfere with fertility? *Fertil Steril.* 1 janv 2015;103(1):22-6.
99. Sobinoff AP, Sutherland JM, Beckett EL, Stanger SJ, Johnson R, Jarnicki AG, et al. Damaging legacy: maternal cigarette smoking has long-term consequences for male offspring fertility. *Hum Reprod Oxf Engl.* déc 2014;29(12):2719-35.
100. Thorup J, Cortes D, Petersen BL. The Incidence of Bilateral Cryptorchidism is Increased and the Fertility Potential is Reduced in Sons Born to Mothers who Have Smoked During Pregnancy. *J Urol.* 1 août 2006;176(2):734-7.
101. Jensen TK, Jørgensen N, Punab M, Haugen TB, Suominen J, Zilaitiene B, et al. Association of in utero exposure to maternal smoking with reduced semen quality and testis size in adulthood: a cross-sectional study of 1,770 young men from the general population in five European countries. *Am J Epidemiol.* 1 janv 2004;159(1):49-58.
102. Jurisicova A, Taniuchi A, Li H, Shang Y, Antenos M, Detmar J, et al. Maternal exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons diminishes murine ovarian reserve via induction of Harakiri. *J Clin Invest.* déc 2007;117(12):3971-8.

ANNEXES

Annexe 1: Exemple de questionnaire distribué, celui-ci s'adressait aux femmes fertiles.

IDENTIFICATION DU COUPLE

Date de la visite d'inclusion (JJ/MM/AAAA) : |_|_|_|/|_|_|/|_|_|_|_|_|

Date de signature du consentement (JJ/MM/AAAA)

Madame : |_|_|_|/|_|_|/|_|_|_|_|_|

Nom (deux premières lettres) : Madame |_|_|_|_|_|

Date de naissance (MM/AAAA) : Madame |_|_|_|/|_|_|_|_|_| âge |_|_|_| ans

Numéro d'anonymat du couple |_|_|_|_|_|

ENTRETIEN AVEC LE PATIENT

Lieu d'habitation les 10 premières années de vie :

Ville campagne

Si plusieurs lieux d'habitation précisez :

Lieu d'habitation durant l'adolescence :

Ville campagne

Si plusieurs lieux d'habitation précisez :

Lieu d'habitation durant la vie adulte :

Ville campagne

Si plusieurs lieux d'habitation précisez :

- Données concernant le logement

-

Lieu d'habitation (résidence principale)

- Centre ville
- Périphérie de la ville
- Village ou Hameau
- Autre, préciser _____
- Ne souhaite pas répondre

Type de logement (résidence principale)

- Maison individuelle
- Appartement
- Maison isolée
- Ne souhaite pas répondre

Si vous avez habitez dans différents lieux d'habitation précisez les périodes :

Si vous avez eu plusieurs types de logement précisez les périodes :

Mode de chauffage :

Gaz de ville

Electricité

Fioul

- Données relatives à la naissance-

Délai nécessaire à concevoir : < 1 an ≥ 1 an

Inconnu

Naissance : A terme Prématurément

préciser le terme si connu : |_|_| | SA

Taille à la naissance : |_|_| | cm

Poids à la naissance : |_|_| |_|_| | g

APGAR : |_|_| |

Avez-vous pris un traitement au cours de sa grossesse ?

Oui Non

Inconnu

Si oui, préciser :

Avez-vous eu des pathologies sévères pendant la grossesse ?

Oui Non
 Inconnu

Si oui, préciser :

Avez-vous allaité ?

Oui Non Inconnu

Avez-vous fait une ou des fausses couches spontanées ?

Oui Non Inconnu

Si oui, préciser : < 3 ≥ 3 consécutives Inconnu

Antécédents -

◇ **Antécédents de consanguinité dans la famille :**

Oui Non ne sais pas

Si oui, préciser : _____

◇ **Consanguinité dans le couple :**

Oui Non ne sais pas

Si oui, préciser :

◇ **Antécédents d'infertilité dans la famille :**

Oui Non ne sais pas

Si oui, préciser :

◇ **Exposition accidentelle ou régulière (professionnelle par exemple) à des substances toxiques :**

Oui Non

Si oui, préciser dans le Tableau ci-dessous :

Type de l'exposition	Durée de l'exposition	Année de fin d'exposition
_____	__ __ ans	__ __ __ __
_____	__ __ ans	__ __ __ __
_____	__ __ ans	__ __ __ __
_____	__ __ ans	__ __ __ __
_____	__ __ ans	__ __ __ __

◇ **Exposition accidentelle ou régulière (professionnelle par exemple) à la chaleur :**

Oui Non

Si oui, préciser dans le Tableau ci-dessous :

Type de l'exposition	Durée de l'exposition	Année de fin d'exposition
_____	__ __ ans	__ __ __ __
_____	__ __ ans	__ __ __ __
_____	__ __ ans	__ __ __ __
_____	__ __ ans	__ __ __ __

◇ **Antécédents cardiovasculaires :**

OUI NON

Si oui, préciser dans le Tableau ci-dessous :

Antécédent	Oui/Non	
Diabète <i>Préciser le type :</i> <input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Dyslipidémie (Hypercholestérolémie, hypertriglycéridémie) <i>Préciser :</i> _____	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Hypertension artérielle	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Autre pathologie cardiovasculaire <i>Préciser :</i> _____	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non

◇ **Antécédents digestifs :**

Oui Non

Si oui, préciser dans le Tableau ci-dessous :

Antécédent	Oui/Non	
Pathologie digestive <i>Préciser :</i> _____	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non
Malabsorption (recto-colite hémorragique, maladie de Crohn, maladie coéliquaue) <i>Préciser :</i> _____	<input type="checkbox"/> Oui	<input type="checkbox"/> Non

◇ **Antécédents de cancer :**

Le patient a-t-il présenté un cancer ?

Oui

Non

Si oui, préciser :

- Traitements en cours -

Le patient a-t-il pris pendant l'année en cours un ou des traitements ?

(Ex : antihistaminiques, psychotropes, anti-asthmatiques, antibiotiques, laxatifs, antalgiques, anti-inflammatoires ...)

Oui

Non

Si oui, préciser dans le Tableau ci-dessous :

Nom commercial du traitement	Fréquence de la prise	Date de début (MM/AAAA)	Date de fin (MM/AAAA)
_____	_____	____/____ _ _ _ _	____/____ _ _ _ _
_____	_____	____/____ _ _ _ _	____/____ _ _ _ _
_____	_____	____/____ _ _ _ _	____/____ _ _ _ _
_____	_____	____/____ _ _ _ _	____/____ _ _ _ _
_____	_____	____/____ _ _ _ _	____/____ _ _ _ _

- Données socio-démographiques -

Profession actuelle :

Femme : |_____|

si profession inconnue coché la case

Mode de vie

Consommez-vous de l'alcool: Oui Non

Si oui, préciser la quantité :

Nombre de verre(s) de vin par Jour |__| |__|

Occasionnellement |__| Jamais |__|

- Activité physique -

Réalisez-vous une activité physique ? Oui Non

Si oui, préciser laquelle : _____

Fréquence : Nombre de fois par semaine : |__|

Exposition aux produits toxiques -

Votre environnement professionnel est il l'un des métiers suivants ?

- Agriculture
- Horticulture
- Culture maraîchère
- Médecin vétérinaire
- Jardinerie
- Vente (fruits et légumes)
- Désinfection, dératisation ,désinsectisation
- Toilettage animalier ou soins aux animaux
- Elevage

Utilisez-vous des produits phytosanitaires?

Jamais Tous les jours 1 fois par sem. 1 fois par mois

Si oui s'agissait il principalement de :

- Fongicides (traitement contre les champignons)
- D'insecticides (contre les insectes)
- Herbicides (contre les mauvaises herbes)
- Rodencides, taupicides, corvifuges, etc... (Contre les nuisibles)

Pouvez-vous lister brièvement la liste des produits phytosanitaires utilisés ?

.....

.....

...

Lors de l'utilisation des produits, vous êtes vous protégé avec :

Des gants Une combinaison Un masque

Au cours de votre vie professionnelle avez-vous été exposé à d'autres toxiques si oui lesquels ?

L'environnement professionnel de vos parents est il l'un des métiers suivants ?

- Agriculture

- Horticulture
- Culture maraîchère
- Médecin vétérinaire
- Jardinerie
- Vente (fruits et légumes)
- Désinfection, dératisation ,désinsectisation
- Toilettage animalier ou soins aux animaux
- Elevage

Vos parents ont-ils utilisé des produits phytosanitaires?

Jamais Tous les jours 1 fois par sem. 1 fois par mois

Si oui s'agissait il principalement de :

- Fongicides (traitement contre les champignons)
- D'insecticides (contre les insectes)
- Herbicides (contre les mauvaises herbes)
- Rodencides, taupicides, corvifuges, etc... (Contre les nuisibles)

Lors de l'utilisation des produits, la personne s'est elle protégé avec :

Des gants Une combinaison Un masque

- Activité ludique-

Avez-vous l'habitude de jardiner ? Oui Non

Si oui : avant 15 ans Oui Non

Après 15 ans Oui Non

Utilisez-vous :

Des engrais: Oui Non Ne sais pas

Des Herbicides : Oui Non Ne sais pas

Si oui quelle marque :

Utilisez-vous des produits phytosanitaires dans le jardin privatif ou la cour ?

Oui Non

Si oui lesquels :.....

Si oui sur :

- Un potager
- Des parterres de fleurs
- Des haies
- Autres :.....

Combien de plantes d'intérieur avez-vous :

- Aucune
- De 1 à 5

Plus de 5

Utilisez-vous des produits d'entretien pour vos plantes d'intérieur :

Oui Non

Si oui lesquels :

Si oui les avez-vous appliqués vous-même ?

Oui Non

Environnement proche -

Votre logement est-il entouré de jardins (privatifs, publics, ouvriers, etc....) et/ou d'espaces verts ?

Oui Non

Existe-t-il des champs cultivés à moins d'un Km de votre lieu de résidence ?

Oui Non

Si oui quel type de culture :

Existe-t-il une autoroute ou un aéroport près de l'habitation ?

Oui Non

Existe-t-il des établissements industriels près de l'habitation ?

Oui Non

Si oui quel type d'industrie :

- Tabac

-

Questionnaire sur le tabac complété : Oui Non

Si non, préciser la raison :

Avez-vous déjà fumé :

Oui Non

Si oui et si vous ne fumez plus :

Combien de temps avez-vous fumé : |____| ans

Combien de cigarettes par jour ? |____|

Depuis combien de temps avez arrêté de fumé ? |____| ans

Si vous êtes toujours fumeur :

Dans les 6 derniers mois, quel est votre consommation de tabac :

Nombre de cig/jour |____|

Nombre de cigares/jour |____|

Nombre de cig roulées/jour |____|
Nombre de cig de cannabis ou autres/jour |____|

Dans la semaine qui précède :

Nombre de cig/jour |____|
Nombre de cigares/jour |____|
Nombre de cig roulées/jour |____|
Nombre de cig de cannabis ou autres/jour |____|

A quel moment après le réveil fumez-vous votre première cigarette ?

Moins de 5 minutes 6 à 30 minutes 31 à 60 minutes après 60 minutes

Trouvez-vous difficile de ne pas fumer dans les endroits interdits ?

Oui Non

Quelle cigarette trouvez-vous la plus indispensable ?

La première Une autre

Combien de cigarettes fumez-vous par jour ?

10 ou moins 11 à 20 21 à 30 31 ou plus

Fumez-vous de façon plus rapprochée dans les premières heures après le réveil que pendant le reste de la journée ?

Oui Non

Fumez-vous même si une maladie vous oblige à rester au lit (fièvre, grippe, angine ...)

Oui Non

Avez-vous été exposé au tabagisme passif durant :

Les 10 premières années de vie :

Oui Non

L'adolescence :

Oui Non

La vie adulte :

Oui Non

- **Anxiété**

-

Questionnaire d'auto-évaluation de l'anxiété complété :

Oui Non

Si non, préciser la raison :

1- J'ai toujours autant de plaisir à faire les choses qui me plaisent habituellement :

- Oui toujours
- Pas autant
- De plus en plus rarement
- Presque plus du tout.

2- J'ai des sensations de peur et j'ai l'estomac noué :

- Très souvent
- Assez souvent
- Parfois
- Jamais.

3- J'ai une sensation de peur, comme si quelque chose d'horrible allait m'arriver :

- Oui très nettement
- Oui mais ce n'est pas trop grave
- Un peu mais cela ne m'inquiète pas
- Pas du tout.

4- J'ai perdu l'intérêt pour mon apparence :

- Totalement
- Je n'y fais plus attention
- J'y fais attention comme d'habitude

5- Je sais rire et voir le côté amusant des choses :

- Toujours autant
- Plutôt moins
- De nettement moins
- Plus du tout.

6- J'ai la bougeotte et je ne tiens pas en place :

- Oui, c'est tout à fait le cas
- Plutôt moins qu'avant
- Beaucoup moins qu'avant
- Pas du tout.

7- Je me fais du souci :

- Très souvent
- Assez souvent
- Occasionnellement
- Très occasionnellement.

8- Je me réjouis à l'avance de faire certaines choses :

- Comme d'habitude
- Plutôt moins qu'avant
- Beaucoup moins qu'avant
- Pas du tout.

9- Je me sens gai(e), de bonne humeur :

- Jamais
- Rarement
- Assez souvent
- La plupart du temps.

10- J'éprouve des sensations de panique :

- Très souvent
- Assez souvent
- Parfois
- Jamais.

11- Je peux rester tranquillement assis au repos et me sentir détendu :

- Jamais
- Rarement
- Oui, en général
- Oui, toujours

12- Je peux prendre plaisir à un bon livre ou à un bon programme radio ou télévision :

- Souvent
- Parfois
- Rarement
- Pratiquement jamais.

13- Je me sens ralenti :

- Pratiquement tout le temps
- Très souvent
- Quelquefois
- Jamais.

14- Je me sens tendu ou énervé :

- La plupart du temps
- Souvent
- De temps en temps
- Jamais.

- Sommeil -

Questionnaire sur le sommeil complété : Oui Non

Si non, préciser la raison :

1- Avez-vous des problèmes de sommeil ? Parmi les propositions suivantes, avez-vous ?

1 seule réponse par ligne	OUI	NON
Des difficultés à vous endormir		

Des réveils nocturnes fréquents		
Un réveil trop précoce		
Un sommeil de mauvaise qualité		
Une sensation de manque de sommeil		

2- **Pour chacune des phrases suivantes, entourez le code correspondant à votre situation.**

1 seule réponse par ligne	Chaque nuit	Chaque semaine	Rarement	Jamais
Je me réveille en ayant mal à la tête				
On m'a dit que je m'agite dans mon sommeil et que je ne cesse de me tourner et de me retourner toute la nuit				
Pendant mon sommeil, il semble que je donne des coups de pied et que je sursaute				
Je ressens ou j'entends des choses qui ne sont pas réelles quand je m'allonge dans mon lit, alors que je suis encore réveillé(e)				
Immédiatement après m'être endormi(e), je rêve				
Après m'être allongé(e), avant de m'endormir, j'ai la sensation de ne plus pouvoir bouger				
Je suis somnambule				
Je suis dérangé(e) par des cauchemars				
Je parle pendant le sommeil				
Je grince des dents quand je dors				
Je me réveille en toussant				
Je me réveille avec des brûlures gastriques				

Annexe 2 : Consentement de participation à l'étude pour les couples infertiles.

CONSENTEMENT DE PARTICIPATION du couple infertile à l'étude **Impact du tabagisme masculin sur l'infertilité du couple : étude cas-témoins bicentrique. (Tabafertimasc)**

PROMOTEUR	INVESTIGATEUR COORDONNATEUR
<p>Madame Catherine GEINDRE Directrice Générale du CHU d'Amiens Par délégation, Monsieur le Docteur Jean-Claude BARBARE Coordonnateur de la Recherche Clinique et de l'Innovation CHU d'Amiens – Site Nord 1 Place Victor PAUCHET 80054 AMIENS Cedex Tél. : 03-22-66-80-60 Fax : 03-22-66-87-52 Email : barbare.jeanclaude@chu-amiens.fr</p>	<p>Madame le Docteur Aviva DEVAUX Laboratoire de Biologie de la Reproduction et de Cytogénétique CHU d'Amiens – Site CGO 123 rue Camille DESMOULINSt 80054 AMIENS Cedex Tél. : 03-22-53-36-75 Fax : 03-22-53-36-79 Email : devaux.aviva@chu-amiens.fr</p>

Mme (Nom, Prénom) née le

M r (Nom, Prénom) né le

Adresse :

Le Docteur :..... nous a proposé de participer à une étude organisée par le CHU d'Amiens concernant le rôle du tabac sur la fertilité.

- L'étude sera menée conformément au Code de santé publique titre II du premier livre relatif aux recherches biomédicales

Le Comité Consultatif de Protection des Personnes NORD OUEST II a émis un avis favorable à la mise en œuvre de ce protocole le.....

Dans la lettre d'information qui nous a été remise, il nous a été précisé que nous sommes libres d'accepter ou de refuser sans que cela ne conditionne notre prise en charge en AMP ou ne modifie le traitement prévu pour sa mise en œuvre.

- Nous avons reçu et nous avons bien compris les informations suivantes :

- Ce travail sera réalisé en collaboration avec des médecins spécialistes de l'exploration de l'infertilité sur 2 CHU Amiens et Caen
- Certains prélèvements seront nécessaires et sont pour certains réalisés dans le cadre de la fécondation in vitro, il s'agit:

- de la passation d'un questionnaire sur les habitudes de vie et de consommation de tabagisme pour chacun de vous et qui est réalisé lors du bilan d'infertilité

- d'un ou plusieurs prélèvements cités ci-dessous sont :

- une prise de sang pour évaluer le taux de cotinine (dérivé de la nicotine) qui pourra être réalisée en même temps que le bilan biologique pré AMP ou lors du cycle d'AMP
- une mesure du monoxyde de carbone expiré à l'aide d'un testeur pour déterminer le taux de ce composé dans l'air que vous expiré. et qui évalue le tabagisme récent
- recueil de quelques cheveux (4 à 6) pour évaluer le tabagisme chronique

- Certains milieux biologiques recueillis lors du bilan d'infertilité ou lors du cycle d'assistance médicale à la procréation au lieu d'être éliminés seront conservés en vue de la réalisation du protocole ou en vue de recherches complémentaires à postériori

- un recueil de sperme effectué au laboratoire de Biologie de la Reproduction lors du bilan d'infertilité ou le jour de l'AMP, préalable à la réalisation de la FIV, d'un recueil d'urine
- le recueil du liquide folliculaire lors de la ponction ovarienne

L'ensemble des échantillons prélevés sera conservé en vue de la réalisation du protocole et pourra permettre d'éventuelles recherches complémentaires à postériori. Ils feront l'objet d'une déclaration de « collection biologique » auprès du ministère de la santé et de la recherche.

Nous confirmons être affilié à un régime de sécurité social ou être bénéficiaire d'un tel régime et nous sommes informés que conformément à la loi du 20 décembre 1988 modifiée relative à la protection des personnes se prêtant à la recherche biomédicale, et du décret d'application N° 91-440 du 14 mai 1991, le CHU d'Amiens, promoteur de l'étude, a souscrit une assurance couvrant les risques directs liés à l'étude dans la stricte application du protocole.

Nom de la compagnie :

Adresse :

Numéro de contrat :

NOUS ACCEPTONS DE PARTICIPER A CETTE RECHERCHE DANS LES CONDITIONS PRECISEES CI-DESSUS.

Notre consentement ne décharge pas les organisateurs de la recherche de leurs responsabilités. Nous conservons tous nos droits garantis par la Loi. Si nous le désirons ou si l'un d'entre nous le désire, nous sommes libres à tout moment de suspendre notre participation. Nous informerons alors le Docteur

Conformément à la loi « informatique et liberté », n° 2004-801 relative à la protection des personnes physiques à l'égard des traitements des données à caractère personnel et modifiant la loi 78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés, nous acceptons que les données enregistrées à l'occasion de cette étude puissent faire l'objet d'un traitement informatisé en préservant strictement notre anonymat. Les données qui nous concernent resteront strictement confidentielles et nous n'autorisons leur consultation que par des personnes qui collaborent à cette recherche, aux personnes mandatées par le promoteur et soumis au secret professionnel, et éventuellement à un représentant des autorités de santé ou judiciaire. Notre droit d'accès et de rectification à ces informations pourra s'exercer à tout moment auprès du Docteur Devaux.

Nous sommes informés que nous pourrions demander à tout moment toutes les informations complémentaires au Docteur Devaux en appelant le 0322533675 ou le 0322533677

Fait à le.....

En double exemplaire, dont un remis au couple

Signature de l'investigateur :

Signature précédée de la mention « lu et approuvé » par les 2 membres du couple

Annexe 3 : Brochure d'information sur les PE destinée aux couples infertiles et à la population générale.

Quels sont les organes qui peuvent être touchés ?



Service de Médecine et
Biologie de la Reproduction,
Cytogénétique et CECOS de
Picardie

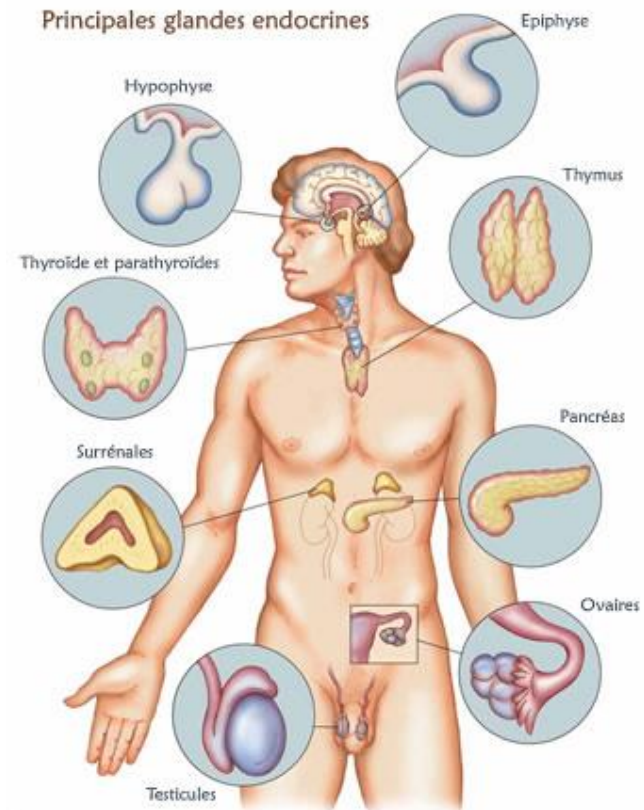
Centre de Biologie Humaine
80054 AMIENS Cedex 1

LES PERTURBATEURS ENDOCRINIENS

QUELS EFFETS SUR MA SANTÉ ?
ET SUR MA FERTILITÉ ?

Qu'est-ce qu'un perturbateur endocrinien ?

- C'est une substance capable d'interférer avec le système hormonal de l'organisme et donc de provoquer des maladies chez la personne exposée ou sa descendance.



Où peut-on trouver des perturbateurs endocriniens ?

- Alimentation, eau, air intérieur, poussière
- Produits en plastique, contenants alimentaires, biberons et bouteilles
- Boîtes de conserve, canettes, ustensiles en Téflon
- Produits d'hygiène, filtres solaires, cosmétiques (shampoings, maquillage, vernis à ongles, teinture de cheveux etc.)
- Retardateurs de flammes, peintures, colles, revêtements de sol

Quelles sont les voies de contamination par ces perturbateurs endocriniens?

- Voie digestive : eau et aliments
- Voie cutanée
- Voie respiratoire : air respiré

Quelles sont les conséquences attestées ou suspectées des perturbateurs endocriniens sur la santé?

- Troubles de fertilité
- Malformations génitales (micropénis, défaut de descente testiculaire dans les bourses, anomalie de l'abouchement de l'urètre sur la verge)
- Puberté précoce
- Trouble du comportement, de l'attention, hyperactivité chez l'enfant
- Cancers du sein, de l'ovaire, de la prostate, du testicule
- Perturbation de la fonction thyroïdienne
- Diabète
- Syndrome métabolique, obésité
- Pathologies cardiovasculaires
- Perturbation du système immunitaire, allergie, asthme
- Maladie de Parkinson

Quels sont les périodes où on est le plus à risque des effets des perturbateurs endocriniens?

- Les couples (hommes et femmes en âge de procréer)

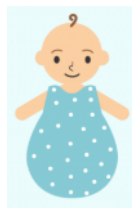


- La période de conception et la grossesse

- La femme qui allaite,



- Le nourrisson



- et le jeune enfant,



- L'adolescent au moment de sa puberté

Comment essayer d'éviter les risques liés aux perturbateurs endocriniens ?

Il existe quelques gestes simples à adopter au quotidien :

- Eviter le tabagisme actif et passif



- Ne pas chauffer au micro-onde les aliments dans des contenants en plastique, ni les recouvrir de films plastiques



- Eviter les boîtes de conserves et canettes de boisson

- Boire de l'eau de bouteilles en verre

- Eviter les contenants en plastique suivants : polychlorure de vinyle (PVC), polystyrène (PS), polycarbonate (PC).



- Essayer de manger « bio », sinon bien laver les fruits et légumes

- Choisir des déodorants, shampoings et cosmétiques sans phtalates et sans parabènes

- Limiter les teintures de cheveux, en particulier si vous êtes enceinte. Pendant la grossesse, limiter aussi le maquillage, le vernis, les crèmes de jour et crèmes solaires



Utiliser des gants de protection quand vous faites le ménage

- Pendant toute la grossesse et les premiers mois de l'enfant, éviter les colles, peintures et revêtements de sol



- Ne pas utiliser de parfums ou de désodorisants d'intérieur

- Bien aérer les espaces intérieurs (domicile, travail)
- Eviter l'usage d'herbicides ou d'insecticides dans le jardin ou l'habitat



- Les jouets lavables doivent être lavés. Les jouets plastiques doivent être sortis de leur emballage plusieurs jours avant d'être présentés à l'enfant

Le risque d'exposition aux perturbateurs endocriniens est aussi présent au travail

Les métiers à risque sont :

- Agriculteur, viticulteur
- Jardinier
- Infirmier
- Aide-soignant
- Dentiste, assistant dentaire
- Agent d'entretien ou femme de ménage
- Coiffeur, esthéticienne
- Caissier
- Profession dans l'industrie chimique / pharmaceutique
- Technicien de laboratoire, biologiste

Si l'un de ces métiers est le vôtre, renseignez-vous auprès de votre médecin du travail sur les risques potentiels d'exposition et les moyens à mettre en œuvre pour les éviter.

TITRE DE LA THÈSE : Impact des perturbateurs endocriniens sur la fertilité : étude comparative.

Introduction / objectifs :

Des perturbateurs endocriniens d'origine environnementale sont fréquemment retrouvés dans l'organisme et sont suspectés d'altérer la fertilité humaine. L'objectif était de comparer l'exposition aux pesticides et au tabac de couples infertiles et fertiles recrutés dans notre centre.

Matériel et méthode :

Il s'agissait d'une étude comparative prospective entre janvier 2013 et décembre 2017. Les couples inclus avaient entre 18 et 35 ans pour les femmes, 18 et 45 ans pour les hommes. Les couples « infertiles » étaient pris en charge au centre d'AMP du CHU d'Amiens pour une 1ère ou 2ème tentative de FIV-ICSI. Les couples « fertiles » avaient accouché à la maternité du CHU pour une 1ère ou une 2ème grossesse obtenue après moins d'un an d'essai. Les données analysées provenaient d'un questionnaire remis à chaque membre du couple par un technicien de recherche clinique dédié. Les questions s'intéressaient aux habitudes de vie notamment à l'exposition domestique et professionnelle aux pesticides et au tabagisme.

Résultats :

Une différence significative existait pour le tabagisme actuel avec 35.8% des femmes infertiles contre 17.1% des femmes fertiles qui étaient fumeuses ($p=0.01$). Cette différence existait également entre le tabagisme passif des femmes et des hommes infertiles et fertiles et ce pour les différents stades de l'enfance, de l'adolescence et de l'âge adulte (respectivement chez les femmes infertiles 30.9%, 32.1%, 33.3% contre 10.0%, 14.3%, 11.4% chez les fertiles, $p<0.05$, et chez les hommes infertiles 38.3%, 37.0%, 38.3% contre 12.9%, 15.7%, 18.6% chez les fertiles, $p< 0.05$). Aucune différence d'exposition professionnelle aux pesticides n'a été trouvée. Concernant l'exposition domestique, il est apparu que davantage de couples infertiles vivaient à proximité directe d'un champ de maïs (39.5% contre 24.3% des couples fertiles, $p = 0.02$).

Conclusion/ perspectives :

Notre étude montre que le tabagisme actuel, un antécédent de tabagisme passif et la proximité d'un champ de maïs de l'habitat sont des facteurs de risques d'infertilité. Des études de puissance statistique supérieure sont nécessaires pour confirmer ces données.

Mots-clés : perturbateurs endocriniens, pesticides, tabac, infertilité, exposition professionnelle, exposition domestique.

THESIS TITLE : Endocrine disruptors impact on fertility : a comparative study.

Introduction:

Environmental endocrine disruptors are frequently found in the human body and are suspected to alter human fertility. The aim was to compare tobacco and pesticide exposure from infertile and fertile couples receiving care at the University Hospital of Amiens.

Study design:

A comparative prospective study took place from January 2013 to December 2017. Patients: Included couples were between 18 and 35 years for women, and from 18 to 45 years for men. Infertile couples were treated at the hospital for a first or second round of IVF treatment, and fertile couples (i.e. falling pregnant within one year of attempting to conceive) had given birth at the hospital maternity for a first or a second time. Methods: A questionnaire was distributed to each member of the couple by a dedicated clinical research officer. Questions concerned life habits, especially occupational and domestic pesticide exposure and smoking.

Results:

We noted a significantly lower smoking rate in the fertile group of women (17.1% vs 35.8%, $p=0.01$). We also noted a significantly lower passive smoking rate in the fertile group for both women and men during childhood, adolescence and adulthood (respectively for fertile women 10.0%, 14.3%, 11.4% vs 30.9%, 32.1%, 33.3% for infertile women, $p<0.05$, and for fertile men 12.9%, 15.7%, 18.6% vs 38.3%, 37.0%, 38.3% for infertile men, $p< 0.05$). No difference in occupational exposure was found. Concerning domestic exposure, more infertile couples were living near a cornfield (39.5% vs 24.3%, $p = 0.02$).

Conclusion:

Our study shows that smoking, as well as passive smoking, and living nearby a cornfield are risk factors in infertility. More in-depth studies are needed to confirm these data.

Keywords: endocrine disruptors, pesticides, smoking, tobacco, infertility, occupational exposure, domestic exposure.